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
Профили подготовки Биология. Химия
Форма обучения очная

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
на тему:
«ОСОБЕННОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ОДНОДОЛЬНЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO* ПРИ ОРГАНИЗАЦИИ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ СО ШКОЛЬНИКАМИ»

Студент _____ Макарова Надежда Сергеевна

Руководитель _____ Солдатов С.А.

Нормоконтролер _____ Клыченков С.В.

Работа допущена к защите (протокол заседания кафедры от 09.06.22 №12)

Заведующий кафедрой _____ Карпова Г.А.

Работа защищена с отметкой отлично

(протокол заседания ГЭК от 11.06.22 № 7)

Секретарь ГЭК _____ Клыченков С.В.

Пенза, 2022

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 5
1.1. История развития метода культивирования клеток, тканей и органов растений 5
1.2. Биотехнология производства культуры клеток, тканей и органов растений 8
1.3. Принципы культивирования клеток и тканей растений 9
1.3.1. Создание условий асептики 9
1.3.2. Питательные среды 13
1.3.3. Физические факторы культивирования 18
1.4. Биологические особенности однодольных растений 19
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 20
2.1. Ботаническое описание некоторых видов Ирисов семейства *Iridaceae* 20
2.2. Ботаническое описание некоторых видов Лука семейства *Alliaceae* ... 24
2.3. Методы исследования 28
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ 29
3.1 Особенности культивирования в условиях *in vitro* некоторых видов рода *Allium* 29
3.2. Особенности культивирования в условиях *in vitro* некоторых видов рода *Iris* 36
ГЛАВА 4. ПРОЕКТНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ШКОЛЬНИКОВ В РАМКАХ ПОДГОТОВКИ К НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ 44
ЗАКЛЮЧЕНИЕ 47
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 49

ВВЕДЕНИЕ

Мир флоры играет большую роль для человека. Человек получает около 99% сухой массы из растений, так как растения применяются в различных областях производства. Значительное увеличение урожая сельскохозяйственных культур в двадцатом веке привело к загрязнению окружающей среды, истощению ресурсов и возрастанию затрат на единицу продукции. Поэтому было необходимо найти новые подходы для решения этой проблемы. Одним из методов решения стала клеточная инженерия.

Клеточная инженерия – это выращивание изолированных клеток и тканей на искусственных питательных средах в стерильных условиях.

Данный метод позволяет сохранить генотипы растений с ценными признаками и биоразнообразием в целом.

Большой выбор необходимого материала из природной фауны позволяет создавать новые сорта растений, которые могут обладать следующими особенностями: высокая урожайность, адаптивность и устойчивость к болезням, неблагоприятным условиям окружающей среды и вредителям.

Биотехнология играет большую роль при решении этих проблем. Именно поэтому применение данного метода является одним из важных факторов повышения урожайности культур.

Прогресс в области современной биотехнологии связан с разработкой методических приемов культивирования изолированный клеток и тканей методом *in vitro.* Важным фактором при использовании этого метода является правильный подбор объектов и разработка оптимальных технологий получения новых сортов.

В последние годы возрастает потребность в заинтересованности детей в учебной программе. Одним из педагогических приемов является учебно-исследовательская деятельность. Она позволяет заинтересовать

ребенка, благодаря интересным опытам и углубить школьные знания, а также научить ребенка подбирать необходимую информацию, анализировать, сравнивать, а так же делать выводы.

Цель бакалаврской работы: изучить особенности культивирования однодольных растений в условиях *in vitro* в процессе организации научно-исследовательской работы со школьниками.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

1. изучить видовое разнообразие сортов рода Ирис и Лук, в ботаническом саду им. И.И. Спрыгина;
2. рассмотреть методы культивирования растений в условиях *in vitro*;
3. подобрать оптимальные условия для стерилизации семян;
4. подобрать оптимальные условия для введения в культуру и для клонального микроразмножения растений;
5. получить молодые растения, оценить их прорастание в условиях *in vitro*;
6. выяснить возможность использования полученного материала в изучении школьного курса биологии.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. История развития метода культивирования клеток, тканей и органов растений

Метод культивирования клеток, тканей и органов растений начали изучать в первой половине XX века.

В настоящее время выделяют следующие этапы становления биотехнологии:

I этап. В начале XX века ученные предприняли первые попытки в данном методе и попытались культивировать изолированные ткани, группы клеток и волоски. Данные попытки не увенчались успехом, но они сформулировали гипотезы, которые подтвердились позже [3].

Большое количество ученых трудились в этом направлении.

Герман Фехтинг – немецкий ботаник, изучая фрагменты стеблей, пришел к выводу, что полярность свойственна как органам растений, так и клеткам. Карл Хайнц Рехингер – австрийский ботаник, экспериментально определил минимальные размеры эксплантов, из которых может вырасти целое растений. Данный опыт был основан на изолировании эксплантов и культивировании их на поверхности сырого песка. Рехингер пришел к выводу, что регенерация прекращается при толщине экспланта в 1,5 мм. Результаты данного опыта нельзя считать достоверными, так как работа проводилась без соблюдений условий асептики [32].

Габерландт – немецкий физиолог, в 1902 году сформулировал принципы культивирования. В своих опытах он выращивал растительные клетки на питательных средах и сделал выводы, что живая клетка растений обладает тотипотентностью [14]. Экспериментальных доказательств данной гипотезы не было, так как объекты, выбранные им, были узкодифференированные специализированные клетки, которые не могли делиться и расти.

II этап (1902-1922 гг.). На данном этапе становления метода культивирования изолированных клеток, тканей и органов создали первые питательные среды, которые использовались только для культивирования тканей животных. Такие ученные, как американский и французский биологи Гаррисон и Каррель, разработали методику выращивания на питательных средах животных клеток природного происхождения (плазма крови, лимфа) [32].

Работы Чеха и Прата в 1927 году были неудачными. Эксперимент основывался на выращивании растительных клеток на естественных питательных средах растительного происхождения. Из-за неудач в работах ученных представления о тотипотентности поставили под сомнение.

III этап (1922-1932 гг.). На данном этапе ученные Котте (Германия) и Робинсон (США) выдвинули постулаты о необходимости использования более сложных по составу культурных сред [35].

IV этап (1932-1940 гг.). В данный период времени ученные, проводя свои исследования, положили начало успешному развитию метода культуры клеток и тканей растений. Готре и Уайт стали родоначальниками современных методов культивирования изолированных тканей и органов растений.

Уайт своими экспериментами показал, что корневая меристема томатов может расти неограниченно долго во времени, если периодически менять питательную среду [14]. Также он усовершенствовал состав питательной среды для культивирования растительных клеток и тканей. К прежнему составу он добавил витамины, которые используются по настоящее время при выращивании тканей многих растений [16].

Готре внес свой вклад в развитие метода культуры клеток и тканей растений, введя новые объекты для исследований. Например, каллусные ткани древесных растений камбиального происхождения и каллусные ткани запасающей паренхимы.

Еще одной заслугой Готре является его предложение добавить в уже имеющий состав питательной среды фитогормон ауксин, так как присутствие данного фитогормона в среде способствовало длительной пролиферации каллусных тканей [16]. Готре один из первых предложил воспользоваться твёрдой питательной средой – агаризованной.

Таким образом, благодаря работам Уайта и Готре был подобран оптимальный перечень объектов для культивирования и состав питательной среды. Они внесли большой вклад в становление современного метода культивирования растений. Именно данные работы ученных дали толчок для развития направления экспериментальной биологии растений.

V этап (1940-1960 гг.). На данном этапе закрепился успех Уайта и Готре. Пополнился перечень объектов растений для культивирования *in vitro.* Ученные приложили все усилия для того, чтобы проработать составы питательных сред, изучить влияние тех или иных добавок на рост и жизнедеятельность растений [32].

В 1955 г. Скуг и Миллер открыли цитокинины и экспериментально показали их влияние на растения. Данное открытие позволило стимулировать деление клеток экспланта при правильном подборе концентраций и соотношений ауксинов и цитокининов.

VI этап (1960-1975 гг.). Этот период был немало важен для развития генной и клеточной инженерии. Коккинг один из первых получил изолированные протопласты, которые можно было культивировать в искусственных условиях. В 1970 году Пауэром был проведен опыт искусственного слияния протопластов. Данный опыт позволял получать соматических гибридов [32].

Также в этот период Морель и Бутенко разработали метод микроклонального размножения. Благодаря данному методу можно было получать высокий процент здоровых растений в условиях асептики, так

как при данных условиях растений легко освобождались от вирусных инфекций.

Одним из направлений совершенствования данного метода стала разработка метода получения и выращивания клеточных суспензий. Данный метод подтвердил опыты Габерландта, который говорил о тотипотентности клеток растений.

VII этап (1975 г. – по настоящее время). В данное время стремительно развивается техника, необходимая для экспериментов, проводимых на основе метода *in vitro*; изучаются объекты исследований и создаются новые биотехнологии. Все это направлено на хорошую организацию исследовательских работ и получение эффективного результата [3].

1.2. Биотехнология производства культуры клеток, тканей и органов растений

Метод культивирования клеток, тканей и органов растений является одним из главных направлений научно-технического прогресса. Это связано с открытиями, произошедшими в биологии и технических науках, генетике и клеточной инженерии. Данное направление позволяет повысить жизненный уровень людей.

Биотехнология развивается в следующих направлениях:

1. Клеточная инженерия;
2. Генетическая инженерия;
3. Промышленная биотехнология [3].

Биотехнология производства культуры клеток, тканей и органов растений пользуется различными методами, затрагивает все отрасли и решает ряд теоретических и практических задач, которые направлены на достижение тех или иных целей.

Одной из широко затрагиваемых отраслей – растениеводство. Именно в этой отрасли можно выделить следующие направления:

1) размножение и освобождение от вирусов;

2) создание новых форм растений с помощью методов генной инженерии;

3) клеточная селекция в культуре *in vitro;*

4) сохранение генетических ресурсов культурных и дикорастущих видов растений [35].

Метод *in vitro* основан на искусственном выращивании клеток растений на питательных средах в условиях асептики. Метод использует достаточно широкий набор объектов растительного происхождения: изолированные зародыши, изолированные органы, суспензионная культура, культура протопластов [33].

Клетка растений является удобным объектом для исследований методом *in vitro* различных физиологических, биологических и химических процессов. Именно изучение всех процессов, происходящих на клеточном и молекулярном уровнях организации жизни, позволило внести предпосылки для возникновения и развития современной биотехнологии [3].

1.3. Принципы культивирования клеток и тканей растений

1.3.1. Создание условий асептики

Стерилизация – освобождение какого-либо предмета или материала от всех видов микроорганизмов (включая бактерии и их споры, грибы, вирусы и прионы), либо их уничтожение. Осуществляется термическим, химическим, радиационным и фильтрационным методами.

Целесообразность применения того или иного метода стерилизации определяется физико-химическими свойствами материала, подлежащего стерилизации, целью исследования и возможностями [16].

Необходимым принципом для проведения работы с культурой изолированных клеток и тканей является асептические условия. Перед проведением работы необходимо убедиться, что стерильна комната, в которой будут проводиться работы; одежда и руки работающих с эксплантами; посуда, которая будет использоваться для культивирования объектов; инструменты; питательные среды; экспланты [32].

Приборы, которые используются для создания условий асептики: ламинар-бокс, автоклав, сушильный шкаф.

