

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**  
**БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**  
**БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ**  
**Кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений**

**ХАРЬКОВА**  
Вероника Дмитриевна

**РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *IN VITRO* И  
ЦИФРОВОГО ФЕНОТИПИРОВАНИЯ *CHAENOMELES JAPONICA***

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:  
старший преподаватель  
Шашко А.Ю.

Допущена к защите

«\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 г.

Зав. кафедрой клеточной биологии и биоинженерии растений  
кандидат биологических наук, доцент Смолич И. И.

Минск, 2021

# ОГЛАВЛЕНИЕ

|                                                                                                       |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....                                                                   | 4  |
| РЕФЕРАТ .....                                                                                         | 5  |
| ВВЕДЕНИЕ .....                                                                                        | 8  |
| ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....                                                                        | 9  |
| 1.1 Техника введения древесных растений в асептическую культуру .....                                 | 9  |
| 1.2 Особенности микроклонального размножения древесных растений.....                                  | 12 |
| 1.2.1 Преимущества микроклонального размножения .....                                                 | 12 |
| 1.2.2 Недостатки микроклонального размножения .....                                                   | 13 |
| 1.2.3 Техники микроразмножения .....                                                                  | 14 |
| 1.2.4 Этапы микроразмножения .....                                                                    | 15 |
| 1.2.5 Микроклональное размножение растений пазушными побегами .....                                   | 16 |
| 1.2.6 Укоренение растений <i>in vitro</i> при микроразмножении .....                                  | 16 |
| 1.3 Прайминг микроклонов растений при выведении в условия <i>ex vitro</i> .....                       | 17 |
| 1.3.1 Прайминг при культивировании <i>in vitro</i> .....                                              | 19 |
| 1.3.2 Прайминг в условия <i>ex vitro</i> .....                                                        | 21 |
| 1.4 Фенотипирование высших растений на базе алгоритмов компьютерного зрения и машинного обучения..... | 22 |
| 1.4.1 Основные принципы фенотипирования в видимой области электромагнитного спектра.....              | 23 |
| 1.4.2 Области применения RGB-имиджинга.....                                                           | 25 |
| 1.4.3 Преимущества и ограничения RGB-фенотипирования .....                                            | 25 |
| 1.4.4 Программные решения для цифрового фенотипирования .....                                         | 26 |
| ГЛАВА 2 ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....                                                            | 28 |
| 2.1 Объект исследования .....                                                                         | 28 |
| 2.2 Методика генерации и поддержания культуры <i>in vitro</i> .....                                   | 28 |
| 2.2.1 Введение в культуру семенами.....                                                               | 29 |
| 2.2.2 Введение в культуру молодыми проростками .....                                                  | 29 |
| 2.2.3 Введение в культуру листовыми почками.....                                                      | 30 |
| 2.2.4 Поддержание асептической культуры <i>Forsythia intermedia</i> .....                             | 30 |
| 2.2.5 Поддержание асептической культуры <i>Chaenomeles japonica</i> .....                             | 31 |
| 2.3 Укоренение растений <i>Chaenomeles japonica</i> при <i>in vitro</i> культивировании.....          | 31 |
| 2.4 Прайминг и выведение в условия <i>ex vitro</i> .....                                              | 32 |
| 2.5 Фенотипирование .....                                                                             | 33 |
| 2.6 Статистический анализ данных .....                                                                | 34 |
| ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ .....                                                              | 36 |
| 3.1 Введение <i>Chaenomeles japonica</i> в культуру <i>in vitro</i> .....                             | 36 |
| 3.2 Укоренение растений <i>in vitro</i> .....                                                         | 40 |

|                                                          |    |
|----------------------------------------------------------|----|
| 3.3 Прайминг и выведение в условия <i>ex vitro</i> ..... | 47 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....                                         | 49 |
| СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ .....                   | 51 |

## ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АФК – активные формы кислорода

МС – среда Мурашиге и Скуга

6-БАП – 6-бензиламинопурин

ИМК – индолилмасляная кислота

НУК – нафтилуксусная кислота

ЭБ – эпибрасинолид

ТМ – тиомочевина

CCD (Charge-Coupled Device) – прибор с обратной зарядной связью

CMOS (Complementary Metal-Oxide-Semiconductor) – комплементарная структура металл-оксид-полупроводник

RGB (Red, Green, Blue) – цветовая модель «красный, зеленый, синий»

WPM (Woody Plant Medium) – среда для древесных растений

## РЕФЕРАТ

Дипломная работа 58 страниц, 19 рисунков, 3 таблицы, 99 источников  
*CHAENOMELES JAPONICA* (THUNB.) LINDL. EX SPACH, КУЛЬТУРА  
*IN VITRO*, МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ, ПРАЙМИНГ,  
ФЕНОТИПИРОВАНИЕ, ФЕНОМИКА

Целью работы была разработка технологии культивирования *in vitro* растений *Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. ex Spach и анализ ростовых показателей данной культуры с использованием подходов цифрового фенотипирования.

Объектом исследования в настоящей работе являлась айва японская (*Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. ex Spach).

Основные методы исследования: техника культивирования высших растений в почвенных субстратах, техника микроклонального размножения, получение цифровых изображений высших растений для феномного анализа, анализ изображений на базе подходов HSV-имиджинга и сверточных нейронных сетей.

