

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Факультет
физико-математических
и естественных наук

Кафедра
«Общая биология и биохимия»

Направление подготовки 44.03.05 Педагогическое образование

Профиль Биология. Химия

Форма обучения очная

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

на тему:

«ОСОБЕННОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ИРИСОВ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO* ПРИ ОРГАНИЗАЦИИ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ СО ШКОЛЬНИКАМИ»

Студент  Черкунова Валерия Юрьевна

Руководитель  Солдатов С.А.

Нормоконтролёр  Клыченков С.В.

Работа допущена к защите (протокол заседания кафедры от 29.06.22 № 12)

Заведующий кафедрой  Карпова Г.А.

Работа защищена с отметкой отлично

(протокол заседания ГЭК от 29.06.22 № 20)

Секретарь ГЭК  Клыченков С.В.

Пенза, 2022

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	6
1.1 Биологические особенности растений рода <i>Iris</i> L., их хозяйственное значение.....	6
1.2 Техника культивирования растительного материала на искусственных питательных средах	10
1.3 Гормональная регуляция в культуре клеток и тканей	12
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	16
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	21
3.1 Особенности приготовления питательных сред для культивирования растений рода <i>Iris</i> L.....	21
3.2 Способы стерилизации растительных эксплантов.....	26
3.3 Получение эксплантов растений рода <i>Iris</i> L. <i>in vitro</i>	30
ГЛАВА 4. ПРОЕКТНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ УЧАЩИХСЯ В РАМКАХ ИЗУЧЕНИЯ БИОЛОГИИ.....	39
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	47
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	49

ВВЕДЕНИЕ

Модернизация в области биотехнологии растений напрямую связана с разработкой методических приемов культивирования клеток *in vitro*. Этим методом получен ряд различных сортов растений с ценными признаками.

Культивирование растений в условиях *in vitro* в настоящее время довольно широко используется при решении многих теоретических и практических задач селекции и биологии. Данный метод имеет ряд преимуществ:

- становится возможно получать большую биомассу в асептических условиях;
- условия выращивания контролируются по многим параметрам;
- простота клеточных моделей;
- культура клеток и тканей может служить моделью при изучении различной устойчивости растений к абиотическим или биотическим факторам [15].

Растения, которые вырастили в культуре *in vitro*, – это посадочный материал, обладающий рядом превосходств в сравнении с растениями, полученными традиционными методами размножения такими, как прививка, отводки, посадка семян и черенкование [20].

Преимущества растений, выращенных в условиях *in vitro*:

- растения свободны от возбудителей болезней;
- растения обладают повышенными темпами роста и развития;
- высокая однородность семян по величине, вследствие генетической однородности;
- возможность размножения растений в неограниченных количествах, при этом у них сохраняются все ценные признаки;
- посадка материала не зависит от сезонности;
- можно производить посадочный материал в больших объемах,

причём в короткие сроки.

Цветы ириса известны человеку с древнейших времён.

Свое название цветок приобрёл в древней Греции. В те времена богиня Ирида была посланницей богов и по легендам сходила на нашу землю по радуге. Поэтому слово «ирис» в переводе с греческого языка и означает «радуга». В настоящее время эти растения называют ирис, петушок или касатик.

Сегодня растения рода *Iris* L. одни из красивейших растений, которыми украшают клумбы дач, различных учреждений, городские парки, делают красивейшие букеты. Ирисы являются украшением многих цветочных композиций [1, 38].

Растения рода *Iris* L. могут размножаться семенами, а также вегетативным способом, что считается традиционным методом. В настоящее время разрабатывается множество методик для ускорения темпов вегетативного размножения. Семенное размножение и его особенности у ирисов на данный момент мало изучены, и в связи с этим необходимо проводить дальнейшие исследования и разработки [28].

Хоть цветы ирисов являются элементами декора, на сегодняшний день некоторые виды считаются редкими. Так, например, в Красную книгу Пензенской области занесены шесть видов ирисов, причем два из них относятся также и к Красной книге России [29].

Так как некоторые виды ирисов сейчас используются в медицине, а также эти цветы являются неотъемлемыми элементами декора, то актуальностью исследовательской работы является разработка оптимальной технологии выращивания сортов растений рода *Iris* L., которые будут наиболее приспособлены к условиям среды, устойчивы к фитопатогенам, вирусам, гербицидам и отличающимися высокой продуктивностью. Для этого можно применить методы культивирования ирисов в условиях *in vitro*.

Цель работы: изучить особенности культивирования ирисов в условия *in vitro*.

Задачи исследования:

1. освоить метод культивирования растений в условиях *in vitro*;
2. определить сорта ирисов, которые наиболее подходят для выращивания и проведения опытов по культуре клеток и тканей;
3. сделать ботаническое описание выбранных сортов ирисов;
4. подобрать различные способы стерилизации семян ирисов;
5. вырастить растения рода *Iris* L. в условиях *in vitro*;
6. выяснить возможность использования полученного материала в изучении школьного курса биологии;
7. организовать научно-исследовательскую работу со школьниками.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Биологические особенности растений рода *Iris* L., их хозяйственное значение

Ирис (*Iris*) – это род многолетних растений, принадлежащих к семейству Ирисовые (*Iridaceae*) или Касатиковые. Родиной данных корневищных растений считается одно из развитых государств мира – Япония. В данный момент ирисы встречаются почти на всех континентах нашей планеты. В естественных условиях растения рода Ирис произрастают в умеренных и субтропических поясах северного полушария. Их можно встретить в Европе, Азии, Северной Америке и Африке, где природные условия наиболее подходят для их роста и развития. Растения предпочитают открытые солнечные места, в некоторых случаях отдельные виды могут располагаться в тенистых и заболоченных местах [29].

Род Ирис (*Iris*) насчитывает около 800 видов растений, которые характеризуются огромным разнообразием форм и оттенков цветков. В связи с таким огромным разнообразием окраски цветков в Древней Греции *Iris* получил название «радуга».

По ботаническому описанию – стебли ириса являются одиночными или собраны в пучки, простые или ветвистые. Листья плоские, мечевидные, двухрядные, иногда могут быть линейными, тонкие, покрыты восковым налётом и собраны у основания цветоносов в веерообразные пучки. Стеблевых листьев практически нет, у отдельных видов они либо отсутствуют, либо их вовсе не наблюдается (рис. 1).

Вегетативные побеги – это многолетние корневища, которые могут быть как погружены в почву, так и находятся на её поверхности. Корневища состоят из годичных звеньев, на которых располагаются пучки листьев. На нижней поверхности корневища развиваются нитевидные или шнуровидные

мочковатые корни. Корневая система растения расположена в пахотном слое почвы.

Генеративные побеги или цветоносы — это однолетние побеги, располагающиеся как одиночно, так и пучками, что зависит от вида растения [10, 29].



Рисунок 1. Строение ириса

Цветки ирисов могут располагаться на побеге одиночно или быть собранными в соцветия. У некоторых видов, в период цветения, можно почувствовать приятный душистый аромат. Цветок ириса простой, крупных размеров, но своеобразного вида. Основания лепестков срослены в трубку, там располагается нектар цветка. Околоцветник у ирисов простой, отличается тем, что он не дифференцирован на венчик и чашечку, трубчатой формы с шестьюраздельным отгибом (рис. 2). Имея такое своеобразное строение цветка,

ирисы отдалённо напоминают по своему виду цветки прекрасных орхидей [14].

Особенностью цветков также является и то, что три внутренних лепестка собраны в свод, а внешние отогнуты книзу, причем внешние и внутренние лепестки часто отличаются друг от друга формой, цветом и размерами, что создаёт индивидуальную картину каждому виду растений.

