

Оценка влияния гамма-облучения семян на развитие и активность ферментов антиоксидантной системы *Lupinus angustifolius* L.

Ханова А.*, Смирнова А., Блинова Я., Бондаренко Е.

ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Обнинск, Россия
* micenyk-anastasi@mail.ru

Ключевые слова: *Lupinus angustifolius*; гамма-излучение; параметры прорастания; CAT; POX; APX

Мотивация и цель: Необходимым этапом для увеличения производства сельскохозяйственных кормовых культур с высоким содержанием легко усвояемого белка является расширение генетического разнообразия возделываемых зернобобовых культур, в частности холодостойкого и скороспелого люпина узколистного (*Lupinus angustifolius* L.). И радиационный мутагенез – это один из самых эффективных методов выведения новых сортов зернобобовых культур с различными ценными сельскохозяйственными признаками, поскольку частота возникновения спонтанных мутаций довольно низка [1]. В связи с этим для разработки протокола радиационного мутагенеза в отношении отечественных сортов люпина узколистного на примере сорта Белорозовый 144 была проведена серия радиобиологических экспериментов, финальная цель которых – определение оптимальных для индукции мутаций доз γ -излучения. Также целью работы являлась оценка влияния γ -излучения в дозах 25–1200 Гр на параметры прорастания, развитие и активность ферментов антиоксидантной системы проростков *L. angustifolius* для проведения ряда других фундаментальных радиобиологических исследований.

Методы и алгоритмы: Сухие семена отечественного сорта люпина узколистного Белорозовый 144 (любезно предоставленные ВНИИ люпина – филиал ФГБНУ «ФНЦ кормопроизводства и агроэкологии им. В.Р. Вильямса», г. Брянск) облучали в дозах 25, 50, 100, 200, 400, 800 и 1200 Гр при мощности дозы 90 Гр/ч на уникальной научной установке ГУР-120 (^{60}Co , ВНИИРАЭ) в трех повторностях по 30 семян в каждой. Культивирование контрольных и облученных семян люпина узколистного проводили в контролируемых условиях климатической камеры. Содержание ферментов антиоксидантной системы () анализировали при помощи спектрофотометра “NanoDrop OneC”. Статистическую обработку результатов осуществляли непараметрическими методами в средах программирования R (версия 4.2.3) и Python (версия 3.11).

Результаты: Взвешенный процент прорастания семян люпина узколистного статистически значимо уменьшился с увеличением дозы. Так, статистическая значимая разница выявлена при дозах 50 и 100 Гр и при дозах в диапазоне от 400 до 1200 Гр. С увеличением дозы также статистически значимо увеличилось среднее время прорастания семян по сравнению с контрольной группой, кроме группы, облученной в дозе 50 Гр. Скорректированный индекс энергии прорастания семян под влиянием гамма-излучения статистически значимо снижен

по сравнению с растениями в контрольной группе. Оценка фаз развития проростков люпина узколистного показала, что дозы 800 и 1200 Гр оказали негативное влияние как на скорость появления истинных листьев, так и на способность *L. angustifolius* их образовывать. В контроле и в группах, облученных в дозах 50, 100 и 200 Гр, истинные листья появились на 24 часа раньше (на пятые сутки прорастания), чем в группах, облученных в дозах 25 и 400 Гр (на шестые сутки прорастания). И на 48 часов раньше, чем в группах, облученных в дозах 800 и 1200 Гр (на седьмые сутки прорастания). Анализ показателей активности ферментов антиоксидантной системы в тканях первых истинных листьев люпина узколистного показал статистически значимое увеличение активности аскорбатпероксидазы (APX) в группах воздействия γ -излучения в дозах 800 и 1200 Гр по сравнению с контролем. Активность каталазы (CAT) также статистически значимо увеличилась в группах воздействия γ -излучения в дозе 50 Гр и в диапазоне доз от 200 до 1200 Гр. Что касается активности гваяколовой пероксидазы (POX), то показатель активности данного фермента статистически значимо повышен в группах, подвергшихся γ -излучению в диапазоне доз от 50 до 1200 Гр. Также в результате эксперимента выявлена доза гамма-излучения, вызывающая 50 % уменьшение длины гипокотилия (RD50) для сорта Белорозовый 144 люпина узколистного. Величина RD50 составила 770 Гр.

Выводы: Таким образом, дозы выше 400 Гр для люпина узколистного при разработке протоколов радиационного мутагенеза будут расцениваться как ингибирующие. Для дальнейших радиобиологических исследований рекомендуется использовать дозы в диапазоне от 100 до 400 Гр.

