

ЗАПИТ
на проведення наукової (науково-технічної) роботи

1. Назва роботи

«Генетичні і епігенетичні механізми та фактори захисних і адаптивних реакцій рослин»

2. Вид тематики

III. Відомча тематика

3. Назва цільової програми або цільового проекту

н е м а є

4. Назва розділу програми або напряму цільового проекту

н е м а є

5. Строки виконання роботи

01 січня 2023 р. - 31 грудня 2027 р.

6. Код програмної класифікації видатків

6541030 (фундаментальні дослідження)

7. Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки

Фундаментальні наукові дослідження з найбільш важливих проблем розвитку науково-технічного, соціально-економічного, суспільно-політичного, людського потенціалу для забезпечення конкурентоспроможності України у світі та сталого розвитку суспільства і держави

8. Пріоритетний тематичний напрям наукових досліджень і науково-технічних розробок

Фундаментальні проблеми наук про життя та розвиток біотехнологій

9. Код та назва наукового напряму (проблеми) з Основних наукових напрямів та найважливіших проблем фундаментальних досліджень у галузі природничих, технічних і гуманітарних наук

2.3.1 Молекулярно-біологічні, клітинні та фізіологічні основи функціонування живих систем

10. Науковий керівник роботи

Кравець Олександра Петрівна, д.б.н., с.н.с., зав. відділу, Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України

телефон: 257 82 44; факс: +38 044 526 7104; E-mail: KravetsAP@nas.gov.ua

11. Відповідальні виконавці

Прізвище, ім'я та по-батькові	Науковий ступінь, посада, місце роботи, телефон, Е-адреса	Підпис
Рашидов Намік Мамед огли	Професор, д.б.н., зав. лабораторії, 257-82-44	
2. Міхеєв Олександр Миколайович	Д.б.н., зав. лабораторії, 257-82-44	
3. Шиліна Юлія Володимирівна	к.б.н., зав. лабораторії, 257-82-44	
4. Куцоконь Наталя Константинівна	Пров.наук. співроб. 257-82-44	

12. Установи - співвиконавці

н е м а є

13. Ключові слова

стрес, геномна нестабільність, стійкість, адаптація, трансгенераційне збереження адаптивного потенціалу, епігеном, протеом, метаболом

14. Резюме

Метою роботи є дослідження механізмів та факторів реакції рослин на рівні геному і епігеному на дію гострих та пролонгованих абіотичних і біотичних стресових чинників.

Основний акцент буде зроблено на виявлення взаємодії між розвитком ураження та включенням/індукцією захисних та репаративних процесів за умов дії різних доз гострих та пролонгованих стресових чинників, можливість збереження/змін у часі структури цих взаємодій, включаючи трансгенераційну передачу.

Дослідження по проекту, що пропонується, буде базуватись на найсучасніших ідейних та технологічних дослідженнях адаптації рослин до факторів абіотичного та біотичного стресу, що індукують значні зміни у епігеномі, метаболоні, протеомі, тобто у так званій «-омік» архітектурі рослинного організму. Будуть враховані результати попередніх досліджень Відділу, що свідчать про зміни епігенетичних програм при адаптації до природних стресів, як тих, що діють окремо, так і тих, що взаємодіють між собою.

Буде досліджено як «швидкі» реакції рослинного організму на дію мультиплікативного стресу, так і повільні перебудови у «-омік» архітектурі, що успадковуються наступними поколіннями.

Дослідження спрямоване на теоретичні узагальнення, визначення складної інтерактивної картини формування адаптації, яка залежить від дози чинника, часу його впливу та дії різноманітних модифікуючих факторів, оскільки саме взаємодія цих двох груп процесів – розвитку ураження та захисних реакцій визначає можливості та тривалість формування адаптації організму.

15. Обґрунтування доцільності виконання роботи

15.1. Цілі та завдання роботи, її актуальність, соціальна та економічна значимість (вказати також вид кінцевої продукції (концепція, теорія, новий метод, матеріали і т.п.) та охарактеризувати результати, що очікуються).

Метою роботи є дослідження факторів та механізмів реакції рослин на рівні геному і епігеному на дію гострих та пролонгованих абіотичних і біотичних стресових чинників.

Основний акцент у завданнях проекту буде зроблено на виявлення взаємодії між розвитком ураження та включенням/індукцією захисних та репаративних процесів за умов дії різних доз гострих та пролонгованих стресових чинників, можливість збереження/змін у часі структури цих взаємодій, включаючи трансгенераційну передачу.

Один з основних сучасних напрямків розвитку біологічних наук тісно пов'язаний із дослідженням важливого у теоретичному та прикладному аспекті явища адаптації організмів до дії різноманітних факторів середовища. З теоретичної точки зору непересічна важливість

цих досліджень пов'язана з відкриттям принципів самоорганізації живого. Безумовно, ці відкриття неодмінно будуть підхоплені технологічними розробками, як в свій час суто фізіологічний принцип зворотнього зв'язку став підґрунтям для розвитку кібернетики.

Очевидна важливість практичного застосування досліджень механізмів самозахисту і адаптації рослин для сільського господарства, тому що надає інструменти для розробки засобів збереження високої продуктивності сільськогосподарських рослин.

Важливо, що один з найефективніших підходів до одержання сучасних генотипів сільськогосподарських культур базується на генній модифікації рослин. Відомо, що перенесення «чужої» ДНК сприймається клітиною як стресовий фактор. Встановлено, що дія стресових факторів підвищує рівень геномної нестабільності – найбільш загрозливого прояву ураження організму, його сталого розвитку і змін у реалізації епігенетичної регуляції проходження онтогенезу. Це так звана первинна відповідь на стрес, за якою йде індукція ряду неспецифічних захисних процесів, включаючи підвищення рівня АФК, метилування певних послідовностей ДНК, що призводить до «замовчування» цільових генів. Дослідження розгортання цих захисних механізмів утворило б підґрунтя для цілеспрямованого впливу на зниження ризику неефективності генної модифікації організмів.

Далі, аналізуючи сучасні дослідження реакцій рослин на стрес та беручи до уваги існування економічної та соціальної проблем з'ясування причин неповної реалізації генетичного потенціалу продуктивності культурних злаків, приходимо до висновку про необхідність дослідження ефективності епігенетичних механізмів забезпечення їх продуктивності. Планується, що у проєкті буде приділено увагу саме дослідженням ефективності різних захисних механізмів культурних рослин (індуцибельних та пасивних, структурних і активних).