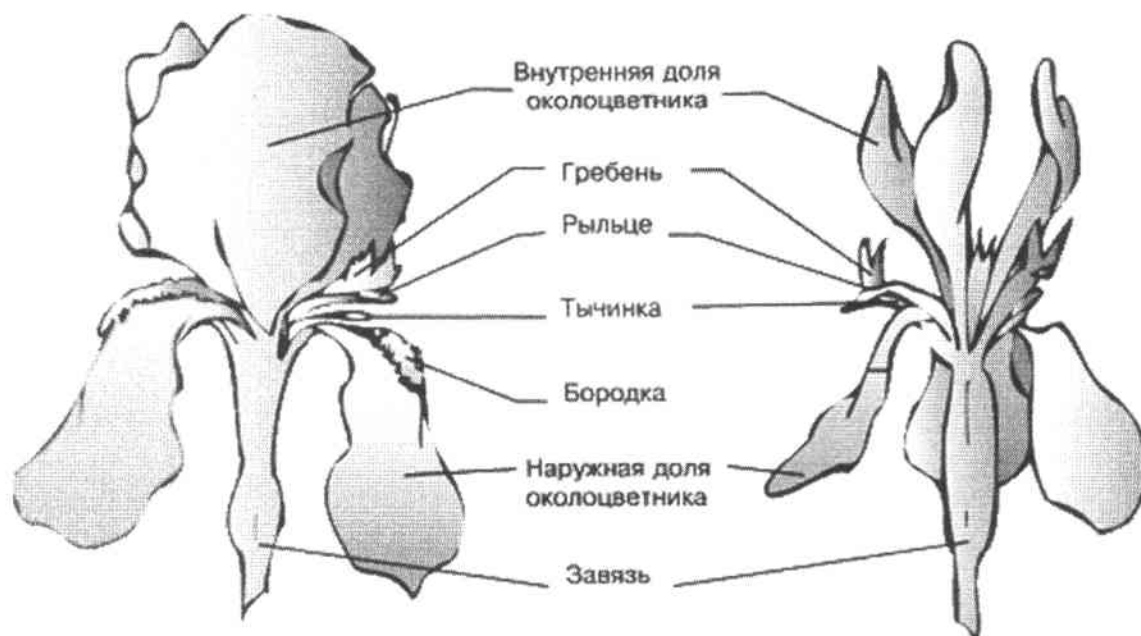


Рисунок 2. Строение цветка ириса

Растения рода Ирис (*Iris*) являются неприхотливой культурой, способны переносить пересадку в любое время, независимо от фазы развития. Но целесообразней это делать осенью – в сентябре или октябре, в это время лучше делить их корневища и пересаживать растение на новое место. Сеять семена также следует осенью в открытый грунт, глубина посева должна быть около двух сантиметров. Всходы семян можно наблюдать уже весной следующего года, а цветение на 3 или 4 год после посева. Цвести ирисы начинают в конце весны – в мае, и продолжают вплоть до середины июля, но цветки живут всего лишь 1-5 дней, одновременно на одном растении могут цвести от одного до трёх цветков [12, 20].

Плоды созревают к августу, в середине месяца их можно собирать. Плоды представляют собой трёхгнездную коробочку [2].

Из вышесказанного можно понять, что ирисы могут размножаться как вегетативно, так и половым путём (семенным). Семенным путём пользуются в селекции, а также для видового размножения растений [14].

По своему хозяйственному значению ирисы, в первую очередь, являются декоративными растениями, которыми украшают клумбы парков, скверов, административных зданий и палисадников, благодаря своей различной окраске, которая богата различными оттенками – от светлых жёлтых, белых, голубых, красных, розовых до тёмных синих, фиолетовых и даже чёрных. Поэтому цветочные композиции из ирисов пользуются большим спросом в цветоводстве.

На этом хозяйственное значение растений рода Ирис (*Iris*) не заканчивается. Так как они содержат монотерпеновый кетон ирон, многие органические кислоты: ундециловую, бензойную, миристиновую, тридециловую, альдегиды – нониловый, дециловый и бензойный; гликозид иридин, крахмал (до 60%), дубильные вещества, а их листья насыщены аскорбиновой кислотой, то эти растения широко используются в медицине, в частности народной [5].

К примеру, ирис сибирский применяется как противоцинготное средство. Ранее корневища ирисов входили в состав грудного сбора, так как препараты из корневищ ириса германского применяются в медицине как отхаркивающее средство. Также отвары корневищ многих видов ирисов обладают слабительным и рвотным действием.

У многих ирисов в корневищах содержатся различные эфирные масла, например, у таких, как ирис бледный (*Iris pallida* Lam.), ирис германский (*Iris germanica* L.), ирис флорентийский (*Iris florentina* L.). Поэтому ирисы используют и в ароматерапии в качестве успокаивающего средства, которое снимает усталость и стресс, но делают это редко из-за высокой цены масел [14].

Такое ценное эфирное масло используют и в парфюмерии, для изготовления парфюмов высшего качества, но из-за высокой цены масло часто заменяют синтетическим продуктом – ироном и другими ароматизаторами.

Ирисы используют в кулинарии: если размолоть корневище ириса в муку, то можно получить ароматизатор для кондитерского изделия, а также добавить в специи для вкуса. В таких странах, как Азербайджан лепестки ириса используют для приготовления варенья [14].

1.2 Техника культивирования растительного материала на искусственных питательных средах

Современные клеточные технологии, в основе которых лежит культивирование клеток, тканей и органов растений *in vitro*, значительно облегчают и, что самое главное, ускоряют традиционные процессы выведения новых сортов и видов, а также размножение редких видов растений. Так как все эти технологии позволяют вырастить материал, устойчивый к фитопатогенам и вирусам [15, 28].

Культивирование – обеспечение условий для размножения растительных и животных клеток и тканей, а также микроорганизмов в искусственных условиях, например, в *in vitro*.

Имеются два основных способа культивирования растительных клеток:

1. Непроточные культуры.

При данном способе культивирования клетки помещают в определённое количество питательной среды, где они начинают расти. Во время роста растительные клетки используют все вещества, имеющиеся в питательной среде, при этом в среде накапливаются продукты жизнедеятельности – метаболиты. В связи с этим питательная среда начинает постепенно менять свой химический состав и растительным эксплантам не хватает питательных веществ. Спустя время происходит истощение среды и размножение клеток прекращается.

Чтобы увеличить продолжительность жизни непроточных культур можно воспользоваться способами:

- Прерывистым – при этом части культуры удаляются из пробирки и заменяются тем же объёмом свежей питательной среды;
- Постоянным – при этом из культуры периодически удаляются небольшие порции клеток, так как объём культуры увеличивается медленно, с постоянной скоростью;
- Перфузионным – при этом постоянно удаляется использованная среда, которая заменяется тем же объёмом свежей питательной среды.

Данные способы непроточных культур характеризуются накоплением отходов жизнедеятельности клеток в среде, а также непостоянством внешних условий.

2. Проточные культуры.

Они характеризуются поддержанием гомеостатических условий, при этом концентрация питательных веществ, метаболитов, а главное число клеток не изменяются. Такие условия обусловлены постоянным вхождением свежей питательной среды в культуру и одновременным удалением такого же объема использованной среды с клетками [15].

Данные способы культивирования можно использовать для суспензионных культур и монослойных культур на микроносителях.

В зависимости от вида и сорта растений можно тестировать как твердые (агаризованные), так и жидкие питательные среды.

Жидкие питательные среды в основном используют для культивирования каллусов или изолированных тканей и органов растений. При этом методе для поддержки растительных эксплантов применяют мостики для поддержки, которые предварительно изготавливают из фильтровальной бумаги.

В нашей работе мы использовали твёрдую (агаризованную) питательную среду, которую готовили на основе агар-агара, так как этот полисахарид при взаимодействии с водой образует гель, при этом повышается

плотность питательной среды и использование мостиков-поддержки не требуется, рН среды становится 5,5-6,0 единиц.

Состав питательной среды должен быть подобран для каждого вида растений в отдельности, исходя из особенностей вида. При размножении растений в условиях *in vitro* можно использовать среды Мурасиге-Скуга (MS), Хеллера, Гамборга (B5), Уайта, Шенка-Хильдебрандта, Линсмайера-Скуга и другие [36].

В нашей работе для культивирования растений ирисов в условиях *in vitro* мы использовали питательную среду Мурасиге-Скуга (MS), которая по своему составу отличается большим количеством неорганического азота, а он, как известно, стимулирует процессы органогенеза и соматического эмбриогенеза.

На микроклональное размножение также влияют гормоны, минеральные соли, углеводы и витамины. Для того чтобы иметь возможность контролировать процессы образования в культивируемой культуре клеток и тканей, необходимо использовать биологические регуляторы роста и развития, такие как различные фитогормоны.

1.3 Гормональная регуляция в культуре клеток и тканей

Гормональная регуляция – это регуляция жизнедеятельности организма, а также отдельных его систем, которая осуществляется гормональной системой организма.

Для гормональной регуляции растений используются фитогормоны, которые являются биологическими регуляторами как физиологических, так и морфогенетических процессов растений. Фитогормоны влияют на рост, развитие, созревание, устойчивость к стрессам, состояние покоя, продуктивность, транспирацию и многие другие процессы, которые происходят в течение жизни растений [30, 33].

Для контроля над морфогенетическими и физиологическими процессами у растений пользуются одними и теми же гормонами, но в различных соотношениях, согласно цели применения.

Фитогормоны делят на 5 основных групп по функциональному действию:

1. Ауксины.

Данный гормон вырабатывается в активно растущих частях молодого растения, таких как точки роста стеблей, верхушки корней, молодые почки и листья. В нормальных количествах ауксины стимулируют рост растений, активируют поток питательных веществ к молодым органам, но, если концентрация данного фитогормона высока, то он угнетающе действует на организм растения.

Наиболее распространён в растениях гетероауксин – (ИУК), образующийся при окислительном дезаминировании триптофана. Природный ауксин индолил-3-уксусная кислота (ИУК) широко применяется в биотехнологии наряду с синтетическими индолил-3-масляной кислотой (ИМК), (индолил-3-пропионовой кислотой (ИПК) и (нафтилуksусой кислотой (НУК).

2. Гиббереллины.

Фитогормон синтезируется под влиянием света в таких частях как верхушки побегов, молодые и зрелые листья, кончик корня, семена, а также в проводящих тканях растений.

Главная их роль – стимуляция роста стебля растения растяжением клеток, а также влияние на формирование семян и плодов, прорастание семян, луковиц и клубней. У однодомных и двудомных растений данный фитогормон может влиять на формирование мужского цветка. В биотехнологии используется гиббереллиновая кислота [24, 33, 34].

3. Цитокинины.

