

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

**ШКЕЛЁНОК**  
Вадим Павлович

**ОСОБЕННОСТИ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ**  
**ПЕРСПЕКТИВНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *CITRUS* L.**

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:  
кандидат биологических наук,  
доцент Е.В. Спиридович

Допущен к защите

«\_\_» \_\_\_\_\_ 2024

И.о. Зав. кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений  
кандидат биологических наук, доцент О.Г. Яковец

Минск, 2024

# ОГЛАВЛЕНИЕ

|                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Перечень условных обозначений .....                                                        | 3  |
| Введение .....                                                                             | 7  |
| Глава 1 Литературный обзор .....                                                           | 9  |
| 1.1 Морфологические и биологические особенности цитрусовых .....                           | 9  |
| 1.2 Характеристика объектов исследования .....                                             | 10 |
| 1.3 Проблемы сохранения цитрусовых культур .....                                           | 12 |
| 1.4 Методы сохранения растительного материала .....                                        | 14 |
| 1.5 Хозяйственная и потребительская ценность цитрусовых культур .....                      | 17 |
| 1.6 Клональное микроразмножение представителей рода <i>Citrus</i> L.....                   | 18 |
| 1.6.1 Выбор экспланта, подготовка маточных растений, стерилизация .....                    | 19 |
| 1.6.2 Введение в культуру <i>in vitro</i> .....                                            | 21 |
| 1.6.3 Собственно микроразмножение. ....                                                    | 21 |
| 1.6.4 Укоренение побегов. ....                                                             | 21 |
| 1.6.5 Адаптация растений. ....                                                             | 22 |
| 1.6.6 Состав сред для культивирования .....                                                | 23 |
| 1.6.7 Влияние регуляторов роста .....                                                      | 24 |
| 1.6.8 Условия культивирования .....                                                        | 26 |
| 1.6.9 Генетическая стабильность цитрусовых при микроразмножении .....                      | 26 |
| Глава 2 Материалы и методы .....                                                           | 28 |
| 2.1 Объекты исследования .....                                                             | 28 |
| 2.2 Оборудование и материалы .....                                                         | 28 |
| 2.3 Стерилизация питательных сред .....                                                    | 31 |
| 2.4 Условия культивирования <i>in vitro</i> .....                                          | 31 |
| 2.5 Статистическая обработка данных .....                                                  | 31 |
| Глава 3 Результаты и их обсуждения .....                                                   | 32 |
| 3.1 Введение в культуру <i>in vitro</i> цитрусовых культур .....                           | 32 |
| 3.2. Микроразмножение .....                                                                | 36 |
| 3.2.1 Микроразмножение цитрона .....                                                       | 36 |
| 3.2.2 Микроразмножение лаймквата .....                                                     | 43 |
| 3.2.3 Микроразмножение каламондина .....                                                   | 48 |
| 3.2.4 Микроразмножение лимона Мейер .....                                                  | 49 |
| 3.2.5 Микроразмножение лимонов кантонский «Пондероза», «Эврика»,<br>«Новозеландский» ..... | 50 |
| 3.3 Укоренение цитрусовых культур .....                                                    | 51 |
| Заключение .....                                                                           | 53 |
| Список использованных источников .....                                                     | 55 |

## РЕФЕРАТ

Дипломная работа включает 60 страниц, 21 рисунок, 3 таблицы, 62 литературных источника.

БИОРАЗНООБРАЗИЕ, КОЛЛЕКЦИЯ ЦИТРУСОВЫХ ЦБС НАН БЕЛАРУСИ, РОД *CITRUS* L., КОЛЛЕКЦИЯ *IN VITRO*, МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ

Объекты исследования: перспективные виды, гибриды и сорта рода цитрус (*Citrus* L.), характеризующиеся высокой декоративностью и потребительскими качествами плодов.

Цель: изучение и отработка элементов технологии микроразмножения представителей рода *Citrus* L. коллекции ЦБС НАН Беларуси.