В якості об'єктів будуть використані посівні культури, деревні та лікарські рослини, а також «модельні» рослини.

Планується вивчення зміни експресії генів, продукти яких задіяні в процесах росту та розвитку рослин, стійкості до стрес-факторів, репарації ДНК, фолдингу білків і трансдукції стрес-індукованих сигналів, тобто які відіграють важливу роль в системній стійкості і адаптації рослин. Буде проаналізована активність «генів-кандидатів», продукти яких включені у ряд метаболічних шляхів і беруть участь в формуванні стійкості рослин.

Будуть досліджені зміни у епігеномі та протеомі рослин (соя, льон, арабідопсис), що зазнали дії гострого (УФ-В, УФ-С) і хронічного іонізуючого опромінення (лабораторні та польові умови), проведена оцінка часу збереження набутих змін стійкості, включаючи можливість їх трансгенераційної передачі.

Буде досліджено реакцію імунної системи рослин на інвазійний стрес та його модифікацію біогенними і абіогенними елісаторами, а також можливість трансгенераційного збереження набутих модифікацій імунного відгуку.

На кількох видах лікарських рослинах в умовах лабораторних, вегетаційних та польових дослідів із використанням молекулярно-біологічних та біохімічних методів (ПЛР, високоефективна рідинна хроматографія, спектрофотометрія) будуть досліджені зміни у метаболомі, пов'язані із іонізуючим та УФ-С, УФ-В опроміненням та дією біотичного стресу, кінетика синтезу вторинних метаболітів, що мають захисний характер, та можливості трансгенераційної передачі набутих властивостей.

Дослідження спрямоване на теоретичні узагальнення, визначення складної інтерактивної картини формування адаптації, яка залежить від дози чинника, часу його впливу та дії різноманітних модифікуючих факторів, оскільки саме взаємодія цих двох груп процесів – розвитку ураження та захисних реакцій – визначає можливості та тривалість формування адаптації організму.

Виконання проєкту обіймає ряд завдань:

- Дослідити можливість виникнення геномної нестабільності при дії різних доз стресових факторів, оцінити можливість трансгенераційного збереження цього ефекту, його взаємодії із включенням захисних і репаративних процесів.
- Провести оцінку зв'язку ознак геномної нестабільності з появою пріоноподібних білків.

- Провести кількісні оцінки дозових закономірностей цих процесів, їх розвиток та трансгенераційне збереження для сільськогосподарських, лікарських та модельних рослин.
- В лабораторних та польових дослідженнях визначити вплив біогенних та абіогенних еліситорів на зміни стійкості рослин, час її збереження та трансгенераційну передачу набутої стійкості.
- На лікарських рослинах (ромашка лікарська, шавлія лікарська, звіробій звичайний) в умовах лабораторних, вегетаційних та польових експериментів із використанням молекулярно-біологічних та біохімічних методів (ПЛР, високоефективна рідинна хроматографія, спектрофотометрія) дослідити зміни метаболізму лікарських рослин, що відображаються як на загальній продуктивності, так і рівнях синтезу вторинних метаболітів при рентгенівському, УФ-С, УФ-В опроміненні, кінетику їх змін в онтогенезі і можливості трансгенераційної передачі. Результати аналізу метаболічних змін та ступеня адаптованості рослин до дії стресових чинників будуть покладені в основу розробки ефективних методів підвищення системної стійкості рослинного організму.

15.2. Стан розроблення проблеми.

Один з основних напрямків розвитку біологічних наук тісно пов'язан із дослідженням важливого у теоретичному та прикладному аспекті явища адаптації організмів до дії різноманітних факторів середовища.

Дані останніх десятиліть спростували уявлення про існування однієї критичної структури в геномі, ураження або активізація якої призводить до формування реакції всього організму. Для сучасних досліджень механізмів стійкості і адаптації характерна зміна парадигм, що певною мірою висвітлює прогрес у технологічному і методичному забезпеченні біологічного експерименту. Якщо попередні покоління дослідників акцентували увагу на появі та поведінці при дії стресового фактору одного чи кількох показників стану рослини, то сучасні біологічні дослідження, що забезпечені нанотехнологічним обладнанням, дозволяють перейти до системних оцінок молекулярно-генетичних змін рослинного організму під дією того чи іншого стресового фактору.

Встановлено, що реакція рослин на дію абіотичного і біотичного стресів супроводжується значними змінами у епігеномі [1, 9, 29], метаболімі [3, 21, 22, 30], протеомі [3, 5, 7, 9, 10], тобто у так званій «-омік» архітектурі рослинного організму [17]. При певних рівнях та часі дії стресових факторів, наприклад, в умовах підвищеного радіаційного фону та температури довкілля, спостерігається активізація в геномі мобільної ДНК [2, 8, 15, 20, 23, 26], що є одним із проявів нестабільності геному та передуює мікроеволюційним процесам.

Дослідження змін транскрипційного профілю при дії опромінення із використанням мікрочипів [12, 14] показало підвищення транскрипційної активності кількох десятків генів, що свідчить про значний, системний відгук організму на стрес. Подібні перебудови транскриптому встановлено при дії стресових факторів довкілля (посуха та підвищена температура) [13, 16, 18, 31]. Під дією стресів різної природи спостерігається переключення метилування ДНК як одного з механізмів епігенетичної регуляції з підтримуючого на режим *de novo* [1, 19], що також свідчить про системність реакції клітини на стрес. При вивченні реакцій протеому на гостре і хронічне опромінення встановлено, що спостерігаються зміни не тільки у тих компартментах протеому, які відповідають за репараційні процеси [27], але й зміни окислювально-відновлювального блоку метаболізму, сигнальних, транспортних підсистем та метаболізму амінокислот [10, 24], що належать до найбільш консервативної (housekeeping) підсистем метаболізму [4, 6, 24, 31]. Аналогічні дані, що свідчать про генералізовану перебудову метаболізму, одержані при вивченні впливу сольового стресу та посухи [7, 9, 25].