Синтезируются в кончике корня. Способствуют активации деления клеток, влияют на рост и дифференцировку растений, а также развитие

боковых побегов, стимулируют формирование пигментов. При использовании в культуре клеток и тканей цитокинины способствуют активному перемещению питательных веществ в зону роста, замедляют старение листьев, усиливают газообмен растения и ускоряют прорастание семян, что важно для биотехнологии [30].

В биотехнологии используют природные цитокинины, такие как зеатин, кинетин и синтетические – 6-БАП (6-бензиламинопурин).

4. Этилен.

Синтезируется почти во всех тканях растений, но активнее всего в молодых, растущих тканях, стареющих листьях и созревающих плодах. Синтез фитогормона может резко увеличиться при стрессах растения (водный дефицит, травма и другое) и высоких концентрациях других фитогормонов, таких как ауксины и цитокинины.

Этилен способствует созреванию плодов, но ускоряет старение и опадение листьев, а также увядание цветков, угнетает рост стебля и корней в длину, утолщает органы растений и стимулирует рост боковых корней. В биотехнологии пользуется спросом этрел (2-хлорэтилфосфоновая кислота) при стимуляции созревания сочных плодов.

5. Абсцизовая кислота.

Синтезируется в листьях, корнях, семенах и плодах растений при расщеплении каротиноидов. АБК находится во всех тканях растения, в зелёных частях накапливается в хлоропластах.

Фитогормон замедляет рост и деление клеток, но способствует формированию семян, микроклубней и корнеплодов, ускоряет опадение цветков и плодов, в условиях недостатка влаги (засуха) тормозит рост растения и метаболизм, а также уменьшает транспирацию. В биотехнологии используется в сочетании с цитокининами для образования микроклубней.

В культуре клеток и тканей фитогормоны применяются в комплексе при различном сочетании гормонов, а также в отдельности. В основном фитогормоны используют для ускорения темпов роста и развития растений,

при выведении семян из покоя, ускорении образования сочных плодов и микроклубней [15, 28].

В нашей работе использовались такие фитогормоны как гиббереллины и ауксины, которые способствовали быстрому прорастанию семян и росту и развитию молодых растений в культуре *in vitro*.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объекты исследования – ирисы разных сортов: «Тубергена», «Болотный», «Призматический». Семена ирисов этих сортов были предоставлены нам Ботаническим садом им. И.И. Спрыгина ПГУ [7].

Ирис «Тубергена» – *Iris Sindpers*. Семейство Касатиковые – *Iridaceae*.

Является известным гибридом Ван Тубергена. По морфологическим признакам растение довольно невысокое с огромными цветками изящной формы, отличающимися стойким ароматом.

Предпочитает расти в теплом климате на солнечном месте, не любит прохладного дождливого лета, поэтому произрастает предпочтительней в Средней Азии вблизи горной системы Тянь-Шань, простираясь от предгорий до ледников. Экзотическая красота цветка привлекает внимание любителей растений, а также флористов [29, 37].

Луковицы ириса имеют многолетние корни, в основании которых располагаются почки, дающие жизнь замещающим луковицам.

Ирис «Болотный» (*Iris pseudacorus*) (также ирис жёлтый, ирис аировидный ирис ложноаировый, ирис водяной,). Семейство Касатиковые (*Iridaceae*) (рис. 3).

Это многолетнее прибрежное травянистое растение, высота которого достигает 75-160 см, с толстым, ветвистым и ползучим корневищем, диаметром до двух сантиметров. Стебель ириса плотный, ветвистый, с зелёными, широколинейными, мечевидными листьями, на которых прослеживается едва заметная средняя жилка.

На концах разветвлённого стебля располагаются длинные и толстые цветоносы с правильными цветками, собранными в пучки по 3-8 штук. Пластика трёх наружных долей околоцветника, отклонённых книзу, яйцевидная, суженная при основании. Отличается ярко-жёлтым или светло-жёлтым цветом с оранжевым пятном или пурпурными жилками посередине. Внутренние доли околоцветника значительно меньше и короче внешних,

линейные и прямостоячие. Столбик цветка короткий с тремя лепестковидными долями, которые отличаются зубчатым краем наверху. Тычинки имеют нежно кремовый цвет.



Рисунок 3. Ирис «Болотный»

Цветение происходит летом – с июня по август. Плод представляет собой тупо-трёхгранную продолговато-овальную коробочку с коротким носиком наверху, созревающую к концу августа. Семена сжатые, с блестящим отблеском [16].

Ирис «Призматический» (*Iris prismatica*) является многолетним травянистым растением (рис. 4).

Морозостойкий вид, хорошо произрастающий во влажных болотистых условиях. Распространяется с помощью корневищ, которые расположены близко к поверхности почвы. Стебли цветущего растения вырастают до 80 см, на них располагаются длинные и узкие листья длиной до 60 см. Цвет цветков может варьировать от бледно-голубых до сине-фиолетовых. Цветёт в мае.



Рисунок 4. Ирис «Призматический»

Родиной ириса является южная и восточная части Соединенных Штатов Америки от штата Мэн до Алабамы, а также канадские провинции Онтарио и Новой Шотландии. В Соединенных Штатах растение включено в список «угрожаемых» [17].

Введение эксплантов в культуру и их пересадка на свежую питательную среду мы проводили в асептическом помещении – ламинар-боксе стерильными инструментами, которые прокаливали в верхнем пламени спиртовки.

Стерилизацию питательной среды проводили в автоклаве, где была установлена температура 123 °С и давление 1 атм., в течение 40 мин.

Перед каждой манипуляцией с растительными эксплантами, мы прокаливали металлические части инструментов в пламени спиртовки.

Стерилизацию зародышей растений ирисов проводили в септических и асептических условиях.

В септических условиях семена последовательно обрабатывали 1%-ным раствором перманганата калия, 3%-ным раствором пероксида водорода и 70%-ным раствором этилового спирта, чтобы освободить их от бактериальных и грибковых инфекций. После этого семена помещали на чашки Петри для прорастания.

После прорастания семян, мы в стерильных условиях снимали с них семенную кожуру и обрабатывали экспланты такими дезинфицирующими растворами, как 1%-ный раствор перманганата калия и 3%-ный раствор пероксида водорода, выдерживая экспланты в этих растворах около одной минуты.

Для стерилизации растительных объектов, а также для стерилизации рук применяли 0,05% хлоргексидин биглюконат. Препарат проявляет бактерицидное действие в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий и фунгицидное действие.

Экспланты культивировали в асептических условиях на питательной среде Мурасиге-Скуга, в которую предварительно добавили 2 мг/л ауксина, 2 мг/л гиббереллина ГА3, 20 г/л сахарозы и 20 г/л глюкозы, для ускорения темпов роста и развития растений.

Растения выращивали в тепличных условиях при разном спектральном освещении (рис. 5).



Рисунок 5. Теплица

Опыты проводили в двух- и трёхкратной повторности. Для работы брали по 10-15 семян каждого сорта растений.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Особенности приготовления питательных сред для культивирования растений рода *Iris* L.

В ходе исследовательской работы нами было установлено, что для растений рода *Iris* L. удобнее будет использовать твердую (агаризированную) питательную среду. Приживаемость зародышей в нашем эксперименте приближалась к 99%. На таких агаризированных средах удобно производить различные манипуляции с объектами, такие как частую пересадку растений.

Для выявления наличия или отсутствия бактериальной или грибковой инфекции, питательная среда разливалась по чашкам Петри. Для проведения длительного культивирования растений ирисов питательная среда нами разливалась в пробирки большого объема (47 мл). Разливая питательную среду, мы заполняли пробирки на 1/3 от общего объема.

Как уже было сказано, состав питательной среды необходимо подбирать для каждого сорта и вида растений индивидуально. Нами был подобран оптимальный состав среды, на котором можно выращивать растения ирисов (таблица 2). Для культивирования растений ирисов мы использовали среду Мурасиге-Скуга (рис. 6).



Рисунок 6. Питательная среда Мурасиге-Скуга

Изготовление питательной среды Мурасиге-Скуга мы начинали с приготовления маточных (концентрированных) растворов микро- и макросолей (таблица 1), так как использование маточных растворов помогает снизить погрешности при взвешивании всех компонентов солей. Также это очень удобно – при приготовлении среды не нужно каждый раз взвешивать соли, чтобы добавить их в приготавливаемый раствор. Также не рекомендуется использовать менее концентрированные растворы солей из-за повышенной вероятности их заражения микроорганизмами [36].

Таблица 1 – Приготовление маточных растворов для среды Мурасиге-Скуга

№ п.п.	Компоненты среды	Количество вещества
Маточный раствор макросолей (г на 1 л маточного раствора)		
1.	KNO ₃	38
2.	NH ₄ NO ₃	33
3.	KH ₂ PO ₄	3,4
4.	MgSO ₄ · 7H ₂ O	7,4
	или MgSO ₄ безводный	3,6
5.	CaCl ₂ · 2H ₂ O	8,8
	или CaCl ₂ безводный	6,65
Маточный раствор микросолей (мг на 100 мл маточного раствора)		
6.	Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	25
7.	CuSO ₄ · 5H ₂ O	2,5
8.	H ₃ BO ₃	620
9.	MnSO ₄ · 5H ₂ O	2410
	или MnSO ₄ · 4H ₂ O	2230
10.	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	860
11.	KJ	83
12.	CoCl ₂ · 6H ₂ O	2,5
13.	FeSO ₄	557
	Na ₂ ЭДТА	745

Различные углеводы, такие как сахароза, глюкоза, фруктоза, галактоза, используются в качестве источника углеродного питания. Разные культуры требуют разных концентраций углеводов на разных стадиях микроклонального размножения [22].

