

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Учреждение образования

**«Международный государственный экологический институт имени А.Д.
Сахарова»**

Белорусского государственного университета

ФАКУЛЬТЕТ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

КАФЕДРА ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ

**ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ IN VITRO ДРЕВЕСНЫХ ИНДИКАТОРОВ,
ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ СОКОПЕРЕНОСИМЫХ
ВИРУСОВ КОСТОЧКОВЫХ КУЛЬТУР**

Дипломная работа

Специальность 1-80 02 01 Медико-биологическое дело

Исполнитель:

студентка 4 курса А01МЕД1.2 группы

дневной (очной) формы обучения _____ Полейчук Дарья Дмитриевна
(подпись)

Научный руководитель:

канд. биол. наук, доцент _____ Красинская Татьяна Анатольевна
(подпись)

К защите допущена:

Заведующий кафедрой общей биологии и генетики:

канд. с./х. наук, доцент _____ Чернецкая Алла Георгиевна
(подпись)

МИНСК 2024

РЕФЕРАТ

Дипломная работа: Ведение в культуру *in vitro* древесных индикаторов, используемых для диагностики сокопереносимых вирусов косточковых культур: 46 страниц, 14 рисунков, 8 таблиц, 45 источников.

Ключевые слова: вирусы рода *Prunus* L, ИФА, ПЦР-диагностика, древесные индикаторы, Shirofugen, Kwansan.

Цель работы: подобрать оптимальные условия введения в культуру *in vitro* эксплантов *Prunus serrulata* сортов «Kwansan» и «Shirofugen» для получения стерильных и жизнеспособных растений-регенерантов.

Методы исследования: иммуноферментный анализ, древесные индикаторы, аналитический анализ данных.

Полученные результаты и их новизна. В результате иммуноферментного анализа был проанализирован фитосанитарный статус растений сортов вишни, черешни, определен спектр сокопереносимых вирусов растений рода *Prunus* L в коллекционных и маточных насаждениях РУП «Институт пловодства». Отобранные черенки сортов «Kwansan» и «Shirofugen» используемые в исследовании соответствовали нормативным документам ЕРРО. Подобранные стерилизующий агент 30% перекиси водорода экспозицией 10 минут и модифицированная питательная среда Murashige-Skoog (готовые макро- и микросоли, витамины производство Duchefa Biochemie), дополненная аскорбиновой кислотой 1 мг/л, 6-БА 1.0 мг/л, ИМК 0.2 мг/л, рН 5,74, способствовали развитию большого числа жизнеспособных и стерильных эксплантов на этапе введения в культуру *in vitro*. У эксплантов из точек роста сортов «Shirofugen» и «Kwansan» *Prunus serrulata* регенерационная активность составила 88,9%. После этапа стабилизации в культуре *in vitro* жизнеспособных эксплантов сорта «Kwansan» не отмечалось. У сорта «Shirofugen» получено 25,0% развитых и стерильных растений-регенерантов из эксплантов, представленных точками роста (экспланты размером 1 мм).

Степень использования. Материалы дипломной работы могут быть использованы для комплексной диагностики сокопереносимых вирусов с помощью иммуноферментного анализа и с помощью древесных индикаторов; для чтения лекций; для подготовки к лабораторным занятиям. Растения-регенеранты сортов «Kwansan» и «Shirofugen», полученные в ходе исследований будут включены в коллекцию генобанка РУП «Институт пловодства», содержащуюся в условиях *in vitro*.

Область применения: генетика, вирусология, биотехнология растений, питомниководство.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца: Вядзенне ў культуру *in vitro* драўняных індыкатараў, якія выкарыстоўваюцца для дыягностыкі сакапераносных вірусаў костачкавых культур: 46 старонак, 14 малюнкаў, 8 табліц, 45 крыніц.

Ключавыя словы: вірусы роду *Prunus* L, ІФА, ПЦР-дыягностыка, драўняныя індыкатары, Shirofugen, Kwansan.

Мэта працы: падабраць аптымальныя ўмовы ўвядзення ў культуру *in vitro* эксплантов *Prunus serrulata* гатункаў «Kwansan» і «Shirofugen» для атрымання стэрыльных і жыццяздольных раслін-регенерантов.

Метады даследавання: імунаферментны аналіз, драўняныя індыкатары, аналітычны аналіз дадзеных.