Виявлено існування як «швидких» реакцій рослинного організму на дію однофакторного та мультиплікативного стресу [4, 19, 28], так і повільних перебудов у «-омік» архітектурі, що спостерігаються за умов хронічного стресу [10, 19, 33], а також можливість їх трансгенераційної передачі. Узагальнення цих важливих експериментальних даних свідчить про залежність змін у «-омік» архітектурі не тільки від фактору, що викликає стрес, але й від часу його дії, про узгодження швидкості формування ієрархії захисних реакцій на рівні

транскриптому і метилому, існування «пам'яті» збереження сформованих змін у часі, включаючи її трансгенераційну передачу.

Вивчення ефектів малих доз на різних біологічних системах виявило появу множинних генетичних ушкоджень за умов прямої чи непрямой дії опромінення – явища, яке увійшло у наукову термінологію під назвою «радіаційно – індукованої нестабільності ДНК». За сучасними уявленнями, радіаційно – індукована нестабільність геному (РІНГ, RIGI) – це виникнення *de novo* множинних генетичних ушкоджень у значній кількості (до 30%) нащадків опромінених клітин, що супроводжується підвищенням рівня активних форм кисню (АФК), активації мобільних елементів, інших епігенетичних перебудов [31, 32]. На сьогодні явище геномної нестабільності розглядається як найбільш загрозливий результат впливу малих доз стресових факторів і процес, що відволікає метаболічний ресурс організму на процеси репарації та відновлення. Саме взаємодія цих двох груп процесів – розвитку ураження та захисних реакцій – визначає можливість і результат адаптивного процесу. Разом з тим питання структури взаємодії цих процесів та дозових залежностей залишається відкритим.

Таким чином, співставлення літературних даних та надбання колективу Відділу свідчить про перехід досліджень до вивчення системних механізмів стійкості і адаптації рослин, оцінки швидкості та дозових залежностей формування окремих захисних реакцій та їх взаємодії, механізмів їх збереження у часі. Одержані результати свідчать про появу та поширення інтересу до цих питань, але їх недостатнє вивчення. Дослідженню цього кола питань буде присвячено проєкт, що запропоновано.

Посилання

1. Antwith D.A., Gabbara K.M., Lancaster W.D. Radiation-induced epigenetic DNA methylation modification of radiation-response pathways // *Epigenetics*. – 2013. – Vol. 8, № 8. – P. 839 – 848.
2. Aravin A.A., Sachidanandam R., Girard A. et al. Developmentally regulated piRNA clusters implicate MILI in transposon control. // *Science*. - 2007. - Vol. 316, № 5825. - P. 744 - 747.
3. Alvarez, S. et al. Metabolomic and proteomic changes in the xylem sap of maize under drought. // *Plant Cell Environ.* – 2008. - 31. - P. 325–340.
4. Banda M., Bommineni A., Thomas R.A., Luckinbill L.S., Tucker J.D. Evaluation and validation of housekeeping genes in response to ionizing radiation and chemical exposure for normalizing RNA expression in real-time PCR // *Mutat. Res.* - 2008. - Vol. 649, № 1-2. - P. 126–134.
5. Barkla B.J. et al. Quantitative proteomics of the tonoplast reveals a role for glycolytic enzymes in salt tolerance. // *Plant Cell*. – 2009. – 21. – P. 4044–4058.
6. Bercak M. The research on the mechanism of plant adaptation in Chernobyl area by using quantitative proteomics / M. Bercak, K. Klubikova, M. Danchenko, L. Skultety, N.M. Rashydov, M. Hadjuch // *Abstr. IX*.
7. Bilichak A., Ilnystky Y., Hollunder Y., Kovalchuk I. The Progeny of Arabidopsis Thaliana Plants Exposed to Salt Exhibit Changes in DNA Methylation, Histone Modifications and Gene Expression // *PLoS One*. - 2012. - Vol. 7, № 1. - P. 1 – 15.
8. Burr B., Burr F.A. Activation of silent transposable elements // *Plant Transposable Elements*. N.Y: Plenum Press, 1998. - P. 311–323.
9. Caruso G. et al. Analysis of drought responsive proteins in wheat (*Triticum durum*) by 2D-PAGE and MALDI-TOF mass spectrometry. // *Plant Sci.* – 2009. – 177. – P. 570–576.
10. Chae L. et al. Diverse transcriptional programs associated with environmental stress and hormones in the Arabidopsis receptorlike kinase gene family. // *Mol. Plant*. – 2009. – 2. – P. 84–107.
11. Charlton A. et al. Responses of the pea (*Pisum sativum* L.) leaf metabolome to drought stress assessed by nuclear magnetic resonance spectroscopy. // *Metabolomics*. – 2008. – 4. – P. 312–327.
12. Coleman M.A., Yin E., Peterson L.E. et al. Low dose irradiation alters the transcript profiles of human lymphoblastoid cells including genes associated with cytogenetic radioadaptive response // *Radiat. Res.* – 2005. – Vol. 164, № 41. – P. 369 – 382.
13. Degenkolbe T. et al. Expression profiling of rice cultivars differing in their tolerance to long-term drought stress. // *Plant Mol. Biol.* - 2009. – 69. – P. 133–153.
14. Fachin A.L., Mello S.S., Sandrin-Garcia P. et al. Gene expression profiles in human lymphocytes irradiated in vitro with low doses of X-rays // *Radiat. Res.* – 2007. – Vol. 168, № 6. – P. 650–665.

