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 В УСЛОВИЯХ IN VITRO НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РОДА *ALLIUM* ПРИ ОРГАНИЗАЦИИ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ СО ШКОЛЬНИКАМИ»

Студент _____ Струева Оксана Евгеньевна

Руководитель _____ Солдатов С.А.

Нормоконтролер _____ Клыченков С.В.

Работа допущена к защите (протокол заседания кафедры от 09.06.23 №13)

Заведующий кафедрой _____ Карпова Г.А.

Работа защищена с отметкой отлично

(протокол заседания ГЭК от 05.07.23 № 11)

Секретарь ГЭК _____ Клыченков С.В.

Пенза, 2023

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 5
1.1 Разнообразие луков, культивируемых в ботаническом саду им. И.И. Спрыгина 5
1.2 Биологические особенности некоторых видов рода *Allium* L. 9
1.3 Жизненные формы луков 19
1.4 Типы покоя у семян луков 19
1.5 Техника культивирования растительного материала на искусственных питательных средах. 24
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 28
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ 29
3.1 Особенности культивирования в условиях *in vitro* некоторых видов рода *Allium* L. (2021-2022 гг) 29
3.2 Особенности культивирования в условиях *in vitro* некоторых видов рода *Allium* L. (2015-2016 гг) 41
ГЛАВА 4. ПРОЕКТНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ШКОЛЬНИКОВ В РАМКАХ ПОДГОТОВКИ К НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ. 44
ЗАКЛЮЧЕНИЕ 48
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 48

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. *Allium* – род двулетних и многолетних травянистых растений, относящиеся к подсемейству луковые, имеющие видоизмененные побеги в виде луковиц и корневищ. В роду насчитывается более 500 видов, произрастающих в северном полушарии.

Пока еще актуально изучение жизненных форм и их классификация в таксонах, где формируется специализированный запасающий орган-луковица.

Представители рода имеют большую сплюснуто-шаровидную луковицу, которая покрыта красноватыми, белыми или фиолетовыми оболочками.

Из-за вкусовых и ароматических качеств некоторые виды луков давно введены в культуру. Ценным свойством многолетних луков является получение продукции богатой витамином С ранней весной [1].

В практике биотехнологии накоплен большой опыт по культивированию растений *in vitro*, который позволяет обеспечить разработку метода клонального размножения любой культуры. Культивирование клеток и тканей растений *in vitro* является перспективным методом сохранения генотипов растений с ценными признаками и биоразнообразия в целом.

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 также делать выводы [16].

Цель бакалаврской работы: изучить особенности культивирования в условиях *in vitro* некоторых видов рода *Allium* при организации научно-исследовательской работы со школьниками.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

1. изучить видовое разнообразие сортов рода *Allium*, 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.

Практическая значимость: данную работу можно использовать при организации внеурочной деятельности школьников.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

3.1 Разнообразие луков, культивируемых в ботаническом саду им. И.И. Спрыгина

Ботанический сад имени И.И. Спыгина основан в 1917 году.

Рисунок 1. Ботанический сад им. И.И. Спрыгина

Создателем Ботанического сада выступила организация ПОЛЕ (Пензенское общество любителей естествознания) председателем которой и был ученый-ботаник Иван Иванович Спрыгин. Его создавала группа добровольцев из числа членов общества и волонтеров.

Первоначально сад планировали сделать зоолого-ботаническим, но из-за революционного времени зоологическую составляющую сада сохранить не удалось.

Рисунок 2. Пензенское общество любителей естествознания

Для решения организационных вопросов, ботанический сад был присоединен к педагогическому институту в 1948 году. На данный момент сад является структурным подразделением Пензенского государственного университета.

Ботанический сад был местом работы таких знаменитых ученых как: И.И. Спрыгин, Н.И. Спрыгина, Е.К. Штукенберг, Е.П. и С.П. Коровины, А.Н. Магницкий, М.Г. Попов, Н.Г. Заикин, А.И. Введенский, Б.П. Сацердотов, А.А. Солянов и многие другие [20].

Рисунок 3. Спрыгин Иван Иванович

Основная цель Ботанического сада – это обеспечение образовательной, научно-исследовательской и социальной просветительской деятельности в области ботаники, охраны природы, экологии растений, декоративного садоводства и ландшафтной архитектуры для студентов по специальностям университета.

Площадь ботанического сада составляет 3,8 га. В задачи ботанического сада входят:

1. Создание, хранение и сохранение в искусственных условиях коллекций живых растений и других ботанических объектов с большим научным значением.

2. Разработка научных основ и методологии сохранения, изучения генофонда растений природной флоры; интродукции растений.

3. Научно обоснованная образовательная, научно-методическая и просветительская работа в области ботаники и охраны растительного мира. В Ботаническом саду проходят экскурсии и практические занятия для студентов различных учебных заведений города Пензы.

3. Проведение научно обоснованной образовательной и просветительской работы в области ботаники и охраны растительного мира.

