

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

ГУДЕЛЬ
Вероника Сергеевна

**ВЛИЯНИЕ ТИПА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА ОБРАЗОВАНИЕ
ФЕНИЛПРОПАНОИДОВ И ФЛАВОНОИДОВ В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК
И ТКАНЕЙ *ESCHINACEA PURPUREA* L. MOENCH**

Аннотация дипломной работы

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент Т.И.Дитченко

Допущена к защите

« ___ » _____ 2021 г.

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

Минск, 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	3
ВВЕДЕНИЕ.....	7
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	9
1.1 Характеристика основных объектов биотехнологии лекарственных растений	9
1.1.1 Суспензионные культуры клеток	11
1.1.2 Культуры генетически трансформированных корней	12
1.2 Влияние состава питательной среды на продукцию вторичных метаболитов культурами клеток, тканей и органов растений	14
1.2.1 Минеральная основа	15
1.2.2 Источник углерода	17
1.2.3 Регуляторы роста	20
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	22
2.1 Объект исследования.....	22
2.2 Питательные среды и условия культивирования.....	23
2.3 Определение суммарного содержания фенольных соединений....	25
2.4 Анализ содержания гидроксикоричных кислот и их производных	26
2.5 Определение содержания флавоноидов.....	27
2.6 Определения активности L-фенилаланинаммоний-лиазы.....	28
2.7 Статистическая обработка данных.....	29
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	31
3.1 Получение культуры генетически трансформированных корней <i>Echinacea purpurea</i>	31
3.2 Влияние типа питательной среды на образование вторичных метаболитов фенольной природы в культурах клеток, тканей и органов <i>Echinacea purpurea</i>	35
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	43
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	45

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 51 стр., 13 рис., 4 табл., 77 источников

ECHINACEA PURPUREA, КУЛЬТУРА ГЕНЕТИЧЕСКИ
ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ КОРНЕЙ, КАЛЛУСНАЯ КУЛЬТУРА,
СУСПЕНЗИОННАЯ КУЛЬТУРА, ГИДРОКСИКОРИЧНЫЕ КИСЛОТЫ,
ФЛАВОНОИДЫ, ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ, L-ФЕНИЛАЛАНИН-
АММОНИЙ-ЛИАЗА

Объекты исследования: каллусная, суспензионная культуры и культура генетически трансформированных корней эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* L. Moench).

Цель работы: установление особенностей продукции фенилпропаноидов и флавоноидов каллусными и суспензионными культурами листового и корневого происхождения, культурой генетически трансформированных корней *Echinacea purpurea* в зависимости от типа питательной среды (MS и B5).

Методы исследования: поверхностное и глубинное культивирование растительных клеток *in vitro*, спектрофотометрический анализ.

В результате выполнения работы получена культура генетически трансформированных корней *Echinacea purpurea*. Установлено, использование питательной среды B5 для культивирования каллусных и суспензионных культур разного происхождения, культуры генетически трансформированных корней приводило к достоверному повышению уровней накопления фенилпропаноидов, а также суммы фенольных соединений по сравнению со средой MS. Увеличение содержания флавоноидов в результате культивирования на среде B5 проявлялось для всех испытанных объектов за исключением каллусной культуры корневого происхождения. Использование питательной среды B5 приводило к росту активности L-фенилаланинаммоний-лиазы в клетках каллусной, суспензионной культур корневого происхождения и в клетках суспензионной культуры листового происхождения, тогда как для культуры генетически трансформированных корней и каллусной культуры листового происхождения достоверные различия по сравнению со средой MS отсутствовали.

Среди изученных объектов наиболее эффективными продуцентами фенилпропаноидов являются культуры генетически трансформированных корней, а в случае флавоноидов – суспензионная культура листового

происхождения. При этом замена стандартной среды MS на среду B5 позволяет существенно повысить их продукционный потенциал.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 51 стар., 13 мал., 4 табл., 77 крын.

ECHINACEA PURPUREA, КУЛЬТУРА ГЕНЕТЫЧНА
ТРАНСФАРМАВАНЫХ КАРАНЁЎ, КАЛУСНАЯ КУЛЬТУРА,
СУСПЕНЗІЙНАЯ КУЛЬТУРА, ГІДРОКСІКОРЫЧНЫЯ КІСЛОТЫ,
ФЛАВАНОІДЫ, ФЕНОЛЬНЫЯ ЗЛУЧЭННІ, L-ФЕНІЛАЛАНІНАМОНІЙ-
ЛІАЗА

Аб'екты даследавання: калусная, суспензійная культуры і культура генетычна трансфармаваных каранёў эхінацеі пурпурнай (*Echinacea purpurea* L.Moench).