15. Fagard M., Vaucheret H. Transgenes silencing in plants: how many mechanisms? // *Annu. Rev. Plant Physiol.* – 2000. – Vol. 51. – P. 167–194.
16. Fernandes J. et al. Distinctive transcriptome responses to adverse environmental conditions in *Zea mays* L. // *Plant Biotechnol. J.* – 2008. – 6. – P. 782–798.
17. Fukushima A. et al. Integrated omics approaches in plant systems biology. // *Curr. Opin. Chem. Biol.* – 2009. – 13. – P. 532–538.
18. Ginzberg, I. et al. Transcriptomic profiling of heat-stress response in potato periderm. // *J. Exp. Bot.* – 2009. – 60. – P. 4411–4421.
19. Hauser M.-T., Aufsatz W., Jonak C., Luschnig Ch. Transgenerational Epigenetic Inheritance in Plant // *Biochim. Biophys. Acta.* - 2011. - Vol. 1809, № 8. - P. 1-10.
20. Hirochika H., Okamoto H., Kakutani T. Silencing of retrotransposons in *Arabidopsis* and reactivation by the *ddm1* mutation // *Plant Cell.* – 2000. – Vol. 12, № 3. – P. 357–368.
21. Huston M. Management strategies for plant invasions: manipulating productivity, disturbance, and competition // *Diversity and Distribution.* - 2004. – 10. – P. 167-178.
22. Im, Y.J. et al. Expression of *Pyrococcus furiosus* superoxide reductase in *Arabidopsis* enhances heat tolerance. // *Plant Physiol.* 2009. – 151. – P. 893–904.
23. Kato M., Miura A., Bender J., Jacobsen S.E., Kakutani T. Role of CG and non-CG methylation in immobilization of transposons in *Arabidopsis* // *Curr. Biol.* – 2003. – Vol. 13, № 4. – P. 421 – 426.
24. Less H., Galili, G. Principal transcriptional programs regulating plant amino acid metabolism in response to abiotic stresses. // *Plant Physiol.* – 2008. – 147. – P. 316–330.
25. Naya, L. et al. The response of carbon metabolism and antioxidant defenses of alfalfa nodules to drought stress and to the subsequent recovery of plants. // *Plant Physiol.* 2007. – 144. – P. 1104–1114.
26. Pietzenuk et al. Recurrent evolution of heat-responsiveness in Brassicaceae COPIA elements // *Genome Biology.* – 2016. - 17: 209. DOI 10.1186/s13059-016-1072-3.
27. Shibata A., Barton O., Noon A.T., Dahm K., Deckbar D., Goodarzi A.A. Role of ATM and the damage response mediator proteins 53BP1 and MDC1 in the maintenance of G₂/M checkpoint arrest // *Mol. Cell Biol.* – 2010. – Vol. 30. – P. 3371 – 3383.
28. Truscott A.-M., C. Soulsby, S.C F. Palmer, L. Newell, P.E. Hulme. The dispersal characteristics of the invasive plant *Mimulus guttatus* and the ecological significance of increased occurrence of high-flow events. // *Journal of Ecology* - 2006. – 94. – P. 1080–1091.
29. Tariq M., Saze H., Probst A.V., Lichota J., Havu Y., Paszkowski J. Easure of CpG methylation in *Arabidopsis* alters patterns of histone methylation in heterochromatin // *PNAS.* – 2003. – Vol. 100. – P. 8823 – 8827.
30. Shulaev V. et al. Metabolomics for plant stress response. // *Physiol. Plant.* – 2008. – 132. – P. 199–208.
31. Tominaga H, Kodama S, Matsuda N et al (2004) Involvement of Reactive Oxygen Species (ROS) in the Induction of Genetic Instability by Radiation. *J Radiat Res*, 45(2):181-188. doi:10.1269/jrr.45.181
32. Tubiana M, Aurengo A, Averbeck D (2006) Recent reports on the effect of low doses of ionizing radiation and its dose–effect relationship. *Radiat Environ Biophys.* 44:245–51. doi: 10.1007/s00411-006-0032-9
33. Zobayed S.M.A. et al. (2005) Temperature stress can alter the photosynthetic efficiency and secondary metabolite concentrations in St. John’s wort. // *Plant Physiol. Biochem.* 43. – P. 977–984.

Дослідженнями стійкості та адаптивного потенціалу як культурних, так і дикоростучих рослин займається ряд Міжнародних організацій такі як FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), International Resources and Recycling Institute, EPA (Environmental Protection Agency), велика кількість біологічних і агрономічних департаментів університетів і інститутів у всьому світі. Серед них значне місце посідають Netherlands Metablomics Centre, Centre for BioSystems Genomics, Norway University of Science and Technology, Technical University of Munich, Germany та ряд державні Університети штатів Колорадо, Південної Кароліни та Джорджії (США).

В Україні провідними установами, що проводять дослідження проблеми стійкості та неспецифічної адаптації рослин є Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАНУ, Інститут фізіології рослин і генетики НАНУ, Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАНУ.

15.3. Досвід і доробок авторів.

В основу проекту покладена ідея про залежність змін в «-омік»-структурі рослини не тільки від природи, але й від тривалості дії фактору, який впливає на характер перебудов у епігеномі і метаболомі рослини та збереження «пам'яті» про дію стресу, включаючи її трансгенеративну передачу.

Авторами проекту проведено кілька циклів робіт з дослідження адаптації до дії абіотичних (іонізуюче, УФ-С, УФ-В опромінення, гіпертермія) та біотичних (грибні та бактеріальні патогени, елісатори) факторів різної природи. Встановлені умови виникнення нестабільності геному, значних перебудов у епігеномі, метаболомі та протеомі, що мають адаптивний і дезадаптивний характер. Показано, що адаптивні характеристики рослин можуть бути ефективно використані у біотехнологіях. За останні 5 років співробітниками відділу опубліковано 5 монографій та більше 40 статей у журналах Q1-Q3 рівнів, одержано три патенти.

Основні публікації відділу за останні 5 років за темою проекту:

