]УДК: 631. 811. 98 75. 117. 2. 577. 2. 08

МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ СТІЙКОСТІ БУРЯКУ ЦУКРОВОГО ПРОТИ ФІТОПАРЗИТИЧНИХ НЕМАТОД

В.А. ЦИГАНКОВА, кандидат біологічних наук
Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України
Т.Р. СТЕФАНОВСЬКА, кандидат біологічних наук
Національний університет біоресурсів і природокористування
С.П. ПОНОМАРЕНКО, кандидат хімічних наук
Міжвідомчий науково-технологічний центр «Агробіотех» НАН і МОН України
Я.Б. БЛЮМ, доктор біологічних наук, академік НАН України
Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України

В умовах тепличного експерименту встановлено, що обробка насіння композиційними полікомпонентними препаратами з біозахисними властивостями сприяє зменшенню (~ до 45-80 %) проникнення личинок цисто утворювальної нематоди Heterodera shcachtii у корені буряка цукрового на початку вегетації культури. Методом ДОТ-блот гібридизації вперше встановлено, що специфічна антипаразитарна дія препаратів відбувається шляхом стимуляції синтезу в рослинах малих регуляторних si/miRNA.

Ключові слова: буряк цукровий, регулятори росту рослин, бурякова нематода, si/miRNA, ДОТ-блот гібридизація.

Однією з головних проблем сучасного сільського господарства є створення високоефективних і екологічно безпечних агротехнологій, здатних підтримувати стійкість агросистем, спрямованих на посилення використання біологічного захисту рослин від шкідливих організмів, а

також сприяти покращенню якості урожаю. За даними ФАО (Організація з продовольства і сільському господарства) ООН щорічні світові втрати урожаю продовольчих культур становлять приблизно 20-25%. До найпоширеніших і найнебезпечніших шкідників, що вражають такі важливі для сільського господарства культури, як пшениця, кукурудза, ячмінь, соя, ріпак, належать: стебловий кукурудзяний метелик, озима совка, шведська муха, дротяники, люцернова совка, акацієва вогнівка, бульбочкові довгоносики, соєва плодожерка, павутинний кліщ, трипси, ріпаковий квіткоїд, блішки, ріпаковий білан, лучні клопи, попелиці. Не менш актуальною є проблема захисту рослин від таких широко розповсюджених грибкових, бактеріальних та вірусних захворювань, як фузаріоз, церкоспороз, аскохітоз, склеротініоз, пероноспороз, вертицильозне в'янення, борошниста роса, бура листова іржа, бактеріальний опік, жовта мозаїка сої та ін. [9]. Сумарні втрати урожаю сільськогосподарських культур від хвороб, спричинених різними патогенними організмами, в Україні сягають 50%.

Одним із розповсюджених і шкідливих паразитів рослин є нематоди. Втрати врожаю від ураження рослин паразитичними нематодами в різних країнах становлять від 25% до 70%, а за екстремальних умов можуть сягати 90–100 % [9]. Встановлено, що загальні щорічні втрати врожаю від фітогельмінтів у грошовому еквіваленті становлять у світу 100 млрд. доларів США [2]. Найрозповсюдженішим шкідником, що спричиняє гетеродероз буряків цукрових у майже 40 країнах світу є бурякова цистоутворювальна нематода *Heterodera schachtii* Schmidt [10]. Втрати врожаю від цього фітогельмінта становлять 95% від всього комплексу шкідливих організмів культури. В Україні бурякова нематода поширена у Вінницькій, Сумській, Чернігівській, Черкаській, Харківській областях, де втрати врожаю буряків досягають 30 % [11]. Основним методом профілактики шкідника вважається дотримання сівозміни. Існує група культур, які нематода не

вражає: це зернові колосові, зернобобові, кукурудза, картопля, багаторічні трави. Вирощування цих культур сприяє очищенню ґрунту від нематоди. Розміщення цукрових буряків після попередника, який пошкоджується цією нематодою, сприяє збільшенню чисельності популяції шкідника. Особливо великі втрати врожаю від нематоди спостерігаються при вирощуванні буряку цукрового у монокультурі та при великій (до 60-80%) концентрації у сівозміні її культур-господарів. Останніми роками внаслідок збільшення площ вирощування ріпаку зростає ризик підвищення шкідливості бурякової нематоди у бурякових сівозмінах. Таким чином, питання обмеження чисельності цього небезпечного шкідника стає дуже гострим [12].