Методы исследования: методы биотехнологии растений

Проведено успешное введение в культуру *in vitro* девяти таксонов рода *Citrus* L. (*Citrus unshiu* (Tanaka ex Swingle) Marcow, *Citrofortunella mitis* (Blanco) J. Ingram & H.E. Moore cv. *Variegata*, *Citrus medica* var. *sarcodactylus* cv. *Variegata* (Siebold ex Hoola van Nooten) Swingle, *Citrus* × *meyeri* Yu. Tanaka, *Fortunella* sp. × *C. aurantifolia*, *Citrus* × *ponderosa*, *Citrus limon* (L.) Burm. сортов, «Эврика», «Новозеландский», *Citrus limonelloides* Hay.) прямым органоогенезом с использованием узловых сегментов побега. На этапе получения стерильной культуры *in vitro* рекомендуется использовать фунгициды системного действия («Скор»), а также питательную среду DKW + 0,5 мг/л БАП, 15 г/л сахарозы модифицированную антибиотическими препаратами (цефотаксим). Разработанный метод стерилизации позволял получить стерильные и жизнеспособные экспланты с эффективностью в 55,7-70,8%. На основании литературных данных и, полученных в ходе проделанных работ, результатов установлено, что питательная среда DKW + 2 мг/л БАП, 2 мг/л ГК 25 г/л сахарозы способна применяться на начальных этапах для получения стабильной культуры регенерантов всех изучаемых таксонов рода *Citrus* L. Для микроразмножения оптимизирована питательная среда DKW с различными гормональными и углеводными включениями: для каламондина и лаймквата это 0,5 мг/л БАП, 2 мг/л ГК, 25 г/л сахарозы, для цитрона – 1 мг/л БАП, 15 г/л сахарозы, для лимонов кантонский, «Эврика», «Новозеландский» пондероза, мейер – 0,5 мг/л БАП, 0,5 мг/л ГК, 25 г/л сахарозы. При укоренении регенерантов на искусственных питательных средах были получены результаты, различающиеся с описанными в литературе, данными. На питательных средах ½ MS + 1(2) мг/л НУК, 1 мг/л ИМК, 15 г/л сахарозы процент укоренения составил менее 10% после 2 месяцев культивирования. Получены микрорастения для *in vitro* сохранения.

## РЭФЕРАТ

Дыпломная работа ўключае 60 старонак, 21 малюнкаў, 3 табліц, 62 крыніцы літаратуры.

БІЯРАЗНАСТАЙНАСЦЬ, КАЛЕКЦЫЯ ЦЫТРУСАВЫХ ЦБС НАН БЕЛАРУСІ, РОД *CITRUS* L., КАЛЕКЦЫЯ *IN VITRO*, МІКРАКЛАНАЛЬНАЕ РАЗМНАЖЭННЕ

Аб'екты даследавання: перспектыўныя віды, гібрыды і гатункі роду цытрус (*Citrus* L.), якія характарызуюцца высокай дэкаратыўнасцю і спажывецкімі якасцямі пладоў.

Мэта: вывучэнне і адпрацоўка элементаў тэхналогіі мікракланальнага размнажэння прадстаўнікоў роду *Citrus* L. калекцыі ЦБС НАН Беларусі.

