

solution of bacterial polysaccharides (xanthan) in the ratio of these components 7: 3 in the presence of redox initiators.

The first step was creation of composition that consist of EPAA and EPS xanthan that provides high vitality and glow luminescent bacteria during storage for a month. The best result among the options using the EPAA obtained using a composition of 30% + 70%.

We studied the viable cells of bacteria *P. phosphoreum* IMV B-7071 at different variants compositions of inoculum that storage at different temperatures.

After 30 days of storage when cultured at + 4°C higher than the control and amounted to more than  $10^{10}$  cells / ml. When cultured at + 21°C titer of viable cells decreased significantly over the period of storage.

Found that sticky composition as the substrate improves the duration of luminescence bacteria and provides intensive development of microorganisms in relation to other media.

Microorganisms can be used exopolysaccharides as energy substrates and electron donors in dehydrogenation reactions, which is a mandatory step phase redox processes in the cell of microorganism, as well as sources of carbon metabolism, including the destruction of components in the overall exchange.

Data of luminescence intensity and persistence viability has shown optimal environment for culturing *P. phosphoreum*. It is composition of EPAA and EPS at proportion (70% + 30%) with concentration of 3% NaCl.

Summarize, a gel composition based on natural gum and xanthan EPS EPAA are promising components for improving the properties of microbial preparations with prolonged shelf life and stable properties, and increase the intensity of luminescence bacteria.

*Key words: bioluminescence, Photobacterium phosphoreum, xanthan, exopolyacrylamide*

Рекомендує до друку

Надійшла 16.02.2017

Н. М. Дробик

УДК 575.11

<sup>1</sup>М. А. КРИЖАНОВСЬКА, <sup>2</sup>К. О. БІГУНЯК

<sup>1</sup>Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка

вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 460027

<sup>2</sup>ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»

вул. Майдан волі, 1, Тернопіль, 46001

## **ЗАМІНА РОДЗИНОК НА ВОДНУ ВИТЯЖКУ СУШЕНІ У ПОЖИВНОМУ СЕРЕДОВИЩІ *DROSOPHILA MELANOGASTER* MEIGEN**

У статті представлені результати експериментального вивчення можливості заміни родзинок на водну витяжку сушені у поживних середовищах для розведення *Drosophila melanogaster* Meigen у лабораторних умовах. Встановлено, що новорозроблений рецепт поживного середовища проявляє позитивний вплив на розвиток дрозофіли, а саме: сприяє підвищенню її чисельності у лінії *Normal* на 16,7% ( $P < 0,999$ ), лінії *vestigial* на 26,3% ( $P < 0,95$ ). Підтверджена можливість застосування його у генетичному аналізі під час вивчення аутосомного успадкування прямого ( $\chi^2 = 0,88$ ) та оберненого ( $\chi^2 = 3,42$ ) реципрокних схрещувань, з достовірною вірогідністю, відповідно:  $P > 0,2$  і  $P > 0,05$ .

*Ключові слова: Drosophila melanogaster, розведення дрозофіли, поживне середовище*

*Drosophila melanogaster* займає центральне місце в генетичних дослідженнях, вона була і залишається головним модельним об'єктом в експериментальній біології. Для розробки деяких біологічних питань дрозофіла вперше була використана в лабораторних дослідах Карпентером на початку минулого століття. Протягом наступних років ряд авторів (Т. Морган, А. Стертевант, К. Бріджеса, Г. Меллер, Ф. Добжанський, М. Кольцовим, С. Четвериков, М. Дубінін, Ю. Керкіс, З. Нікора, Р. Берг) інтенсивно вивчали на ній вплив родинних схрещувань та заклали основи уявлень генетики про природу гена, генетичного зчеплення, сегрегації хромосом при мітозі і мейозі, механізмів мутагенезу і рекомбінації, генетичної нестабільності та мікроеволюційних процесів в популяціях [1, 5, 6, 8].

Для розведення *Dr. melanogaster* в лабораторних умовах необхідною умовою є приготування поживного середовища, головними компонентами якого виступають цукор і дріжджі. Цукор вносять у середовище у вигляді сахарози, родзинок, патоки або сусла. Він є тим субстратом, на якому розвиваються дріжджі, які, у свою чергу, служать основною їжею дрозофіли [4].

Враховуючи те, що на сьогоднішній час закупівля родзинок є дорогою, а *Dr. melanogaster* активно використовується не лише у дослідницьких лабораторіях, а й на лабораторно-практичних заняттях з курсу вивчення генетики, як у вищих навчальних закладах, так і у школах з біологічним напрямом, то актуальним постає питання заміни їх більш доступним та економічно вигідним продуктом. Одним із таких фруктів є яблука, дерева яких зустрічаються по всій території України. У зв'язку з тим, що на зимовий період яблука заготовлюються у вигляді сушені, ще більше підкреслює пріоритетність використання їх для поживного середовища на протязі року.

