

Оценка редокс-статуса генетически варьируемых *in vitro* культур гибридной березы по данным активности пероксидазы и каталазы

А.В. Константинов^{1*}, Т.Н. Куделина², С.В. Пантелеев¹

¹ Институт леса НАН Беларуси, Гомель, Республика Беларусь

² Институт экспериментальной ботаники им В.Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

* avkonstantinof@mail.ru

Цель: Изучить особенности антиоксидантных систем и провести сравнение редокс-метаболизма культур тканей соматоклональных вариантов гибридной березы с различной способностью к морфогенезу для выявления их физиолого-биохимического потенциала.

Материалы и методы: Регенерацию микропобегов гибридной (*Betula pubescens* Ehrh. × *B. pendula* Roth.) березы клона 52-84/8 осуществляли из первичных каллусных культур, инициированных из соматических тканей листьев, полученных на апикальных сегментах ветвей в лабораторных условиях. Использовали модифицированную питательную среду Мурасиге и Скуга (MS), дополненную 6-бензиламинопурином, индоллил-3-масляной кислотой и тиадазурином в концентрациях 5,0, 0,4 и 0,1 мг/л⁻¹ соответственно. Генетический анализ на основе RAPD-метода с использованием эмпирически подобранного набора праймеров UBC-106, UBC-154, UBC-203, UBC-254, UBC-268 показал различия отдельных линий регенерантов *in vitro*, культивируемых как самостоятельные с присвоением шифров Sch1-Sch9 (соматоклоны) Sch10 (контрольная линия). Активность ферментов АОС определяли спектрофотометрически: каталазы – по методу Luck (1965), пероксидазы – методом Kumar (1982) в расчете на содержание белка, определяемого по Bradford (1976) по реакции с Кумасси.

Результаты: От пассажа к пассажиру отмечали неравномерность роста линий березы и морфологические различия отдельных вариантов. После 1,5 месяцев культивирования на четвертом пассаже регенеранты Sch1, Sch2 и Sch9 характеризовались формированием утолщенных и ветвящихся (до 8 шт. боковых побегов) стеблей со слабым развитием листовых пластинок, практически лишенных черешков. Так у линий Sch1 и Sch2 их длина не превышала 3 мм, а у растений линии Sch9 наблюдалась почти полная редукция листьев. Интересным оказался и характер роста междоузлий регенерантов: удлиненные (1–1,5 см и более) участки чередовались с сильно укороченными (менее 0,5 см), при этом именно на укороченных фрагментах происходило интенсивное ветвление. Регенеранты остальных линий проявляли нормальную морфологию. В то же время междоузлия регенерантов линий Sch3 и Sch7 вытягивались и достигали длины 12–15 мм. За счет этого увеличивалась средняя длина побегов, которая составляла 49,8±10,9 и 44,6±12,2 мм соответственно, превышая показатели остальных вариантов. Устойчивость культивируемых клеток растений к окислительному стрессу может служить фактором, обуславливающим особенности их регенерационного потенциала. Измерения активности ферментов АОС выявило ряд существенных различий для изучаемых соматоклональных линий. В отношении каталазы отмечено, что показатели регенерантов Sch1, Sch4 и Sch7 находились на уровне контрольной группы (Sch10), в то время как активность данного фермента в растениях линий Sch3, Sch6 и Sch8 в 2,1, 2,5 и 2,7 раза была выше контрольных значений. Активность каталазы у регенерантов Sch2, Sch5 и Sch9 оказалась существенно (в 4,2–4,7 раза) выше, чем у микроклонов контрольного варианта, что может говорить об устойчивости культивируемых клеток растений к окислительному стрессу и служить фактором, обуславливающим стабильность морфогенеза. Анализ активности пероксидазы установленный для линий Sch1-6 и Sch8 оказался в 2–8 раз ниже уровня для контрольной группы. Растения в контроле и линиях Sch7, Sch9 на момент измерений по активности пероксидазы существенно не различались. Редокс-статус играет существенную роль в регуляции ростовых и обменных процессов растений, определяет биосинтетический потенциал в отношении целого ряда метаболитов, при этом культуры, характеризующиеся различной степенью устойчивости к воздействию активных форм кислорода, могут отличаться и чувствительностью к агентам, индуцирующим окислительный стресс, что может быть использовано в ходе предварительного отбора клонов для вовлечения в селекционный процесс.

Выводы: Таким образом, микрорастения, полученные способом непрямого морфогенеза в культуре соматических тканей, характеризующиеся существенной морфологической изменчивостью, отличались по показателям активности ферментов антиоксидантной системы. Редокс-метаболизм линий регенерантов может выступать в качестве потенциального маркера для комплексной оценки их адаптивной способности в ходе физиологических тестов при клеточной селекции *in vitro*.

Финансирование: Исследование выполнено в ходе выполнения задания 5-08 подпрограммы «Промышленные биотехнологии – 2025» государственной научно-технической программы «Перспективные химические и биологические технологии» на 2021–2025 годы.