Ламинар-бокс необходим для стерильных пересадок при работе с эксплантами. Данный прибор обеспечивает асептические условия путем обработки рабочего пространства воздухом, а также с помощью ультрафиолетовых ламп (рис. 1). Так же, для более тщательной стерильность, рабочая поверхность должна быть обработана 70%-ным этанолом.

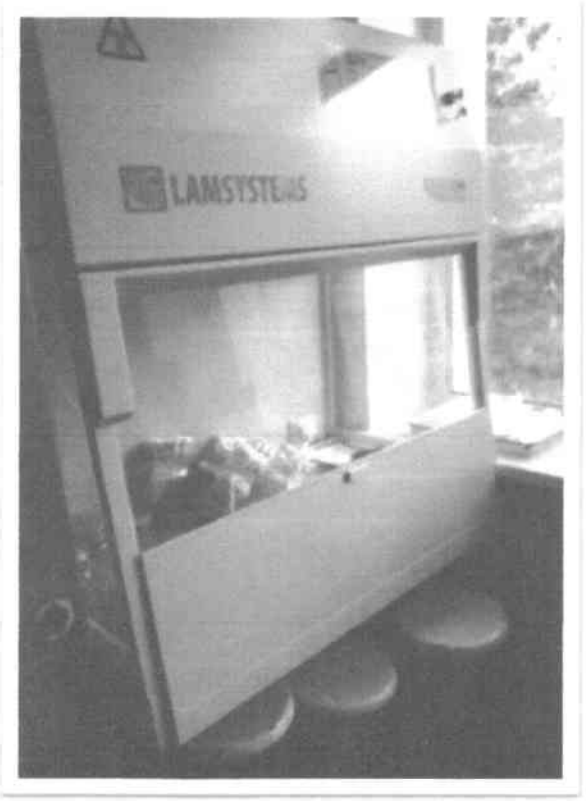

Рисунок 1. Ламинар-бокс LAMSYSTEMS, класс II/тип А

Посуду, которая будет использована во время опыта, оборачивают в бумагу и стерилизуют в сушильном шкафу при температуре 160°С в течение 1,5-2 часов. В данном приборе асептические условия достигаются в результате обработки сухим жаром (рис. 2).

Рисунок 2. Сушильный шкаф

Перед тем, как приступить к работе, необходимо еще раз простерилизовать инструменты, поместив их в стакан с 96% спиртом и обжечь в пламени спиртовки. Данную манипуляцию проводят перед каждым использованием.

Питательные среды, которые не содержат термолабильных веществ, стерилизуют в автоклаве при давлении 0,5-1 атм. (рис. 3). Время стерилизации зависит от объема среды в сосуде. Сосуды, которые содержат 25-50 миллилитров среды, стерилизуют в течение 15-20 мин, объемом 2-4 литра – в течение 30-40 мин.

Рисунок 3. Автоклав Tuttnauer 2540 ML, AUTOCLAVE – STEAM STERILIZER

Для питательных сред с термолабильными соединениями стерилизация с помощью автоклава не подходит, потому что они разрушаются при воздействии давления. Для данных питательных сред применяют метод холодной стерилизации. Данное вещество обрабатывают этиловым эфиром, который удаляется при пониженной температуре, а остаток растворяют в дистиллированной воде и в асептических условиях добавляют к питательной среде [35].

Неотъемлемый этап асептики – стерилизация эксплантов. Для этого используется различный набор химических соединений. Например, растворы соединений, которые содержат активный хлор (хлорамин, гипохлорит кальция и натрия, сулема), бром (бромная вода), диацид, перекись водорода, спирт, антибиотики.

Стерилизация эксплантов позволяет повысить коэффициент урожайности, так как она освобождает экспланты от инфекций. Есть еще

несколько нюансов при стерилизации семян: подбирают подходящие агенты, а также время пребывания в каждом из них.

При подборе набора стерилизующих агентов учитывают следующее:

✓ стерилизующее вещество должно губительно действовать на все микроорганизмы и в то же время минимально повреждать растительные ткани;

✓ вид стерилизующего вещества, его концентрация и длительность применения зависят от плотности и чувствительности ткани, которая должна быть стерилизована;

✓ стерилизующее вещество должно легко удаляться из ткани промыванием стерильной дистиллированной водой или подвергаться разложению [32].

Если стерилизация проведена хорошо, и все стерилизующие агенты подобраны верно, степень инфицирования эксплантов не должна превышать 1-3%.

1.3.2. Питательные среды

Питательные среды бывают двух видов: твердые (агаризованные) и жидкие. Выбор того или иного вида питательной среды зависит от вида растения и выполняемой цели. Жидкие среды удобны тем, что имеют лучшую подвижность трофических элементов. У твёрдых сред так же есть свои преимущества. На данном виде сред удобно проводить различные манипуляции с изучаемыми объектами.

При подборе состава питательной среды необходимо учитывать вид изучаемого растения. Для размножения методом «*in vitro*» используют среды Мурасиге и Скуга, Гамборга, Хеллера и другие [32].

Наиболее часто используется среда Мурасиге и Скуга (1962) (табл. 1, 2). Она хорошо сбалансирована по входящим в нее компонентам и дает хорошие результаты при культивировании клеток многих видов растений.

Таблица 1 – Приготовление маточных растворов для среды Мурасиге-Скуга

№ п.п.	Компонент среды	Количество вещества
Маточный раствор макросолей (г на 1 л маточного раствора)		
1.	KNO_3	38
2.	NH_4NO_3	33
3.	KH_2PO_4	3,4
4.	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	7,4
	или $MgSO_4$ безводный	3,6
5.	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	8,8
	или $CaCl_2$ безводный	6,65
Маточный раствор микросолей (мг на 100 мл маточного раствора)		
6.	$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	25
7.	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	2,5
8.	H_3BO_3	620
9.	$MnSO_4 \cdot 5H_2O$	2410
	или $MnSO_4 \cdot 4H_2O$	2230
10.	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	860
11.	KJ	83
12.	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	2,5
13.	$FeSO_4$	557
	Na_2 ЭДТА	745

Таблица 2 – Среда Мурасиге-Скуга для клеточных и тканевых культур

Компоненты питательной среды	
Маточный раствор макросолей	50 мл/л
Маточный раствор микросолей	1 мл/л
Fe-хелат	5 мл/л
$CaCl_2$	50 мл/л
Тиамин-HCl	0,1 мг/л
Пиридоксин-HCl	0,5 мг/л
Никотиновая кислота	0,5 мг/л
Мезоинозит	100 мг/л
Глицин	2 мг/л
Сахароза	30 г/л
pH 5,6-5,8	

Среда Гамборга применима для бобовых, злаковых и луковичных растений (табл. 3, 4).

Таблица 3 – Среда Гамборга (В-5)

№ п.п.	Компоненты среды	Количество вещества
Маточный раствор макросолей (г на 1 л маточного раствора)		
1.	KNO_3	50
2.	$(NH_4)_2SO_4$	2,68
3.	$MgSO_4*7H_2O$	3
	или $MgSO_4$ безводный	5
4.	$NaH_2PO_4*H_2O$	
5.	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	3
	или $CaCl_2$ безводный	
Маточный раствор микросолей (мг на 100 мл маточного раствора)		
6.	$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	12,5
7.	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	12,5
8.	H_3BO_3	1650
9.	$MnSO_4 \cdot 5H_2O$	500
	или $MnSO_4 \cdot 4H_2O$	
10.	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	100
11.	KJ	37,5
12.	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	1,25
13.	$FeSO_4$	556
	Na_2 ЭДТА	746

Таблица 4 – Среда Гамборга (B_5) для клеточных и тканевых культур

Компоненты питательной среды	
Маточный раствор макросолей	50 мл/л
Маточный раствор микросолей	1 мл/л
Fe-хелат	5 мл/л
$CaCl_2$	50 мл/л
Тиамин-HCl	1000 мг/л
Пиридоксин-HCl	100 мг/л
Никотиновая кислота	100 мг/л
Мезоинозит	10000 мг/л
Глицин	2 мг/л
Сахароза	30 г/л
pH 5,5	

Изготовление питательной среды начинают с приготовления маточных растворов. Они являются неотъемлемой частью, так как снижают погрешность при взвешивании компонентов соли, а так же предотвращают заражение микроорганизмами.

Компоненты среды можно разделить на следующие группы:

- ✓ Макроэлементы;
- ✓ Микроэлементы;
- ✓ Содержащие железо;
- ✓ Вещества хлорид кальция;
- ✓ Витамины;
- ✓ Вещества, содержащие углерод;
- ✓ Фитогормоны.

Такой порядок расположения, позволяет проследить процедуру приготовления маточных растворов.

Готовые растворы хранят при низких температурах, что бы предотвратить взаимодействие солей друг с другом и образование осадка.

Витамины необходимы, чтобы стимулировать биохимические процессы, происходящие в клетке. При приготовлении питательных сред используют следующие витамины группы В (В1, В6, В12); С (аскорбиновую кислоту), РР (никотиновую кислоту), мезоинозит.

Для того чтобы добавить те или иные витамины в питательную среду необходимо знать количество вещества, содержащегося в капсулах. Обычно на коробке указывают процентное содержание раствора. При наличии этих данных можно определить, какое количество необходимо, чтобы приготовить раствор определенной концентрации. После того как раствор будет получен, из него отбирают необходимое количество и разливают по пенициллинкам/пробиркам.

Затем все пиницилинки/пробирки убирают в морозильник, для того чтобы раствор не испортился. Когда среда будет готова, достают нужное

количество раствора и, разморозив раствор, вливают его к питательной среде.

Фитогормоны обеспечивают рост и дифференцировку клеток. Растворы фитогормонов готовят непосредственно перед началом работы [35].

Для правильного приготовления питательных сред необходимо соблюдать следующую последовательность:

1. Растворить сахар, сухие компоненты (за исключением агар-агара) в воде.
2. Добавить к раствору сахарозы маточного раствор макросолей, микросолей, хеллат железа, хлористый кальций, витамины и фитогормоны.
3. Долить агар-агар к раствору солей.
4. Довести питательную среду до нужного объема (1 литр) дистиллированной водой.
5. Измерить pH среды: если pH превышает 5,5-6,0 добавляют несколько капель 0,1 н HCl, если ниже этого значения – 0,1 н NaOH.
6. Разлить готовую среду в горячем виде по пробиркам или колбам.
7. Закрыть колбы или пробирки ватными пробками, накрыть целлофаном и затянуть резинкой.

С целью выявления присутствия, либо отсутствия грибной инфекции питательную среду помещают в чашки Петри. Если необходимо выращивать растения на протяжении долгого времени, то питательную среду помещают в пробирки (47 мл).

1.3.3. Физические факторы культивирования

Для качественного проведения метода культивирования изолированных клеток и тканей растений важным является соблюдение физических факторов окружающей среды.

Рост и развитие растений во многом зависит от следующих физических факторов: температура, свет и влажность [1].

Для каждого растения подбирается оптимальная температура, чтобы обеспечить хороший рост. Для большинства культур данная температура составляет 25-27°С.

Свет так же влияет на рост растений в условиях *in vitro*. Многим каллусным тканям растений свет не нужен, так как у них отсутствуют хлоропласты. Экспланты выращивают на свету. Регулируя интенсивность, качество освещения и фотопериод, подбирают оптимальные условия, которые подходят для культивируемого объекта [4].

При работе с эксплантами в комнате необходимо поддерживать влажность 60-70%. При снижении влажности, воздух станет сухим, и питательная среда может засохнуть или ее концентрация может измениться. Следовательно, нарушение этого фактора может привести к нарушению условий культивирования.