Надзвичайно важливим для регуляції чисельності фітогельмінтів є використання речовин хімічного чи біологічного походження, менш токсичних та безпечніших для довкілля. За останні роки в Україні все більше поширюється використання вітчизняних антипаразитарних препаратів, найефективнішим з яких є аверком, створений співробітниками Інституту мікробіології та вірусології НАН України, на основі авермектинів – комплексних антипаразитарних антибіотиків (штам-продуцент - грунтовий стрептоміцет *Streptomyces avermitilis*).

Встановлено, що цей препарат підвищує імуннозахисні властивості рослин, прискорює їх ріст та обмежує шкідливість паразитичних організмів – нематод [1]. До нових ефективних вітчизняних препаратів з антинематодною та антипатогенною дією належать також створені в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України разом із Державним підприємством «Міжвідомчим науково-технологічним центром «Агробіотех» НАН і МОН України композиційні поліфункціональні препарати біоген, стімпо та регоплант, біозахисні властивості яких зумовлені синергійним ефектом взаємодії продуктів життєдіяльності в культурі *in vitro* гриба-міксоміцета, вилученого з кореневої системи женьшеню (суміш амінокислот, вуглеводів, жирних

кислот, полісахаридів, фітогормонів, мікроелементів) та комплексних антипаразитарних макролідних антибіотиків, аверсектинів – продуктів метаболізму ґрунтового стрептоміцету *Streptomyces avermitilis* [9]. Стрептоміцети відомі як продуценти не лише антибіотиків, але й таких біологічно активних речовин, які виявляють фітозахисну і рістстимулювальну дію на рослини. Це – різного роду гормони, вітаміни, амінокислоти, каротиноїди, ферменти, токсини й інші речовини, що впливають на ростові процеси рослин, а саме: стимулюють проростання насіння і підвищують врожайність [1].

Як виявлено у проведених нами молекулярно-генетичних дослідженнях [15, 16], ці препарати значно підвищують стійкість рослин проти різних патогенів завдяки стимуляції ними синтезу власне клітинних малих регуляторних РНК (small regulatory RNA), що беруть участь в RNA і (RNA interference) процесі, який прийнято називати як посттранскрипційний сайленсінг генів (PTGS) у рослин, тварин та грибів[5]. Сайленсінг генів – процес, в результаті якого відбувається або деградація, або блокування трансляції молекул-мішеней mRNA, що має велике значення в адаптаційній резистентності до вірусів, у захисті геному від мобільних елементів ДНК, а також в онтогенетичній регуляції експресії генів. Головну участь в сайленсінгу виконують малі регуляторні si/miРНК розміром 22-24 нт [2, 5], що синтезуються з попередників - дволанцюгових dsRNA (double-stranded RNA) транскриптів шляхом ендонуклеазного розщеплення за допомогою РНКаза-III подібних ферментів. Разом із сайт-специфічними ендо- та екзонуклеазами si/miRNA або блокують (сайленсінгують) трансляцію аберантних та недосконалих за структурою власно клітинних мРНК, а також мРНК патогенів та паразитів, або ферментативно розщеплюють ці молекули-мішені мРНК, що і призводить до їх деградації [5, 4].

Метою нашої роботи було визначення можливості за допомогою вказаних композиційних препаратів підсилення синтезу ендогенних малих

регуляторних si/miRNA – як основних складових імунної системи рослин. **МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.** В дослідах використовували рослини буряка цукрового сорту *Beta vulgaris L.*, інфіковані в лабораторних або тепличних умовах цистоутворювальною коренепаразитуючою нематодою *H. shcachtii.* Дослідні рослини обробляли композиційними полікомпонентними препаратами регоплант, стімпо та біоген.