#### Матеріал і методи досліджень

Для розведення мух обрано рецепт базового (дріжджового) поживного середовища, який готувався за загальною методикою [3]. Утримання дослідних мух передбачало заміну родзинок водною витяжкою сушені. Введення сушені передбачало її варіння у 200 мл води протягом 30 хв. Зварений узвар настоювався, перетирався і віджимався за допомогою марлі. Об'єм отриманої водної витяжки сушені вносився у 300 мл поживного середовища після закипання дріжджів. Готові середовища охолоджували і розливали у простерилізовані дрозофільні пробірки. Перед розміщенням мух поверхню поживного середовища покривали шаром сухих дріжджів.

Для узгодження позитивного впливу водної витяжки сушені на розвиток дрозофіли, на кафедрі ботаніки та зоології Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка у 2016 році було поставлене наукове дослідження з вивчення чисельності нащадків *Drosophila melanogaster* із залученням ліній *Normal (N)* та *vestigial (vg)*.

У кожному пробірці поміщалося по 3 самки і 4 самці відповідних ліній. З появою перших лялечок на стінках пробірки батьки вилучалися. Підрахунок нащадків проводили на 14-й день після початку експерименту. Статистичну обробку здійснювали загальноприйнятою методикою [7].

Для перевірки можливості використання під час генетичного аналізу у поживному середовищі водної витяжки сушені було проведено генетичне схрещування, з метою з'ясування узгодження отриманих результатів з теоретично очікуваними відповідно до закону розщеплення за монгібридного схрещування. Експериментальна робота включала схрещування самців і самок *Dr. melanogaster*, які відрізнялися за однією парою альтернативних аутосомних ознак, а саме ліній: *N* і *vg*. Дослідження проводилося реципрокними схрещуваннями. Вірогідність відхилення визначали за допомогою методу  $\chi^2$  Пірсона-Фішера [2].

#### Результати досліджень та їх обговорення

Підрахунок чисельності нащадків ліній *Normal* та *vestigial* поданий у таблиці 1.

Дослідженнями встановлено, що середня кількість мух, отриманих на середовищі з додаванням водної витяжки сушені, перевищувала середню кількість мух, вирощених на контрольному середовищі, а саме: лінія дикого типу *Normal (N)* на 16,7% ( $P < 0,999$ ), лінія *vestigial (vg)* на 26,3% ( $P < 0,95$ ).

Таблиця 1

Середня чисельність нащадків різних ліній *Drosophila melanogaster*, отриманих на піддослідних середовищах, n=5

Середовище	Лінія	Показники				% до контр
		M ± m	σ ± mσ	td	P	
Контроль	N	101,6 ± 13,7	27,4 ± 8,8	7,4	> 0,99	–
	vg	55,0 ± 7,6	15,3 ± 4,9	7,2	> 0,99	–
Сушеня	N	118,6 ± 10,3	20,7 ± 6,6	11,5	< 0,999	+16,7
	vg	69,5 ± 17,4	29,7 ± 10,6	3,9	< 0,95	+26,3

Для проведення генетичного дослідження з використанням піддослідного середовища з водною витяжкою сушені залучалися батьківські особини, які відрізнялися за формою крил. Методика проведення експериментальної роботи від посадки мух до отримання гібридів другого покоління відповідає загальноприйнятій методикам [3].

У попередньо заготовлені пробірки, з піддослідним поживним середовищем, відповідно до прямого реципрокного схрещування (♀ N × ♂ vg) поміщали 3 самки і 4 самці. По закінченню 2-го тижня експерименту проводився аналіз та підрахунок гібридів першого покоління, а також відбір самок і самців на посадку у свіже поживне середовище для одержання гібридів другого покоління, які підраховувались на 14-ту добу Отримані результати гібридних нащадків представлені в таблиці 2.

Таблиця 2

Результати кількісного аналізу прямого (♀ N × ♂ vg) успадкування форми крила у *Dr. melanogaster*

Схема схрещування	Аналіз нащадків						
	всього	♀	♂	Нормальні крила		Редуковані крила	
				♀	♂	♀	♂
Аналіз нащадків F <sub>1</sub> :	187	103	84	103	84	–	–
Аналіз нащадків F <sub>2</sub>	216	109	107	87	81	24	24

Аналізуючи гібриди першого покоління (F<sub>1</sub>) прямого схрещення, нами було встановлено, що всі 187 нащадків одноманітні з крилами нормальної довжини. Необхідно зазначити, що кількість самок і самців приблизно однакова (103 і 84). Підрахунок гібридних мух другого покоління (F<sub>2</sub>) показав, що серед 216 нащадків було виявлено, як з нормальними (168 мух), так і редукованими (48 мух) крилами, а співвідношення самок до самців склало 109 до 107.