При культивировании зародышей растений ирисов в качестве источника углеродного питания мы использовали 20 г/л сахарозы и 20 г/л глюкозы.

Биологические катализаторы стимулируют биохимические реакции в клетке растений. В качестве таких катализаторов мы использовали витамины группы В (В1, В6, В12), РР (никотиновую кислоту), фолиевую кислоту и мезоинозит.

Тиамин (В1), участвующий в превращениях углеводов, входит в состав пируватдекарбоксилазы, а тиаминпирофосфат является коферментом транскетолазы и входит в состав ферментов окислительного декарбоксилирования кетокислот, таких как пировиноградная и кетоглутаровая.

Пиридоксин (В6), в виде фосфорнокислого эфира, входит в состав ферментов переаминирования и декарбоксилирования аминокислот.

Никотиновая кислота (РР), в виде амида, входит в состав дегидрогеназ НАД и НАДФ, которые катализируют донорно-акцепторную цепь H^+ , то есть отнятие H^+ от молекул органических веществ [40].

Биологические регуляторы роста и развития – фитогормоны – необходимы для контроля процессов образования в культуре тканей.

При культивировании растений рода *Iris* L. мы использовали такие фитогормоны, как гиббереллин ГА3, добавили 2 мг/л и ауксин, его добавили также 2 мг/л. Растворы фитогормонов мы готовили незадолго до работы со средой.

Таблица 2 – Модифицированная питательная среда Мурасиге-Скуга для культивирования ирисов

Компоненты питательной среды	
Маточный раствор макросолей	50 мл/л
Маточный раствор микросолей	1 мл/л
Fe-хеллат	5 мл/л
CaCl ₂	50 мл/л
Тиамин-HCl	1 мг/л
Пиридоксин-HCl	1 мг/л
Витамин B ₁₂	0,015 мг/л
Никотиновая кислота	2 мг/л
Фолиевая кислота	0,5 мг/л
Мезоинозит	100 мг/л
Гидролизат казеина	1 г/л
Пантотенат Ca	10 мг/л
Рибофлавин	0,5 мг/л
Биотин	1 мг/л
Активированный уголь	10 г/л
ГК	2 мг/л
Зеатин	2 мг/л
Сахароза	20 г/л
Глюкоза	20 г/л
Агар-агар	7 г/л
pH 5,7-5,8	

Таким образом, подбор оптимальных условий выращивания, а это состав питательной среды, концентрация витаминов и фитогормонов, режим освещения, температура, влияют на рост и развитие растений. Соблюдение стерильности – это одно из главных условий работы с растениями в условиях *in vitro*.

3.2 Способы стерилизации растительных эксплантов

Стерилизация – это освобождение объекта или материала от всех видов микроорганизмов, включая бактерии и их споры, грибы, вирусы и прионы, или полное их уничтожение. Это осуществляется термическими, химическими, радиационными и фильтрационными методами.

Вся работа с культурой клеток и тканей *in vitro* проводилась в стерильных (асептических) условиях в ламинар-боксе, который является гигиеническим защитным боксом (LAMSYSYSTEMS, класс II / тип А) (рис. 7), стерильными инструментами, в стерильной посуде и на стерильных питательных средах. В случае нарушения стерильности, на средах развивались микроорганизмы, такие как грибы, бактерии, нарушающие химический состав среды и подавляющие рост и развитие растительных эксплантов.

Все внутренние и внешние поверхности ламинар-бокса обрабатывали 96%-ным раствором спирта. Простерилизованные инструменты, материалы, а также растительный материал помещали на стол ламинар-бокса и включали ультрафиолетовое излучение и биофильтры на 45 минут каждый раз перед предстоящей работой.

Для работы в ламинар-боксе надевали стерильный медицинский халат, обрабатывали руки 96%-ным раствором спирта или 0,05%-ным раствором хлоргексидина биглюконата. Все инструменты: пинцеты, скальпели, препарировальные иглы, микробиологические петли и лезвия помещали в стакан с 96%-ным раствором спирта для стерилизации. Перед каждой манипуляцией инструменты обжигали в верхнем пламени спиртовки.

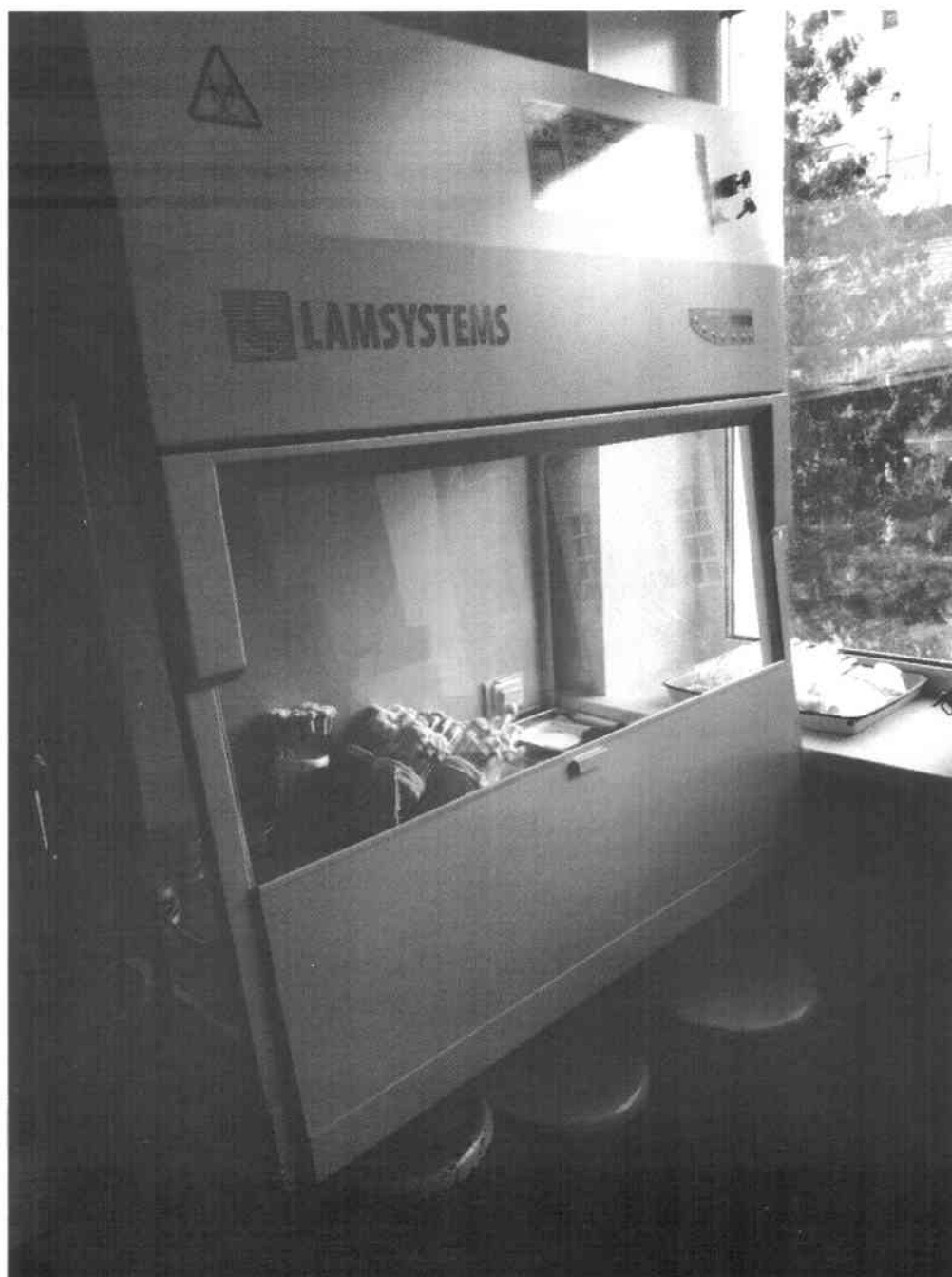


Рисунок 7. Ламинар-бокс

Стерилизацию питательной среды осуществляли в автоклаве (Tuttnauer 2540 ML, AUTOCLAVE – STEAM STERILIZER) (рис. 8), при температуре 123 °С и давлении 1 атм. в течение 40 мин. Нельзя использовать более высокую температуру, так как при этом разрушаются фитогормоны. Сокращение времени стерилизации до 30 минут привело к тому, что часть пробирок с питательной средой оказалась зараженной еще до посадки объекта.



Рисунок 8. Автоклав

Так как на поверхности растительных тканей всегда находится эпифитная микрофлора, то они сами могут служить серьёзным источником заражения.

В нашей работе основными стерилизующими агентами являлись: 1%-ный раствор перманганата калия, 3%-ный раствор перекиси водорода и 70%-ный раствор этилового спирта.