Експерименти з вивчення ефективності антинематодної дії регуляторів росту проводили в умовах теплиці. Насіння рослин буряка цукрового обробляли препаратами регоплант та стімпо, в яких концентрація аверсектину становила 0,05; 0,1; 0,5; 1 та 10 мкг/мл, після чого висаджували в горщечки діаметром 10 см при температурі 25±5 ^{0}C. Для зараження рослин використовували інфекційні личинки цистоутворювальних нематод, які екстрагували з цист. Личинки нематод у кількості 1000 екземплярів вносили в кожний горщик через два тижні після висіву обробленого регуляторами насіння. Як контроль використовували рослини, вирощені з насіння, не обробленого регуляторами росту. Через два тижні рослини викапували та визначали кількість інфекційних личинок, що потрапили у корені. Вплив обробки насіння регуляторами росту вивчали за показниками зменшення відсотку проникнення у корені буряку цукрового личинок нематод.

За допомогою методу молекулярної гібридизації мРНК з si/miRNA перевіряли можливість індукції регуляторами росту рослин синтезу si/miRNA з антинематодною активністю. З цією метою насіння буряку цукрового з високою схожістю пророщували у чашках Петрі на безнематодному водному середовищі (контроль) та із суспензією цист нематод, з яких у процесі інкубації при температурі 23 ^{0}C з'являлись інфекційні личинки нематод (приблизно на 5–7-й день). У паралельних пробах додавали також композиційні препарати регоплант, стімпо, біоген.

Препарати si/miRNA високої чистоти із дослідних рослин виділяли за допомогою раніше розробленого нами методу [16], який застосовували у такій послідовності: 1) виділення сумарного препарату РНК з клітин рослин [13,14], полімерність якого аналізували за допомогою електрофорезу в 1,5 % - вому гелі агарози у присутності 7 М сечовини за методом Локера [6] (гелі фарбували розчином етидіумброміду перед фотографуванням фракцій РНК в ультрафіолеті); 2) розділення полі(А)$^+$мРНК (тобто мРНК) та полі(А)$^-$мРНК на оліго(dT)-целюлозній колонці для подальшого використання полі(А)$^+$мРНК для тестування функціональної активності si/miRNA в безклітинних системах білкового синтезу з проростків пшениці [12, 13, 7]; 3) осадження високомолекулярної полі (А) $^-$мРНК з елюату проводили за допомогою 10% - вого розчину поліетиленгліколя (мол. маса 8000) з 0,5 М NaCl, а si/miRNA - однаковим об'ємом 96%-вого етанолу при мінус 22^{0}С впродовж доби; з колонки полі(А)$^+$РНК знімали 2-3 об'ємами буфера такого складу: 10 мМ Трис-НС1 (рН 7.5), 1 мМ ЕДТА, 0.05 % ДДС-Na [15, 16], а після елюції з колонки полі(А)$^+$мРНК осаджували етанолом; 4) молекулярна гібридизація в розчині 2xSSC низькомолекулярних si/miRNA з фракцією полі(А)$^+$мРНК; 5) нанесення гібридних молекул полі(А)$^+$мРНК з si/miRNA на оліго(dT)-целюлозну колонку з подальшою елюцією з колонки буфером, вказаним у пункті 3; 6) температурна (95^{0}С) денатурація очищених за допомогою колонки гібридних молекул полі(А)$^+$мРНК з si/miRNA; 7) відокремлення полі(А)$^+$мРНК від si/miRNA за допомогою методу фракціонування на оліго (dT) - целюлозній колонці; 8) повторне осадження si/miRNA 96%-вим етанолом та перевіркою чистоти виділених si/miRNA за допомогою електрофорезу у 15%-вому поліакриламідному гелі (ПААГ-електрофорез).

Для дослідів з гібридизації si/miRNA, виділених з дослідних рослин, з мРНК контрольних рослин, перед одержанням si/miRNA, її інтенсивно мітили *in vivo* ^{33}Р за допомогою $Na_2HP^{33}O_4$ [13]. Статистичну обробку

одержаних даних проводили методом дисперсійного (за Стьюдентом) та кореляційно-регресійного аналізів.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ. У проведених лабораторних, тепличних і польових дослідах було визначено, що комплексні поліфункціональні препарати регоплант і стімпо значно підвищують стійкість рослин проти небезпечних паразитів – цистоутворювальних нематод.