Використовуючи метод варіаційної статистики, розраховано, що  $\chi^2 = 0,88$ ,  $\nu = 1$ . Отриману величину  $\chi^2$  з урахуванням ступеня вільності порівнювали зі стандартним значенням таблиці Фішера [7]. Встановлено, що відхилення одержаних даних від теоретично розрахованих випадкове і незначне (P > 0,2), тому результати дослідження достовірні і відповідають II закону Менделя.

Аналіз гібридних нащадків оберненого схрещування (♀ vg × ♂ N) проводили аналогічним чином. Результати дослідження подані у таблиці 3.

Таблиця 3

Результати кількісного аналізу оберненого (♀ vg × ♂ N) успадкування форми крила у *Dr. melanogaster*

Схема схрещування	Аналіз нащадків						
	всього	♀	♂	Нормальні крила		Редуковані крила	
				♀	♂	♀	♂
Аналіз нащадків F <sub>1</sub>	122	63	59	63	59	–	–
Аналіз нащадків F <sub>2</sub>	206	110	96	86	80	24	16

Проаналізувавши гібриди першого покоління ( $F_1$ ) оберненого схрещування, встановлено, що всі 122 нащадки мають крила нормальної довжини. Кількісне співвідношення підрахованих самок (63) і самців (59) приблизно відповідає співвідношенню 1:1. Аналіз гібридів другого покоління ( $F_2$ ) підтвердив очікуваний результат, тобто серед отриманих 206 нащадків зустрічалися мухи, як з нормальними (166), так і з редукованими (40) крилами.

За розрахованою величиною  $\chi^2 = 3,42$  ( $v = 1$ ) встановили, що відхилення одержаних даних від теоретично розрахованих незначні та результати дослідів достовірні ( $P > 0,05$ ).

### Висновки

В результаті проведеного наукового дослідження встановлено, що використання водної витяжки сушені у складі поживного середовища для розведення *Drosophila melanogaster* сприяє підвищенню її чисельності порівняно з контрольним середовищем відповідно: лінія *Normal* на 17 мух ( $P < 0,999$ ) і лінія *vestigial* на 14,5 мух ( $P < 0,95$ ). Генетичним аналізом моногібридного схрещування з'ясована і статистично підтверджена можливість застосування новоствореного середовища під час вивчення аутосомного успадкування, прямого ( $\chi^2 = 0,88$ ) та оберненого ( $\chi^2 = 3,42$ ) схрещувань, з достовірною вірогідністю, відповідно:  $P > 0,2$  і  $P > 0,05$ .

1. Бабков В. В. Московская школа эволюционной генетики / В. В. Бабков. — М.: Наука, 1985. — 216 с.
2. Дегтярова Н. И. Лабораторный і польовий практикум з генетики / Н. И. Дегтярова. — К.: Вища школа. 1973. — С. 72—84.
3. Крижановська М. А. Генетичний аналіз на *Drosophila melanogaster*. Зошит для лабораторних робіт: методичні рекомендації / М. А. Крижановська. — Тернопіль: ТНПУ ім. В. Гнатюка, 2016. — 41 с.
4. Медведев Н. Н. Практическая генетика / Н. Н. Медведев. — М.: Наука, 1966. — 238 с.
5. Музрукова Е. Б. Т. Х. Морган и генетика. Научная программа школы Т. Х. Моргана в контексте развития биологии XX столетия / Е. Б. Музруков. — М.: Грааль, 2002. — С. 67—69.
6. Ратнер В. А. Количественный признак у дрозофилы: генетические, онтогенетические, цитогенетические и популяционные аспекты / В. А. Ратнер, Л. А. Васильев // Генетика. — 1987. — Т. 23, № 6. — С. 107—108.
7. Рокицкий П. Ф. Введение в статистическую генетику / П. Ф. Рокицкий. — Минск: Изд-во "Высшая школа", 1973. — 447 с.
8. Юрченко Н. Н. История открытий на дрозофиле — этапы развития генетики / Н. Н. Юрченко, А. В. Иванников, И. К. Захаров // Вавиловский журнал генетики и селекции. — 2015. — Т. 19, № 1. — С. 39—49.