В ботаническом саду проводятся экскурсии для всех желающих жителей города и гостей; проводятся исследовательские работы со студентами разных учебных заведений города Пензы.

В целях повышения знаний мы посетили Ботанический сад, где нас заинтересовало произрастание сортов рода *Allium* L. В данный момент времени в Пензенском ботаническом саду им. И.И. Спрыгина произрастает свыше 25 видов луков.

Изучаемые виды:

- Лук желтеющий (*Allium flavescens* Besser)
- Лук стебельчатый (*Allium stipitatum* Regel)
- Лук высочайший (*Allium altissimum* Regel)
- Лук трубчатый (*Allium fistulosum* L.)
- Лук победный (*Allium victorialis* L.) [20].

1.2 Биологические особенности некоторых видов рода *Allium* L.

Род *Allium* L. – один из крупных родов подкласса *Liliidae* класса однодольных. По современным данным, он объединяет 750-800 видов, широко распространеных в Евразии и Америке. Род *Allium* в систематическом и филогенетическом плане очень сложный, до сих пор нет единого мнения о систематике и филогении луков.

Род *Allium* L. – поликарпические растения с розеточным типом побега. Основной элемент структуры побеговой части тела особей луков -побег возобновления, который формируется из почки в пазухе верхнего срединного ассимилирующего листа. При выращивании луков у взрослых особей были выделены следующие побеги: розеточный, длиннокорневищно-розеточные и столообразные. Многие виды лука имеют розеточные побеги возобновления. Они состоят из безлистного цветоноса-стрелки и укороченной части стебля, на которой находятся листовые зачаточки. Базальная часть побега возобновления может формировать туникантную луковицу. Ученые считают луковицу запасающим органом побеговой природы, независимо от того, где находятся запасные вещества. Луковицы хорошо развиты, одиночные или на корневищах, варьирующие по величине, форме, цвету, консистенции типу оболочки, по способности к делению. Корневая система взрослых растений лука придаточная. Корни развиваются в узлах розеточных, а также на междоузлиях корневых побегов. Новые корни появляются весной и осенью. Количество корней, интенсивность ветвления и глубина проникновения в почву зависят от конкретных условий произрастания растений. Помимо обычных придаточных корней у видов лука развиваются специализированные и метаморфизированные корни. Стебель прямостоячий, безлистый иногда окруженный влагалищами листьев по всей длине. Листья очередные, трубчатые. Цветки окружены покрывалом. Форма, размеры, длина носика покрывала и способы его разрыва являются систематическими признаками. Цветки собраны в зонтиковидное соцветие

разнообразной формы: шаровидное, полушаровидное, пучковое. Цветки актиноморфные, мелкие или средних размеров. Тычинки расширенные и сросшиеся у основания между собой и у околоцветника. Плод – коробочка, треугольная и сверху прижатая. Столоны луков разнообразны по морфологии и выполняемым функциям [13].

Произрастание луков в широком диапазоне типов растительности способствовало выработке у видов разных типов ритма сезонного развития, соответствующих типу климата, для которого характерен тот или иной биом. В соответствии с такими признаками, как длительность вегетации и наличие покоя, сроки цветения у луков выделены следующие феноритмотипы:

Длительновегетирующие.

1.1. Весеннецветущие

1.2. Летнецветущие

1.3. Летнецветущие с вынужденным зимним покоем

1.4. Летнезеленые с вынужденным зимним покоем и летним полупокоем

2. Коротковегетирующие

2.1. Гемиэфемероиды

2.2. Эфемероиды.

Срок вегетации определяется относительно продолжительности периода, который длится в той или иной зоне горного пояса [6].

Для дальнейшего исследования и проведения опытов, мы изучили более подробно ботаническое описание луков, произрастающих в Ботаническом саду им. И.И. Спрыгина.

Лук желтеющий – *Allium flavescens* Besser.

Листья тонкие, нитевидные, высота листьев 20-30 см, собраны у основания стебля по 6-8 шт. Перо лука полое, внешняя часть желобчатая, слегка шероховатая.

Луковицы часто собраны на мочковатом одном корневище по несколько штук. Толщина луковицы от 5 до 8 см, по форме – конический. Из каждой вырастает высокий стебель до 40 см. Он прямой или извилистый, тонкий, шероховатый, с большим количеством мелких ребер. Оболочка вокруг каждой луковицы кожистая черно-коричневая, может снизу от корневища захватить несколько луковиц.

На стебле образуется шарообразной формы соцветие, иногда в виде полусферы, собранное из множества маленьких бело-желтых лепестков с 6-ю тычинками на длинных цветоножках. Каждый цветок к концу цветения формирует семя-коробочку черного цвета.

Зацветает растение с середины июня. Длится цветение до конца июля в зависимости от региона. Цветет он от 8 до 24 дней: чем теплее климат, тем быстрее зацветает и отцветает растение, формируя семена [12].

Рисунок 4. Лук желтеющий (Allium flavescens Besser)

Лук стебельчатый – *Allium stipitatum* Regel.