1. Sokolova, D., Kravets, A., Zhuk, V., Sakada V., Glushenko, L., Kuchuk, M. Productivity of medicinal raw materials by different genotypes of *Matricaria chamomilla* L. Is affected with pre-sowing radiation exposure of seeds // International Journal of Secondary Metabolite, 2021, 8(2), p. 127–135 <https://doi.org/10.21448/ijsm.889817>
2. Zhuk, V., Sokolova, D., Kravets, A., Sakada V., Glushenko, L., Kuchuk, M. Efficiency of pre-sowing seeds by UV-C and X-ray exposure on the accumulation of antioxidants in inflorescence of plants of *Matricaria chamomilla* L. Genotypes //International Journal of Secondary Metabolite, 2021, 8(3), p. 186–194 <https://doi.org/10.21448/ijsm.889860>
3. В.В. Жук, Д.О. Соколова, О.П. Кравець, В.І. Сакада, Л.А. Глущенко, М.В. Кучук. Стимуляція вмісту антиоксидантів у суцвіттях рослин генотипів *Matricaria chamomilla* L. передпосівним та рентгенівським опроміненням насіння // Ядерна фізика та енергетика 22 (2021) 182-188. <https://doi.org/10.15407/jnpae2021.02.182> Scopus/Q3
4. О.П. Кравець, Д.О. Соколова, Ковальчук Н.Л. Ефекти геномної нестабільності в популяціях *Drosophila melanogaster* із різних за впливом радіаційного фактора регіонів України. // Ядерна фізика та енергетика 22 (2021) 174-181. <https://doi.org/10.15407/jnpae2021.02.174> Scopus/Q3
5. M.A. Shkliarevskiy, Yu.E. Kolupaev, T.O. Yastreb, Yu.V. Karpets, A.P. Dmitriev The effect of CO donor hemin on the antioxidant and osmoprotective systems state in *Arabidopsis* of a wild-type and mutants defective in jasmonate signaling under salt stress. // Ukr. Biochem. J. 2021; Volume 93, Issue 3, May-Jun, pp. 39-48. <https://doi.org/10.15407/ubj93.03.039> Scopus/Q4
6. Кокорев О.І., Колупаєв Ю.Є., Ястреб Т.О., Горелова О.І., Дмитрієв О.П. Реалізація впливу поліамінів на стан прорихів гороху із залученням кальцію та компонентів ліпідного сигналіну. // Цитологія і генетика, 2021. том 55, № 2, С. 15-23. <https://doi.org/10.3103/S0095452721020079> Scopus/Q3
7. Khoma Y.A., Nesterenko O.G., Kutsokon N.K., Khudolieieva L.V., Shevchenko V.V., Rashydov N.M. (2021). Proline content in the leaves of poplar and willow under water deficit. // Regulatory Mechanisms in Biosystems, 12(3), 519-522. <https://doi.org/10.15421/022171> Web of Science
8. Літвінов С.В., Льошина Л.Г., Булко О.В., Листван К.В., Пчеловська С.А. Зміни вмісту каротиноїдів та флавоноїдів у лікарській сировині наперстянки пурпурової, синюхи блакитної та ерви шерстистої, культивованих в умовах *in vitro*, за хронічної дії іонізуючого опромінення в малих дозах. // Ядерна фізика та енергетика. – 2021. – 22. – С. 85-92. <https://doi.org/10.15407/jnpae2021.01.085> Scopus Q4
9. Khoma Y.A., Nesterenko O.G., Kutsokon N.K., Khudolieieva L.V., Shevchenko V.V., Rashydov N.M. (2021). Proline content in the leaves of poplar and willow under water deficit. //

Regulatory Mechanisms in Biosystems, 12(3), 519-522. <https://doi.org/10.15421/022171> Web of Science

10. Літвінов С.В., Льошина Л.Г., Булко О.В., Листван К.В., Пчеловська С.А. Зміни вмісту каротиноїдів та флавоноїдів у лікарській сировині наперстянки пурпурової, синюхи блакитної та ерви шерстистої, культивованих в умовах *in vitro*, за хронічної дії іонізуючого опромінення в малих дозах. // Ядерна фізика та енергетика. – 2021. – 22. – С. 85-92. <https://doi.org/10.15407/jnpae2021.01.085> Scopus Q4

11. Kravets A.P., Sokolova D.A. Epigenetic Factors of Biological Variability and Individual Sensitivity to Biotic Stresses//Global Journal of Science Frontier Research: C Biological Science. - 2019. - Vol. 20, № 1. - P. 1-7. Online ISSN: 2249-4626

12. Kutsokon, N., Danchenko, M., Skultety, L., Kleman, J., Rashydov N. Transformation of hybrid black poplar with selective and reporter genes affects leaf proteome, yet without indication of a considerable environmental hazard. // Acta Physiol Plant. – 2020. – 42, 86. <https://doi.org/10.1007/s11738-020-03072-6>

13. Kravets A.P., Sokolova D.A. Epigenetic factors of individual radiosensitivity and adaptive capacity // International Journal of Radiation Biology. - 2020. - Vol. 96, issue 8. – P. 999-1009. <https://doi.org/10.1080/09553002.2020.1767819>

14. Pernis, M., Skultety, L., Shevchenko, V., Klubicova, K., Rashydov, N., Danchenko, M. Soybean recovery from stress imposed by multigenerational growth in contaminated Chernobyl environment. // J. Plant Physiol. Available online 10 June 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2020.153219>.

15. Ястреб Т.О., Колупаев Ю.Е., Шкляревский М.А., Дмитриев А.П. Участие компонентов жасмонатного сигналинга в развитии солеустойчивости *Arabidopsis thaliana*, индуцированной донорами H₂S и NO // Физиология растений. – 2020. – 67. – 5. – С. 482-489. DOI: [10.31857/S001533032005019X](https://doi.org/10.31857/S001533032005019X)

16. Kravets A.P., Sokolova D.A. Epigenetic Factors of Plants' Individual Sensitivity to Phytopathogens // Cytol Genet.. – 2020. - Vol. 54, N 3. - P. 206–210. DOI: [10.3103/S0095452720030068](https://doi.org/10.3103/S0095452720030068)

17. Yastreb T.O., Kolupaev Yu.E., Shkliarevskiy M.A., Dyachenko A.I., Dmitriev A.P. Involvement of Jasmonate Signaling Components in Salt Stress-Induced Stomatal Closure in *Arabidopsis thaliana*. // Cytol Genet. – 2020. - Vol. 54, N 4. - P. 318–323. DOI: [10.3103/S009545272004012X](https://doi.org/10.3103/S009545272004012X)

18. Yastreb T.O., Kolupaev Yu.E., Havva E.N., Horielova E.I., Dmitriev A.P. Involvement of the JIN1/MYC2 Transcription Factor in Inducing Salt Resistance in *Arabidopsis* Plants by Exogenous Hydrogen Sulfide. // Cytol Genet. – 2020. - Vol. 54, N 2. - P. 96–102. DOI: [10.3103/S0095452720020127](https://doi.org/10.3103/S0095452720020127)

19. Шкляревский М.А., Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Луговая А.А., Дмитриев А.П. Кальций-зависимые изменения клеточного редокс-гомеостаза и теплоустойчивости проростков пшеницы под действием донора монооксида углерода // Цитология і генетика. – 2020. - 54. – 6. – С. 522-530.

20. M.A. Shkliarevskiy, Yu.E. Kolupaev, T.O. Yastreb, Yu.V. Karpets, A.P. Dmitriev The effect of CO donor hemin on the antioxidant and osmoprotective systems state in *Arabidopsis* of a wild-type and mutants defective in jasmonate signaling under salt stress. // Ukr. Biochem. J. 2021; V. 93, 3, May-Jun, pp. 39-48.

