



УДК 620.92

ВИЗНАЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ ТРАНСГЕННИХ РОСЛИН ОРХІДЕЇ *DENDROBIUM LINGUELLA* RCHB. F, ЩО МІСТЯТЬ ГЕНИ *BAR* ТА *CYP11A1* ЦИТОХРОМУ *P450scs*

М.В. Шинкарчук^{1,2}, В.А. Рудас², О.В. Марковський², Т.М. Кирпа-Несміян²,
Б.В. Моргун², О.О. Овчаренко², Р.В. Іванніков³, О.І. Ситнік¹

¹ Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут»
пр. Перемоги, 37, Київ-56, 03056

² Інститут клітинної біології і генетичної інженерії НАН України,
Україна 03143 м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 148,

³ Національний ботанічний сад ім. Гришка НАН України
Україна, 01014, м. Київ, вул. Тімірязєвська, 1
e-mail: malvina.schinar4uk@yandex.ua

Використання генетичної трансформації рослин є одним із найперспективніших методів отримання рослин з підвищеною продуктивністю та стійкістю до гербіцидів за доволі короткий період часу.

Метою роботи було визначення антиоксидантної активності трансгенних рослин *Dendrobium linguella* з підвищеною біологічною продуктивністю та стійкістю до гербіцидів. Дані рослини були отримані методом агробактеріальної трансформації в Інституті клітинної біології та генетичної інженерії НАН України. Трансгенні рослини містять у своєму геномі ген *sup11A1*, який кодує мітохондріальний цитохром *P450scs*, та ген *bar*, який є селективним і кодує стійкість до таких комерційних контактних гербіцидів суцільної дії як Basta, Bialaphos, Glufosinate. Отримані орхідеї випереджають рослини дикого типу за швидкістю росту і розвитку надземної і підземної частин, вмістом водорозчинного білку, вуглеводів і крохмалю [1].

Активність супероксиддисмутази в трансгенних клонів рослин *Dendrobium linguella* (17 рослин) визначали, використовуючи метод фотохімічного окислення нітроблакитного тетразолію [2]. Для приготування рослинних екстрактів листки рослин (100 мг) поміщали в охолоджену фарфорову ступку, додавали 1 мл 50 мМ Tris-HCl буферу (pH 8,0) та розтирали. Отриманий гомогенат кількісно переносили в пробірку Eppendorf (1,5 мл) та центрифугували протягом 15 хв при 13000g (+40C). Отриманий супернатант використовували для дослідження. Реакцію з нітроблакитним тетразолом проводили в пробірках Eppendorf (1,5 мл). Реакційна суміш складалася з 10 мкл рослинного екстракту, 540 мкл буферу, 130 мкл 65 мМ метіоніну, 47 мкл 630 мкМ нітроблакитного тетразолію, 12,5 мкл 1 мМ рибофлавіну. Одну пробірку кожного зразка залишили в темноті, а іншу освітлювали протягом 5 хв в термостаті при 26°C лампою білого кольору. Визначали абсорбцію при 550 нм реакційною сумішшю, яка витримувалась на світлі, проти поглинання світла пробою, яка витримувалась в темноті, на фотометрі BioPhotometer (Eppendorf) v.1.35. нульова проба містила всі перелічені компоненти за винятком рослинного екстракту (кількість буфера збільшувалась в реакційній суміші до 550 мкл). Активність СОД виражали в од.акт./мг білку.

В досліджених трансгенних зразках антиоксидантна активність значно відрізнялася від контролю (нетрансформованої *Dendrobium linguella*), що підтверджує трансформацію цільового гену в геном рослин.

Література:

1. Рудас В. А. Отримання трансгенних рослин картоплі стійких до гербіциду БАСТА, що містять ген *sup11A1* цитохрому *P450scs* / Рудас В. А., Шаховський А. М.,



Моргун Б.В., Матвєєва Н. А., Кучук М. В. - Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України.

2. Beyer W.F. Assaying for superoxiddismotase activity some large consequences of minor changes in conditions / Beyer W.F., Fridovich I. // Anal.Biochem. – V. 161, N2. – 1987. – P. 559-566. 

METHODS OF SEMICONDUCTOR SPECTROSCOPY FOR STUDIES OF THE ECOLOGY OF FLORA AND AGRICULTURAL CROPS

A.P. Glinushkin¹, Y.V.Rud'², V.Hpunt², I.S. Kudryashova³, V.Y. Rud'^{1,3}

¹ *All Russian Research Institute of Phytopathology*

Moscow Region, Russia,

² *The Ioffe Institute*

St Petersburg, Russia,

³ *Peter the Great Saint-Petersburg Polytechnic University*

St Petersburg, Russia,

e-mail: glinale@gmail.com

Optical spectroscopy method is one of the most environmentally friendly in enhancing the implementation of the biological productivity of potato plants. In particular, the spectral contour photoluminescence leaves, tubers can diagnose and possible subsequent treatment (protection) of plants against pathogens.

The development of this method in the framework of the project will allow you to find interdependent parameters, which will become a new growth point for system diagnosis-treatment based on methods of optical spectroscopy that will give Russian science a global priority in the production of healthy potatoes.

The benefits generated as a result of the project implementation a priority of the global system is eco-friendly, non-destructive effects, high sensitivity and unique healing effects. The rapid development of biological and agricultural Sciences, caused by the need to feed an increasing world population dictates the importance in-depth study of the structure and function of living systems. Knowledge of these questions enables you to improve the situation with plant breeding, the development of sustainable of agriculture, increase the comfort of human life. In this regard, increasing the need to use research well Proven in other scientific questions and experimental techniques methods.

Recently there has been increased use of research methods of various characteristics of the optical properties of plants.

Virtually unknown experiments in which green plant objects were studied after solid-state semiconductor samples. However, the application of the photoluminescence in the green leaves of *Allium Sativum* L. and green leaves and petals of *Calendula officinalis* L. under excitation by radiation of an argon laser ILA-120-1 Carl Zeiss c excitation energy hwexc = 2,1; 2,50; 2,54; 2,6; 2,71 eV, showed that the PL spectra for green leaves in all cases represent the two closely spaced bands. It is important to note that the energies of both bands for different types of plants did not differ from each other. When you change the flux density of the exciting radiation was observed in the linear law dependence of the photoluminescence intensity from the flux density. Thus the spectral contour of the luminescence and the energy position of peaks and ratio of their value remained unchanged. The analysis of the research results for fragments of the flower shows that the efficiency drops by 2-3 orders of magnitude compared to a green plant with a maximum significantly shifted to shorter wavelengths [1,2]. The results of the study of the photosensitivity of heterocontact formed by the green plant leaf, and the semiconductor p-CuInSe₂ have shown that these structures detect the broadband photosensitivity in natural and