Луковица крупная, сплюснуто-шаровидная, толщина 3-6 см, с черными оболочками, которые скрывают одиночную, луковицу. Стебель высотой 50-120 см, без жилок, гладкий. Листьев 4-6шт., ширина 2-6 см., края гладкие снизу волосистые. Зонтик шаровидный. Цветоножки расположены у основания в 3-6 раз длиннее околоцветника. Листья околоцветника острой формы, сиреневого цвета, с жилкой, длина которой достигает до 9 мм, к низу скрученные. Нити тычинок срастаются у основания. Коробочка шириной 5мм [12].

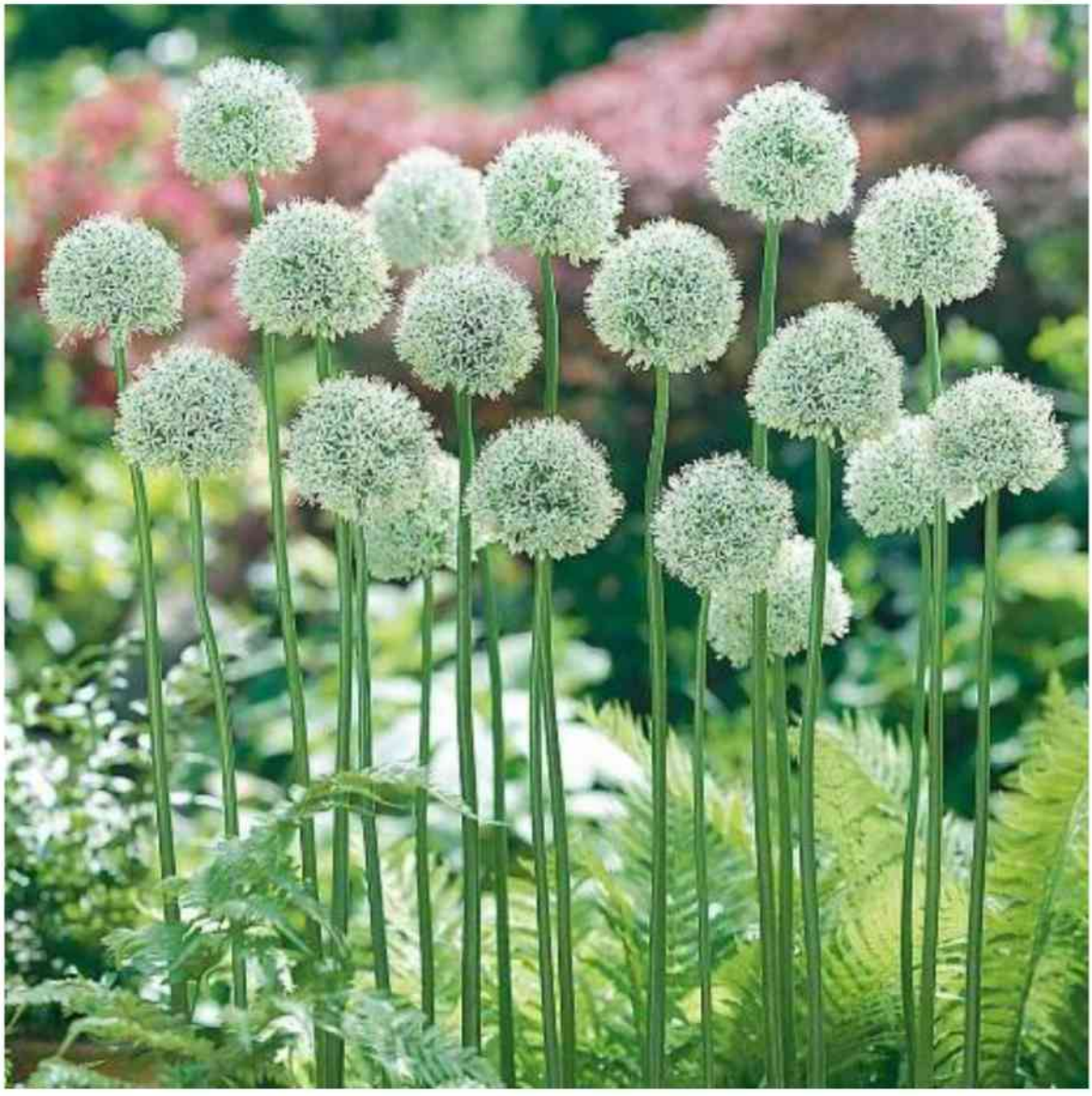

Рисунок 5. Лук стебельчатый (Allium stipitatum Regel)

Лук высочайший – *Allium altissimum* Regel.

Данный вид лука отличается съедобными листьями и луковицами. Луковица имеет шаровидную форму, ее диаметр около 3 см. Высота стебля 80-150см, жилки слабо выступающие. Листьев насчитывают 4-6 шт., их ширина 2-4 см, края листьев гладкие. Чехол короче зонтика, заострённый. Нити тычинок немного короче листьев околоцветника, у основания с околоцветником сросшиеся, пыльники жёлтого цвета. Соцветие представлено шаровидным зонтиком, с маленькими цветками фиолетового цвета. Диаметр коробочки 5мм [12].

