

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

КУКУТЬ
Екатерина Владимировна

**ИЗМЕНЕНИЕ РОСТОВЫХ ХАРАКТЕРИСТИК И СОДЕРЖАНИЯ
ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В КАЛЛУСЕ АВОКАДО (*PERSEA
AMERICANA* MILL.) ПРИ ВАРЬИРОВАНИИ КОНЦЕНТРАЦИИ
2,4-ДИХЛОРФЕНОКСИУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ В ПИТАТЕЛЬНОЙ
СРЕДЕ**

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент А.О. Логвина

Допущена к защите
«__» _____ 2024 г.
Зав. кафедрой клеточной биологии
и биоинженерии растений
кандидат биологических наук,
доцент О.Г. Яковец

Минск, 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	4
РЕФЕРАТ.....	5
РЭФЕРАТ.....	6
ABSTRACT.....	7
ВВЕДЕНИЕ.....	8
ГЛАВА 1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	9
1.1 Виды и характеристика клеточных культур растений.....	9
1.1.1 Типы клеточных культур.....	9
1.1.2 Особенности культивирования <i>in vitro</i>	9
1.1.3 Области применения клеточных культур <i>in vitro</i>	10
1.2 Техники получения клеточных культур <i>in vitro</i> и их сравнительный анализ..	10
1.2.1 Молекулярно-физиологические основы процесса каллусогенеза.....	12
1.2.2 Подходы к получению клеточных суспензий, культур одиночных клеток и протопластов.....	13
1.2.2.1 Глубинное суспензионное культивирование.....	14
1.2.2.2 Культура протопластов.....	17
1.3 Условия поддержания клеточных культур растений.....	19
1.3.1 Создание асептических условий.....	19
1.3.2 Питательные среды: виды и критерии выбора их компонентного состава..	20
1.4 Сравнение различных методов получения стерильных и нестерильных растений	22
1.5 Ботаническая характеристика, биохимический состав и применение <i>Persea americana</i> (Mill.).....	23
1.5.1 Анатомо-морфологическая характеристика <i>Persea americana</i> (Mill.).....	23
1.5.2 Биохимический состав.....	24
1.5.3 Фармакологические свойства и практическое применение.....	26
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	28
2.1 Объекты исследований.....	28
2.2 Питательные среды и физические условия культивирования.....	28
2.3 Поведение цитоморфологического анализа каллусной ткани.....	29
2.4 Определение показателей роста.....	30
2.5 Подготовка растительного материала и приготовление экстрактов.....	30
2.6 Определение общего содержания фенольных соединений.....	31
2.7 Статистическая обработка данных.....	31
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	33

3.1 Получение каллусной культуры авокадо авокадо (<i>Persea americana</i> Mill.) и ее цитоморфологический анализ.....	33
3.1.1 Эффективность получения каллусной культуры авокадо авокадо (<i>Persea americana</i> Mill.) в зависимости от концентрации фитогормонов в питательной среде.....	33
3.1.2 Анализ цитоморфологических характеристик каллуса авокадо (<i>Persea americana</i> Mill.).....	37
3.2 Изучение влияния 2,4-Д на некоторые характеристики каллуса авокадо (<i>Persea americana</i> Mill.).....	41
3.2.1 Анализ влияния на ростовые характеристики и морфологию каллуса авокадо (<i>Persea americana</i> Mill.) варьирования концентрации 2,4-Д в питательной среде.....	41
3.2.2 Общее содержание фенольных соединений в каллусе авокадо (<i>Persea americana</i> Mill.) при варьировании концентрации 2,4-Д в питательной среде....	42
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	45
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	47

РЕФЕРАТ

Дипломная работа содержит 49 страниц, 16 рисунков, 4 таблицы, 35 использованных источников.

Ключевые слова: КАЛЛУСНАЯ КУЛЬТУРА, АВОКАДО, ПЕРСЕЯ АМЕРИКАНСКАЯ, ФИТОГОРМОНЫ, 2,4-ДИХЛОРФЕНОКСИУКСУСНАЯ КИСЛОТА, РОСТОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ, ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ.