Як свідчать експериментальні дані, одержані в умовах теплиці, обробка насіння регуляторами росту регоплант і стімпо пригнічувала проникнення личинок цистоутворювальної нематоди в корені буряку цукрового у перший місяць вегетації культури (табл. 1). Кількість личинок нематод, що потрапили у корені під впливом стімпо, зменшувалась на 67,8%, а під впливом регоплант – на 72,68%. Підвищення концентрації аверсектину зменшувало чисельність личинок, що проникли у корені цукрових буряків при обробці двома препаратами ($p<0,05$). Максимальне (80%) відносно контролю зниження кількості личинок у коренях буряку цукрового спостерігали при концентрації препарату стімпо - 5 мкг/мл.

При обробці регоплантом максимальне зниження проникнення кількості личинок у корені становило 81 % за концентрації препарату 1 мкг/мл.

Встановлено, що підвищення концентрації препаратів не зменшувало подальше проникнення личинок нематод у корені. Так, при обробці рослин препаратами в концентрації, вищій 10 мкг/мл кількість личинок нематод, що проникли у корені цієї сільськогосподарської культури не знижувалась (рис.1).

Таким чином, результати експериментів, проведених в умовах теплиці, свідчать про те, що під дією регуляторів росту регоплант і стімпо зменшується ризик проникнення та накопичення личинок фітогельмінтів у корені буряків цукрових на початку вегетації культури.

1.Ефективність обробки насіння буряку цукрового регуляторами росту проти цисто утворювальної нематоди *H. Schachtii*

Препарат	Концентрація, мкг/мл	Зменшення кількості личинок, що потрапили у корені порівнянно з контролем, %
Стімпо	0,05	49,75
	0,5	70
	1	71
	5	80
	10	69
Регоплант	0,05	52
	0,5	69,7
	1	81,5
	5	80,25
	10	79,75
$НСР_{0,05}$ (найменша суттєва різниця) - 55		

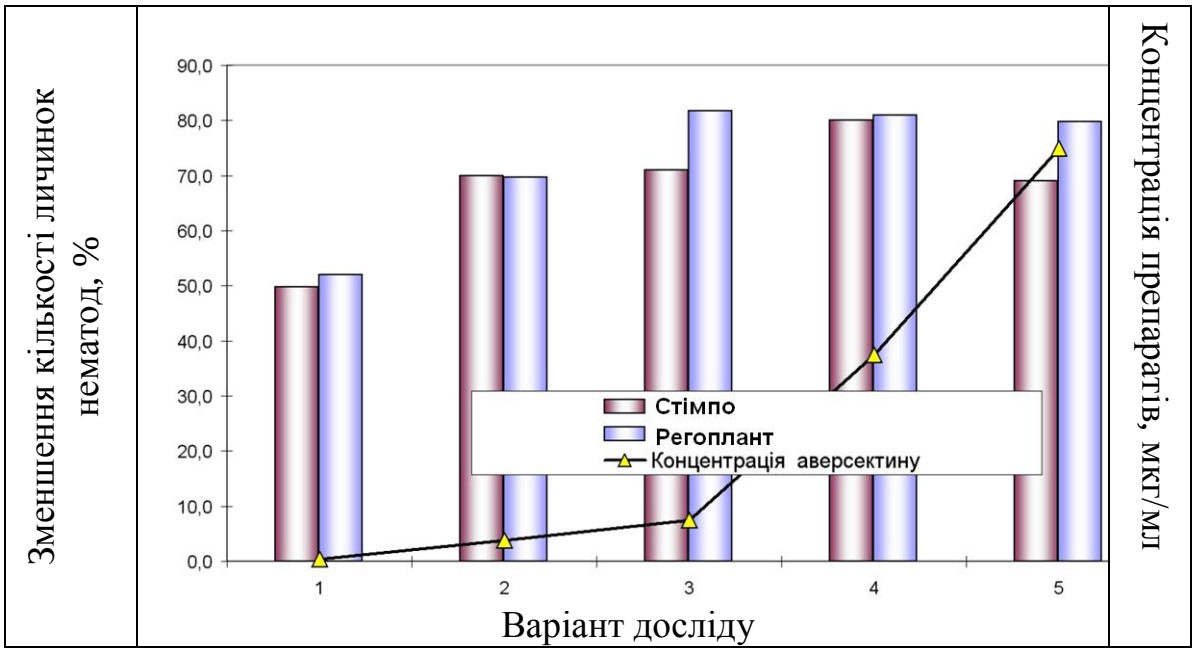

Рис. 1. Вплив обробки насіння буряку цукрового регуляторами росту з різною концентрацією аверсектину на проникнення личинок цисто утворювальної нематоди на початку вегетації культури