М. А. Крыжановская, Е. О. Бигуняк

Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка  
ДВНЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского  
МОЗ Украины»

### ЗАМЕНА ИЗЮМА ВОДНОЙ ВЫТЯЖКОЙ СУШЕНЫХ ЯБЛОК В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ *DROSOPHILA MELANOGASTER* MEIGEN

В статье представлены результаты изучения возможности замены изюма водной вытяжкой сушеных яблок в питательной среде для разведения *Drosophila melanogaster* в лабораторных условиях. Установлено, что новоразработанный рецепт питательной среды проявляет положительное влияние на развитие дрозофилы, а именно: способствует повышению ее численности у линии *Normal* на 16,7% ( $P < 0,999$ ), линии *vestigial* на 26,3% ( $P < 0,95$ ). Подтверждена возможность применения его в генетическом анализе при изучении аутосомного наследования прямого ( $\chi^2 = 0,88$ ) и обратного ( $\chi^2 = 3,42$ ) реципрочных скрещиваний с достоверной вероятностью, соответственно:  $P > 0,2$  и  $P > 0,05$ .

Ключевые слова: *Drosophila melanogaster*, разведение дрозофилы, питательная среда

M. A. Kryzhanovska, K. O. Bihunyak

Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University, Ukraine

I. Horbachevsky Ternopil State Medical University, Ukraine

SUBSTITUTING RAISINS WITH DRIED FRUIT EXTRACT IN NUTRIENT MEDIUM FOR *DROSOPHILA MELANOGASTER* MEIGEN

*Drosophila melanogaster* is central in genetic research, it has been and remains the model object in experimental biology.

Prerequisite for breeding *Dr. melanogaster* in laboratory conditions is a nutrient medium, the main components of which are sugar and yeast. Sugar is added into the medium in the form of sucrose, raisins, molasses or wort.

Given that today the purchase of raisins is expensive, and *Dr. melanogaster* are widely used not only in research laboratories but also during laboratory and practical classes in genetics at universities and biology-oriented schools, it is necessary to identify more affordable and cost-effective substitutes for raisins. One of these are dried apples, as apple-trees are widely spread in Ukraine. Due to the fact that dried apples are easy to obtain and preserve, they can be used for the nutrient medium preparation all year round.

In order to confirm the positive impact of dried fruit water extraction upon *Drosophila* development a research was conducted in 2016 at the Department of Botany and Zoology of Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University with the aim to establish the number of *Drosophila melanogaster* offspring involving lines *Normal* (*N*) and *vestigial* (*vg*).

Each tube housed 3 females and 4 males from respective lines. The parents were removed with the appearance of the first pupae on the tube walls. Descendants were counted on the 14th day of the experiment. Analysis of the number of *Normal* and the number of *vestigial* lines has demonstrated that the average number of flies obtained in the medium with the addition of dried aqueous extract exceeded the average number of flies reared on control medium, namely line wild type *Normal* (*N*) 16.7% ( $P < 0.999$ ), the line *vestigial* (*vg*) to 26.3% ( $P < 0.95$ ) and more.

To conduct genetic studies using experimental environment parental individuals were involved, which different form of wings. 3 females and 4 males were placed into the prepared tubes with experimental nutrient medium, according to direct reciprocal mating ( $\text{♀ } N \times \text{♂ } vg$ ). Having analysed the first generation hybrids ( $F_1$ ) direct crossing, we found that all 187 offsprings were uniform with normal-length wings. It should be noted that the number of females and males was approximately equal (103 and 84). Calculation of hybrid second generation flies ( $F_2$ ) showed that among 216 offsprings there were detected flies with normal wings (168) and reduced ones (48), and the female to male ratio was 109 to 107. It was established that the deviation of the obtained data ( $\chi^2 = 0.88$ ) from the theoretically calculated ones was random and insignificant ( $P > 0.2$ ), therefore the research results are credible and meet the second law of Mendel.

Analysis of the hybrid offspring from inverse mating ( $\text{♀ } vg \times \text{♂ } N$ ) was performed in the same way. Having analysed the first generation hybrids ( $F_1$ ) reverse crossing, we found out that all 122 offsprings had normal length wings. The proportion of females counted (63) and male (59) roughly corresponds to the ratio of 1:1. The analysis of second generation hybrids ( $F_2$ ) confirmed the expected result, among 206 offsprings received there were flies with normal wings (166) and with reduced wings (40). Based upon the calculated value of  $\chi^2 = 3.42$  it was found out that deviation of the data obtained experimentally from the theoretically calculated ones are insignificant and the test results are reliable ( $P > 0.05$ ).

*Key words: Drosophila melanogaster, breeding of Drosophila, the nutrient medium*

Рекомендує до друку

В. В. Грубінко

Надійшла 07.02.2017