Рисунок 6. Лук высочайший – Allium altissimum Regel

Лук трубчатый – *Allium fistulosum* L.

Многолетнее травянистое растение с продолговатой луковицей, листья дудчатые, высота стебля до 1м. Цветки желтоватого цвета, имеют форму колокольчика, собранные в соцветие в форме зонтика, на ранней стадии заключенное в чехол из двух листьев. Зонтик имеет шаровидную форму с тонкими цветоножками. Нити тычинок, сросшиеся у основания между собой и равны листьям околоцветника. Плод – небольшая трехгранная коробочка, раскрывающаяся тремя створками. Семена черные, угловатые [12].

Рисунок 7. Лук трубчатый (Allium fistulosum L.)

Лук победный – *Allium victorialis* L.

Многолетнее травянистое растение. Форма луковиц коническицилиндрическая с серо-бурыми оболочками, прикрепленными к корневищу группами. Стебель в высоту достигает 70 см., из-за влагалищных листьев имеет фиолетовый цвет. Листья влагалищные, достаточно крупные, гладкие, сужающиеся в короткий черешок. Околоцветник простой имеет форму венчика, шестилепестный. Тычинок 6шт., пестик с верхней завязью.

Соцветие – шаровидный зонтик, который до цветения находится в чехле [12].

Рисунок 8. Лук победный (Allium victorialis L.)

1.3 Жизненные формы луков

Жизненные формы растений изучаются для решения разных задач: 1 – изучение структуры растительных сообществ и их классификации; 2 – определение разнообразия биоморф в конкретных систематических группах и установления путей приспособительной эволюции; 3 – изучение эво-

люции жизненных форм. Любая задача не выполнима без создания классификации биоморф. По-прежнему актуально изучение жизненных форм и их классификация в таксонах, где формируется специализированный запасающий орган – луковица.

Существование жизненных форм луков до недавнего времени было малоизученным. Как правило, луки относят к луковичным и корневищно-луковичных или корневищно-луковичного растения. В процессе исследования различных типов сообществ были созданы классификации жизненных форм, в которых присутствуют жизненные формы луков. Традиционно луки относили к луковичным биоморфам, но есть классификации, в которых луки характеризовались и другими признаками [8].

Л.С. Ганевская в основе системы жизненных форм растений заложила ритм сезонного развития. Эта система относится к типу эфемероидов и группе луковичных биоморф. С этим же принципом можно ознакомиться в работе М.С. Шалыта. У луков есть жизненная форма, которая выделяется им как среди долговегетирующих трав, так и среди коротковегающих.

На основе классификации В.Н. Голубева луки были отнесены к растениям, которые имеют тип корневищно-луковичных и луковичных с универсальной корневой системой.

Позже у луков было выделено и описано пять жизненных форм: вертикально-корневищная рыхлокустовая с запасными веществами в корневище и чешуях; горизонтально-корневищная плотнокустовая с запасными веществами в корневище и чешуях; луковичная слабо ветвящаяся с запасными веществами в донце и чешуях; луковичная сильно ветвящаяся с запасными веществами в чешуях.

На сегодняшний день в современной системе жизненных форм видов рода есть четыре ранга: типы, группы и варианты жизненной формы. Различаются структурой подземных органов, группы-пространственной структуры особи, подгруппы-способностью к вегетативному размноже-

нию, варианты – строением корневища, способностью к вегетативному размножению и наличием специализированных органов размножения [4].

Система жизненных форм видов рода *Allium* L.:

1. Корневищные.

1.1. Моноцентрические.

1.1.1. Партикулирующие.

1.1.1.1. Плотнодерновинные.

1.1.1.2. Плотнодерновинные с метаморфизированными придаточными корнями.

1.1.1.3. Рыхлодерновинные.

1.2. Неявнополицентрические.

1.2.1. Партикулирующие.

1.3. Явнополицентрические.

1.3.1. Партикулирующие.

2. Корневищно-луковичные.

2.1. Моноцентрические.

2.1.1. Партикулирующие.

2.1.2. Непартикулирующие.

2.2. Неявнополицентрические.

2.2.1. Партикулирующие.

3. Луковичные.

3.1. Моноцентрические.

3.1.1. Непартикулирующие.

3.1.1.1. Луковичные.

3.1.2. Партикулирующие.

3.2.2.2. Луковичные.

3.2. Неявнополицентрические.

3.2.1. Партикулирующие.

3.2.1.1. Луковичные короткостолонообразующие.

3.3. Явнополицентрические.

3.3.1. Партикулирующие.

3.3.1.2. Луковичные длинностолонообразующие.

Таким образом, предложенная классификация биоморф, позволяет выявить пути адаптации видов к произрастанию, а различных биомах.

При сходстве экологических и почвенных условий у видов разных секций в пределах одного подрода образуются одинаковые жизненные формы. Для формирования форм жизни у видов рода играет фитоценотический фактор и тип субстрата, что способствует выработке специализированных структур и образованию биоморфов.