У проведених дослідах *in vitro* було також одержано (морфо-фізіологічні показники росту та розвитку проростків буряку цукрового), які підтверджують високу ефективність дії композиційних препаратів проти цистоутворювальної нематоди *H. schachtii*. На рис. 2 показане фото одержаних при вирощуванні на інфекційному фоні (в присутності личинок *H. schachtii*) 5-денних проростків буряку цукрового, з обробленого регулятором росту стімпо в концентрації 5 мкг/мл (А) – дослід та необробленого регулятором росту насіння (Б) - контроль. Як видно, дослідні рослини під впливом регулятора росту стімпо добре ростуть і розвиваються на інфекційному фоні, тоді як контрольні гинуть на 5-й день після пророщування.

А **Б**

Рис. 2. 5-ти денні проростки буряку цукрового, вирощені на інфекційному фоні (в присутності личинок цистоутворювальної нематоди *H. schachtii*):
А –одержані з насіння, обробленого регулятором росту стімпо в концентрації 5 мкг/мл (дослід);
Б - одержані з не обробленого регулятором росту насіння, (контроль).

При проведенні експериментів з вивчення молекулярно-генетичних механізмів дії композиційних препаратів ми виходили з того, що ураження організму різними типами патогенів чи паразитів індукує синтез

специфічних до їх структури мРНК пул si/miRNA і що регулятори росту стимулюють синтез si/miRNA, завдяки чому здійснюється підвищення імунітету рослин за вказаним вище механізмом дії si/miRNA. Отже, відповіді на ці питання можуть допомогти створенню нового покоління регуляторів росту з властивостями вибіркової активації синтезу si/miRNA, специфічних до мРНК того чи іншого патогена або паразита.

Результи ПААГ-електрофорезу, представлені на рис. 3, свідчать, що виділені з проростків буряку цукрового препарати si/miRNA високої чистоти мали розмір 21-25 нуклеотидів, і відповідали класичним параметрам цих типів РНК.

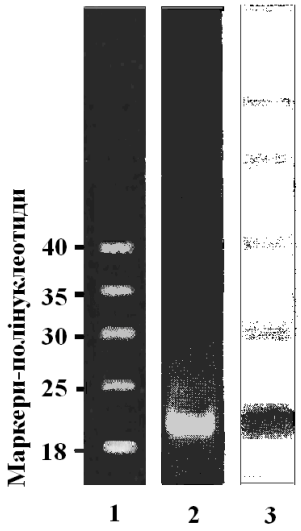

Рис. 3. ПААГ-електрофорез si/miRNA з проростків буряку цукрового. Маркерні полінуклеотиди (в цифрах наведена довжина в нуклеотидах) та препарат si/miRNA на доріжках гелю (відповідно 1 та 2) були насичені етидіум бромідом; радіоавтограф ^{33}P si/miRNA мічених з гелю (доріжка 3).

Результати, наведені у табл. 2, свідчать про зниження рівня синтезу власне клітинних si/miRNA при інфікуванні рослин буряку цукрового личинками нематод, і навпаки, про значне його підвищення під впливом композиційних препаратів стімпо, регоплант з біозахисними властивостями, і сприяє зменшенню ураження нематодами клітин рослин під впливом цих препаратів.