Хорошие условия окружающей среды (температура, свет и влажность) можно создать с помощью климатических камер [18].

Таким образом для того, чтобы вырастить большой процент здоровых растений в культуре *in vitro,* необходимо:

• уметь стерилизовать экспланты;

• уметь готовить питательную среду *in vitro*;

• правильно подобрать условия для выращивания растений (свет, температуру, влажность).

1.4. Биологические особенности однодольных растений

Однодольные растения – это класс цветковых, или покрытосемянных растений.

Главной особенностью однодольных растений является одна семядоля, которая выполняет функцию всасывающего органа. Мочковатая корневая система, образована за счет придаточных корней, которые отходят от основного стержневого корня. Стебель редко ветвится. Однодольные растения представлены в основном травами, так как камбия нет, следовательно, утолщений стеблей не будет наблюдаться. Листья по большей части цельные, всегда без прилистников, обычно узкие с широким основанием. Жилкование у них параллельное или дуговидное. Листорасположение очередное, часто двухрядное. Еще одна особенность, которая присуща однодольным – трехчленные цветки.

Однодольные растения занимают большую территорию Земли и составляют 25% всех известных цветковых растений. Так же однодольные растения являются неотъемлемой частью рациона, как человека, так и животных.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Ботаническое описание некоторых видов Ирисов семейства *Iridaceae*

Ириса золотисто-расписного – *Iris chrysographes*.

Ирис золотисто-расписной – многолетнее растение. Листья линейные, длинной до 70 см и шириной до 12 мм. Цвет листьев сизо-зеленый. Цветонос – верхняя часть стебля, несущая стебель, достигает в высоту 25 см. У цветков внешние доли околоцветника узкие и имеют эллипсовидную форму, а внутренние сегменты имеют узколанцетную форму. На стеблях по 2 цветка, которые в диаметре достигают 10 см и имеют темно-фиолетовый окрас [7]. Аромат слабый, но исключительно пряный. Плод – коробочка, имеющая форму эллипсоида, цвет семян – бордово-коричневый. Цветение приходится на середину июня, начало июля. Размножаются вегетативным и половым способом (рис. 4).

Рисунок 4. Ирис золотисто-расписной

Ирис золотисто-расписной обитает на влажных горных лугах, каменистых склонах или по лесным опушкам. Регионально занимает территории Юго-Восточного Китая и Гималаев.

Ирис разноцветный – *Iris versicolor*.

Ирис разноцветный – многолетнее растение. Стебли ветвистые, достигают в длину до 1 метра. Листья линейные, в длину достигают 60 см, а по форме напоминают меч. Цвет светло-зеленый. Цветки имеют следующую форму: верхние доли околоцветника редуцированные – представляют собой лепестки. Цветоносы имеют разную высоту от 20-150 см. Цветоносы ветвятся на 2-3 боковые ветки, на которых находятся цветки. Цветки в числе 3-4, имеют сине-фиолетовый, лиловый или лилово-голубой окрас с центральными пятнами, диаметром 6-8 см. Многие представители не имеют запаха, но у некоторых может присутствовать сладкий аромат. Плод имеет форму трехъячеистой прямоугольной капсулы. Цветение ириса приходится на конец мая середину июля [31]. Размножается ирис половым и вегетативным способом (рис. 5).

Рисунок 5. Ирис разноцветный

Ирис разноцветный теплолюбивое растение, но к морозам он устойчив. Растение может произрастать в заболоченных местах, а также на окраинах стоячих водоемов.

Родиной растений являются восточные и центрально американские регионы. Территориально ирисы распространены на востоке Северной Америки в восточных США и Канаде.

Ирис молочно-белый – *Iris lacteal (Pall.)*.

Ирис молочно-белый является плотнодерновинным растением. Листья жесткие, линейные, серо-зеленые, 30-55 см длиной, 0,5-0,9 см шириной. Цветонос – верхняя часть стебля, несущая стебель, достигает в высоту 25 см, сжатый, имеет вид стрелки. Цветки без запаха, имеют серо-голубой цвет. Внешние доли околоцветника имеют широкую, тупую пластинку, внутренние имеют такую же форму, но длина их чуть короче. Трубка околоцветника отсутствует. Рыльце имеет узко-треугольную форму, является однолопастным [24]. Коробочка цилиндрической формы с тонкими светлыми стенками. Семена темно-коричневые с толстой, плотной кожурой. Они имеют овальную, или почти шаровидную форму. Цветение приходится на конец мая начало июня, плодоносят в августе (рис. 6).

Рисунок 6. Ирис Молочно-белый

Местообитание разнообразно: могут занимать территории около стоячих водоемов, могут произростать на засушливых местах, так же молочно-белые ирисы устойчивы к засоленным почвам, поэтому могут занимать территории на солонцеватых лугах. Территориально могут расти в районах Сибири, Казахстана, всей Монголии и Северо-Западного Китая.

Беламканда китайская (Иксия китайская) – *Belamcanda chinensis L. DC.*

До последнего времени беламканда китайская являлась единственным представителем рода *Belamcanda* семейства *Iridaceae*.

Беламканда китайская является многолетним травянистым растением. У беламканды китайской короткое, узловато-утолщенное корневище, чаще с одиночным прямостоячим стеблем в высоту он достигает 1 м. Листья мечевидные, длина их достигает 50 см, а ширина до 2,5 см. Цветки правильные, красно-оранжевые с сине-фиолетовыми крапинками. Коробочка 3-гнездная, имеет яйцевидную форму [25]. Семена черные, блестящие. Цветение приходится на конец июля начало августа (рис. 7).

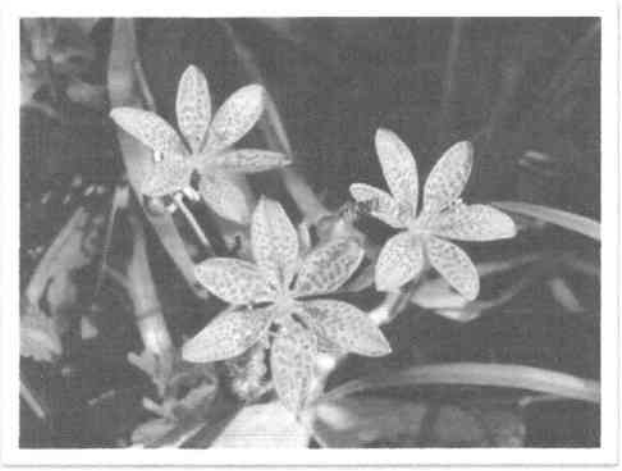

Рисунок 7. Беламканда китайская

Произрастают в устьях рек и на лугах, а также дренированных и песчаных почвах [29].

Территориально растет в Китае, Японии, Северной Индии, а также на юге Приморского края.

Данный вид включен в новое издание Красной книги РФ. Находится на грани исчезновения [3].

2.2. Ботаническое описание некоторых видов Лука семейства *Alliaceae*

Лук алтайский – *Allium Altaicum Pall.*

Лук алтайский, или лук каменный, или горный батун, или согоно является многолетним травянистым растением. Луковицы лука имеют яйцевидную форму, с бурой тонкой оболочкой.

Листья крупные дудчатые, зеленого цвета, с сильным восковым налетом. Цветочные стрелки мощные, в высоту достигают 100 см. Мощная мочковатая корневая система.

Лук алтайский в основном размножается семенами. На соцветии формируется от 200 до 1000 выполненных семян. Соцветие – шаровидный или округло-конический зонтик, до цветения покрытый короткозаостренным чехлом. Цветоножки толстые и неравные, без прицветников. Лепестки околоцветника желто-зеленого цвета, заострены на конце. Тычиночные нити и столбик пестика почти в два раза длиннее околоцветника. Плод – округло-трехгранная коробочка [1]. Семена крупные, неправильной формы (рис. 8).

Рисунок 8. Лук алтайский

Растение холодостойкое, переносит морозы до -50°С. Луковицы при промерзании и постепенном оттаивании не повреждаются и прорастают. Так же лук алтайский засухоустойчив и не нуждается в поливах.

Территориально произрастает вид на юге Западной и Восточной Сибири, на Алтае, в Туве и Монголии [20].

Типичные места обитания – оголенные скалы, щебнистые осыпи, галечники в долинах рек. *Allium altaicum* произрастает на каменисто-щебенистом и мелкоземистом субстрате горных осыпей. Данный вид на подвижных щебнистых осыпях может образовывать луковые сообщества значительных размеров.

Лук косой – *Allium obliquum* L.

Лук косой, или лук-ускун, или горным чесноком – многолетние травянистое растение.

Побег у него слабо или совсем не ветвится, так ка значительное погружение в почву (на 5-10 см и более) и сильная конкуренция приводят к подавлению у них способности формировать несколько побегов возобновления. Листья плоские линейные, постепенно сужаются от основания к вершине, зеленые или серовато-зеленые, длиной 20-40 см, шириной 1,5-2,5 мм. Листовые пластинки сложены по центральной жилке. Листья низовой формации отсутствуют, предлист всегда зеленый. Ветвление мезотонное. Образует замкнутые влагалища значительной длины – до 40-60 см. Продолжительность их существования 1-2 года. Длинные влагалища приводят к формированию «ложного стебля».

Придаточная корневая система. Произрастают на луговых и лугово-степных почвах.

Луковицы лука косого продолговато-яйцевидные или овально-конические, высотой 4-6 см и диаметром 1,5-2,5 см, прикреплены к очень короткому, почти вертикально направленному корневищу.

Цветоносный стебель прямой, высотой до 150 см, диаметром до 1,5 см, до половины или на две трети скрыт под влагалищами листьев.

Соцветие – шаровидный густой многоцветковый зонтик диаметром 3-4,5 см. Цветки золотисто-желтые. Тычинки и пестик выдаются из колокольчатого околоцветника. До цветения соцветие покрыто кожистым чехлом с коротким носиком. Плод – трехгранная коробочка, обычно содержащая три-четыре семени. Семена черные угловатые с плотной роговидной оболочкой [3]. Семена могут прорастать как осенью (в конце августа – начале сентября) сразу же после осыпания, так и весной. Зацветает *Allium obliquum* на 9-10-й год.

Для лука косого характерен довольно короткий период вегетации с раннелетним цветением. Побеги моноциклические, за год до цветения полностью сформированы (рис. 9).

Рисунок 9. Лук косой

В природе вид растет в горных массивах Средней Азии и Казахстана, на Алтае, в южной части Западной и Восточной Сибири, на Урале. Западная граница распространения этого лука проходит по Заволжью, затем наблюдается разрыв ареала, после чего лук косой встречается уже в горных районах Румынии. Типичные места обитания – светлые хвойные или редкие смешанные леса, кустарниковая степь, долины рек. Лук косой

растет на разных типах почв, богатых гумусом и обладающих нейтральной или слабощелочной реакцией почвенного раствора (pH 7-8) [10].

Лук беловатый – *Allium albidum* Fisch. ex M. Bieb.

Лук беловатый является многолетним травянистым растением. В высоту достигает 30 см. Луковицы имеют коническую форму до 1 см толщиной. Стебель ребристой формы, на конце заканчивается зонтиком до 2 см диаметром. Листья находится примерно до середины стебля. По форме – плоские, узко линейные на верхушке туповатые.