1.4 Типы покоя у семян луков

Семя – основная единица размножения и распространения растений. Оно формируется после оплодотворения из семязачатка. Общее строение семени можно представить таким образом:

1. зародыш;
2. семенная кожура;
3. запасающие ткани.

Зародыш чаще всего занимает весь объем семени. Семенная кожура всегда плотная. Запасающие ткани представлены эндоспермом.

Достаточная влажность, доступ кислорода и диапазон оптимальных температур – это обязательные условия для прорастания семени. Температуры, при которых возможно прорастание зависят от происхождения растений. Различают три типа температур: минимальные и максимальные, то есть ниже и выше определенных температур семена прорастать не будут и оптимальные, при которых прорастание идет хорошо. Семена за счет своего строения и физиологических особенностей способны на протяжении долгого времени сохранять способность к прорастанию при неблагоприятных условиях, что является важным аспектом в сохранении видового разнообразия растений [9].

Полное отсутствие прорастания семян или снижение способности прорастать, которые могут быть вызваны внешними причинами или свойствами самих семян, называется покоем семян. Покой семян является важным приспособительным механизмом для сохранения видов. Часто наличие покоя у семян затрудняет культивирование растений. Проблема покоя семян исследуется давно, сейчас существует множество работ для ускоренного проращивания семян, стимулирующих прорастание. Различают два основных типа покоя:

1. Вынужденный. Этот вид покоя возникает при неблагоприятных условиях, например, недостатке или избытке воды, недостатка кислорода и при низких температурах;

2. Органический. Данный вид покоя возникает при благоприятных условиях, но семена не прорастают, это связано с физиологическими процессами семени.

Причинами органического покоя могут служить:

1. Пониженная активность зародыша;

2. Свойства покровов семени, в том числе и околоплодник;

3. Сочетание различных факторов [11].

Семена растений, обитающих по всему земному шару способны погружаться в состояние органического покоя. Однако, чаще всего органический покой встречается у растений, произрастающих в климатических зонах с регулярной сменой сезонов года. К сезонам года здесь можно отнести не только зима, весна, лето и осень, но и, например, смену периодов дождей и засух.

Как только растения собраны и их семена готовы к посеву, они сразу не прорастают. Это происходит потому, что в семенной кожуре содержится большое число ингибиторов. Из-за ингибиторов, осенью, семена с легкостью начинают расти, но зимой при низких температурах содержание ингибиторов снижается, а стимуляторы роста накапливаются, что приводит к прорастанию семян весной.

Разная скорость прорастания семян древесно-кустарниковых пород, которые созревают в разные сезоны года, является полезным приспособлением живой природы к окружающей среде. Основой этого приспособления являются состояния, вызванные вынужденным и глубоким (органическим) покоем.

Существует несколько типов глубины покоя семян растений.

Причины выражены в:

- степени зрелости;
- условиях во время хранения;
- видовой специфики семян;
- условиях их формирования.

Глубокий покой классифицируется на:

- экзогенный;
- эндогенный;
- комбинированный типы [19].

Экзогенный покой – это свойство семенной кожуры и околопродника. Эндогенный типа покоя зависит от того, в каком состоянии находится зародыш и физиологических причин торможения прорастание. В данном случае комбинированный тип сочетает в себе причины эндогенного и экзогенного покоя. В зависимости от наличия околоплодника, экзогенный покой делится на сильный и слабый. Околоплодник может задерживаться в развитии по нескольким причинам. Примеры: механическая преграда, наличие в нем ингибиторов создает неблагоприятное осмотическое давление вокруг семени.

Слабый тип эндогенного покоя семян растений характеризуется задержкой прорастания по причине наличия в околоплоднике семени большого количества ингибиторов. В состав ингибиторов часто входит абсцизовая кислота и фенолы. Тем не менее у ряда растений (ясень японский) ингибиторы околоплодника тормозят прорастание семян при резкой смене

дождливых и засушливых периодов года. Для устранения задержки всхожести часто семена необходимо либо обильно промыть водой, либо удалить околоплодник, либо почва самостоятельно в естественных условиях адсорбирует ингибирующие вещества. Слабый тип эндогенного покоя, проявляется не всегда в отличие сильного экзогенного покоя.

Сильный экзогенный тип покоя зачастую встречается у семян с твердой оболочкой – косточкой. Косточка препятствует прорастанию, мешает вымыванию ингибиторов и затрудняет газообмен. Растения с сильным экзогенным типом покоя: слива, боярышник, фисташка, калина, алыча, терн, шиповник и др.

Физический покой. Он обусловлен твердосемянностью. Твердосемянность – это полная водонепроницаемость семенной кожуры. В большинстве случаев такие растения не находятся в состоянии покоя и быстро прорастают при нарушении покровов семени и поступлении воды, кислорода. Распространен у многих сельскохозяйственных и лекарственных растений. Его отличие от сильного экзогенного покоя заключается в том, что зародыш не частично изолирован, а полностью. К зародышу семени абсолютно перекрыт доступ кислорода и воды. Это объясняется особенностями строения семенной кожуры, наличием кутикулы и хорошо развитой столбчатой эпидермы. Твердость семян развивается на последних фазах. Таким образом, чем старше семя, тем сильнее его физический покой.