21. Патент України на корисну модель «Спосіб підвищення вмісту суми фенолів та флавоноїдів у сировині лікарських рослин шляхом передпосівної радіаційної обробки насіння» u 2019 11697 від 6.12. 2019 р.

22. Патент України на корисну модель № 149151 «Спосіб підвищення вмісту антиоксидантів у сировині лікарських рослин шляхом передпосівного УФ-С опромінення насіння» МПК (2006) A01C 1/00 опуб. 20.10.2021, бюл. № 42

15.4. Ідея досліджень.

В основу проєкту покладена ідея про існування складної системи взаємозв'язків між розвитком ураження та включенням/індукцією захисних і репаративних процесів та існування залежності змін в «-омік»–структурі рослини не тільки від природи, але й від тривалості дії фактору, який впливає на характер перебудов у епігеномі і метаболомі рослини та збереження «пам'яті» про дію стресу, включаючи її трансгенераційну передачу.

15.5. Структура досліджень.

Дослідження буде включати вирішення наступних задач.

- В перший рік виконання проєкту буде розпочато серію експериментів, що мають на меті дослідження як короткотривалих, так і довготривалих ефектів дії біотичних та абіотичних стресів.
- Планується включити в дослідження всі традиційні для Відділу види і сорти сільськогосподарських, лікарських так і модельних рослин.

Метою короткострокових експериментів є оцінка взаємодії в залежності від дози формування ознак геномної нестабільності, появи пріоноподібних білків та включення захисних, антиоксидантних та репаративних процесів.

Метою довготривалих експериментів буде дослідження збереження ознак геномної нестабільності і визначеного в короткотривалих експериментах патерну взаємодії ураження із стимуляцією/індукцією захисних і репаративних процесів протягом декількох поколінь.

Всі дослідження орієнтовано на публікації результатів у виданнях з високими показниками цитування – вітчизняних (Q3) та закордонних (Q1, Q2).

Таким чином:

I. Перший етап. Дослідження взаємодії ефектів геномної нестабільності та появи пріоноподібних білків із стимуляцією/індукцією захисних і репаративних процесів в залежності від дози стресового фактора.

З використанням молекулярно – генетичних, біохімічних та методів статистичного аналізу буде досліджено взаємодію ознак геномної нестабільності та стимуляції/включення антиоксидантних та репаративних систем за умов дії малих та середніх доз рентгенівського та УФ-С опромінення. Буде проведено дослідження активності генів, що беруть участь у репараційних процесах та стійкості до стресових чинників за умов гострого та хронічного опромінення рослин (арабідопсис, соя, льон, горох).

Буде використано ITS-ISSR-RAPD-ПЛР, що дозволяє оцінити ефекти геномної нестабільності в різних послідовностях ДНК та ефективності стимуляції при різних дозах ферментативних та неферментативних антиоксидантних систем.

Будуть проведені експерименти по дослідженню короткострокових реакцій рослин на дію еліситорів та створена база для подальших довгострокових досліджень трансгенераційної передачі впливу еліситорів на стійкість до стресових факторів у сільськогосподарських рослин та з'ясування їх епігенетичних ефектів.

II. Другий етап. Дослідження стабільності системного відгуку рослинного організму на дію біотичного та абіотичного стресу та його трансгенераційного збереження.

Дослідження другого етапу виконання проєкту буде зосереджено, крім оцінки стабільності патерну відгуку на дію біотичного та абіотичного стреса у короткострокових експериментах з сільськогосподарськими та модельними рослинами, початку вивчення трансгенераційного збереження системного відгуку.

Буде досліджено стабільність залежності від дози стресового чинника характеру взаємодії між ефектами ураження (ступінь розвитку геномної нестабільності) та захисними, репаративними процесами. Як і всі ефекти малих доз у значній мірі модифікуються різноманітними природними чинниками. Окрім дослідження стійкості радіаційного відгуку за означеними процесами, будуть досліджено епігенетичні механізми трансгенераційної передачі ефектів ураження.

Будуть досліджені біофізичні (активність фотосинтезу) та біохімічні показники (вміст білків, які можуть мати пріонні властивості) у рослин за дії гострого та пролонгованого опромінення. Використання ПЛР з неспецифічними ITS-ISSR-RAPD –праймерами та інфрачервоної Фур'є спектроскопії дозволить перевірити гіпотезу про зв'язок геномної нестабільності та появи пріоноподібних білків.

На основі досліджень першого року виконання проєкту буде розпочате вивчення трансгенераційної передачі впливу елісаторів на стійкість до стресових факторів у рослин та з'ясовані механізми епігенетичних ефектів елісаторів.

III Етап. Дослідження ефективності активних і пасивних захисних епігенетичних механізмів відповіді рослини на довготривалі абіотичні та біотичні стресові фактори.

Будуть досліджено зміни за два роки спостереження протеому сільськогосподарських рослин, патернів метилування ДНК та антиоксидантної системи. При дослідженні цього питання будуть залучені як усталені методи біохімічного аналізу (контроль ферментативних та низькомолекулярних антиоксидантів), так і найсучасніші методи епігенетичного та протеомного аналізу.

Буде продовжено дослідження активність фотосинтезу та біохімічних показників метаболізму (вміст білків, які можуть мати пріонні властивості) у рослин за дії гострого та пролонгованого опромінення. Використання ПЛР з неспецифічними ITS-ISSR-RAPD –праймерами та інфрачервоної Фур'є спектроскопії дозволить перевірити гіпотезу про зв'язок геномної нестабільності та появи пріоноподібних білків.

Будуть продовжені дослідження трансгенераційної передачі впливу елісаторів на стійкість до стресових факторів рослин та з'ясовані механізми їх епігенетичних ефектів. Цей цикл теоретичних досліджень включає також суто практичну спрямованість.

IV. Дослідження видо – та сортоспецифічних епігенетичних механізмів захисту та формування адаптованості до біотичних і абіотичних стресів у сільськогосподарських і модельних рослин на різних етапах онтогенезу.

Роль адаптивних і репаративних змін, а також змін метаболічного патерну рослин під час цвітіння як чутливої фази онтогенезу рослин.