Разработанная в данной работе техника культивирования *Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. ex Spach пазушными побегами в стерильных условиях позволяет производить микрорастения важнейших для городского озеленения декоративных форм хеномелесов в промышленных масштабах. Было показано, что для введения в культуру *in vitro* лучше всего использовать молодые проростки айвы японской. Наиболее эффективной средой для культивирования оказалась среда Мурашиге и Скуга с добавлением 30 г/л сахарозы, 9 г/л агар-агара и 5 мг/л 6-бензиламинопурина. Для стимуляции ризогенеза оптимальна среда Мурашиге и Скуга половинной концентрации с добавлением 30 г/л сахарозы, 9 г/л агар-агара и 2 мг/л индолил-3-масляной кислоты.

В ходе модельного эксперимента по праймингу и выведению в условия *ex vitro* было установлено, что наиболее эффективным прайминг-агентом является  $1 \cdot 10^{-3}$  М раствор тиомочевины, а наилучшим субстратом для посадки оказался торф с вермикулитом в пропорции 1:1 по объему.

## РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 58 старонак, 19 малюнкаў, 3 табліцы, 99 крыніц  
CHAENOMELES JAPONICA (THUNB.) LINDL. EX SPACH, КУЛЬТУРА  
IN VITRO, МІКРАКЛАНАЛЬНАЕ РАЗМНАЖЭННЕ, ПРАЙМИНГ,  
ФЕНАТЫПАВАННЕ, ФЕНОМІКА

Мэтай работы была распрацоўка тэхналогіі культывавання *in vitro* раслін *Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. ex Spach і аналіз роставых паказчыкаў дадзенай культуры з выкарыстаннем падыходаў лічбавага фенатыпіравання.

Аб'ектам даследавання дадзенай работы з'яўлялася айва японская (*Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. Ex Spach).

Асноўныя метады даследавання: тэхніка культывавання вышэйшых раслін у глебавых субстратах, тэхніка мікракланальнага размнажэння, атрыманне лічбавых малюнкаў вышэйшых раслін для феномнага аналізу, аналіз малюнкаў на базе падыходаў HSV-іміджынга і свёрткавых нейронавых сетак.

Распрацаваная ў дадзенай рабоце тэхніка культывавання *Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. ex Spach пазушнымі ўцёкамі ў стэрыльных умовах дазваляе вырабляць мікрарасліны найважнейшых для гарадскога азелянення дэкаратыўных формаў хенамелеса ў прамысловых маштабах. Было паказана, што для ўвядзення ў культуру *in vitro* лепш за ўсё выкарыстоўваць маладыя праросткі айвы японскай. Найбольш эфектыўнай асяроддзем для культывавання апынулася сярэда Мурашыге і Скуга з даданнем 30 г/л цукрозы, 9 г/л агар-агара і 5 мг/л 6-бензіламінапурына. Для стымуляцыі корнеабразавання лепш за ўсё падыходзіць сярэда Мурашыге і Скуга палавіннай канцэнтрацыі з даданнем 30 г/л цукрозы, 9 г/л агар-агара і 2 мг/л індол-3-алейнай кіслаты. У ходзе мадэльнага эксперыменту па праймінгу і выводзінам ва ўмовы *ex vitro* было ўстаноўлена, што найбольш эфектыўным праймінг-агентам з'яўляецца  $1 \cdot 10^{-3}$  М раствор тыямачавіны, а найлепшым субстратам для пасадкі апынуўся торф з вермікулітам ў прапорцыі 1:1 па аб'ёме.

## ABSTRACT

Graduate work 58 pages, 19 figures, 3 tables, 99 sources

*CHAENOMELES JAPONICA* (THUNB.) LINDL. EX SPACH, *IN VITRO* CULTURE, MICROCLONAL PROPAGATION, PRIMING, PHENOTYPING, PHENOMICS

The aim of the present work was to develop a technology for *in vitro* cultivation of *Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. ex Spach and analysis of the growth rates of this culture using digital phenotyping approaches.

Japanese quince (*Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. Ex Spach) was the object of research in this work.

The main research methods: the technique of cultivating higher plants in soil substrates, the technique of microclonal propagation, obtaining digital images of higher plants for phenomenological analysis, image analysis based on the approaches of HSV-imaging and convolutional neural networks.

The cultivation technique of *Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. ex Spach with axillary shoots under sterile conditions developed in the present work allows the industrial production of microplants of the most important decorative forms of chaenomeles for urban landscaping. It was found that young Japanese quince seedlings are the best for introduction into *in vitro* culture. The most effective medium for cultivation was the medium of Murashige and Skoog with the addition of 30 g/l sucrose, 9 g/l agar and 5 mg/l of 6-benzylaminopurine. Half-strength Murashige and Skoog medium suited with the addition of 30 g/l sucrose, 9 g/l agar and 2 mg/l indolyl-3-butyric acid is optimally to stimulate root formation. During a model experiment on priming and *ex vitro* breeding, it was found that the most effective priming agent is  $1 \cdot 10^{-3}$  M thiourea solution, and the best substrate for planting was peat with vermiculite in a 1:1 ratio by volume.