

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА РАЗНЫХ МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КЛЕТОК ЭХИНАЦЕИ ПУРПУРНОЙ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Воронова В.А., Дитченко Т.И.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь; ditchenko@bsu.by

При работе с каллусными и суспензионными культурами растительных клеток необходимо контролировать их жизнеспособность как в ходе цикла выращивания, так и для выявления их реакции на действие различных факторов. Большинство методов, позволяющих определить жизнеспособность клеток растений, основано на использовании прижизненных красителей. Это могут быть вещества, которые включаются интактными клетками, либо вещества, участвующие в метаболизме и способные к флуоресценции или к образованию окрашенных продуктов. В настоящей работе было предпринято определение жизнеспособности культивируемых *in vitro* клеток эхинацеи пурпурной с помощью тетразолиевого метода и витального красителя нейтрального красного (НК), а также проведена сравнительная оценка возможностей их использования для экспресс-анализа. Первый метод основан на регистрации метаболической активности клеток (способность к восстановлению 2,3,5-трифенилтетразолий хлорида (ТТХ) в формазан), второй – целостности и нативности клеточных мембран (плазмалеммы и тонопласта). Объектом исследования служила суспензионная культура эхинацеи пурпурной, выращиваемая в условиях термостата при температуре 25°C в темноте на питательной среде по прописи Мурасиге и Скуга с добавлением фитогормонов. Установлено, что использование витального красителя НК для суспензионной культуры эхинацеи пурпурной, которая характеризуется достаточно высокой степенью агрегированности и содержит клеточные группы и агрегаты, состоящие из десятков клеток, не позволяет провести корректную количественную оценку процента жизнеспособных клеток. Для решения данной проблемы был применен тетразолиевый метод как спектрофотометрический подход, который не требует проведения процедуры микрофотоирования и длительного подсчета количества живых клеток в препарате. Использование указанного метода для оценки жизнеспособности и метаболической активности клеток суспензионной культуры эхинацеи пурпурной в ходе ростового цикла позволило установить, что при переходе из лаг-фазы в фазу экспоненциального роста дегидрогеназная активность клеток резко возрастала (более чем в 2 раза), затем к стационарной фазе способность клеток восстанавливать ТТХ снижалась (в среднем в 1,5 раза). Еще более выраженное снижение дегидрогеназной активности клеток происходило в позднюю стационарную фазу (25-е сут). Таким образом, при оценке жизнеспособности и метаболической активности средне- и сильноагрегированных суспензионных культур тетразолиевый метод представляет собой более удобный вариант для скрининговых исследований.