Assessment of the impact of gamma irradiation of seeds on the development and activity of antioxidant enzyme systems in *Lupinus angustifolius* L.

Khanova A.*, Smirnova A., Blinova Ya., Bondarenko E.

Russian Institute of Radiology and Agroecology of National Research Centre "Kurchatov Institute",
Obninsk, Russia

* miceniyk-anastasi@mail.ru

Key words: *Lupinus angustifolius*; gamma radiation; parameters of germination; CAT; POX; APX

Motivation and Aim: An essential step to increase the production of high-protein easily digestible forage crops is to expand the genetic diversity of cultivated grain legumes, in particular, the cold-resistant and fast-ripening narrow-leaved lupine (*Lupinus angustifolius* L.). Radiation mutagenesis is one of the most effective methods for breeding new varieties of grain legumes with various valuable agricultural traits, as the frequency of spontaneous mutations is quite low [1]. Therefore, a series of radiobiological experiments was conducted to develop a protocol for radiation mutagenesis regarding domestic varieties of narrow-leaved lupine, using the Belorozovyi 144 variety as an example. The ultimate goal was to determine the optimal doses of gamma radiation for inducing mutations. Additionally, the study aimed to assess the impact of gamma radiation doses ranging from 25 to 1200 Gy on germination

parameters, development, and antioxidant enzyme activity of *L. angustifolius* seedlings for conducting a series of other fundamental radiobiological research studies.

Methods and Algorithms: Dry seeds of the domestic variety of narrow-leaved lupine, Belorozovyi 144 (kindly provided by the All-Russian Research Institute of Lupine – branch of the Federal Scientific Center for Feed Production and Agroecology named after V.R. Williams, Bryansk) were irradiated at doses of 25, 50, 100, 200, 400, 800, and 1200 Gy with a dose rate of 90 Gy/h on the unique scientific setup GUR-120 (60Co, VNIIRAER) in three replications of 30 seeds each. Cultivation of control and irradiated narrow-leaved lupine seeds was carried out under controlled conditions in a climatic chamber. The content of antioxidant system enzymes was analyzed using a NanoDrop OneC spectrophotometer. Statistical analysis of the results was performed using non-parametric methods in programming environments R (version 4.2.3) and Python (version 3.11).

Results: The weighted percentage of germination of narrow-leaved lupine seeds significantly decreased with increasing dose. A statistically significant difference was found at doses of 50 and 100 Gy, as well as at doses ranging from 400 to 1200 Gy. Additionally, with increasing dose, the average germination time of seeds significantly increased compared to the control group, except for the group irradiated at 50 Gy. The corrected seedling energy index under the influence of gamma radiation was significantly reduced compared to plants in the control group. Assessment of the development phases of narrow-leaved lupine seedlings showed that doses of 800 and 1200 Gy had a negative impact on the speed of true leaf emergence and the ability of *L. angustifolius* to form them. In the control and groups irradiated at doses of 50, 100, and 200 Gy, true leaves appeared 24 hours earlier (on the fifth day of germination) than in groups irradiated at doses of 25 and 400 Gy (on the sixth day of germination). They also appeared 48 hours earlier than in groups irradiated at doses of 800 and 1200 Gy (on the seventh day of germination). Analysis of the activity of antioxidant system enzymes in the tissues of the first true leaves of narrow-leaved lupine showed a significant increase in ascorbate peroxidase (APX) activity in groups exposed to gamma radiation at doses of 800 and 1200 Gy compared to the control. Catalase (CAT) activity also significantly increased in groups exposed to gamma radiation at a dose of 50 Gy and in the dose range from 200 to 1200 Gy. Regarding guaiacol peroxidase (POX) activity, the activity of this enzyme was significantly increased in groups exposed to gamma radiation in the dose range from 50 to 1200 Gy. Additionally, the experiment identified the gamma radiation dose causing a 50 % reduction in hypocotyl length (RD50) for the Belorozovyi 144 variety of narrow-leaved lupine, with the RD50 value being 770 Gy.

Conclusion: Therefore, doses above 400 Gy for narrow-leaved lupine in the development of radiation mutagenesis protocols will be considered inhibitory. For further radiobiological studies, it is recommended to use doses in the range of 100 to 400 Gy.

Список литературы/References

1. Новик Н.В., Гераськин С.А., Якуб И.А. Влияние γ - облучения семян на внутрисортную изменчивость количественных признаков люпина. Радиационная биология. Радиоэкология. 2022;62(6):620-628