Чтобы снизить повреждающий эффект концентрированного этилового спирта на семена и растительные экспланты, мы уменьшили его концентрацию с 96% до 70%.

При использовании для стерилизации только 70%-ного раствора этилового спирта или только 3%-ного раствора пероксида водорода зараженность растительных объектов достигала 75% и выше. Заражение происходило от самого растительного материала. Заражающим объектом была грибная микрофлора.

В связи с этим мы стали использовать последовательную стерилизацию семян тремя препаратами (рис. 9).

От применения препаратов, содержащих хлор (хлорамином, гипохлорит натрия, гипохлорит кальция) и токсичных препаратов (сулема, диацид) мы отказались, так как хотели подобрать менее опасные и вредные стерилизующие агенты.

Изначально мы выбрали следующую схему стерилизации семян ирисов №1: 1%-ный раствор KMnO_4 (2 минуты) → 3%-ный раствор H_2O_2 (2 минуты) → 70%-ный раствор этилового спирта (3 минуты).

Данный метод стерилизации нам не подошёл, так как после нескольких дней проращивания в чашках Петри в 70% случаев обнаружались следы грибной микрофлоры.

В связи с этим мы изменили способ стерилизации семян.

Схема стерилизации семян ирисов №2: 1%-ный раствор KMnO_4 (15 минут) → 3%-ный раствор H_2O_2 (5 минут) → 70%-ный раствор этилового спирта (5 минут). Это снизило зараженность до 0-10%.

Схемы стерилизации выявлялись с помощью метода проб и ошибок.



Рисунок 9. Стерилизация семян ирисов в дезинфицирующих растворах

После выдерживания семян ирисов в дезинфицирующих растворах, их тщательно промывали в дистиллированной воде и помещали на смоченную дистиллированной водой фильтровальную бумагу, находящуюся на дне чашки Петри, для проращивания.

3.3 Получение эксплантов растений рода *Iris* L. *in vitro*

После закладки семян на чашки Петри, периодически добавляли в неё дистиллированную воду, избегая пересыхания семян.

Опыт № 1 заложили 22 октября 2019 года. В 100% случаев семена в чашках Петри покрылись грибной микрофлорой, что свидетельствовало появлению розовых и белых пятен плесневых грибов в чашках Петри (рис. 10).

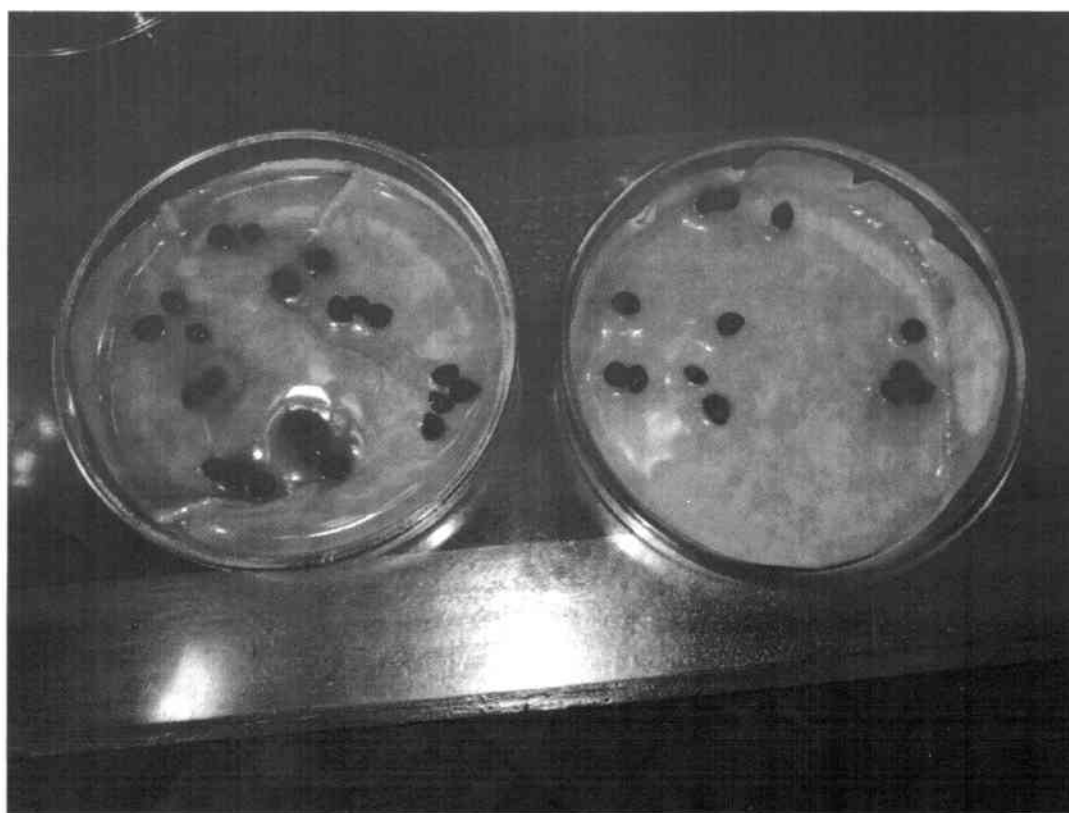


Рисунок 10. Семена ирисов, заражённые грибной микрофлорой

В одной чашке Петри семена успели прорасти, но опыт пришлось остановить, так как семена должны быть стерильны.

29 октября 2019 года заложили опыт № 2. Семена простерилизовали по новой схеме стерилизации №2 (см. пункт 3.2). В 75 % случаев грибной микрофлоры не наблюдалось.

12 ноября 2019 года семена ириса Призматический проросли.

Для более быстрого прорастания семян ириса Тубергена пользовались методом колебания температур, семена несколько суток держали в холодильнике, затем переносили в теплицу. 14 ноября 2019 года проросли семена ириса Тубергена. Но в чашках Петри, где находились семена ириса Тубергена обнаружилась грибная микрофлора (рис. 11), в связи с этим мы 14 ноября 2019 года заложили опыт № 3.



Рисунок 11. Проросшие семена ириса Тубергена, заражённые грибной микрофлорой

28 ноября 2019 года проросли семена ириса Тубергена., заложенные в опыте №3.

Семена ириса Болотный не прорастали, прочитав дополнительную литературу, мы выяснили, что для лучшего прорастания семян нужно убрать верхнюю семенную кожуру, что мы и сделали 21 ноября 2019 года.



Рисунок 12. Снятие семенной кожуры с семян ириса Болотный

После снятия семенной кожуры, очищенные семена также положили в чашку Петри и убрали в теплицу для прорастания. 29 ноября 2019 года ирис Болотный пророс (рис. 13).

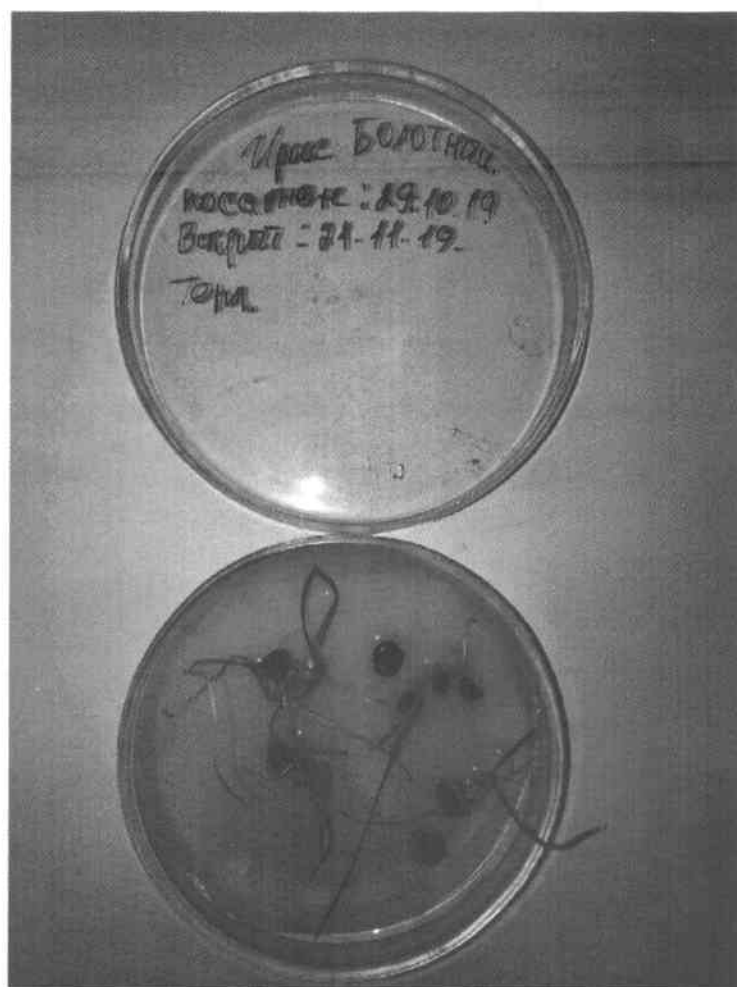


Рисунок 13. Проросшие семена ириса «Болотный»

После того, как семена ирисов проросли и их ростки достигли размера 1-1,5 см, мы начали их пересадку в питательную среду Мурасиге-Скуга. Перед этим мы очистили проросшие семена ирисов от семенной кожуры в ламинар-боксе.