Цветоножки равны околоцветнику или вдвое длиннее его. Листочки околоцветника 4-5 мм длиной, белого или розового цвета, тупые продолговатые, наружные лодкообразные, короче внутренних. Тычиночные нити примерно равны околоцветнику, при основании сросшиеся между собой. Столбик выдвигается из околоцветника. Коробочка короче околоцветника [7]. Цветет в июле, семена созревают в августе-сентябре (рис. 10).

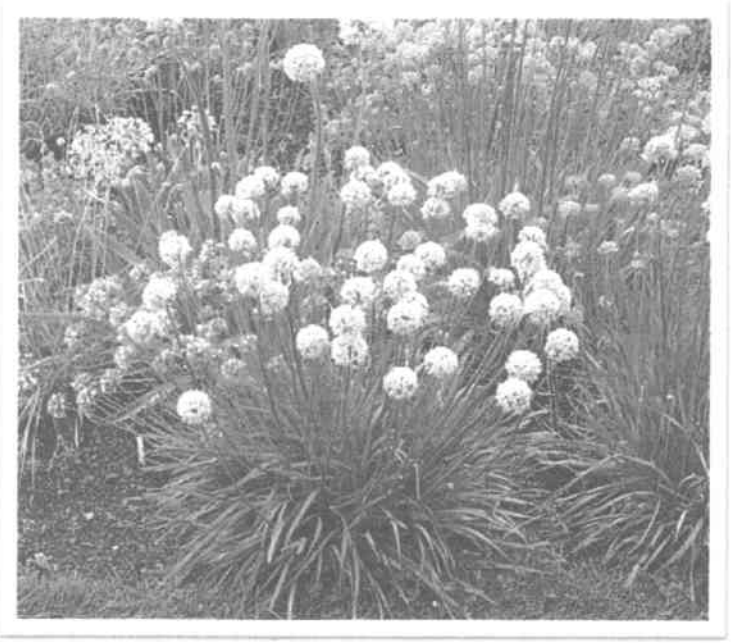

Рисунок 10. Лук беловатый

Переднеазийско-Кавказский вид, имеет изолированные местонахождения в Крыму.

2.3. Методы исследования

Исследование по изучению особенностей культивирования однодольных растений в условиях *in vitro* проводилось в теплице на базе ПГУ ПИ им. В.Г. Белинского на кафедре «Общая биология и биохимия».

Эксперимент был проведен в период октябрь-декабрь 2019 года.

Опыт был заложен 22 октября 2019 года. Для данных видов схема опыта была следующая:

1. Подбор оптимальных условий стерилизации семян;
2. Снятие пленки с семян (Ирисы);
3. Пересаживание стерильных эксплантов в готовую (стерильную) питательную среду.

В течение прорастания семян, мы отмечали:

1. Появление первых всходов;
2. Образование первого настоящего листа;
3. Рост.

Во всей работе представлены среднеарифметические данные.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Особенности культивирования в условиях *in vitro* некоторых видов рода *Allium*

Методика биотехнологических исследований основывалась на общепринятых классических приемах работы с культурами изолированных тканей и органов растений (Бутенко, 1999) [10].

Для культивирования растений использовали два типа питательной среды: среда Murashige, Skoog (1962) и среда B5 (Gamborg, Eveligh, 1968).

Основной питательной средой выбрана среда Гамборга, успешно применяемая для размножения луковичных растений. Полужидкие питательные среды оказались даже удобнее в использовании, так как у нас не было возможности регулировать световой режим и температуру культивирования. Культивирование производили при естественном световом дне и комнатной температуре. В таких условиях при ярком солнце плотные питательные среды могли подсыхать, что негативно сказывалось на росте и развитии растений.

В связи со спецификой покоя исследуемых таксонов, для каждого из них были использованы индивидуальные схемы культивирования.

Все манипуляции с семенами проводились в асептических условиях. Для достижения данных условий были проведены следующие манипуляции:

- обработка поверхности ламинар-бокса 96% спиртом;
- стерилизация инструментов, эксплантов;
- стерилизация инструментов в ламинар-боксе с помощью УФ изучения и биофильтрата (время стерилизации – час 45 минут).

Для достижения более высокого уровня стерильности необходимо надеть стерильный хлопчатобумажный халат, руки обработать 96% спиртом или 0,05% раствором хлоргексидина биглюконата. Все

необходимые инструменты для работы (пинцеты, скальпели и препаровальные иглы, микробиологические петли и лезвия) перед началом работы обработать в стакане 96% спиртом. Перед каждым использованием инструмент необходимо обжигать на пламени спиртовки и остужались.

Для стерилизации семян мы применяли следующий метод. Стерилизацию проводили в септических условиях. Семена последовательно обрабатывали 0,5%-ным раствором марганцевокислого калия и 1%-ным раствором медного купороса по 15 минут для освобождения от бактериальных и грибковых инфекций (рис. 11). Затем в стерильных условиях обрабатывали следующими дезинфицирующими растворами: 70% раствором этанола и перекисью водорода по 1 мин. Предварительная стерилизация семян необходима, так как в противном случае вокруг нестерильных семян на увлажненной фильтровальной бумаге в чашках Петри уже на 5 день проращивания была видна грибковая инфекция. После выдерживания в дезинфицирующих растворах семена проращивали в чашках Петри на дистиллированной воде при температуре +23°С (рис. 12). Проростки стерилизовали и пересаживали в питательную среду. Данная схема позволяет довольно быстро получить достаточное количество стерильных проростков для выращивания в культуре *in vitro*.

Данный метод стерилизации хорошо подходит для разных видов луков. После такой схемы стерильность семян составила около 80%.

Семена всех исследуемых сортов лука хорошо набухают. Процесс набухания семян практически не зависел от температуры среды проращивания и полностью заканчивался за 1-2,5 суток с момента увлажнения. Хорошая водопроницаемость покровов семени луков указывает на отсутствие у них физического покоя и исключает необходимость скарификации.

Семена проращивали в термостате с температурой +23°С в течение 3-5 дней. За это время большая часть жизнеспособных семян прорастала.

Высокая всхожесть семян и дружность прорастания наблюдалась у лука алтайского – 93%.

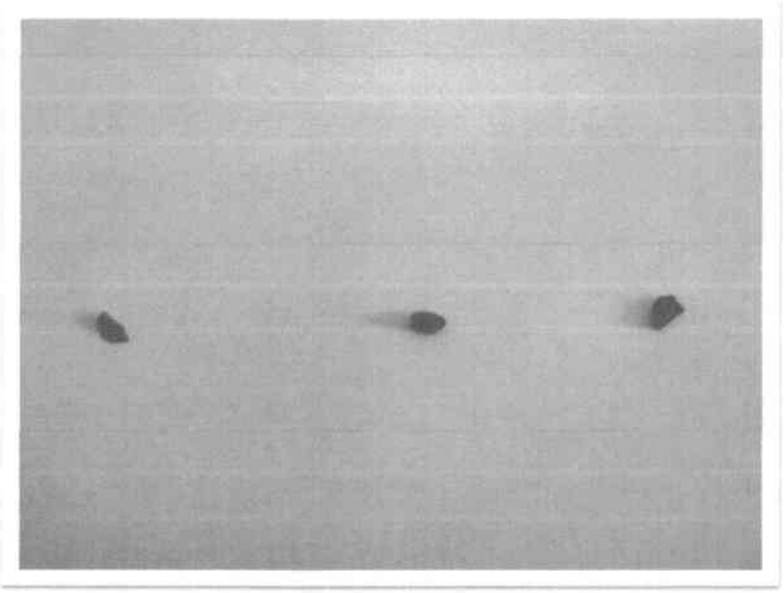

Рисунок 11. Семена Allium obliquum, Allium altaicum, Allium albidum

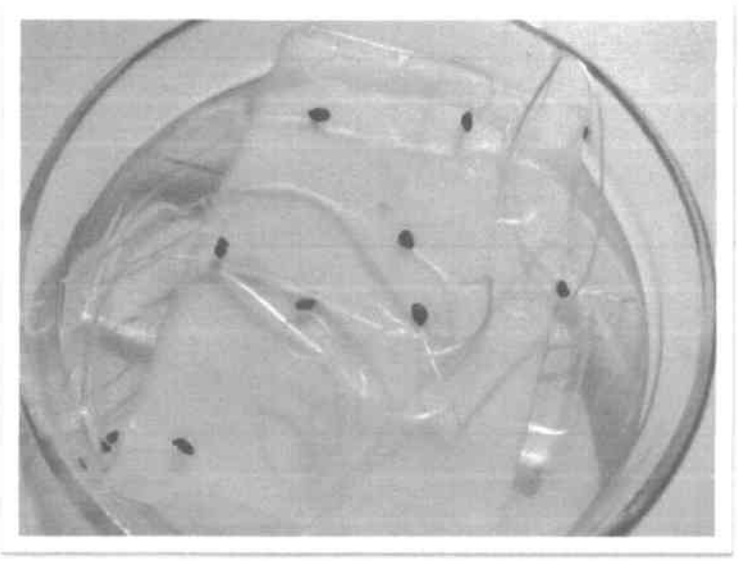

Рисунок 12. 5-ти дневные проростки Allium altaicum, выращенные на дистиллированной воде после предварительной стерилизации семян

Наличие покоя у семян данного вида (репродукция Пензенского ботанического сада) не было обнаружено. Прорастание начиналось спустя

1-2 дня после замачивания семян. У лука алтайского в природных условиях преобладает семенное размножение, поэтому данная схема введения в культуру *in vitro* для данного вида хорошо подходит. К тому же у него относительно крупные семена. Масса 1000 семян составляет 2,5-4 г.

У лука косого всхожесть семян составила 46%. Вероятно, это связано с тем, что у лука косого существует неглубокий физиологический покой. Семена для опытов были первого года хранения. В литературе отмечается повышение всхожести у семян данного вида на второй и третий год хранения. Данный вид лука отличается относительно мелкими семенами. Масса 1000 семян составляет 1,5-2,5 г. Для лука косого высокая всхожесть семян характерна при подзимнем посеве. Она может составить 75-90 %. В остальных случаях она невысокая и составляет 30-40 %. Остальные семена могут прорасти на второй и третий годы. Всхожесть сохраняется в течение трех лет, затем прорастают лишь единичные семена [11].

Самую низкую всхожесть показал лук беловатый – 26% (табл. 5).

Семена начинают прорастать на 1-3-й день после замачивания. Вначале появляется зародышевый корешок. Затем появляется шиловидная семядоля, изогнутая в виде петли, выполняющая ассимилирующую функцию. В этом состоянии проросток подвергался стерилизации и переводился в культуру *in vitro*.

Таблица 5 – Всхожесть семян разных видов луков (M±m, n=3)

Вид растений	Посев, количество семян, шт.	Всхожесть, %	
	26.11	29.11	31.11
Лук косой (*Allium obliquum* L.)	15	33	46
Лук алтайский (*Allium altaicum* Pall.)	15	93	93
Лук беловатый (*Allium albidum* Fisch. ex M. Bieb.)	15	0	26

Стерилизация проростков проводилась по схеме: 70% раствор этанола и перекись водорода по 1 мин. После выдерживания в дезинфицирующих растворах проростки несколько раз промывали дистиллированной водой и в стерильных условиях высаживали в культуру *in vitro*.

Развитие растений луков в культуре *in vitro* является очень наглядным и дает представление об их онтогенезе.

Лук алтайский спустя 15 дней проращивания вырос на 8,5 см (рис.13, табл. 6).