Сочетания эндогенного и экзогенного типов покоя формируют комбинированный тип покоя семян. Делая выводы, можно сказать, что отдельно различные типы экзогенного и эндогенного покоя семян растений встречаются достаточно редко. Чаще всего встречается комбинированный покой. Семена, подвергнутые комбинированному покою, проращиваются трудно. Перед посевом необходима сложная подготовка. Предпосевная подготовка семян заключается в комбинировании разнообразных методов преодоления покоя характерных для эндогенного и экзогенного типов покоя семян [11].

Таблица 1 Классификация типов органического покоя

Тип покоя	Формула	Причина
Тип экзогенного покоя		
Собственно экзогенный слабый	А1	Слабое тормозящее действие околоплодника
Собственно экзогенный сильный	А2	
Физический	А3	Водопроницаемость покровов
Типы эндогенного покоя		
Морфологический	Б	Недоразвитие зародыша
Физиологический неглубокий	В1	Слабый физиологический механизм торможения
Физиологический промежуточный	В2	Средний физиологический механизм торможения
Физиологический глубокий	В3	Сильный физиологический механизм торможения
Морфофизиологический простой неглубокий	Б-В1	Сочетание недоразвития зародыша со слабым механизмом торможения
Морфофизиологический простой промежуточный	Б-В2	Сочетание недоразвития зародыша со средним механизмом
Морфофизиологический простой глубокий	В3	Сочетание недоразвития зародыша с сильным механизмом торможения
Морфофизиологический глубокий эпикотильный	Б-Вэ3	Сочетание недоразвития зародыша с сильным физиологическим механизмом торможения развития эпикотиля
Морфофизиологический глубокий двойной	Б-Вд3	Сочетание недоразвития зародыша с сильным физиологическим механизмом торможения прорастания
Продолжение таблицы 1		
Морфофизиологический сложный неглубокий	БВ-В1	Сочетание недоразвития зародыша со слабым механизмом торможения доразвития зародыша
Морфофизиологический сложный промежуточный	БВ-В2	Сочетание недоразвития зародыша со средним механизмом торможения доразвития зародыша
Морфофизиологический сложный глубокий	БВ-В3	Сочетание недоразвития зародыша с сильным торможением
Типы комбинированного покоя (А – Б – В)		
		Различные сочетания типов экзогенного и эндогенного покоя

1.5 Техника культивирования растительного материала на искусственных питательных средах

В последнее время в биологии произошло большое количество открытий, во многих открытиях важную роль сыграл метод культивирование клеток, тканей и органов растений.

Культивирование-обеспечение условий для размножения микроорганизмов в искусственных условиях in vitro.

Существует две основные системы культивирования клеток.

1. Непроточные культуры-тип культур, в которых клетки помещаются на фиксированный объем среды. В процессе роста клетки используют питательные вещества и накапливают метаболиты, поэтому среда должна периодически меняться, что приводит к изменениям клеточного метаболизма.

Увеличить продолжительность жизни непроточных культур можно несколькими способами:

- прерывистый (часть культуры заменяется равным объемом свежей среды)

- постоянный (количество клеток растет с постоянной высокой скоростью, и маленькие клетки периодически удаляются)

- перфузионный (в культуре происходит постоянное поступление свежей среды и удаление равного объема использованной среды).

2. Проточные культуры обеспечивают настоящие условия жизни без изменения концентрации питательных веществ и метаболитов, а также числа клеток; истинные гомеостатические условия без изменения концентрации питательных веществ и метаболитов, а также числа клеток [4].

Метод *in vitro* заключается в том, что, на искусственной середе необходимо вырастить клетку растения, соблюдая методы стерилизации. Было

доказано, что клетка растений лучше всех подходит для изучения процессов.

Основные компоненты среды для выращивания растительных клеток и тканей делятся на 6 групп: макроэлементы, микроэлементы, источники железа, витамины, источники углерода, фитогормоны.

Важными компонентами всех питательных сред для выращивания растительных эксплантов являются минеральные соли, включающие в себя соединения азота (нитраты, нитриты, соли аммония), фосфора (фосфаты), серы (сульфаты), а также растворимые соли калия, натрия, кальция и магния. Железо используется в виде хелатов, таких как хелаты ферума или трилон Б, что делает его более доступным для усвоения растительными тканями. Азот и фосфор, а также сера входят в состав органических соединений. Например, белки, жиры и нуклеиновые кислоты. Железо, цинк, марганец, молибден и кобальт, в сочетании с порфиринами, образуют макромолекулы пигментов фотосинтеза (хлорофилла) и окислительно-восстановительных ферментов (каталазы, пероксидазы, полифенолоксидазы).