Изолированные ткани и клетки растений более успешно растут только при отсутствии конкуренции с микроорганизмами.

Изолированные фрагменты растения – экспланты, помещаемые на питательную среду, легко подвергаются поражению грибной и бактериальной микрофлоры, поэтому их также необходимо стерилизовать, подбирая определённые условия стерилизации, чтобы не убить растение.

Семена, из которых будет извлечен зародыш, предварительно выдерживали в 1%-ном растворе перманганата калия и 3%-ном растворе пероксида водорода по 3 минуты, после чего снимали семенную кожуру.

Затем экспланты в стерильных условиях (в ламинар-боксе) последовательно обрабатывали следующими дезинфицирующими растворами: 1%-ным раствором перманганата калия и 3%-ным раствором пероксида водорода по 1 минуте. Далее пересаживали растительные экспланты в питательную среду, разлитую в большие пробирки, объемом 47 миллилитров (рис.14).



Рисунок 14. Растительные экспланты, пересаженные в питательную среду

Экспланты ириса Призматический очистили от семенной кожуры и посадили в пробирки с питательной средой 14 ноября 2019 года.

Экспланты ириса Тубергена очистили от семенной кожуры и пересадили в пробирки с питательной средой 5 декабря 2019 года.

Экспланты ириса Болотный пересадили в пробирки с питательной средой 12 декабря 2019 года.

Растения росли довольно интенсивно, так как в питательную среду были добавлены такие фитогормоны, как гибберелины и ауксины, способствующие быстрому росту и развитию молодых растений в культуре *in vitro*.

Спустя 10 дней после посадки побеги ириса Тубергена достигли высоты 6 миллиметров, но в пробирках со средой обнаружались следы бактериальных культур (рис. 15). Из-за этого растения росли плохо. Заражение могло произойти при пересадке эксплантов в питательную среду или из-за нарушения стерильности в пробирке перед посадкой.

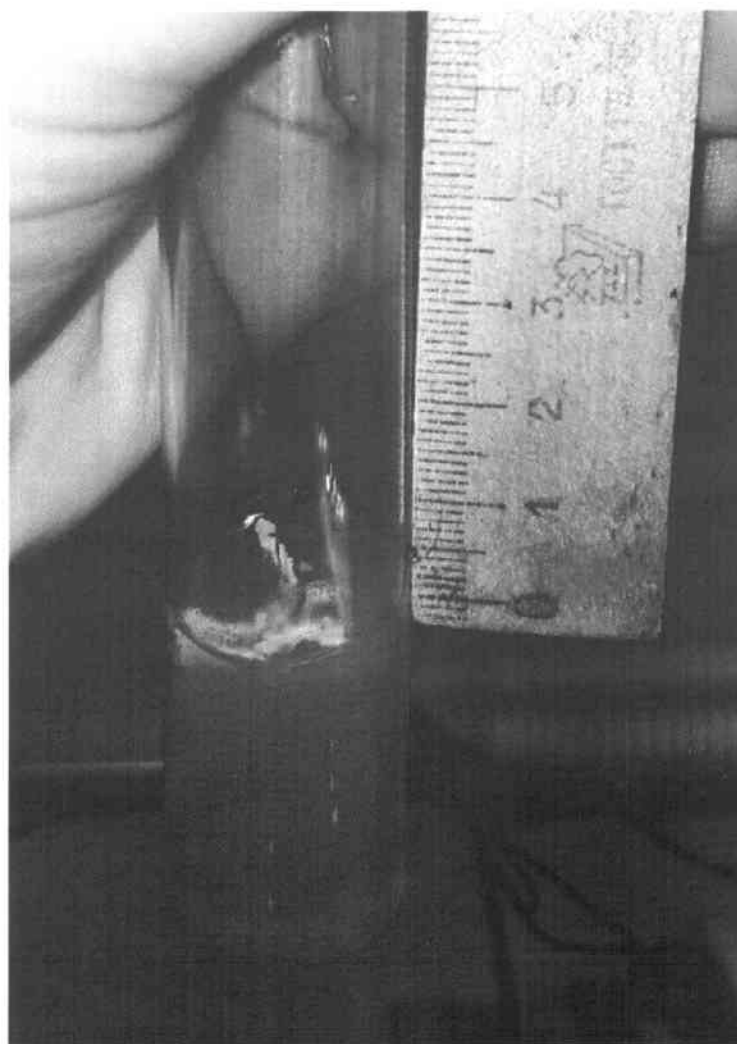


Рисунок 15. Ирис Тубергена

После 5 дней выращивания побеги ириса Болотный достигли 45 миллиметров в высоту (рис. 16).



Рисунок 16. Ирис Болотный

После 33 дней выращивания ирисов вида Призматический высота их побегов составила 80 миллиметров (рис. 17).

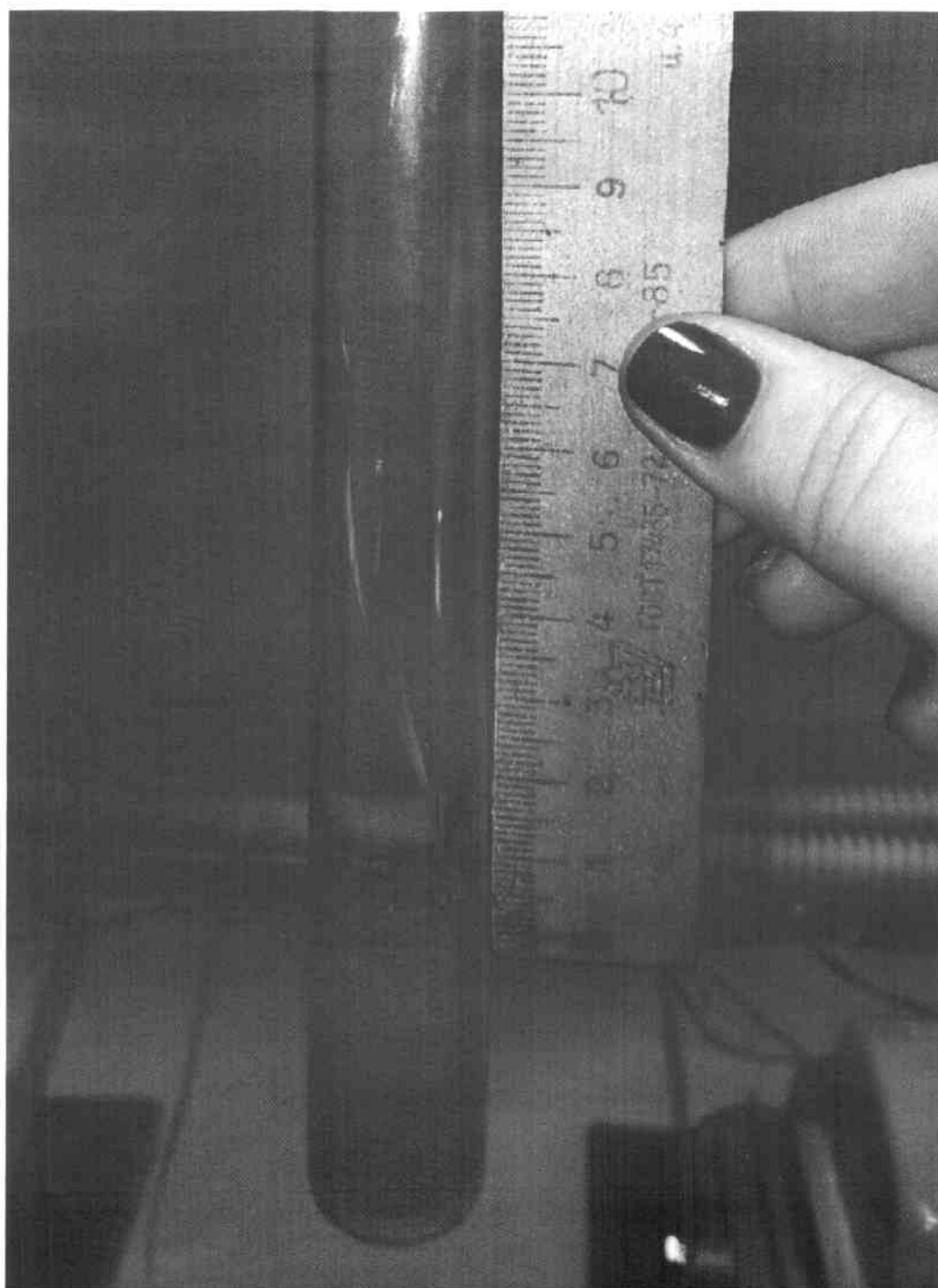


Рисунок 17. Ирис Призматический

В 70 % случаев пробирки со средой не были заражены бактериями или грибной микрофлорой. Но в некоторых пробирках (30 % от общего числа) мы наблюдали розовые и белые пятна, что свидетельствовало о наличии в пробирках бактериальных культур и плесневых грибов. Заражение питательной среды могло произойти при посадке зародышей в пробирки.