Буде продовжено дослідження зв'язку геномної нестабільності, індукованої опроміненням (рентгенівське, УФ-С, УФ-В) із змінами у структурі протеому та появою атипичних пріоноподібних білків.

У генеративній фазі онтогенезу рослин, під час цвітіння, буде вивчено роль адаптивних і репаративних змін, а також змін метаболічного патерну за дії гострого та хронічного опромінення.

Будуть продовжені дослідження трансгенераційної передачі впливу елісаторів на стійкість до стресових факторів рослин та з'ясовані механізми їх епігенетичних ефектів.

V. Виявлення зв'язку ознак геномної нестабільності та ефективності відновлювальних процесів із неспецифічною адаптованістю до абіотичних та біотичних стресових чинників довготривалої дії.

Будуть проведені заключні етапи протеомного та геномного аналізу рослин за умов трансгенераційної передачі радіаційного пошкодження у рослин сої, льону та арабідопсису. Із застосуванням аналізу баз даних, одержаних в наших попередніх дослідженнях, а також загальнодоступних міжнародних баз даних, буде продовжено протеомний та геномний пошуковий аналіз щодо трансгенераційної передачі радіаційного пошкодження у рослин. На основі п'ятирічних досліджень питання буде зроблено теоретичне узагальнення щодо факторів і механізмів формування адаптивних реакцій на рівні геному і протеому при довготривалих стресових впливах.

Буде продовжено дослідження дії біотичних та абіотичних елісаторів захисних реакцій, індукція з використанням УФ-В опромінення гормезисних та адаптивних процесів, зроблено

певні теоретичні узагальнення щодо стійкості індукції в поколіннях неспецифічної адаптації до біотичного стресу та сформульовані певні рекомендації для сільського господарства .

На лікарських рослинах (ромашка лікарська, шавлія лікарська, звіробій звичайний) в умовах лабораторних, вегетаційних та польових досліджень із використанням молекулярно-біологічних та біохімічних методів (ПЛР, УФ-спектрофотометрія, ВЕРХ), буде досліджено зміни метаболізму лікарських рослин, що відображаються у загальній продуктивності фармацевтичної сировини, та можливість трансгенераційної передачі набутого метаболічного патерну.

15.6. Наявність матеріально-технічної бази для виконання роботи.

Світлові мікроскопи, камери для вирощування рослин, ампліфікатори, інфрачервоний Фур'є спектрофотометр, УФ - спектрофотометр, камери для форефу призначені для детекції генів та визначення рівнів їх експресії методами полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), мультиплексної ПЛР, нисхідної ПЛР, градієнтної ПЛР, зворотньоотранскрипційної ПЛР (ЗТ-ПЛР), а також ампліфікатор новітнього зразка для "real-time" ПЛР.

Витратні матеріали планується купувати за кошти проекту.

16. Техніко-економічне обґрунтування

н е м а є

16.1. Власна оцінка науково-технічного рівня розробки, що пропонується

- немає аналогів у світі або краща за існуючі у світі аналоги
 немає аналогів в Україні
 краща за існуючі в Україні аналоги за всіма основними показниками
 перевищує існуючі в Україні аналогічні розробки за окремими показниками

16.2. Очікувані наукові та науково-практичні результати, об'єкти права інтелектуальної власності (ОІВ), які плануються до впровадження після завершення роботи

н е м а є

16.3. Потенційні споживачі наукових та науково-технічних результатів, об'єктів права інтелектуальної власності (ОІВ)

Країна	Назва підприємства, організації	Найменування результатів, ОІВ
Україна	Міністерство аграрної політики та продовольства України Міністерство екології і природних ресурсів	Рекомендації

17. Об'єкти права інтелектуальної власності (ОІВ), використання яких передбачається під час проведення досліджень (для прикладних досліджень та фундаментальних, де використовуються ОІВ)

н е м а є

18. Фінансові аспекти роботи

18.1. Загальна вартість роботи

18.2. Вартість роботи:

Роки виконання роботи
Вартість виконання робіт

(тис. грн.)

19. Наукові ради (комітети, комісії) НАН України, ради регіональних наукових центрів НАН і МОН України, яких доцільно залучити до експертної оцінки запиту

Наукова рада з проблем навколишнього середовища і сталого розвитку, Міжвідомча наукова рада НАН України та Української академії аграрних наук з проблем агропромислового комплексу

20. Кандидатури можливих експертів у галузі, до якої відноситься робота, що пропонується

Прізвище, ім'я, по батькові	Науковий ступінь, посада
Кірізій Дмитро Анатолієвіч	Д.б.н., професор, провідний науковий співробітник, Інститут фізіології рослин і генетики НАНУ
Прядкіна Галина Олексіївна	Д.б.н., с.н.с., Інститут фізіології рослин і генетики НАНУ
Стасік Олег Остапович	член-кореспондент НАН України, д.б.н., завідувач відділу, Інститут фізіології рослин і генетики НАНУ

21. Додатки, що є невід'ємною частиною запиту:

1. Технічне завдання на виконання роботи за відомчим замовленням (Додаток А).
2. Планова калькуляція кошторисної вартості роботи за відомчим замовленням (Додаток Б) та розрахунки витрат за статтями.
3. Перелік статей накладних витрат (Додаток В).

дата

Директор
ІКБГІ НАН України
член-кореспондент НАН України

_____ М.В. Кучук

(підпис)

М.П.

Науковий керівник роботи

Зав. відділу
ІКБГІ НАН України
д.б.н., с.н.с.

_____ О.П. Кравець

(підпис)

ПОГОДЖЕНО

Директор
ІКБГІ НАН України
член-кореспондент НАН України

_____ М.В. Кучук
(підпис)
« _____ » _____ 20__ р.
М.П.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Академік-секретар ВЗБ НАН України
академік НАН України

_____ В.Г. Радченко
(підпис)
« _____ » _____ 20__ р.
М.П.

ТЕХНІЧНЕ ЗАВДАННЯ**на виконання наукової (науково-технічної) роботи**

«Генетичні і епігенетичні механізми та фактори захисних і адаптивних реакцій рослин»

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України

1. Рішення про затвердження роботи

2. Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки

Фундаментальні наукові дослідження з найбільш важливих проблем розвитку науково-технічного, соціально-економічного, суспільно-політичного, людського потенціалу для забезпечення конкурентоспроможності України у світі та сталого розвитку суспільства і держави

3. Пріоритетний тематичний напрям наукових досліджень і науково-технічних розробок

Фундаментальні проблеми наук про життя та розвиток біотехнологій

4. Код та назва наукового напрямку або проблеми з Основних наукових напрямів та найважливіших проблем фундаментальних досліджень у галузі природничих, технічних і гуманітарних наук (для фундаментальних досліджень)

2.3.1 Молекулярно-біологічні, клітинні та фізіологічні основи функціонування живих систем

5. Основний напрям наукової діяльності установи, за яким проводяться роботи

З'ясування молекулярно-біологічних та молекулярно-генетичних механізмів життєдіяльності рослинних клітин в природних та експериментально створених системах.

