

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

ЖУРБА Ольга Николаевна

ПУТИ МОРФОГЕНЕЗА И РЕГЕНЕРАЦИИ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*
ГОРЕЧАВКИ КРЕСТООБРАЗНОЙ (*GENTIANA CRUCIATA* L.) ИЗ РАЗНЫХ
ПОПУЛЯЦИЙ

Аннотация к магистерской диссертации

специальность 1-31 80 11 «Биохимия»

Научный руководитель
Елена Владимировна Спиридович
кандидат биологических наук,
доцент

Допущена к защите
«__» _____ 2021 г.
Зав. кафедрой клеточной биологии
и биоинженерии растений
_____ И.И. Смолич
кандидат биологических наук, доцент

Минск, 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

Общая характеристика работы	3
Введение.....	7
Глава 1 Обзор литературы.....	9
1.1 Биологическое разнообразие, значение и причины сокращения	9
1.2 Перспективные методы сохранения растительного материала.....	10
1.3 Семенной банк и его значение	13
1.4 Коллекции <i>in vitro</i>	15
1.5 Морфогенез в культуре <i>in vitro</i>	17
1.6 Клональное микроразмножение растений	18
1.7 Этапы клонального микроразмножения	20
1.8 Регуляторы роста растений	22
1.8.1 Ауксины.....	23
1.8.2 Цитокинины	25
1.8.3 Гиббереллины	26
1.8.4 Абсцизовая кислота.....	27
1.8.5 Брассиностероиды	27
Глава 2 Материалы и методы.....	28
2.1 Объект исследования	28
2.2 Общая характеристика рода <i>Gentiana</i> L.	28
2.3 Микрклональное размножение представителей рода <i>Gentiana</i> L.....	32
2.4 Получение каллусной культуры	34
2.5 Методики по пополнению банков семян и коллекции <i>in vitro</i> редких и эндемичных растений	35
2.6 Стерилизация растительного материала.....	36
2.7 Приготовление питательной среды для клонального микроразмножения (<i>Gentiana cruciata</i> L.)	36
Глава 3 Результаты и их обсуждения.....	39
3.1. Сбор материала для пополнения банка семян и коллекции <i>in vitro</i>	39
3.2. Морфометрические характеристики семян	40
3.3 Получение асептических культур	41
3.5 Ведение в культуру <i>in vitro</i> семян горечавки крестообразной.....	42
3.6 Получение каллусной культуры <i>Gentiana cruciata</i> L.	49
3.7 Клональное микроразмножение <i>Gentiana cruciata</i> L.	50
3.8 Укоренение регенерантов горечавки крестообразной	53
Заключение	55
Список использованных источников	57

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Магистерская диссертация содержит 59 страниц, 12 рисунков, 16 таблиц и 37 источников литературы.

Ключевые слова: клональное микроразмножение, горечавка крестообразная, стерилизация семян, каллусная культура, регуляторы роста растений

Объект исследования: горечавка крестообразная (*Gentiana cruciata* L.)

Цель работы: изучение путей морфогенеза и регенерации *in vitro* горечавки крестообразной (*Gentiana cruciata* L.) на примере прямого органогенеза и каллусогенеза. Оработка основных этапов размножения *in vitro*, пополнение асептической коллекции ЦБС НАН Беларуси, которая являются маточником, донором для их расширенного воспроизводства и тиражирования.

Актуальность работы: приоритетными мероприятиями по сохранению редких видов являются способы их сохранения в естественной среде (*in situ*), поскольку только в такой среде возможен полноценный и долговременный их жизненный цикл. Размножение в условиях *ex situ* и введение в культуру *in vitro* для последующей репатриации в исходные или новые места естественного произрастания и повышения численности популяций позволит своевременно отреагировать в случае возникновения причин частичной или полной деградации популяций и невозможности их сохранения в условиях *in situ*.

Результаты работы: проведено введение в культуру *in vitro* горечавки крестообразной (*Gentiana cruciata* L.): отработаны методы сохранения, стерилизации и проращивания семян, проведена оптимизация питательной среды для культивирования, изучено влияние гормонов на процесс побегообразования.

