

ФЕНОТИПИРОВАНИЕ КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДИКИ ЗАМЕНЫ СРЕДЫ

Самохина В.В., Шашко А.Ю., Войтехович М.А., Мацкевич В.С., Бондаренко В.Ю., Смолич И.И., Демидчик В.В.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Корневая система растений остается наименее изученным объектом в плане ее фенотипа, а также особенностей регуляции роста и развития. В этой связи высоко актуальной является разработка соответствующих методик оценки фенотипа и измерения ростовых параметров корневой системы с использованием современных подходов цифрового фенотипирования и стандартизированных ростовых тестов, в особенности, на базе синхронных лабораторных культур. Целью настоящей работы было разработать методики неинвазивного тестирования модификаций роста и развития корневой системы модельных растений на базе техники замены среды и цифрового анализа изображений. В качестве объектов исследования служили растения *Arabidopsis thaliana* и *Triticum aestivum*. Дополнительно одна из систем тестирования была апробирована на *Hordeum vulgare*, *Pisum sativum* и *Helianthus annuus*. Для *Arabidopsis thaliana* был разработан тест в стерильных условиях для вертикальной корневой культуры, выращиваемой в чашках Петри на поверхности стерильной гелевой среды (PhytigelTM), содержащей 100% микро- и макросолей по прописи Мурашиге и Скуга (МС; Duchefa), 1% сахарозы. Культура *Arabidopsis thaliana* (дикие экотипы, трансгенные растения и мутантные линии) подращивалась в течение 4-5 суток, затем гелевая среда ниже уровня кончиков корней удалялась без повреждения корней, и освободившееся пространство заполнялось средой, содержащей тестируемые рост-модифицирующие агенты. В дальнейшем регистрировался рост и развитие растений на протяжении 5-7 суток. Локализация кончика корня помечалась маркером на дне чашки Петри, производилась фотосъемка в режиме HSV, размеры корня измерялись автоматически при помощи программы ImageJ и собственной оригинальной программы анализа изображений, разработанной с использованием алгоритмов компьютерного зрения. Верификация данных производилась вручную. В качестве рост-модифицирующих обработок были испытаны различные уровни NaCl, Ni²⁺, Al³⁺ (при pH 4,5), L-аскорбата, H₂O₂, брассиностероидов, ауксинов и др. Для сравнения были проведены тесты по анализу воздействия данных агентов с момента прорастания («прорастание + рост»; агент добавлялся в среду культивирования до высадки семян). Было установлено, что разработанные тесты по замене среды обладают высокой степенью гомогенности данных, а полученные при помощи них результаты отличаются от тестов на «прорастание + рост», т.е. в них более адекватно производится оценка ростовых показателей. В случае *Triticum aestivum* и других растений с крупной корневой системой были разработаны и использованы крупные плоские стеклянные сосуды с системой продольных ячеек, в которые помещались корни молодых проростков. После высадки корней сосуды заполнялись контрольным низкосолевым питательным раствором, который в дальнейшем заменялся на тестовый раствор, содержащий рост-модифицирующие агенты. Камера и растворы были открытого типа (нестерильные условия), для устранения инфицирования использовалась барботажная система, прокачивающая воздух через весь объем экспериментальной камеры. Регистрация изображений и маркировка локализации кончика корня производилась таким же образом, как и для пластиковых чашек. Данный тест показал высокую эффективность для исследования воздействия ряда рост-модифицирующих агентов на корневую систему растений пшеницы. Кроме того, благодаря прозрачным стенкам сосудов, удалось получить и проанализировать внешний вид корневой системы *Triticum aestivum* и изучить модификацию ее архитектуры в ответ на ключевые стрессоры и важнейшие фитогормоны.