2. Ступінь відмінностей рівня гібридизації популяцій цитоплазматичних P^{33}-мРНК з гомологічними si/miRNA у рослин буряку цукрового, інфікованих нематодою *H. schachtii* та оброблених поліфункціональними композиційними регуляторами порівняно з контрольними рослинами (як контрольні використовували % гібридизації P^{33}-мРНК з гомологічною si/miRNA з рослин, яких не обробляли регуляторами та нематодами), %

Регулятор росту	Контроль	Вміст аверсекти-нів у регуляторах росту, %	Варіант досліду	
			рослини, оброблені регуляторами росту	рослини, оброблені регуляторами росту + нематоди
Біоген (Емістим + аверсектини)	98*	0,2	96±0,54**(2%)	86±0,46**(12%)
		2,5	94±0,72** (4%)	88±0,58** (10%)
		5,0	91±0,66**(7%)	92±0,62**(6%)
Стімпо (Біолан + аверсектини)		0,2	97±0,58**(1%)	82±0,64**(16%)
		2,5	93±0,84**(5%)	84±0,72**(14%)
		5,0	92±0,62**(6%)	87±0,68**(11%)
Регоплант (Радостим + аверсектини)		0,2	94±0,38**(4%)	86±0,48**(12%)
		2,5	92±0,73**(6%)	88±0,52**(10%)
		5,0	88±0,68**(10%)	90±0,38**(8%)

** наявність достовірних відмін порівняно з контролем, $p<0,05$, $n=3$
*у контролі, $p<0,05$, $n=3$

Примітка: ступінь (%) відмінностей вивчали за допомогою методу ДОТ-блот-гібридизації. В дослідах використовували 7-денні проростки буряку цукрового; в дослідні проби (в чашки Петрі) додавали по 20 мкл розчину кожного з композиційних препаратів регуляторів росту. Практично всі проростки буряку, оброблені нематодами без регуляторів росту, гинули на 5-й день інкубації.

Висновки. За допомогою молекулярно-генетичного методу ДОТ-блот гібридизації вперше встановлені популяційні si/miRNA різниці між контрольними проростками буряку цукрового та рослинами, що оброблювались композиційними препаратами регуляторами росту з біозахисними властивостями, а також рослинами, що оброблювали регуляторами на штучно створеному нематодою *H. schachtii* інфекційному

фоні. Ці результати вказують на існування гнучкої системи перепрограмування геному клітин рослин під дією різних зовнішніх регуляторних факторів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Аверком – новий вітчизняний препарат нематоцидної і фітостимулюючої дії / *[Білявська Л.О., Козирицька В.Є., Валагурова В.О., Іутинська Г.О.]* // Сільськогосподарська мікробіологія (Міжвід. тематич. наук. збірник).— Чернігів: ЦНТЕІ. – 2008. — Вип. 7. — С. 22 – 29.

2. RNA interference and plant parasitic nematodes. [*Bakhetia M., CharltonW. L., Urwin P. E. ,et. Al.]* // Trends Plant Sci. – 2005. - V.10, №8. – P. 362 – 367.

3. *Lilley C.J.* Nematode resistance / *C.J .Lilley., P.E. Urwin. / V.L. Fuller* // New Phytol. – 2008. – Vol. 180. – P. 27 – 44.

4. *Vanholme B. /* RNAi from plants to nematodes. / *B. Vanholme, G. Gheysen,* // Trends Biotechnol. – 2006. – Vol. 25, № 3. – P. 89 – 92.

5. Two classes of short interfering RNA in RNA silencing / [*Hamilton A., Voinnet O., Chappell L., Baulcombe D.],* // EMBO Journal. – 2002. – V. 21, № 17. – P. 4671 – 4679.

6. *Locker J.* Analytical and preparative electrophoresis of RNA in agarose-urea / *J.Locker* // Anal. Biochem. — 1979. — V. 98, № 2. — P. 358–367.

7. *Maniatis T.* Molecular cloning: A laboratory manual. / *T.Maniatis, Fritsch E.F., Sambrook J.* – New York: Cold Spring Harbor Lab, 1982. – 480 p.

8. Promega protocols and applications guide. Second edition. – USA: Promega Corporation, 1991. – 422 p.

9. Биорегуляция роста и развития растений. - Глава 4 монографии «Биорегуляция микробно-растительных систем» / [*Пономаренко С.П., ТерекО.И., Грицаенко З.М. та ін.]* – К.: Ничлава, 2010. - 464 с.