На интенсивный рост растений влияли многие факторы:

- в состав питательной среды входят различные соли, витамины, кислоты, которые создают растениям комфортные условия для питания и развития;
- в состав питательной среды входят фитогормоны, такие как ауксин (0,5-2 мг/л) и гиббереллин ГА3 (2 мг/л), которые вызывают резкое ускорение роста и развития зелёной массы растений;
- растения выращивались в тепличных условиях под действием разного спектрального освещения, что благоприятно сказывается на росте и развитии растений;
- питательная среда и сами экспланты проходили многократную стерилизацию, что уменьшило развитие грибной и бактериальной микрофлоры.

ГЛАВА 4. ПРОЕКТНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ УЧАЩИХСЯ В РАМКАХ ИЗУЧЕНИЯ БИОЛОГИИ

Все исследования, выполненные в рамках бакалаврской работы мы можем применить при работе в школе на дополнительных или факультативных занятиях по биологии, в качестве проектной деятельности. Также проведённые исследования могут быть включены в дополнительные сведения, приводимые на уроках для привлечения интереса школьников к предмету и к проведению собственных исследовательских работ, для участия в различных научных конференциях школьного, регионального и муниципального этапах.

Научно-исследовательская работа школьников – это творческая работа учащихся под руководством учителя, которая направлена на решение конкретной творческой исследовательской задачи, при этом результат работы заранее неизвестен. Научно-исследовательская работа предполагает наличие основных этапов, которые характерны для исследования в научной сфере [8].

Проект – это творческая работа, которая направлена на решение конкретной проблемы, на достижение оптимальным способом заранее запланированной цели [18].

В школе в рамках изучения биологии с учениками можно выполнить следующий проект.

Тема: «Культивирование редких видов ирисов, включенных в Красную книгу ПО».

Учебный предмет: Биология.

Контингент участников проекта: учащиеся 10-х классов.

Тип проекта: практико-ориентированный.

Объект исследования: ирисы, включенные в Красную книгу Пензенской области.

Цель работы: культивирование редких видов ирисов.

Задачи:

1. Изучить литературу и материалы в сети интернет об ирисах;
2. Выяснить, какие виды ирисов занесены в Красную книгу Пензенской области;
3. Найти информацию об экологии ирисов;
4. Познакомиться с методом культивирования растений в условиях *in vitro*;
5. Оценить перспективы метода культивирования растений в условиях *in vitro*;
6. Выяснить какие существуют методы стерилизации семян;
7. Подобрать методы стерилизации семян ирисов;
8. Вырастить растения рода *Iris* L. в условиях *in vitro*.

Проект рассчитан на 68 часов по 2 часа в неделю.

В данном проекте используются методы:

- анализ литературы по заданной теме;
- эксперимент;
- наблюдение;
- измерение;
- описание;
- беседа;
- обобщение полученных данных.

Актуальностью нашей работы является то, что на сегодняшний день методами современной биотехнологии растений можно возродить вымирающие виды растений, что очень актуально, так как растения рода *Iris* L. являются одними из красивейших растений, использующиеся в медицине, косметологии, парфюмерии, флористике и многих других областях.

В первую главу нашего проекта можно поместить различную информацию о растениях рода *Iris* L.:

- 1) Ботаническое описание растений;
- 2) Хозяйственное значение;
- 3) Места произрастания;

4) Экология ирисов;

5) Перечень краснокнижных видов и их особенности;

Во второй главе нашего проекта практическая деятельность, которую мы проводили с растениями рода *Iris* L.:

1) Приготовление дезинфицирующих растворов;

2) Стерилизация семян;

3) Проращивание семян;

4) Приготовление питательной среды;

5) Высаживание проросших семян на питательную среду;

6) Наблюдение за ростом и развитием молодых растений ирисов.

Вывод: редкие виды растений можно выращивать в культуре *in vitro*, сохраняя их ценные признаки, при этом растения дают 99% приживаемости, благодаря данному методу можно размножать растения в неограниченном количестве, пренебрегая сезонностью и не дать виду полностью погибнуть.

Мы убедились в том, что действительно данным способом можно размножить редкие растения, а после пересадить в грунт, где они далее будут расти, развиваться и размножаться.

Практическая значимость исследования: полученный материал можно использовать на уроках биологии, факультативных занятиях, при проведении классных часов, викторин и научных конференций.

В качестве объектов исследования также можно использовать растения, употребляемые в пищу, такие как огурцы, шпинат и многие другие. При углубленном изучении метода культивирования растений можно вырастить растения с ценными признаками, которые будут отличаться повышенными темпами роста и развития [9].

В ходе обучения мы работали с учеником 10 класса и выполнили с ним исследовательскую работу по теме: «Особенности культивирования огурцов и шпината в условиях *in vitro*», с которой он выступал на научно-практических конференциях и занимал призовые места (рис. 18).



Рисунок 18. Проведение исследовательской работы со школьником

В ходе исследования мы познакомились с современным методом биотехнологии растений таким как культивирование растений в условиях *in vitro*, познакомились с методами, которыми пользуются современные селекционеры для выведения более продуктивных сортов растений, выяснили, что данным методом можно размножить редкие виды растений, находящиеся под угрозой вымирания.

Последовательность этапов проектно-исследовательской деятельности школьника:

1. Актуальность принятой для исследовательской деятельности темы.
2. Четкое определение проблемы исследовательской деятельности, его предмет и объект исследования.

3. Пошаговое построение плана деятельности участника проекта, при котором используется карта исследовательской работы.

4. Тщательный сбор информации об исследуемых объектах.

5. Анализ и обобщение собранной информации.

6. Анализ и обобщение полученных результатов при проведении практической исследовательской деятельности.

7. Теоретическое составление и оформление результатов исследовательской деятельности.

8. Перевод полученных и обобщенных данных в электронный носитель в различной форме, такие как диаграммы, таблицы.

9. Защита проекта.

Все вышеизложенные этапы исследовательской работы можно объединить в наиболее крупные категории: подготовительный этап, основной этап и заключительный [32].

Паспорт проектно-исследовательской деятельности школьника состоит из следующих пунктов:

1. Название проекта.

2. Руководитель проекта.

3. Консультанты проекта (учитель химии).

4. Учебный предмет, в рамках которого проводится работа по проекту.

5. Учебные предметы, близкие к теме проекта или включенные в исследовательскую деятельность.

6. Возраст школьников, на которых рассчитан проект.

7. Состав группы (Ф.И.О. школьника, класс).

8. Тип проекта (реферативный, информационный, исследовательский и т.д.).

9. Цель проекта.

10. Задачи проекта.

11. Теоретические или практические вопросы проекта, на которые должны ответить в ходе выполнения работы.

12. Предполагаемые результаты проекта.
13. Этапы работы над проектом (форма, продолжительность, содержание работы и т.д.).
14. Предполагаемое распределение задач и ролей в группе.
15. Полученный теоретический и практический результат.
16. Оформление результатов проектной работы (индивидуальные или групповые).

Методические рекомендации при организации проектно-исследовательской деятельности школьников:

1. Чётко сформулированная тема проекта;
2. Посильность для выполнения темы проекта;
3. Чёткая и пошаговая организация работы каждого участника проектной группы или индивидуального участника;
4. Объективность оценивания хода работы каждого участника в ходе выполнения и завершения работы над проектом;
5. Стимулирование личных достижений каждого участника проекта на протяжении всего времени и хода выполнения работы;
6. Оказание практической помощи в ходе работы;
7. Фиксирование собранных результатов;
8. Отбор первостепенной информации из бумажных и электронных источников;
9. Отбор полученной информации в ходе наблюдения и исследования;
10. Оформление, хранение и представление исследовательской работы.

Что должно входить в состав проектной папки:

1. Паспорт проекта.
2. План выполнения проекта и отдельных этапов работы.
3. Промежуточные отчеты (теоретическая и практическая часть проекта).
4. Собранная информация по теме с указанием источника информации.

5. Результаты и анализ собранного теоретического материала или наблюдаемых явлений.

6. Описания, фотографии, таблицы, диаграммы и т.д.

7. Материалы к презентации.

8. Рабочие материалы, черновики участников группы.

9. Перевод работы в рукописный или цифровой вариант.

В наполнении проектной папки принимают участие все участники проекта. Записи должны быть четкими, читаемые [32, 39].

Накопленный материал проекта способствует формированию мировоззрения школьников, расширению и углублению знаний о разнообразии форм жизни, определению общих биологических закономерностей, их причинно-следственных связей, формированию исследовательских, коммуникативных и научно-познавательных навыков учащихся. В ходе работы реализуются задачи экологического, биологического, трудового и эстетического воспитания школьников [26].

Проведённая научно-исследовательская работа является победителем конкурса «25.12.2021 – Международный конкурс научно-исследовательских проектов преподавателей и учителей образовательных организаций» и награждена дипломом 1 степени (рис.19), а также лауреатом без присуждения места в Международном конкурсе исследовательских работ для студентов и учащихся общеобразовательных учреждений в области биологических, химических и медицинских наук, что подтверждает актуальность темы научно-исследовательской работы в настоящее время.