Метады даследавання: метады біятэхналогіі раслін

Праведзена паспяховае ўвядзенне ў культуру *in vitro* дзевяці таксонаў роду *Citrus* L. (*Citrofortunella mitis* (Blanco) J. Ingram & H.E. Moore cv. *Variegata*, *Citrus medica* var. *sarcodactylus* cv. *Variegata* (Siebold ex Hoola van Nooten) Swingle, *Citrus* × *meyeri* Yu. Tanaka, *Fortunella* sp. × *C. aurantifolia*, *Citrus* × *ponderosa*, *Citrus limon* (L.) Burm. гатункаў, «Эўрыка», «Новазеландскі», *Citrus limonelloides* Hay. з выкарыстаннем вузлавых сегментаў уцёкаў. На этапе атрымання стэрыльнай культуры *in vitro* рэкамендуецца выкарыстоўваць фунгіцыды сістэмнага дзеяння ("Скор"), а таксама сераду DKW + 0,5 мг/л БАП, 15 г/л цукрозы мадыфікаваную антыбіятычнымі прэпаратамі (цэфатаксім). Распрацаваны метады стэрылізацыі дазваляў атрымаць стэрыльныя і жыццяздольныя экспланты з эфектыўнасцю ў 55,7-70,8%. На падставе літаратурных дадзеных і, атрыманых у ходзе праведзеных работ, вынікаў устаноўлена, што серада DKW + 2 мг/л БАП, 2 мг/л ГК 25 г/л цукрозы здольна прымяняцца на пачатковых этапах для атрымання стабільнай культуры рэгенерантаў усіх вывучаемых таксонаў роду *Citrus* L. Для мікраразмнажэння аптымізавана серада DKW з рознымі гарманальнымі і вугляводнымі ўключэннямі: для каламондзіна і лаймквата гэта 0,5 мг/л БАП, 2 мг/л ГК, 25 г/л цукрозы, для цытрона – 1 мг/л БАП, 15 г/л цукрозы, для лімонаў кантонскі, "Эўрыка", "Новазеландскі" пандэроза, мэйер – 0,5 мг/л БАП, 0,5 мг/л ГК, 25 г/л цукрозы. Пры ўкараненні рэгенерантаў на штучных пажыўных асяроддзях былі атрыманы вынікі, якія адрозніваюцца, з апісанымі ў літаратуры, дадзенымі. На пажыўных асяроддзях ½ MS + 1(2) мг/л НУК, 1 мг/л ИМК, 15 г/л цукрозы працэнт укаранення склаў менш за 10% пасля 2 месяцаў культывавання. Атрыманы мікрарасліны для *in vitro* захавання.

## ABSTRACT

The thesis includes 60 pages, 21 figures, 3 tables, 62 sources.

BIODIVERSITY, CITRUS COLLECTION OF THE CBG NAS OF BELARUS, GENUS *CITRUS* L., *IN VITRO* COLLECTION, MICROPROPAGATION

Objects of research: promising species, hybrids and varieties of the genus citrus (*Citrus* L.), characterized by high decorativeness and consumer qualities of the fruit.

Purpose: to study and develop elements of the technology of microclonal propagation of representatives of the genus *Citrus* L. from the collection of the Central Botanical Library of the National Academy of Sciences of Belarus.

Research methods: plant biotechnology methods

Nine taxa of the genus *Citrus* L. (*Citrofortunella mitis* (Blanco) J. Ingram & H.E. Moore cv. *Variegata*, *Citrus medica* var. *sarcodactylus* cv. *Variegata* (Siebold ex Hoola van Nooten) Swingle, *Citrus*×*meyeri* Yu.Tanaka, *Fortunella* sp. x *C. aurantifolia*, *Citrus*×*ponderosa*, *Citrus limon* (L.) Burm. varieties, “Eureka”, “New Zealand”, *Citrus limonelloides* Hay.) were successfully introduced into *in vitro* culture using nodal shoot segments. At the stage of obtaining a sterile culture *in vitro*, it is recommended to use systemic fungicides (“Skor”), as well as media DKW + 0,5 mg/l BAP, 15 g/l sucrose modified with antibiotic drugs (cefotaxime). The developed sterilization method made it possible to obtain sterile and viable explants with an efficiency of 55,7-70,8%. Based on the literature data and the results obtained in the course of the work, it was established that the nutrient medium DKW + 2 mg/l BAP, 2 mg/l GA, 25 g/l sucrose can be used at the initial stages to obtain a stable culture of regenerants of all studied taxa of the genus *Citrus* L. DKW media with various hormonal and carbohydrate inclusions is optimized for micropropagation: for calamondin and limequat it is 0,5 mg/l BAP, 2 mg/l GA, 25 g/l sucrose, for citron – 1 mg/l BAP, 15 g/l sucrose, for Cantonese, “Eureka”, “New Zealand” lemons, *ponderosa*, Meyer – 0,5 mg/l BAP, 0,5 mg/l GA, 25 g/l sucrose. When rooting regenerants on artificial nutrient media, results were obtained that differed from the data described in the literature. On nutrient media ½ MS + 1(2) mg/l NAA, 1 mg/l IBA, 15 g/l sucrose, the rooting percentage was less than 10% after 2 months of cultivation. Microplants for *in vitro* preservation were obtained.