Такие соединения являются структурами, которые отвечают за функциональную деятельность клеток и тканей организма. K^+, Na^+,Cl^- и H^+ необходимы для поддержания физиологических градиентов клеток (тургора, осмотического давления, полярности) и регулирования pH среды. Из углерода биоорганизмов и выращивания гетеротрофных тканей (каллусов и суспензий) углеводы добавляются в питательные среды от 20 до 60 грамм на литр.

В большинстве случаев это дисахариды (сахароза) и моносахариды. Обычно это гексозы: глюкоза и фруктоза, пентозы, ксилоза и другие. При этом полисахариды почти не используются в питательных средах. Из всех типов тканей только некоторые виды тканей (опухолевые), содержащие гидролитические ферменты, выращивают на средах с крахмалом, рафинозой и целлобиозой [4].

Для стимуляции биохимических реакций в клетке используют биологические катализаторы – витамины группы В (В1, В6, В12), С (аскорбиновую кислоту), РР (никотиновую кислоту), мезоинозит. Так же тиамин (В1) входит в состав пируватдекарбоксилазы и участвует в превращениях углеводов. Тиаминпирофосфат входит в состав фермента окислительного декарбоксилирования кетокислот (пировиноградной и кетоглутаровой), является коферментом транскетолазы. Пиридоксин (В6) в виде фосфорнркислого эфира входит в состав ферментов декарбоксилирования и переаминирования аминокислот. Никотиновую кислоту (РР) используют в качестве амида для катализатора донорно-акцепторной цепи.

Биологические регуляторы роста и развития необходимы для управления процессами формообразования в культуре тканей. Эти вещества влияют на дифференциацию и дедифференциацию клеток и тканей, активируют гистогенез, индуцируют деление и растяжение клеток, участвуют в процессах старения и созревания, либо стимулируют, либо ингибируют рост и развитие клеточных культур, обуславливают формирование пола.

В биотехнологических исследованиях ученые чаще используют гормоны, стимулирующие рост и развитие: ауксины, цитокинины или гиббереллины. Ауксины: ИУК – β-индолил-3-уксусная кислота, ИМК – индолил-3-масляная кислота, НУК – α-нафтилуксусная кислота, 2,4-Д – 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота. Цитокинины: кинетин – 6-фурфуриламинопурин, зеатин, NN-дифенил-мочевина, 6-БАП – 6-бензиламинопурин. Гиббереллины: гиберрелловая кислота.

В качестве биологических добавок для индукции первичного каллуса можно использовать растительные экстракты (10-15% от общего объёма среды): кокосовое молоко (жидкий эндосперм кокосового ореха), вытяжки из незрелых зерновок кукурузы (лучше в период молочной спелости), которые содержат цитокинины – кинетин и зеатин (6-ти замещенные аминопурины) и NN-дифенилмочевину.

В культуре *in vitro* применяют жидкие и агаризованные (твердые) среды. Жидкие среды используются для культивирования суспензий, каллусов, изолированных органов и тканей, растений-регенерантов. По этой причине для поддержания эксплантов в пробирках с средами используют специальные мостики-поддержки, которые состоят из фильтровальной бумаги или синтетических пористых материалов. Из агаризованной среды готовятся смеси из полисахарида морских водорослей, который образует с водой гель при pH 5,6-6.0. Иногда для уплотнения и замены агар-агар используют полиакриламидные гели (биогели) P10 и P200.

Приготовление растворов макро- и микросолей для искусственных питательных сред готовят заранее, и используют многократно. Их можно хранить при определенных условиях: макро- и микросоли в холодильнике с притертыми пробками при 0…+4°C; витамины, фитогормоны, ферменты, растительные экстракты при -20°C в небольших сосудах с пробками.

В качестве основы для получения маточного раствора макро- и микросолей каждая соль растворяется в отдельном стакане при нагревании, а затем сливается. Для того, чтобы избежать осадка, в охлажденную смесь солей молибденов вводят раствор соли магния (для предотвращения осаждения).

Концентрированный раствор витаминов готовится следующим образом: 10-кратная навеска растворяется в маленьком количестве (0,5-2 мл) спирта или KOH и доводят объемы до 100 мг вещества. Затем нагреваются на медленном огне (1-2 минуты), далее нагревают для полного растворения (кроме абсцизовой кислоты). Полученную смесь подогревают и выливают ее перед тем, как расплавить оставшиеся 200 г витаминного состава (0,5-1 н HCl); полученный результат закрывают крышкой [15].

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для работы использовались семена, взятые в Пензенском ботаническом саду им. И.И. Спрынгина ПГУ.

В западной части Пензы находится Пензенский ботанический сад им. И.И. Спрыгина, на окраине левого берега реки Суры [2].

Климат г. Пенза умеренно-континентальный.

Осадки выпадают обычно в пределах 450-650 мм. Для данной местности характерны весенние засухи, а также нередки летние и осенние засухи.

Почвы хорошо структурированы орехового типа.

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-май 2021-2022 года.