Объекты исследования: семена нативного растения авокадо, стерильные растения авокадо, каллусная культура *Persea americana* MILL.

Цель работы: получение каллусной культуры авокадо и изучение влияния варьирования концентрации 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) в питательной среде на рост и уровень накопления фенольных соединений в полученной каллусной культуре.

Методы исследования: техника работы по получению каллусной культуры; методика определения ростовых характеристик каллуса; световая микроскопия; спектрофотометрический метод определения общего содержания фенольных соединений в экстрактах.

Полученные результаты: была получена каллусная культура авокадо на стеблевых эксплантах, источником которых послужило асептически выращенное растение и определен фитогормональный состав среды, способствующий эффективному формированию каллуса. Цитоморфологический анализ полученного каллуса показал, что каллусная культура авокадо состоит из двух морфотипов: светлой и темной частей. Светлая часть представлена делющимися клетками округлой или шаровидной формы. В темной части каллусной ткани почти все клетки темно-коричневого цвета, округлой или шаровидной формы, делющиеся. Необычной особенностью каллуса является то, что многие клетки как светлой части, так и темной, содержали включения, окрашенные в пурпурные и розовые цвета. В ходе изучения влияния концентрации 2,4-Д на рост каллуса было выявлено, что использование данного фитогормона в концентрациях 1,5, 2,0, 3,0 и 3,5 мг/л по сравнению контрольным уровнем (1,0 мг/л) привело к снижению ростовой активности. Оценка морфологических особенностей ткани в условиях варьирования концентрации 2,4-Д в среде показала отсутствие различий структуры ткани в опытных вариантах и в контроле. В присутствии 1,5 мг/л 2,4-Д содержание фенольных соединений было достоверно выше по сравнению с контролем. Каллусы, растущие в присутствии 3,0 и 3,5 мг/л 2,4-Д, характеризовались сопоставимым с контролем уровнем фенолов. В каллусе, растущем на варианте среды, включающем 2,5 мг/л 2,4-Д, обнаруживалось меньшее количество фенольных соединений. При этом активность роста относительно контроля в данном варианте была довольно высокой.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца змяшчае 49 старонак, 16 малюнкаў, 4 табліцы, 35 выкарыстаных крыніц.

Ключавыя словы: КАЛЛУСНАЯ КУЛЬТУРА, АВАКАДА, ПЕРСЕЯ АМЕРЫКАНСКАЯ, ФІТАГАРМОНЫ, 2,4-ДЫХЛОРФЕНОКСІВОЦАТНАЯ КІСЛАТА, РОСТАВЫЯ ХАРАКТАРЫСТЫКІ, ФЕНОЛЬНЫЯ ЗЛУЧЭННЯ.

Аб'екты даследавання: насенне натыйнай расліны авакада, стэрыльныя расліны авакада, каллусная культура *Persea americana* MILL.

Мэта працы: атрыманне каллуснай культуры авакада і вывучэнне ўплыву вар'іравання канцэнтрацыі 2,4-дыхлорфеноксівоцатнай кіслаты (2,4-Д) у пажыўным асяроддзі на рост і ўзровень накаплення фенольных злучэнняў у атрыманай каллуснай культуры.

Метады даследавання: тэхніка працы па атрыманні каллуснай культуры; метадыка вызначэння роставых характарыстык каллуса; светлавая мікраскапія; спектрафатаметрычны метады вызначэння агульнага ўтрымання фенольных злучэнняў у экстрактах.