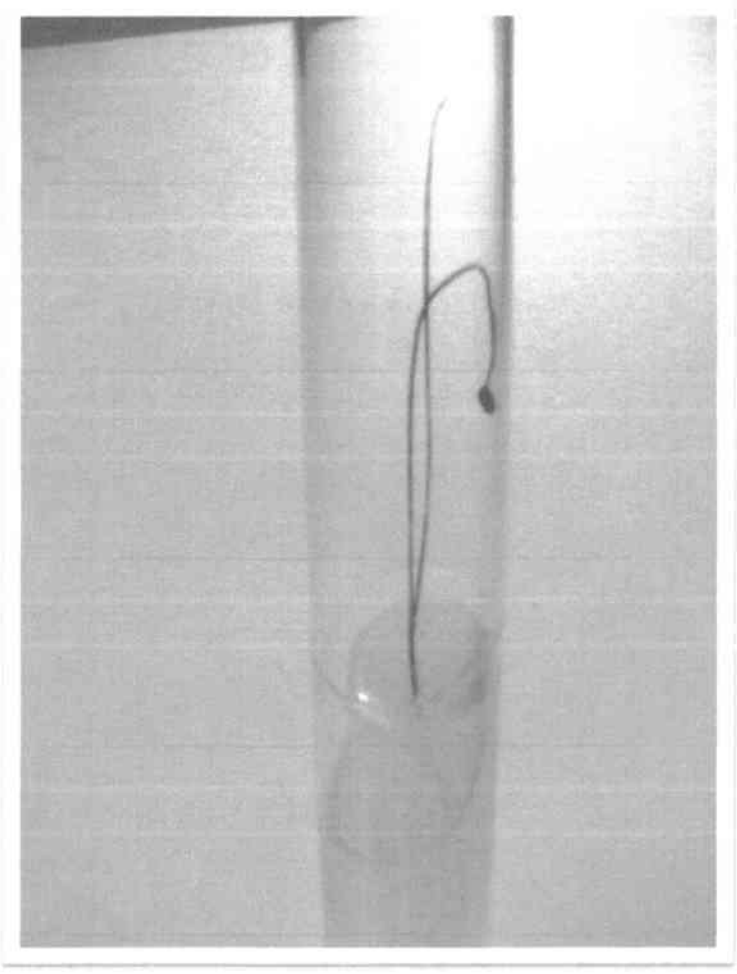

Рисунок 13. Allium altaicum

Лук косой спустя 15 дней вырос на 7,5 см (рис.14, табл. 6).

Лук беловатый спустя 15 дней проращивания вырос на 7 см (рис. 15, табл. 6).

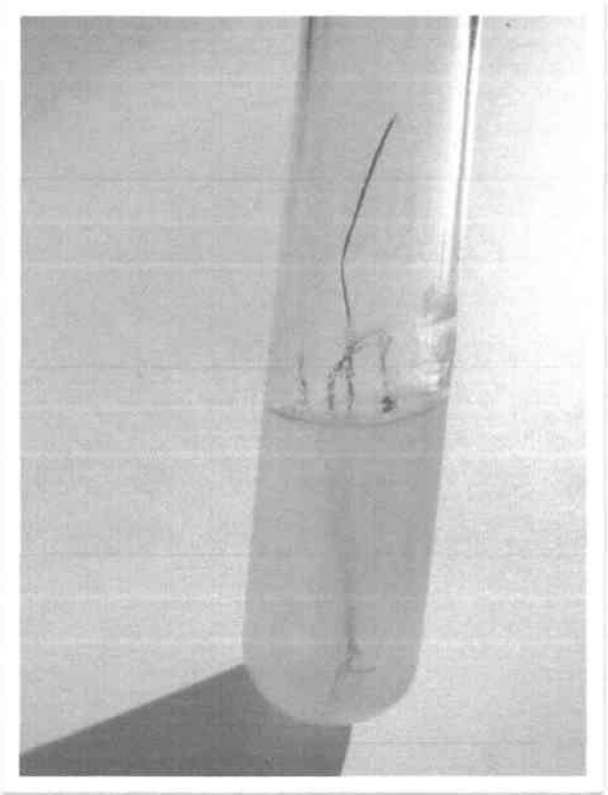

Рисунок 14. Allium obliquum L.

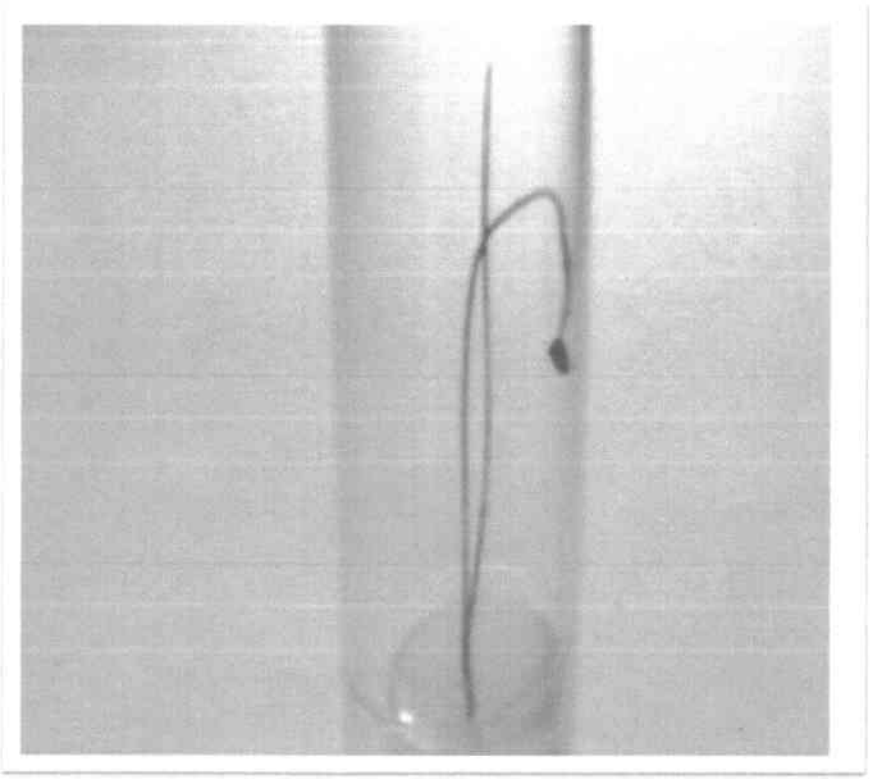

Рисунок 15. Allium albidum Fisch. ex M. Bieb.

Таблица 6 – Рост осевого побега Лука

Виды растений	Длина основного побега, см				
	3.12	6.12	9.12	12.12	15.12
Лук алтайский	1,7	3,2	5,1	6,7	8,5
Лук косой	2,3	4,6	5,9	6,4	7,5
Лук беловатый	2,7	4,4	5	6,1	7

Исходя из данных в диаграмме и рисунков, можно сделать вывод, что рост побегов Лука алтайского, Лука косого и Лука беловатого шел на одном уровне. Следовательно, можно сказать, что условия, которые мы подобрали для культивирования данных растений, подобраны правильно (рис. 16)

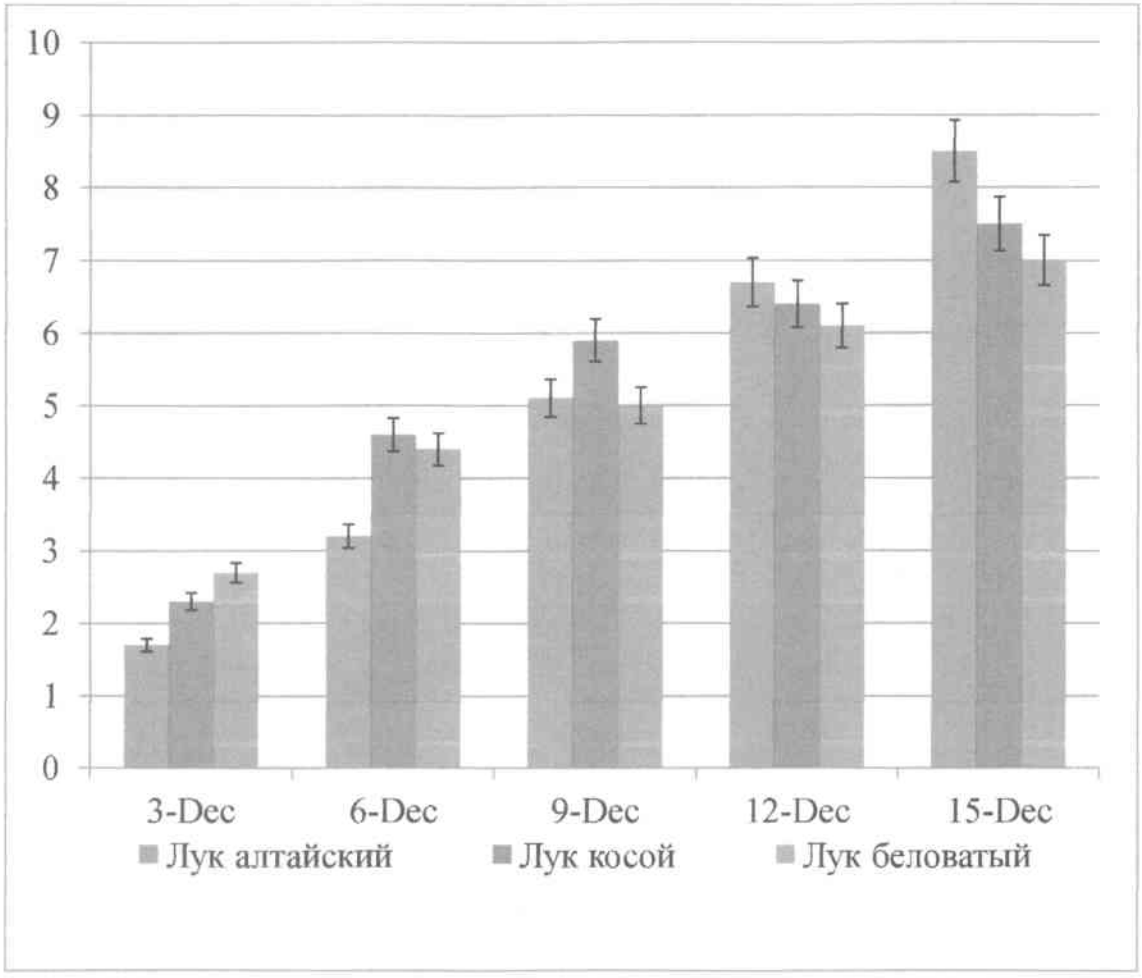

Рисунок 16. Длина основного побега, см

Таким образом, мы разработали схему введения в культуру *in vitro* растений лука и установили особенности прорастания семян разных видов лука.

3.2. Особенности культивирования в условиях *in vitro* некоторых видов рода *Iris*

Эксперимент был начат 22 октября 2019 года на базе Педагогического института им. В.Г. Белинского.

В качестве объекта исследования были использованы семена Ириса молочно-белого, Ириса разноцветного, Ириса золотисто-расписного, Ириса беламканды китайской (рис.17).