Мэта працы: усталяванне асаблівасцяў прадукцыі фенілпрапаноідаў і флаваноідаў калуснымі і суспензійнымі культурамі ліставога і каранёвага паходжання, культурай генетычна трансфармаваных каранёў *Echinacea purpurea* ў залежнасці ад тыпу пажыўнага асяроддзя (MS і B5).

Метады даследавання: павярхоўнае і глыбіннае культываванне раслінных клетак *in vitro*, спектрафотаметрычны аналіз.

У выніку выканання працы атрымана культура генетычна трансфармаваных каранёў *Echinacea purpurea*. Устаноўлена, што выкарыстанне пажыўнага асяроддзя B5 дзеля культывавання калусных і суспензійных культур рознага паходжання, культуры генетычна трансфармаваных каранёў прыводзіла да дакладнага павышэння узроўняў назапашвання фенілпрапаноідаў, а таксама сумы фенольных злучэнняў у параўнанні з асяроддзем MS. Павелічэнне ўтрымання флаваноідаў у выніку культывавання на асяроддзі B5 выяўлялася для ўсіх выпрабаваных аб'ектаў за выключэннем калуснай культуры каранёвага паходжання. Выкарыстанне пажыўнага асяроддзя B5 прыводзіла да росту актыўнасці L-фенілаланінамоній-ліазы ў клетках калуснай, суспензійнай культур каранёвага паходжання і ў клетках суспензійнай культуры ліставога паходжання, тады як для культуры генетычна трансфармаваных каранёў і калуснай культуры ліставога паходжання дакладныя адрозненні ў параўнанні з асяроддзем MS адсутнічалі.

Сярод вивучаных аб'ектаў найбольш эфектыўнымі прадукцэнтамі фенілпрапаноідаў з'яўляюцца культуры генетычна трансфармаваных каранёў, а ў выпадку флаваноідаў – суспензійная культура ліставога паходжання. Пры гэтым замена стандартнага асяроддзя MS на B5 дазваляе істотна павысіць іх прадукцыйны патэнцыял.

ABSTRACT

Diploma work 51 pages, 13 figures, 4 tables, 77 sources

ECHINACEA PURPUREA, GENETICALLY TRANSFORMED ROOT CULTURE, CALLUS CULTURE, SUSPENSION CULTURE, HYDROXYCINNAMIC ACIDS, FLAVONOIDS, PHENOLIC COMPOUNDS, L-PHENYLALANINE-AMMONIUM-LYASE

Objects of research: callus, suspension cultures and culture of genetically transformed roots of *Echinacea purpurea* (*Echinacea purpurea* L. Moench).

Purpose of the work: to establish the characteristics of the production of phenylpropanoids and flavonoids by callus and suspension cultures of leaf and root origin, culture of genetically transformed roots of *Echinacea purpurea*, depending on the type of nutrient medium (MS and B5).

Research methods: surface and deep cultivation of plant cells *in vitro*, spectrophotometric analysis.

As a result of the work, a culture of genetically transformed roots of *Echinacea purpurea* was obtained. It was found that the use of the B5 culture medium for the cultivation of callus and suspension cultures of different origins, the culture of genetically transformed roots, led to a significant increase in the levels of accumulation of phenylpropanoids, as well as the amount of phenolic compounds in comparison with the MS medium. An increase in the content of flavonoids as a result of cultivation on medium B5 was shown for all tested objects with the exception of callus culture of root origin. The use of the B5 culture medium led to an increase in the activity of L-phenylalanine ammonium lyase in the cells of callus, suspension cultures of root origin and in the cells of suspension cultures of leaf origin, while for the culture of genetically transformed roots and callus culture of leaf origin, there were no significant differences compared to the MS medium.

Among the studied objects, the most effective producers of phenylpropanoids are cultures of genetically transformed roots, and in the case of flavonoids – a suspension culture of leaf origin. At the same time, replacing the standard MS environment with the B5 environment can significantly increase their production potential.