ДИПЛОМ | DIPLOMA

I степени | 1st degree | 1 место
награждается | awarded to

Черкунова Валерия Юрьевна

студент Пензенского государственного университета

победитель конкурса "25.12.2021 — Международный конкурс
научно-исследовательских проектов преподавателей и учителей образовательных
организаций (<http://university.interclover.ru/all/science.html>)", проводимого 25 декабря
2021 года по инициативе проекта Intercllover.ru, г. Нижний Новгород

Название проекта: научная статья "Преодоление покоя семян и особенности введения в культуру in vitro
растений рода Iris"

Номинация: исследовательская работа с практической новизной

Научное направление: Биологические науки

Подкатегория научного направления: Физиология и биохимия растений

Степень достижений: доценты образовательных учреждений (ВО), доценты образовательных учреждений
(магистратура), Научный руководитель научных и исследовательских работ студентов (ВО), Научный
руководитель научных и исследовательских работ студентов (магистратура, ординатура, интернатура)

Форма участия: дистанционное участие

Научный руководитель: -


КРАСНОВА Н.А. | KRASNOVA N. A. | KANAIEVA YU. O. | KANAIEVA YU. O.
руководитель НОО зам. руководителя НОО
"Профессиональная наука" "Профессиональная наука",
председатель конкурсного жюри секретарь конкурсного жюри | Deputy
Head of the "Professional Science", Head of the "Professional Science",
Chairman of the Competition Jury Secretary of the Jury

interclover.ru | 2021 | Нижний Новгород

Рисунок 19. Диплом победителя Международного конкурса научно-исследовательских проектов преподавателей и учителей образовательных организаций

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По итогам бакалаврской работы можно сделать вывод, что цель и задачи, поставленные на I этапе работы, достигнуты.

В качестве объектов исследования были выбраны ирисы сортов Тубергена, Болотный и Призматический.

В ходе работы нами было сделано ботаническое описание выбранных сортов растений рода *Iris* L.

Результатом проведенных исследований стало освоение метода культивирования растений в условиях *in vitro*. Мы подобрали оптимальные условия для введения в культуру эксплантов растений. Также смогли подобрать оптимальные условия для стерилизации семян и эксплантов ирисов, предотвратили размножение грибковой микрофлоры.

Для проведения экспериментов приготовили твердую (агаризированную) питательную среду Мурасиге-Скуга, которая подходит для культивирования наших объектов исследования.

Растения выращивали в тепличных условиях при разном спектральном освещении.

Спустя 10 дней после пересадки эксплантов растений побеги ириса Тубергена достигли высоты 6 миллиметров, но в пробирках со средой обнаружили следы бактериальных культур. Из-за этого растения росли плохо. Заражение могло произойти при пересадке эксплантов в питательную среду. После 5 дней выращивания побеги ириса Болотный достигли 45 миллиметров в высоту. Спустя 33 дня выращивания ирисов сорта Призматический высота их побегов составила 80 миллиметров.

В 70 % случаев пробирки со средой не были заражены бактериальной или грибной микрофлорой.

Таким образом можно сделать вывод, что на рост и развитие растений в условиях *in vitro* влияют многие факторы:

1. Правильная стерилизация семян;

2. Правильно приготовленная питательная среда, где подобраны компоненты в определенном количественном соотношении, в соответствии с видом растения;

3. Обработка растений фитогормонами, в нашем случае ауксинами и гиббереллинами;

4. Внешние условия, в которых прорастают растения (например, свет, температура).

При проведении исследовательской работы мы собрали огромное количество информации, которую можно использовать как на уроках биологии в качестве дополнительной информации, так и на факультативных занятиях. А также можно представить возможность самостоятельно ознакомиться с методом культивирования растений в условиях *in vitro* и вырастить растения в ходе научно-исследовательской работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аксенов Е., Аксенова Н. Декоративные растения. Энциклопедия природы России. Москва: 2017. 608 с.
2. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений. Учебник для студентов вузов. Москва: Академия, 2005. 640 с.
3. Андреева Н.Д. Методика обучения биологии в современной школе. Учебник и практикум для бакалавриата и магистратуры. М.: Издательство Юрайт, 2018. 300 с.
4. Байбородова Л.В. Проектная деятельность школьников в разновозрастных группах: пособие для учителей общеобразовательных организаций. М.: Просвещение, 2013. 175 с.
5. Блинова К.Ф. Ботанико-фармакогностический словарь: Справ. пособие. М.: Высш. шк., 1990. С. 192.
6. Болдырев М.И. Действие стрессовых факторов на растения. Защита и карантин растений. Москва: 2008. 14-15 с.
7. Ботанический сад [Офиц. сайт]. URL: <https://botsad.pnzgu.ru>. (Дата обращения: 28.03.2022).
8. Васильев В. Проектно-исследовательская технология: развитие мотивации. М., 2000. с.177-180.
9. Васильева Е.М., Горбунова Т.В., Кашина Л.И. Эксперимент по физиологии растений в средней школе. Пособие для учителей. М.: Просвещение, 1978. 112 с.
10. Викторов Д.П. Практикум по физиологии растений. Воронеж: Изд-во ВГУ, 1991. 160 с.
11. Гавриленко В.Ф. Большой практикум по фотосинтезу: Учеб. пособие для студ. вузов под ред. Е. П. Ермакова. М.: Издательский центр «Академия», 2003. 256 с.
12. Генкель П.А. Физиология растений. Учебное пособие по факультативному курсу для 9-х классов. М.: Просвещение, 1985.

13. Гольд В.М., Гаевский Н.А., Голованова Т.И. Электронный учебно-методический комплекс «Физиология растений». Красноярск: ИПК СФУ, 2008. 148 с.
14. Губанов И.А. Дикорастущие полезные растения СССР. М.: Мысль, 1976. 360 с.
15. Дитченко Т.И. Культура клеток, тканей и органов растений. Минск: БГУ, 2007. 25 с.
16. Ирис болотный. Описание [Офиц. сайт]. URL: <https://stroy-podskazka.ru/irisy/sorta/bolotnyj/> (Дата обращения: 5.04.2022).
17. Ирис призматический. Описание [Офиц. сайт]. URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Iris_prismatica (Дата обращения: 5.04.2022).
18. Коноводова Ю.А. Роль самостоятельной учебно-исследовательской деятельности учащихся при обучении биологии. Актуальные задачи педагогики: материалы Междунар. науч. конф. (г. Чита, февраль 2013 г.). Чита: Издательство Молодой ученый, 2013. С. 123-124.
19. Конюшко В.С. Методика обучения биологии. Наука и образование. 2014. С.7-15.
20. Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений. М.: Высшая школа, 2005. 730 с.
21. Леонтович А.В. Исследовательская деятельность учащихся. Сборник статей. Библиотека журнала «Исследовательская работа школьников», серия «Сборники и монографии». М., 2006. 114 с.
22. Медведев С.С. Физиология растений. Учебник. СПб.: БХВ-Петербург, 2012. 512 с.
23. Меняева И.Н. Организация поисковой, исследовательской, экспериментальной работы в школе. Педагогическая мастерская. 2005. С. 12-15.
24. Муромцев Г.С., Агнестикова Н.В. Гиббереллины. М.: Наука, 1984. 199 с.

25. Научно-исследовательская работа по биологии, как важный способ активизации школьников [Офиц. сайт] URL: <http://guoedu.ru/nauchno-prakticheskie-konferencii/> (Дата обращения: 01.04.2022).
26. Поддьяков А.Н. Методологические основы изучения и развития исследовательской деятельности. М., 2006. С. 85-90.
27. Практический курс: Систематика высших растений: Учебник для вузов. СПб.: Лань, 1998. 447 с.
28. Рейвн П. Современная ботаника. М.: Мир, 1990. 560 с.
29. Родионенко Г.И. Ирисы. М.: Колос, 1981. 156 с.
30. Романов Г.А. Как цитокинины действуют на клетку. Физиология растений. М., 2009. С. 295-319.
31. Соколова Т.А. Декоративное растениеводство. Древодводство. Учебник для студ. высш. учеб. Заведений. Москва: Академия, 2014. 352 с.
32. Учебно-исследовательская деятельность по биологии в соответствии с ФГОС [Офиц. сайт]. URL: <http://pandia.ru/text/80/489/83989.php.html> (Дата обращения: 10.05.2022).
33. Титов А.Ф. Таланова В.В. Устойчивость растений и фитогормоны. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2009. 206 с.
34. Третьяков Н.Н. Практикум по физиологии растений. М.: Агропромиздат, 1990. 271 с.
35. Третьяков Н.Н. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений. М.: Колос, 2000. 640 с.
36. Широков А.И. Основы биотехнологии растений. Электронное учебно-методическое пособие. Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2012. 49 с.
37. Энциклопедия растений [Офиц. сайт]. URL: <http://www.zakupator.com/sad/belamkanda.html>. (Дата обращения: 07.04.2022).
38. Энциклопедия декоративных садовых растений [Офиц. сайт]. URL: <http://www.packagile.ru/lukov/belamcanda.html>. (Дата обращения: 07.04.2022).

39. Ядрышникова Л.Г. Проектно-исследовательская деятельность обучающихся на уроках биологии [Офиц. сайт]. URL: http://samoch2012.ucoz.ru>issledovaniya_na_biologii.docx (Дата обращения 10.05.2022).

40. Якушкина Н. И. Физиология растений. М.: Владос, 2005. 463 с.