

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

МИХАЛЬКЕВИЧ

Виктория Анатольевна

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ И
СОХРАНЕНИЯ *IN VITRO* ДЖИМНЕМЫ ЛЕСНОЙ (*GYMNEMA
SYLVESTRE R. BR.*)**

Аннотация дипломной работы

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент Л.В. Гончарова

Допущена к защите

« ___ » _____ 2020 г.

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

Минск, 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	3
РЕФЕРАТ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	7
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	9
1.1 Значение и сохранение биоразнообразия растений.....	9
1.2 Морфологическая характеристика джимнемы лесной. Распространение и местообитание.....	11
1.3 Джимнема лесная – ценное лекарственное растение флоры Юго-Восточной Азии.....	12
1.4 Размножение джимнемы с помощью методов культуры <i>in vitro</i>	21
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	26
2.1 Исходный растительный материал.....	26
2.2 Введение джимнемы лесной в культуру <i>in vitro</i> с помощью посева семян в асептических условиях	26
2.2.1 Влияние ГКз на всхожесть <i>G. sylvestre</i> в условиях асептической культуры.....	26
2.2.2 Стерилизация растительного материала.....	26
2.2.3 Культивирование посевов.....	26
2.3 Микрклональное размножение джимнемы лесной.....	27
2.4 Укоренение <i>in vitro</i> джимнемы лесной.....	27
2.5 Индукция каллусогенеза и дальнейшее культивирование каллусных культур, полученных из различных типов эксплантов у <i>G. sylvestre</i>	27
2.6 Влияние модификаторов метаболизма, содержащих наночастицы металлов, на рост каллусной культуры <i>G. sylvestre</i>	28
2.7 Статистическая обработка результатов исследований.....	29
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	30
3.1 Введение джимнемы лесной в культуру <i>in vitro</i> с помощью посева семян в асептических условиях	30
3.2 Микрклональное размножение джимнемы лесной.....	32
3.3 Укоренение <i>in vitro</i> <i>Gymnema sylvestre</i>	33
3.4 Индукция каллусогенеза и дальнейшее культивирование каллусных культур, полученных из различных типов эксплантов у <i>G. sylvestre</i>	35
3.5 Влияние модификаторов метаболизма, содержащих наночастицы металлов, на рост каллусной культуры у <i>G. sylvestre</i>	41
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	46

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 49 стр., 7 рис., 7 табл., 49 источников

ASCLEPIADACEAE, GYMNEMA SYLVESTRE, КАЛЛУСОГЕНЕЗ, КУЛЬТУРА ТКАНЕЙ, МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ, ПРЕПАРАТЫ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ

Объект исследования: семена, асептическая культура побегов и каллусная культура *Gymnema sylvestre* (Retz.) R.Br. ex Sm.

Цель работы: целью настоящей работы явилось изучение различных аспектов культивирования и сохранения *in vitro* лекарственного растения флоры Юго-Восточной Азии *Gymnema sylvestre* R. Br.

Методы исследования: асептическая культура тканей и органов растений.

В результате проведенных экспериментов получена асептическая культура джимнемы лесной из семян. Установлено, что предварительная обработка семян раствором ГК₃ в концентрации 50 мг/л позволяла увеличить выход жизнеспособных сеянцев при условии культивирования посевов на свету.

При микроклональном размножении джимнемы оптимальным было использование сочетания двух регуляторов роста цитокининовой природы 1мг/л БАП+1мг/л кинетина для получения наибольших значений коэффициента размножения. Образование корней происходило во всех вариантах опыта, однако наиболее эффективным было использование 1 мг/л ИУК в качестве индуктора ризогенеза.

Установлено, что оптимальной средой для индукции каллусогенеза из листовых и стеблевых эксплантов джимнемы лесной является среда МС с 1мг/л БАП+0,5 мг/л 2,4-Д. При последующем культивировании полученных каллусов установлено, что оптимальной средой для наращивания биомассы является среда с 1мг/л 2,4-Д+1мг/л БАП. Культивирование каллусных культур в условиях периодической освещенности (фотопериод 16 часов) так же стимулировало более интенсивный рост как в случае листового, так и стеблевого каллуса.

В результате проведенных исследований выявлен стимулирующий эффект от использования комплексного препарата наночастиц «Наноплант-Со,Мп,Си,Fe» (разработка ИФОХ НАН Беларуси) в концентрации 0,15мг/л на ростовые показатели листового каллуса джимнемы.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 49 стар., 7 мал., 7 табл., 49 крын.