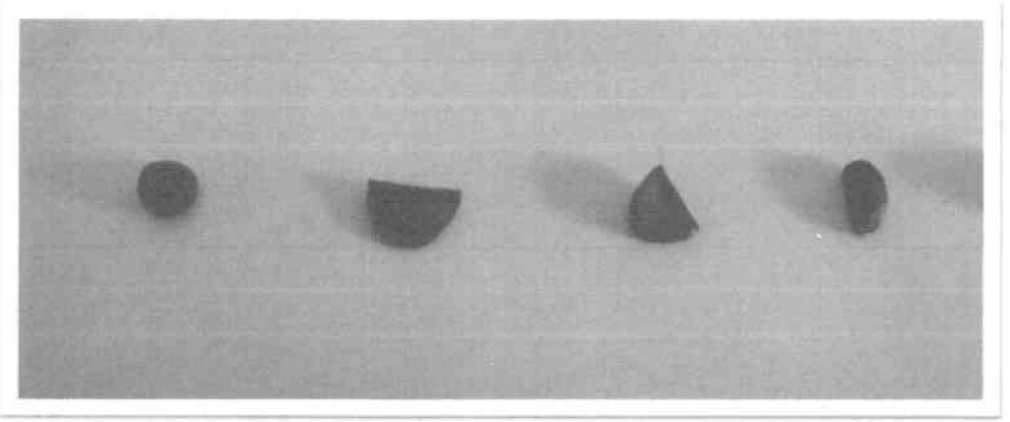

Рисунок 17. Семена ириса молочно-белого, ириса разноцветного, ириса золотисто-расписного, ириса беламканды китайской

Все манипуляции с семенами проводились в асептических условиях. Для достижения данных условий были проведены следующие манипуляции:

- обработка поверхности ламинар-бокса 96% спиртом;
- стерилизация инструментов, эксплантов;
- стерилизация инструментов в ламинар-боксе с помощью УФ изучения и биофильтрата (время стерилизации – час 45 минут) [11].

Для достижения более высокого уровня стерильности необходимо надеть стерильный хлопчатобумажный халат, руки обработать 96% спиртом или 0,05% раствором хлоргексидина биглюконата. Все необходимые инструменты для работы (пинцеты, скальпели и препаровальные иглы, микробиологические петли и лезвия) перед началом работы обработать в стакане 96% спиртом. Перед каждым использованием инструмент необходимо обжигать на пламени спиртовки и остужались.

Для стерилизации семян мы подобрали следующие агенты: перманганат калия 1%, перекись водорода 3% и этиловый спирт 70%. Такой набор необходим для полного обезвреживания растительного материала. От применения препаратов, содержащих токсины, мы отказались, так как хотели подобрать менее опасные и вредные стерилизующие агенты.

Изначально была выбрана следующая схема стерилизации семян ириса:

1 этап. 1% раствор $KMnO_4$ – 2 минуты;

2 этап. 3% раствор H_2O_2 – 2 минуты;

3 этап. 70% раствор C_2H_5OH – 3 минуты.

Данная схема стерилизации не подошла, так как спустя несколько дней мы обнаружили, что в чашках Петри, семена были заражены грибной микрофлорой (рис. 18).

Схему стерилизации было решено изменить. Для второго эксперимента мы подобрали следующую схему стерилизации:

1 этап. 1% раствор $KMnO_4$ (5 минут);

2 этап. 3% раствор H_2O_2 (5 минут);

3 этап. 70% раствор C_2H_5OH (5 минут).

Поменяв схему стерилизации, мы снизили зараженность до 10%.

После стерилизации семена были промыты дистиллированной водой и помещены в чашку Петри [12].

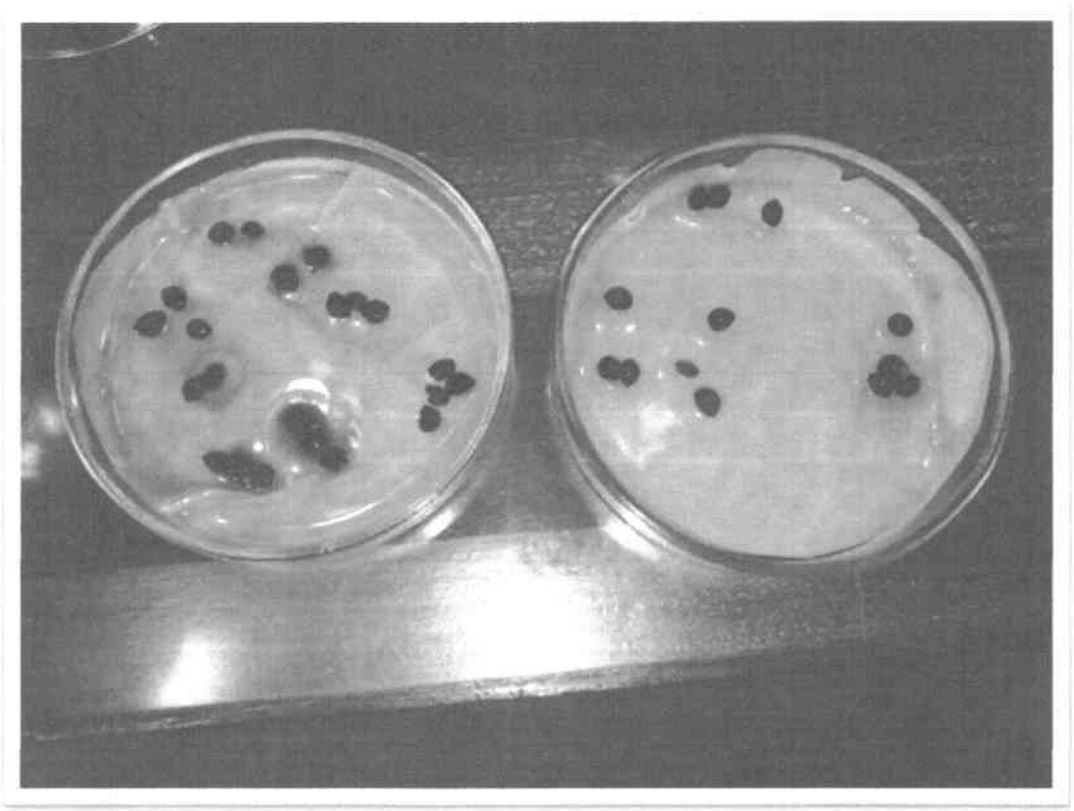

Рисунок 18. Семена ирисов, зараженных грибной микрофлорой

14 ноября 2019 года первые проростки дали семена Ириса сорта «Молочно-белый», семена Ириса сорта «Беламканды китайской» и семена Ириса сорта «Разноцветный», а семена Ириса сорта «Золотисто-расписной» проросли 28 ноября 2019 года.

14 и 28 ноября проросшие семена были очищены от семенной кожуры в ламинар-боксе. Для этого в течение 3 минут мы выдерживали семена в растворах перманганата калия и пероксида водорода последовательно.

После снятия кожуры экспланты были подвержены стерилизации. Обрабатывали следующими растворами: 1% раствором $KMnO_4$ и 3% раствором H_2O_2 по 1 мин.

Данная процедура дает возможность уменьшения процентного содержания грибной микрофлоры. Следующим шагом была пересадка семян в питательную среду Мурасиге-Скуга [19].

Экспланты Ириса молочно-белый, Ириса беламканды китайской были посажаны на питательную среду 14 ноября 2019 года, экспланты Ириса разноцветный – 5 декабря 2019 года, а Ириса золотисто-расписного – 12 декабря.

Питательная среда с эксплантами находилась в теплице 15 корпуса на кафедре «Общая биология и биохимия». Теплица оснащена лампами с разными спектрами света, которые необходимы для оптимальных условий прорастания и жизни растений. Лампы переключаются автоматически и соблюдают последовательность спектров, которая была выставлена вручную (рис. 19).

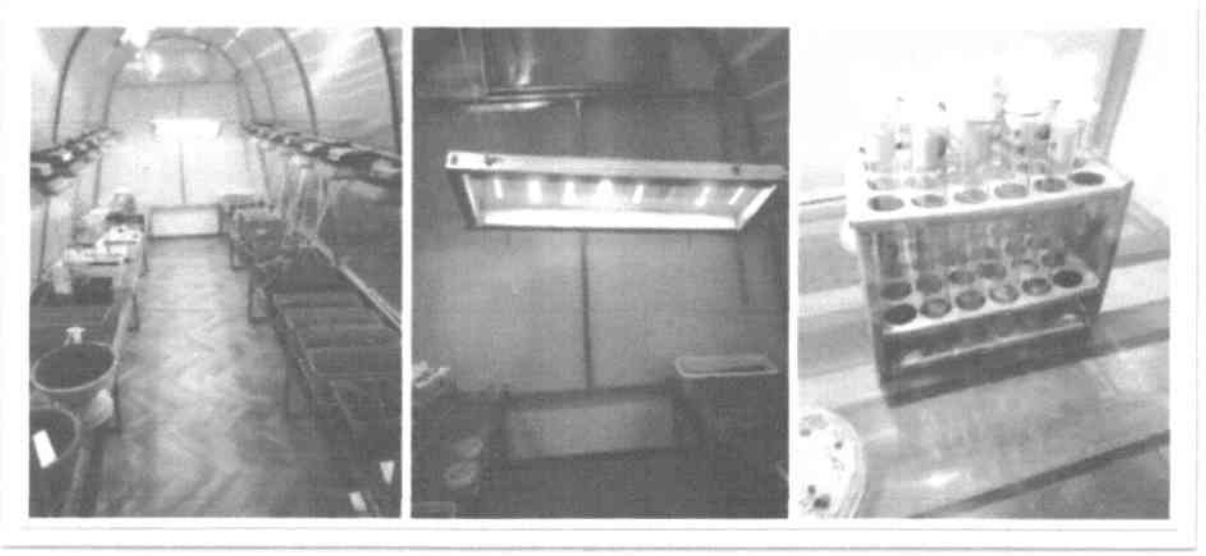

Рисунок 19. Теплица 15 корпуса. Кафедра «Общая биология и биохимия»

Наблюдался интенсивный рост растений.

Спустя 10 дней побеги Ириса молочно-белого достигли высоты 7,5 сантиметров (рис. 20, табл. 7).

Спустя 10 дней побеги Ириса разноцветного достигли 4,5 сантиметров в высоту, но в пробирках со средой обнаружились следы бактериальных культур, вследствие чего рост замедлился (Рис. 21, табл. 7). Заражение могло произойти при пересадке эксплантов в питательную среду.