6. Мета роботи

Метою роботи є дослідження механізмів та факторів реакції рослин на рівні геному і епігеному на дію гострих та пролонгованих абіотичних і біотичних стресових чинників.

7. Термін проведення роботи:

початок — 01 січня 2023 р. ; закінчення — 31 грудня 2027 р.

Орієнтовний обсяг коштів на виконання роботи в цілому 0 тис. грн.
та по роках

8. Календарний план роботи

№ п/п	Найменування основного етапу роботи	Термін виконання	Відповідальний виконавець
1	<p>Дослідити можливість виникнення геномної нестабільності при дії різних доз стресових факторів, оцінити можливість трансгенераційного збереження цього ефекту, його взаємодії із включенням захисних і репаративних процесів.</p> <p>Провести кількісні оцінки дозових закономірностей цих процесів для сільськогосподарських, лікарських та модельних рослин.</p> <p>Дослідити зміни у протеомі рослин як ті, що пов'язано з розвитком ураження, так і направлені на процеси відновлення.</p> <p>Визначити можливість трансгенераційної передачі модифікації біотичними і абіотичними елісіторами імунного потенціалу сільськогосподарських культур.</p>	01 січня 2018 р. - 31 грудня 2022 р.	<p>член-кор. НАН України, д.б.н., проф., О.П. Дмитрієв; д.б.н., с.н.с., Н.М. Рашидов; д.б.н., с.н.с., О.М. Міхеев; к.б.н., с.н.с., Ю.В. Шиліна.</p>

9. Зміст, основні вимоги до виконання роботи, рівня і способів її виконання

Дослідження має фундаментальний характер та спрямоване на теоретичні узагальнення, визначення складної інтерактивної картини формування адаптації, яка залежить від дози чинника, часу його впливу та дії різноманітних модифікуючих факторів, оскільки саме взаємодія цих двох груп процесів – розвитку ураження та захисних реакцій – визначає можливості та тривалість формування адаптації організму. В основу теоретичних узагальнень будуть покладені не тільки дослідження авторського колективу, які вже були одержані попередньо, але й додатково будуть встановлені значні зміни у «-омік» архітектурі посівних культур, модельних рослин та лікарських трав, що пов'язані із дією хронічного та гострого опромінення, аналіз інформації з міжнародних баз даних по геноміці та протеоміці, робота з найновішими міжнародними літературними джерелами.

Експериментальні дослідження будуть використовувати найсучасніші методи протеомного та молекулярно-генетичного аналізу: двомірний електрофорез, інфрачервону Фур'є спектроскопію, УФ-спектроскопію, ВЕРХ, рестрикційний аналіз, ПЛР з неспецифічними та ген-специфічними праймерами. Акцент на кількісні закономірності формування адаптивних реакцій буде сприяти наближенню фундаментальних досліджень до технологічних впроваджень.

Виконання певних завдань проекту, зокрема, дослідження трансгенераційної передачі ефектів використанням біогенних і абіогенних елісаторів може бути впроваджено в практику у найкоротші терміни. Використання даних суто теоретичних досліджень по стимуляції вторинного метаблізму у відповідь на радіаційно індуковану геномну нестабільність стане підґрунтям для технологічного використання гормезисних і захисних реакцій у фармакологічній практиці.

10. Наукові (науково-технічні) результати, що очікуються за основними етапами та роботою в цілому

Дослідження наблизить до визначення складної інтерактивної картини формування адаптації, яка залежить від дози чинника, часу його впливу та дії різноманітних модифікуючих факторів, оскільки саме взаємодія цих двох груп процесів – розвитку ураження та захисних реакцій – визначає можливості та тривалість формування адаптації організму.

Акцент на кількісні закономірності формування адаптивних реакцій буде сприяти наближенню фундаментальних досліджень до технологічних впроваджень.

11. Прогноз стосовно використання результатів роботи

Дослідження буде спрямоване на теоретичні узагальнення, визначення складної інтерактивної картини формування адаптації, яка залежить від дози чинника, часу його впливу

та дії різноманітних модифікуючих факторів, оскільки саме взаємодія цих двох груп процесів – розвитку ураження та захисних реакцій визначає можливості та тривалість формування адаптації організму. Поглиблення знання про основні закономірності взаємодії захисних і відновлювальних реакцій рослин на дію стресів різної природи буде покладено в основу рекомендацій для сільськогосподарській та фармакологічній практик.

12.Перелік науково-технічної та іншої документації, що надається по завершенню роботи

Поточні і заключний звіт, наукові публікації у виданнях з високим імпаکت-фактором (міжнародні - Q1, Q2, вітчизняні -Q3)

Науковий керівник роботи

Зав. відділу біофізики та радіобіології
ІКБГІ НАН України
д.б.н., с.н.с.

О.П. Кравець

_____ (підпис)

**Планова калькуляція кошторисної вартості наукової (науково-технічної)
роботи**«Генетичні і епігенетичні механізми та фактори захисних і адаптивних
реакцій рослин»

Термін виконання роботи: початок — 01.01.2023 р., закінчення — 31.12.2027 р.

№ п/п	Найменування статей витрат
Разом:	

УСТАНОВА-ВИКОНАВЕЦЬ:Директор
ІКБГІ НАН України
член-кореспондент НАН України_____
(підпис) М.В. Кучук
М.П.Науковий керівник роботи
Зав. відділу
ІКБГІ НАН України
д.б.н., с.н.с._____
(підпис) О.П. Кравець
Керівник планового підрозділу_____
(підпис)
Керівник бухгалтерської служби_____
(підпис) К.О. Галкіна