Атрыманыя вынікі: была атрымана каллусная культура авакада на сцябловых эксплантах, крыніцай якіх паслужыла асептычна выгадаваная расліна і вызначаны фітогормональны склад асяроддзя, якое спрыяе эфектыўнаму фарміраванню каллуса. Цытамарфалагічны аналіз атрыманага каллуса паказаў, што каллусная культура авакада складаецца з двух марфатыпаў: светлай і цёмнай частак. Светлая частка прадстаўлена клеткамі круглявай або шаровідной формы, якія дзеляцца. У цёмнай частцы каллуснай тканіны амаль усе клеткі цёмна-карычневага колеру, круглявай або шаровідной формы, якія дзеляцца. Незвычайнай асаблівасцю каллуса з'яўляецца тое, што многія клеткі як светлай часткі, так і цёмнай, утрымлівалі ўключэння, афарбаваныя ў пурпурныя і ружовыя колеры. У ходзе вывучэння ўплыву канцэнтрацыі 2,4-Д на рост каллуса было выяўлена, што выкарыстанне дадзенага фітогормона ў канцэнтрацыях 1,5; 2,0; 3,0 і 3,5 мг/л у параўнанні з кантрольным узроўнем (1,0 мг/л) прывяло да зніжэння роставай актыўнасці. Ацэнка марфалагічных асаблівасцяў тканіны ва ўмовах вар'іравання канцэнтрацыі 2,4-Д у асяроддзі паказала адсутнасць адрозненняў структуры тканіны ў вопытных варыянтах і ў кантролі. У прысутнасці 1,5 мг/л 2,4-Д утрыманне фенольных злучэнняў было пэўна вышэй у параўнанні з кантролем. Каллусы, якія растуць у прысутнасці 3,0 і 3,5 мг/л 2,4-Д, характарызаваліся супастаўным з кантролем узроўнем фенолаў. У каллус, які расце на варыянце асяроддзя, які ўключае 2,5 мг/л 2,4-Д, выяўлялася меншая колькасць фенольных злучэнняў. Пры гэтым актыўнасць росту адносна кантролю ў дадзеным варыянце была даволі высокай.

ABSTRACT

The thesis contains 49 pages, 16 figures, 4 tables, 35 sources used.

Keywords: CALLUS CULTURE, AVOCADO, PERSEA AMERICANA, PHYTOHORMONES, 2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID, GROWTH CHARACTERISTICS, PHENOLIC COMPOUNDS.

Objects of research: seeds of the native avocado plant, sterile avocado plants, callus culture *Persea americana* MILL.

The purpose of the work: to obtain an avocado callus culture and to study the effect of varying the concentration of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in a nutrient medium on the growth and accumulation of phenolic compounds in the resulting callus culture.

Research methods: technique for obtaining callus culture; method for determining the growth characteristics of callus; light microscopy; spectrophotometric method for determining the total content of phenolic compounds in extracts.

The results: an avocado callus culture was obtained on stem explants, the source of which was an aseptically grown plant, and the phytohormonal composition of the medium was determined, contributing to the effective formation of callus. Cytomorphological analysis of the resulting callus showed that the avocado callus culture consists of two morphotypes: light and dark parts. The light part is represented by dividing cells of a rounded or spherical shape. In the dark part of the callus tissue, almost all cells are dark brown, rounded or spherical in shape, dividing. An unusual feature of the callus is that many cells of both the light and dark parts contained inclusions colored in purple and pink colors. During the study of the effect of 2,4-D concentration on callus growth, it was revealed that the use of this phytohormone in concentrations of 1.5, 2.0, 3.0 and 3.5 mg/l compared to the control level (1.0 mg/l) led to a decrease in growth activity. An assessment of the morphological features of the tissue under conditions of varying concentrations of 2,4-D in the medium showed no differences in the structure of the tissue in the experimental variants and in the control. In the presence of 1.5 mg/l of 2,4-D, the content of phenolic compounds was significantly higher compared to the control. The calluses growing in the presence of 3.0 and 3.5 mg/l of 2,4-D were characterized by a phenol level comparable to the control. A smaller number of phenolic compounds were found in the callus growing on a medium variant including 2.5 mg/l 2,4-D. At the same time, the growth activity relative to the control in this variant was quite high.