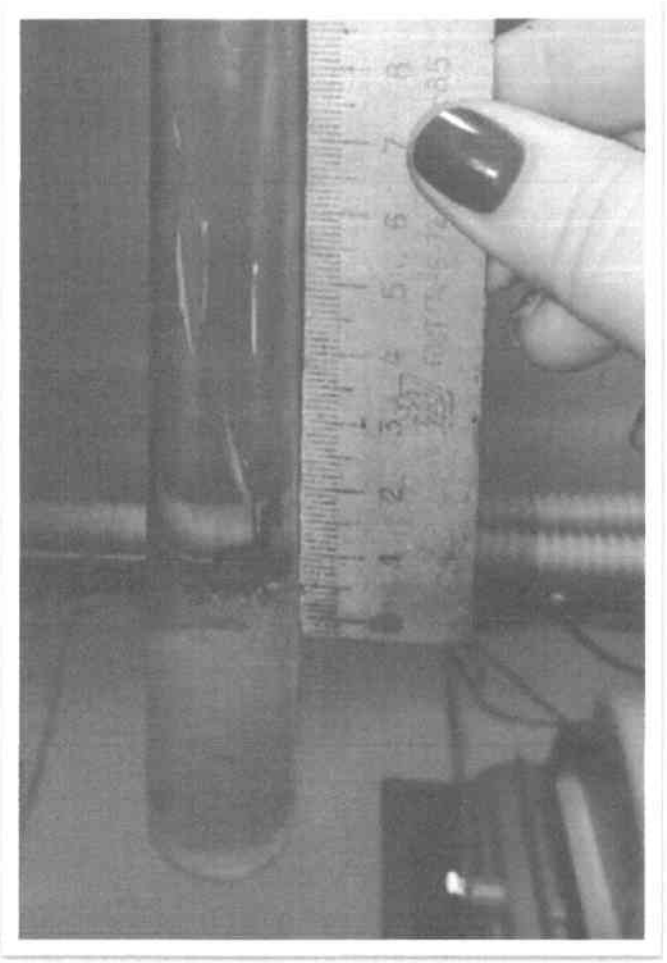

Рисунок 20. Ирис молочно-белый

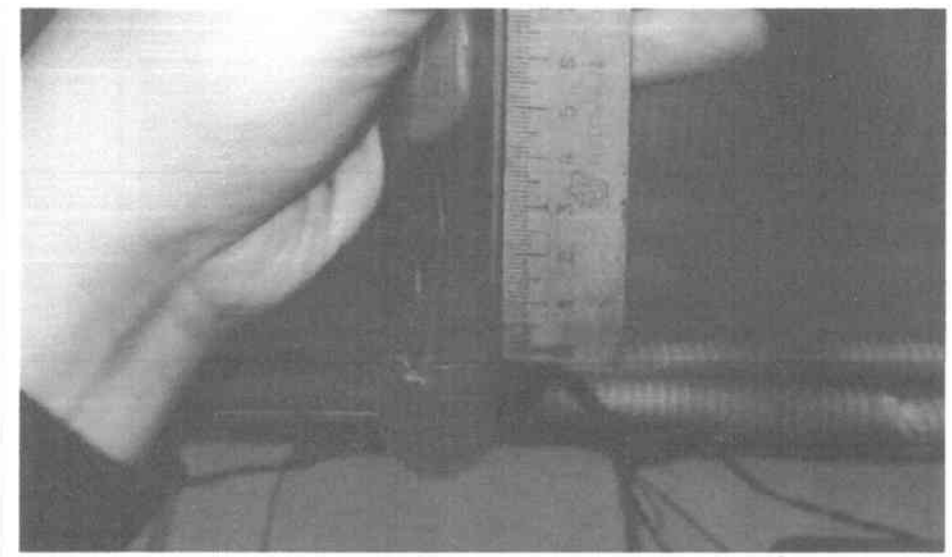

Рисунок 21. Ирис разноцветный

Спустя 10 дней побеги Ириса золотисто-расписного достигли 7 сантиметров в высоту (рис. 22, табл. 7).

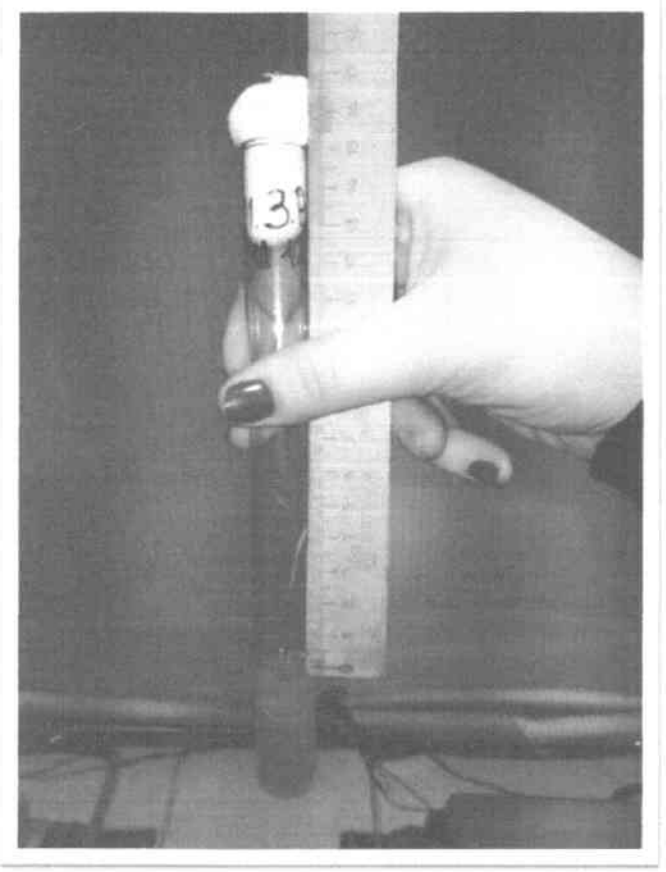

Рисунок 22. Ирис золотисто-расписной

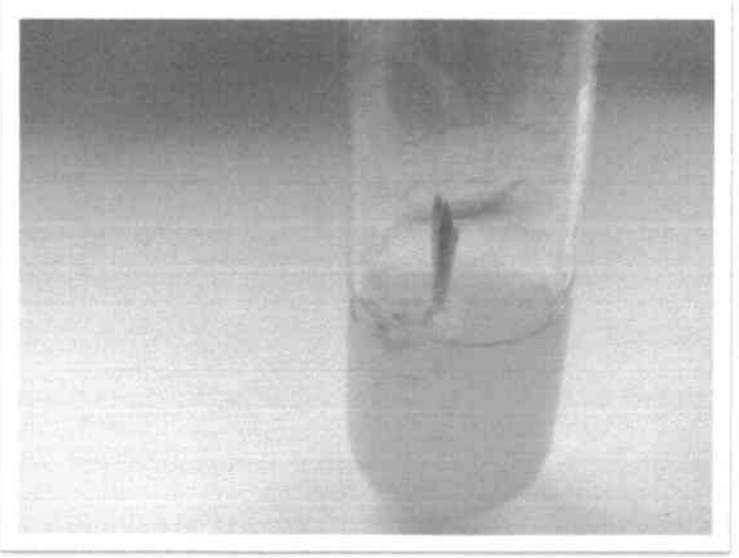

Рисунок 23. Ирис беламканда китайская

Спустя 10 дней побеги Ириса беламканды китайской достигли в высоту 3 сантиметров (рис. 23, табл.7).

Таблица 7 – Рост осевого побега Ириса

Средняя длина основного побега, см	Длина основного побега, см				
	16.11	18.11	20.11	22.11	24.11
Молочно-белый	2,5	4	5,5	7	7,5
Золотисто-расписной	2	4,1	5,5	6,2	7
Разноцветный	1,5	2,5	3,3	4	4,5
Беламканда китайская	0,5	1	1,7	2	3

Исходя из данных в диаграмме, можно сделать вывод, что рост побегов Ириса Молочно-белого и Ириса Золотисто-расписного шел на одном уровне (рис. 24).

Следовательно, можно сказать, что растениям подходили условия:

На быстрый рост могли повлиять:

- входящие в состав питательной среды различные соли, витамины, кислоты, которые создают растениям комфортные условия для питания и развития;
- входящие в состав питательной среды фитогормоны, такие как ауксин (0,5-2 мг/л) и гиббереллин ГА3 (2 мг/л), которые вызывают резкое ускорение роста зелёной массы растений;
- физические факторы: действие спектрального освещения, что благоприятно сказывается на росте и развитии растений, влажность и температура [13].

Ирисы Разноцветный и Беламканда китайская росли медленнее, возможно из-за нехватки освещения (рис. 24). Такое возможно, если пробирки с эксплантами стояли в самой середине, и были заслонены. Либо при перенесении эксплантов с чашки Петри в пробирки на питательную среду мы могли погрузить их слишком глубоко. Так же в пробирках было мало среды, что так же могло повлиять на рост растения.

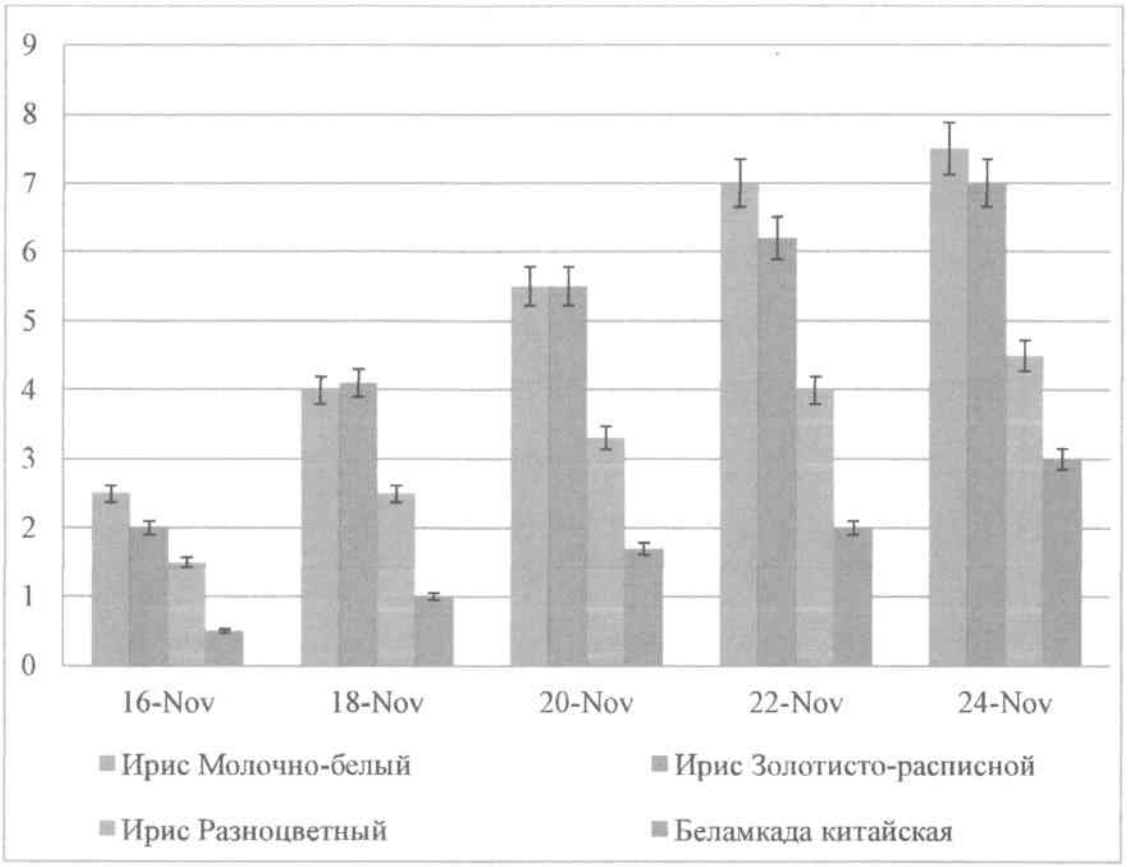

Рисунок 24. Длина основного побега, см

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. Заражение питательной среды могло произойти при посадке зародышей в пробирки.

ГЛАВА 4. ПРОЕКТНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ШКОЛЬНИКОВ В РАМКАХ ПОДГОТОВКИ К НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ

В настоящее время исследовательская и проектная деятельность школьников является неотъемлемой частью учебного процесса и приоритетной задачей современного образования. Это обосновано тем, что в основе исследовательской деятельности лежит системно-деятельностный подход [34]. Данный подход поощряется потому, что учащиеся, как показывают исследования, сохраняют в памяти большой процент того, что выполняли практически. Исследовательская деятельность предполагает формирование и развитие всех видов универсальных учебных действий (УУД) учащихся, а именно личностных, регулятивных, познавательных, коммуникативных.