10. Pests, diseases and weeds review 2009 / *M. Stevens, M.J. May* // British Sugar Beet Review. - 2010. – V. 78, № 1. - P. 7-10.

11. Агроэкологическое обоснование регуляции численности комплекса нематод сахарной свеклы.: автореф. дис. канд. биол. наук: / *Стефановская Т.Р.* – К., 1992. – 29 с.

12. Challenges to grow oilseed rape *Brassica napus* in sugar beet rotations / *T.Stefanovska, V. Pidlisnyuk* // Commun. Agricult. Appl. Biol. Sci. – 2009. – V. 74, № 2. – P. 573 - 579.

13. An unusual minor protein appearing in embryonic axis cells of haricot bean seeds following germination process stimulated by 6-methylthiouracil / [*Tsygankova V. A., Blume Ya.B. et al.*] // Biopolymers and cell. – 1998. – V. 14, № 5. – P. 438 – 448.

14. Change of functionally active cytoplasmic mRNA populations in plant cells under growth regulators action and biological perspectives of cell-free systems of protein synthesis / [*Tsygankova V.A., Musatenko L.I., Ponomarenko S.P., et.al.]* // Біотехнологія. – 2010.– V. 3, № 2. – P. 19 –32.

15. Gene expression under regulators' stimulation of plant growth and development. - Chapter 3 of the Monograph "New plant growth regulators: basic research and technologies of application" / Ed. S.P. Ponomarenko, H.O. Iutynska. / *Tsygankova V.A., Galkin A.P., Galkina L.O., Musatenko L.I., Ponomarenko S.P., Iutynska H.O.* – K.: Nichlava, 2011. – 211 p.

16. Виділення з клітин рослин малих регуляторних si/miRNA з антинематодною активністю / *В.А.Циганкова., Я.В.Андрусевич., Я. Б. Блюм* // ДАН України. – 2011. – № 9. – С. 159 - 164.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ К ФИТОПАРАЗИТИЧЕСКИМ НЕМАТОДАМ

В.А. Цыганкова, кандидат биологических наук
Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины

Т.Р. Стефановская , кандидат биологических наук
Национальный університет биоресурсов и природопользования
С.П. Пономаренко, кандидат сельскохозяйственных наук
Межведомственный научно-технологический центр «Агробиотех»
НАН и МОН Украины
Я.Б. Блюм, доктор биологических наук, академік НАН Украины
Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины

Результаты тепличного эксперимента показали, что обработка семян свеклы сахарной композиционными поликомпонентными препаратами с биозащитными свойствами способствует значительному (~ до 45-80 %) снижению проникновения инфекционных личинок цистообразующей нематоды Heterodera shcachtii в корни свеклы сахарной в начале вегетации. Методом ДОТ-блот гибридизации впервые показано, что специфическое антипаразитарное действие этих препаратов осуществляется путем стимуляции синтеза в растениях малых регуляторных si/miRNA.

Ключевые слова: *свекла сахарная, регуляторы роста растений, свекловичная нематода, si/miRNA, ДОТ-блот гибридизация.*

MOLECULAR MECHANISMS OF SUGAR BEET RESISTANCE TO PHYTOPARASITIC NEMATODES

Tsygankova V. A, candidate of biological science , Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry, NAS of Ukraine, Kiev
T. R. Stefanovska, candidate of biological science, National University of Life and Environmental Science of Ukraine
Ponomarenko S. P., candidate of agrarian science, National Enterprise Interdepartmental Science & Technology Center "Agrobiotech" of NAS and MES of Ukraine
Blume Ya. B, doctor of biological science , Academician NAS of Ukraine
Institute of food biotechnology and genomics, NAAS of Ukraine, Kiev

Green house experience has shown significant decrease (~ to 45-80 %) in penetration of cyst nematode Heterodera shcachtii second instars juveniles into the roots due to the seeds' treatment by compositional preparations with bioprotective properties. Using method DOT-blot hybridization it is shown at first time that specific antiparasitic action of those preparations is caused by stimulation of synthesis small regulatory si/miRNA at plants.

Key words: *sugar beet, plant growth regulators, sugar beet cyst nematode, si/miRNA, DOT-blot hybridization.*