Новизна результатов: впервые в Республике Беларусь были разработаны методы сохранения в культуре *in vitro* горечавки крестообразной (*Gentiana cruciata* L.) – вида, занесенного в Красную книгу Республики Беларусь

GENERAL DESCRIPTION OF WORK

The master's thesis contains 59 pages, 12 figures, 16 tables and 37 literature sources.

Key words: micropropagation, *Gentiana cruciata* L., seed sterilization, callus culture, plant growth regulators

Research object: *Gentiana cruciata* L.

Purpose of the work: a studying the pathways of morphogenesis and regeneration in vitro of the *Gentiana cruciata* L. by the example of direct organogenesis and callusogenesis. Working out the main stages of in vitro reproduction, replenishing the aseptic collection of the Central Botanical Garden, which is a mother plant, a donor for their expanded reproduction and replication.

Relevance of the work: priority measures for the conservation of rare species are methods of their conservation in their natural environment (*in situ*), since only in such an environment is their full and long-term life cycle possible. Reproduction in *ex situ* conditions and introduction into culture *in vitro* for subsequent repatriation to the original or new places of natural growth and an increase in the population size will allow to respond in a timely manner in case of causes of partial or complete degradation of populations and the impossibility of their preservation under *in situ* conditions

Results of the work: the introduction of *Gentiana cruciata* L. into the culture *in vitro* was carried out: methods of preservation, sterilization and germination of seeds were worked out, the nutrient medium for cultivation was optimized, the effect of hormones on the process of shoot formation was studied.

The novelty of the results: for the first time in the Republic of Belarus, methods were developed for *in vitro* preservation of the *Gentiana cruciata* L. – a species listed in the Red Book of the Republic of Belarus

АГУЛЬНАЯ ХАРАКТАРЫСТЫКА РАБОТЫ

Магістарская дысэртацыя змяшчае 59 старонак, 12 малюнкаў, 16 табліц і 37 крыніц літаратуры.

Ключавыя словы: мікраразмнажэнне, горычкі крыжападобная, стэрылізацыя насення, калусная культура, ростарэгулюючыя рэчывы.

Аб'ект даследавання: гарычка крыжападобная (*Gentiana cruciata* L.)

Мэта працы: вывучэнне шляхоў морфогенеза і рэгенерацыі *in vitro* гарычкі крыжападобнай (*Gentiana cruciata* L.) на прыкладзе прамога органогенеза і каллусогенеза. Адпрацоўка асноўных этапаў размнажэння *in vitro*, папайненне асептычны калекцыі ЦБС НАН Беларусі, якая з'яўляюцца матачнікам, донарам для іх пашыранага ўзнаўлення і тыражавання.

Аktуальнасць работы: прыярытэтнымі мерапрыемствамі па захаванні рэдкіх відаў з'яўляюцца спосабы іх захавання ў натуральным асяроддзі (*in situ*), паколькі толькі ў такім асяроддзі магчыма паўнавартасны і доўгачасовы іх жыццёвы цыкл. Размнажэнне ва ўмовах *ex situ* і ўвядзенне ў культуру *in vitro* для наступнай рэпатрыяцыі ў зыходныя ці новыя месцы натуральнага вырастання і павышэння колькасці папуляцый дазволіць своєчасова адрэагаваць у выпадку ўзнікнення прычын частковай або поўнай дэградацыі папуляцый і немагчымасці іх захавання ва ўмовах *in situ*.

Вынікі работы: праведзена ўвядзенне ў культуру *in vitro* гарычкі крыжападобнай (*Gentiana cruciata* L.): адпрацаваны метады захавання, стэрылізацыі і прарошчвання насення, праведзена аптымiзацыя пажыўнага асяроддзя для культывавання, вывучана ўплыў гармонаў на працэс побегообразования.

Навізна вынікаў: упершыню ў Рэспубліцы Беларусь былі распрацаваны метады захавання ў культуры *in vitro* гарычкі крыжападобнай (*Gentiana cruciata* L.) – віду, занесенага ў Чырвоную кнігу Рэспублікі Беларусь

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

2-ip – 2-изопентениладенин

2,4-Д – 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота

БАП – 6-бензиламинопурин

ГК₃ – гибберелловая кислота

ИУК – 3-индолилуксусная кислота

ИМК – 3-индолилмасляная кислота

МС – среда Мурасиге – Скуга

НУК – нафталинуксусная кислота