Опыты и эксперименты, которые проводились в бакалаврской работе можно использовать при подготовке учеников к научно-практическим конференциям [2].

Данная работа должна осуществляться в несколько этапов:

1) Подготовительный:

• определение темы исследования, цели и задачи;

• обозначение актуальности и значимости темы;

• определение сроков и составление плана исследовательской работы.

2) Основной:

• формирование и изучение литературы по данной теме;

• составление плана теоретической работы;

• расширение и углубления знаний по данной теме исследования;

• закрепления теоретического материала по средствам выполнения различных заданий;

• анализ и обобщение, сопоставление полученной информации;

• подкрепление теоретической информации практической деятельностью;

• выполнение лабораторных опытов;

• анализ и обсуждение результатов.

3) Заключительный:

• обобщение и систематизация полученных данных;

• оформление работы (доклад, презентация, статья);

• подготовка к выступлению по данной теме исследования.

В результате сделанной работы у учащихся знания по биологии становятся более углубленными, формируются универсальные учебные действия, развиваются навыки самостоятельной учебно-познавательной деятельности [40].

Работа «Культивирование растений *in vitro*» была представлена на Международном конкурсе исследовательских работ для студентов и учащихся образовательных учреждений в области биологических, химических и медицинских наук, где был получен диплом лауреата. Это подчеркивает актуальность темы и ее основных направлений (рис. 25).

Регистрационный номер 15112168
Приказ № 201101 от 20 ноября 2021 года

ДИПЛОМ | DIPLOMA

лауреат | laureate degree | без присуждения места
награждается | awarded to

Макарова Надежда Сергеевна

студент 5 курса (бакалавриат), факультет физико-математических и естественных наук
Пензенский государственный университет

лауреат конкурса "15.11.2021 — Международный конкурс исследовательских работ для студентов и учащихся образовательных учреждений в области биологических, химических и медицинских наук - http://students.interclover.ru/bio/biochem.html", проводимого 15 ноября 2021 года по инициативе проекта Interclover.ru, г. Нижний Новгород

Название проекта: курсовая работа/курсовой проект "Культивирование растений in vitro"
Номинация: научный эксперимент
Научное направление: Биологические науки
Подкатегория научного направления: Физиология и биохимия растений
Ступень достижений: студенты образовательных учреждений ВО (бакалавриат)
Форма участия: Дистанционное участие
Научный руководитель: Солдатов Сергей Александрович, доцент, кандидат биологических наук, доцент кафедры "Общая биология и биохимия", Пензенский государственный университет

КРАСНОВА Н.А. | KRASNOVA N.
руководитель НОО "Профессиональная наука", председатель конкурсного жюри | Head of the "Professional Science", Chairman of the Competition Jury

КАНАЕВА Ю.О. | KANAEVA YU.
зам. руководителя НОО "Профессиональная наука", секретарь конкурсного жюри | Deputy Head of the "Professional Science", Secretary of the Jury

interclover.ru | 2021 | Нижний Новгород

Рисунок 25. Диплом лауреата за участие на Международном конкурсе исследовательских работ для студентов и учащихся образовательных учреждений в области биологических, химических и медицинских наук

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе данной работы изучались растения – Ирисы и Луки. Все исследования проводились с растениями, которые выращиваются в условиях Пензенского ботанического сада им. И. И. Спрыгина ПГУ. Семена для проведения лабораторных экспериментов были предоставлены сотрудниками ботанического сада [39].

Объекты исследования – растения из отдела Цветковые (Магнолиофиты, Покрытосеменные) – отдел *Magnoliophyta*. Класс Лилиопсиды (Лилиевые, Однодольные) – класс *Liliopsida*. Порядок Ирисовые (Касатикоцветные, Ирисоцветные) – порядок *Iridales*. Семейство Ирисовые (Касатиковые) – семейство *Iridaceae*. Род Ирис (Касатик) – род *Iris*.

Виды: Ирис молочно-белый, Ирис золотисто-расписной, Ирис разноцветный, Ирис беламканда китайская.

Растения из отдела Цветковые (Магнолиофиты, Покрытосеменные) – отдел *Magnoliophyta*. Класс Лилиопсиды (Лилиевые, Однодольные) – класс *Liliopsida*. Порядок Амариллисовые – порядок *Amaryllidales*. Семейство Луковые – семейство *Alliaceae*. Род Лук («чеснок») – род *Allium*.

Виды: Лук алтайский, Лук косой, Лук беловатый.

В ходе написания бакалаврской работы проводились наблюдения за ростом растений. Были изучены особенности культивирования растений в условиях *in vitro*. Мы подобрали оптимальные условия для введения в культуру эксплантов растений ирисов видов Молочно-белый, Разноцветный и Золотисто-расписной; растений лука видов Алтайский, Косой и Беловатый.

В результате полученных данных можно сделать вывод, что на рост и развитие растений в условиях *in vitro* влияют многие факторы:

1. Правильная стерилизация семян растений;

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

3. Внешние условия, в которых прорастают растения (свет, температура и т.д.);

4. Соблюдение стерильности.

При написании бакалаврской работы были выполнены поставленные цели и задачи. Были изучены особенности видового разнообразия сотов рода Ириса и Лука в ботаническом саду им. И.И. Спрыгина. Так же были подобраны оптимальных условия для стерилизации семян, условия для введения в культуру и для клонального микроразмножения растений. В результате выполненной работы были получены молодые растения, и проанализировали их прорастание в условиях *in vitro*; а также выяснили возможность использования полученного материала в изучении школьного курса биологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений. Учебник для студентов вузов. Москва: Академия, 2005. – 640 с.
2. Белогрудова В.П. Об исследовательской деятельности учащихся в условиях проектного метода. 2005. № 8. – С. 6-11.
3. Белокурова В.Б., Листван Е.В., Майстров П.Д., Сикура Й.Й., Глеба Ю.Ю., Кучук Н.В. Использование методов биотехнологии растений для сохранения и изучения биоразнообразия мировой флоры // Цитология и генетика, 2005. – С. 41-51.
4. Бутвиловский В.Э., Давыдов В.В., Чаплинская Е.В. Биология: практикум. Минск: БГМУ, 2016. – 39 с.
5. Васильева Е.М., Горбунова Т.В., Кашина Л.И. Эксперимент по физиологии растений в средней школе. Пособие для учителей. Москва: «Просвещение», 1978. – 112 с.
6. Васильева М.З. Методика преподавания биологии: учебно-методический комплект (для студентов, обучающихся по специальности «Биология»). Горно-Алтайск: РИО ГАГУ, 2008. – 138 с.
7. Викторов Д.П. Практикум по физиологии растений. Воронеж: ВГУ, 1991. – 160 с.
8. Генкель П.А. Физиология растений. Физиология растений. Учебное пособие по факультативному курсу. Для 9 класса. Москва: Просвещение, 1970. – 175 с.
9. Гольд В.М., Гаевский Н.А., Голованова Т.И. Электронный учебно-методический комплекс «Физиология растений». Красноярск: ИПК СФУ, 2008. – 148 с.
10. Грязнов В.П., Сиротина Л.В. Практикум по физиологии растений. Белгород: БелГУ, 2000. – 68 с.
11. Зайцев Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. Москва: Наука, 2014. – 424 с.

12. Ишмуратова М.М. Особенности культивирования *in vitro* растений различных экологических групп на примере видов рода Iris L. Растительные ресурсы. №4. Москва. 1999. – С. 67-74.

13. Калинин Ф.А., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей и физиологии и биохимии растений. Киев, 1980. – 488 с.

14. Кириленкова В.Н., Обухов Д.К. Клетки и ткани: методическое пособие. Москва: Дрофа, 2008. – 118 с.

15. 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.

16. Кретович В.Л. Биохимия растений. Москва: Высшая школа, 2000. – 445 с.

17. Леонтович А.В. Исследовательская деятельность учащихся. Сборник статей // Библиотека журнала «Исследовательская работа школьников», серия «Сборники и монографии», М., 2006 – 114 с.

18. Лисов Н.Д. Биология: пособие. Минск: 2012. – 639 с.

19. Лунева Л.С. Размножение ирисов методом культуры апикальных меристем *in vitro*. Ботанический журнал. Т. 62. 3. Наука. 1977. – С. 416-421.

20. Мазец Ж.Э., Судейная С.В. Практикум по физиологии растений. Часть 1 Минск: БГПУ, 2009. – 64 с.

21. Николаева М.Г., Лянгузова И.В., Поздова Л.М. Биология семян. СПб.: 1999. – 231 с.

22. Николаева М.Г., Разумова М.В., Гладкова В.Н. Справочник по проращиванию покоящихся семян. Л.: Наука, 1985. – 347 с.

23. Петрова В.П. Дикорастущие плоды и ягоды. М.: Лесная промышленность, 1987 – 248 с.

24. Полевой В.В. Физиология растений. М.: Высшая школа, 1989. – 464 с.

25. Посыпанов Г.С., Долгодворов В.Е., Жеруков Б.Ж. Растениеводство. М.: КолосС, 2006. – 612 с.

26. Рейвн П. Современная ботаника В 3т. Т1,2 М.: Мир, 1990. – 560 с.

27. Родионенко Г.И. Род Ирис – *Iris* L.. Л.: Изд-во Академии наук СССР, 1961. – 215 с.

28. Русских Г.А. Технология проектного обучения // Биология в школе, 2015. – С. 21-31.

29. Рябинина З.Н., Раченкова Е.Г. Практикум по физиологии растений: учебное пособие для студентов высших педагогических учебных заведений. Оренбург: ОГПУ, 2014. – 152 с.

30. Сергиевской Е. В. Практический курс: Систематика высших растений: Учебник для вузов, СПб.: Лань, 1998. – 447 с.

31. Третьяков Н.Н. Практикум по физиологии растений. М.: Агропромиздат, 1990. – 271 с.

32. Цыренов В.Ж. Основы биотехнологии: Культивирование изолированных клеток и тканей растений /Учебно-методическое пособие. Улан-Удэ: ВСГТУ, 2003. – 8 с.

33. Шевелуха В.С., Калашникова Е.А., Кочиева Е.З. и др. Сельскохозяйственная биотехнология. Учебник. 3-е изд., перераб. и доп. М.: высш. шк., 2008. – 710 с.

34. Шибаева М.М. Особенности организации проектной деятельности обучающихся на основе цифровых технологий // Педагогические науки, 2015. – С. 55-63.

35. Широков А.И., Крюков Л.А. Основы биотехнологии растений: Электронное учебно-методическое пособие. Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2012. – 49 с.

36. Шмидт В.М. Математические методы в ботанике. Л.: ЛГУ, 1984. – 288 с.

37. Якушкина Н.И., Бахтенко Е.Ю. Физиология растений: [учебник для студентов вузов, обучающихся по специальности 032400 «Биология»] М.: Владос, 2005. – 463 с.

38. Янеева Е.Е. Из опыта работы по организации внеурочной проектно-исследовательской деятельности учащихся по биологии // Актуальные задачи педагогики: материалы VI Междунар. науч. конф. (г. Чита, январь 2015 г.). Чита: Издательство Молодой ученый, 2015. – С. 104-109.

39. Ботанический сад [Офиц. сайт]. URL: https://botsad.pnzgu.ru. (Дата обращения: 10.10.2019).

40. Научно-исследовательская работа по биологии, как важный способ активизации школьников [Офиц. сайт] URL: http://natural-sciences.ru/ru/article/viewid=10139 (Дата обращения: 01.02.2022).