ASCLEPIADACEAE, GYMNEMA SYLVESTRE, КАЛУСАГЕНЕЗ,
КУЛЬТУРА ТКАНІН, МІКРАКЛАНАЛЬНАЕ РАЗМНАЖЭННЕ,
ПРЭПАРАТЫ НАНАЧАСЦІЦ МЕТАЛАЎ

Аб'ект даследавання: насенне, асептычная культура парасткаў і калусная культура *Gymnema sylvestre* (Retz.) R.Br. ex Sm.

Мэта працы: мэтай дадзенай працы з'явілася вывучэнне розных аспектаў культывавання і захавання *in vitro* лекавай расліны флоры Паўднёва-Усходняй Азіі *Gymnema sylvestre* R.Br.

Метады даследавання: асептычная культура тканін і органаў раслін.

У выніку праведзеных эксперыментаў атрымана асептычная культура джымнемы лясной з насення. Устаноўлена, што папярэдняя апрацоўка насення растворам ГК₃ ў канцэнтрацыі 50 мг/л дазваляла павялічыць выхад жыццяздольных сеянцаў пры ўмове культывавання пасеваў на святу.

Пры мікракланальным размнажэнні джымнемы аптымальным было выкарыстанне спалучэння двух рэгулятараў росту цытакінінавай прыроды 1мг/л БАП+1мг/л кінеціна для атрымання найбольшых значэнняў каэфіцыента размнажэння. Утварэнне каранёў адбывалася ва ўсіх варыянтах вопыту, аднак найбольш эфектыўным было выкарыстанне 1мг/л ІУК ў якасці індуктара рызагенезу.

Устаноўлена, што аптымальным асяроддзем для індукцыі калусагенезу з ліставых і сцябловых эксплантаў джымнемы лясной з'яўляецца МС з 1мг/л БАП+0,5мг/л 2,4-Д. Пры наступным культываванні атрыманых калусаў ўстаноўлена, што аптымальным асяроддзем для нарошчвання біямасы з'яўляецца МС з 1мг/л 2,4-Д + 1 мг/л БАП. Культываванне калусных культур ва ўмовах перыядычнай асветленасці (фотаперыяд 16 гадзін) гэтак жа стымулявала больш інтэнсіўны рост як у выпадку ліставога, так і сцябловага калусу.

У выніку праведзеных даследаванняў выяўлены стымулюючы эффект ад выкарыстання комплекснага прэпарата наначасціц "Нанопланта Со, Мп, Су, Fe" (распрацоўка ИФОХ НАН Беларусі) у канцэнтрацыі 0,15 мг/л на роставыя паказчыкі ліставога калусу джымнемы.

ABSTRACT

Diploma work 49 pages, 7 figures, 7 tables, 49 sources

ASCLEPIADACEAE, GYMNEMA SYLVESTRE, CALLUS CULTURE, TISSUE CULTURE, MICROCLONAL REPRODUCTION, PREPARATIONS OF METAL NANOPARTICLES

Object of study: seeds, aseptic shoot culture and callus culture of *Gymnema sylvestre* (Retz.) R.Br. ex Sm.

The aim of the work: the aim of the work was to study various aspects of cultivation and conservation *in vitro* of the valuable medicinal plant of The South-East Asian flora *Gymnema sylvestre* R. Br.

Research methods: the plant tissue and organ culture.

The culture of *Gymnema* was obtained by aseptic seed germination. It was found that pretreatment of seeds with a solution of GA₃ at a concentration of 50 mg/l allowed to increase the yield of viable seedlings under the light conditions of cultivation.

It was shown, that combination of two cytokinins BAP 1mg/l + kinetin 1mg/l led to the highest values of the reproduction coefficient at the micropropagation of *Gymnema sylvestre*. At the rooting stage the formation of roots was observed in all variants of the experiment, but the most effective was when we use of 1 mg / l IAA as an inducer of rhizogenesis.

It was found that the optimal medium for the induction of callus culture from leaf and stem explants of the *Gymnema sylvestre* is the MS medium with BAP 1 mg/l + 2,4-D 0.5 mg/l. During subsequent cultivation of the obtained callus, it was found that the optimal medium for increasing biomass is a medium with 2,4-D 1 mg/l + BAP 1 mg/l. Cultivation of callus cultures in conditions of periodic illumination (16 hours photoperiod) it also stimulated more intensive growth both of the callus cultures.

As a result of the studies revealed a stimulating effect of the use of the complex the nanoparticle preparation «Nanoplant-Co,Mn,Cu,Fe» (work out by Institute of Physical and Organic Chemistry of the NAS of Belarus) at a concentration of 0.15mg/l on growth rates of leaf callus of *Gymnema sylvestre*.