Атрыманыя вынікі і іх навізна. У выніку імунаферментнага аналізу быў прааналізаваны фітасанітарны статус раслін гатункаў вішні, чарэшні, вызначаны спектр сакапераносных вірусаў раслін роду *Prunus* L у калекцыйных і маткавых насаджэннях РУП "Інстытут пладаводства". Адабраныя тронкі гатункаў «Kwansan» і «Shirofugen» выкарыстоўваемыя ў даследаванні адпавядалі нарматыўным дакументам ЕРРО. Падабраныя стэрылізуемы агент 30% перакісу вадароду экспазіцыяй 10 хвілін і мадыфікаваная пажыўнае асяроддзе Murashige-Skoog (гатовыя макра - і мікросолі, вітаміны вытворчасць Duchefa Biochemie), дапоўненая аскарбінавай кіслотой 1 мг/л, 6-БА 1,0 мг/л, ИМК 0,2 мг/л, рН 5,74, спрыялі развіццю вялікай колькасці жыццяздольных і стэрыльных эксплантов на этапе ўвядзення ў культуру *in vitro*. У эксплантаў з кропак росту гатункаў «Shirofugen» і «Kwansan» *Prunus serrulata* рэгенерацыйныя актыўнасць складала 88,9%. Пасля этапу стабілізацыі ў культуры *in vitro* жыццяздольных эксплантаў гатунку «Kwansan» не адзначалася. У гатунку «Shirofugen» атрымана 25,0% развітых і стэрыльных раслін-регенерантов з эксплантов, прадстаўленых кропкамі росту (экспланты памерам 1 мм).

Ступень выкарыстання: Матэрыялы дыпломнай працы могуць быць выкарыстаны для комплекснай дыягностыкі сакапераносных вірусаў з дапамогай імунаферментнага аналізу і з дапамогай драўняных індыкатараў; для чытання лекцый; для падрыхтоўкі да лабараторных заняткаў. Расліны-регенеранты гатункаў «Kwansan» і «Shirofugen», атрыманыя ў ходзе даследаванняў будуць уключаны ў калекцыю генабанка РУП "Інстытут пладаводства", якая змяшчаецца ва ўмовах *in vitro*.

Вобласць ужывання: генетыка, вірусалогія, біятэхналогія раслін, пітомніководство.

ABSTRACT

Graduate work: Introduction to *in vitro* culture of wood indicators, used for the diagnosis of sap-borne viruses of stone crops: 46 pages, 14 figures, 8 tables, 45 sources.

Keywords: viruses of the genus *Prunus* L, ELISA, PCR diagnostics, wood indicators, Shirofugen, Kwansan.

The purpose of the work: to select the optimal conditions for the introduction of *Prunus serrulata* explants of the «Kwansan» and «Shirofugen» varieties into culture *in vitro* to obtain sterile and viable regenerating plants.

Research methods: enzyme immunoassay, wood indicators, analytical data analysis.

The results obtained and their novelty. As a result of enzyme immunoassay, the phytosanitary status of cherry, sweet cherry cultivars was analyzed, the spectrum of sap-borne viruses of plants of the genus *Prunus* L was determined in the collection and uterine plantings of RUE “Institute of Fruit Growing”. The selected cuttings of the varieties «Kwansan» and «Shirofugen» used in the study corresponded to the regulatory documents of the EPPO. The selected sterilizing agent of 30% hydrogen peroxide with an exposure of 10 minutes and the modified Murashige-Skoog nutrient medium (ready-made macro- and microsols, vitamins produced by Duchefa Biochemie), supplemented with ascorbic acid 1 mg/l, 6-BA 1,0 mg/l, BMI 0,2 mg/l, pH 5,74, contributed to the development of a large number of viable and sterile explants at the stage of introduction into culture *in vitro*. In explants from the growth points of the varieties «Shirofugen» and «Kwansan» *Prunus serrulata*, the regenerative activity was 88,9%. After the stabilization stage, no viable explants of the «Kwansan» variety were observed in *in vitro* culture. In the «Shirofugen» variety 25,0% of developed and sterile regenerating plants were obtained from explants represented by growth points (explants with a size of 1 mm).

Degree of use. The materials of the thesis can be used for the comprehensive diagnosis of sap-borne viruses using enzyme immunoassay and using wood indicators; for lectures; for preparation for laboratory classes. Regenerating plants of the varieties «Kwansan» and «Shirofugen» obtained during the research will be included in the collection of the genobank of RUE "Institute of Fruit Growing", contained in *in vitro* conditions.

Scope of application: genetics, virology, plant biotechnology, nursery breeding.