Опыт был заложен 13 октября 2021 года. Для данных видов схема опыта была следующая:

1. Подбор оптимальных условий стерилизации семян;
2. 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.

Объекты исследования – растения из отдела Цветковые (Магнолиофиты, Покрытосеменные) – отдел *Magnoliophyta*. Класс Лилиопсиды (Лилиевые, Однодольные) – класс *Liliopsida*.

Порядок Амариллисоцветные – порядок *Amaryllidales*. Семейство Луковые – семейство *Alliaceae*. Род Лук – род *Allium*.

Виды: лук стебельчатый *(Allium stipitatum* Regel), лук высочайший (*Allium altissimum* Regel), лук трубчатый (*Allium fistulosum* L.), лук победный (*Allium victorialis* L.).

Все действия с изолированными тканями (введение в культуру, пересадка на свежую питательную среду) проводились в асептическом помещении (ламинар-боксе) стерильными инструментами.

Для культивирования растений использовали два типа питательной среды: среда Murashige, Skoog (1962) и среда B5 (Gamborg, Eveligh, 1968). Стерилизация питательной среды осуществлялась в автоклаве при температуре 123°С и давлении 1 атм. в течение 40 мин.

Стерилизация инструментов для работы с растительным материалом предварительно проводилась в сухожаровом шкафу. Непосредственно перед каждой манипуляцией с растительными эксплантами металлические части инструментов прокаливались в пламени спиртовки.

Семена проращивали в термостате с температурой +10°С и +23°С в течение 3-5 дней.

Стерилизацию проросших семян растений проводили в септических и асептических условиях. 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. Затем в стерильных условиях обрабатывали следующими дезинфицирующими растворами: 70% раствором этанола и перекисью водорода по 1 мин. После выдерживания в дезинфицирующих растворах семена несколько раз промывали дистиллированной водой.

Для стерилизации проростков применяли следующую схему: стерилизация 1% раствором «Жавель-клейд», который содержит натриевую соль дихоризоциановой кислоты; трехпроцентным раствором пероксида водорода в течении 15 минут, после чего промывали дистиллированной водой три раза [4].

Растения выращивали при естественном освещении и температуре.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Особенности культивирования в условиях *in vitro* некоторых видов рода *Allium* L. (2021-2022 гг)

Методика биотехнологических исследований основывалась на общепринятых классических приемах работы с культурами изолированных тканей и органов растений [17].

Для культивирования растений использовали питательную среду В5 [17].

Таблица 2 – 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

Рисунок 9. Приготовление среды Gamborg Eveligh

Выбранная среда Гамборга, успешно применяемая для размножения луковичных растений. Так как у нас не было возможности регулировать световой режим и температуру культивирования, полужидкая питательная среда была очень удобна в использовании. Культивирование производили при естественном дневном свете и комнатной температуре. При ярком солнце питательные среды могут подсыхать, что негативно может сказаться на росте и развитии растений.

Для исследуемых таксонов были подобраны и 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).

Рисунок 10. Ламинар-бокс LAMSYSTEMS

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.

Стерилизацию проводили в септических условиях. Семена поэтапно обрабатывали 0,5%-ным раствором марганцевокислого калия и 1%-ным раствором медного купороса по 15 минут для освобождения от бактериальных и грибковых инфекций. После чего в стерильных условиях обрабатывали 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. Используемая нами схема позволяет быстро получить достаточное количество стерильных проростков для выращивания в культуре *in vitro* [4].

Рисунок 11. Стерилизация семян рода Allium

Используемый 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. Самая высокая всхожесть у лука желтеющего – 93%.

Рисунок 12. Семена Allium flavescens Besser, Allium altissium Regel, Allium stipitatum Regel, Allium fistulosum L., Allium victoralis L.

Рисунок 13. 5-ти дневные проростки Allium stipitatum Regel, 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 стебельчатого 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 лук стебельчатого всхожесть семян составила 46%. Вероятно, это связано с тем, что 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 стебельчатого 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 победный – 26% (табл. 3).

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

Вид растений	Посев, количество семян, шт.	Всхожесть, %	
	13.12	19.12	31.12
Лук стебельчатый (*Allium stipitatum* Regel)	10	33	46
Лук желтеющий (*Allium flavescens* Besser)	10	93	93
Лук победный (*Allium victorialis* L.)	10	0	26
Лук высочайший *(Allium altissium* Regel*)*	0	0	0
Лук трубчатый (*Allium fistulosum* L.*)*	0	0	0

Семена лука высочайшего и лука, поникающего не дали всхожести, для них необходимо подобрать другие условия преодоления покоя.

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

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*. В течении двух недель наблюдался рост, а затем все образцы были уничтожены грибковой болезнью.

Рисунок 14. Проросток Allium flavescens Besser

Данный результат свидетельствует о том, что при пересаживании семян на питательную среду были занесены бактерии и был выбран неверный метод стерилизации.

После заражения мы повторно пересадили культуру изменив метод стерилизации. В течении нескольких недель наблюдался рост, а затем начала появляться грибковая инфекция.

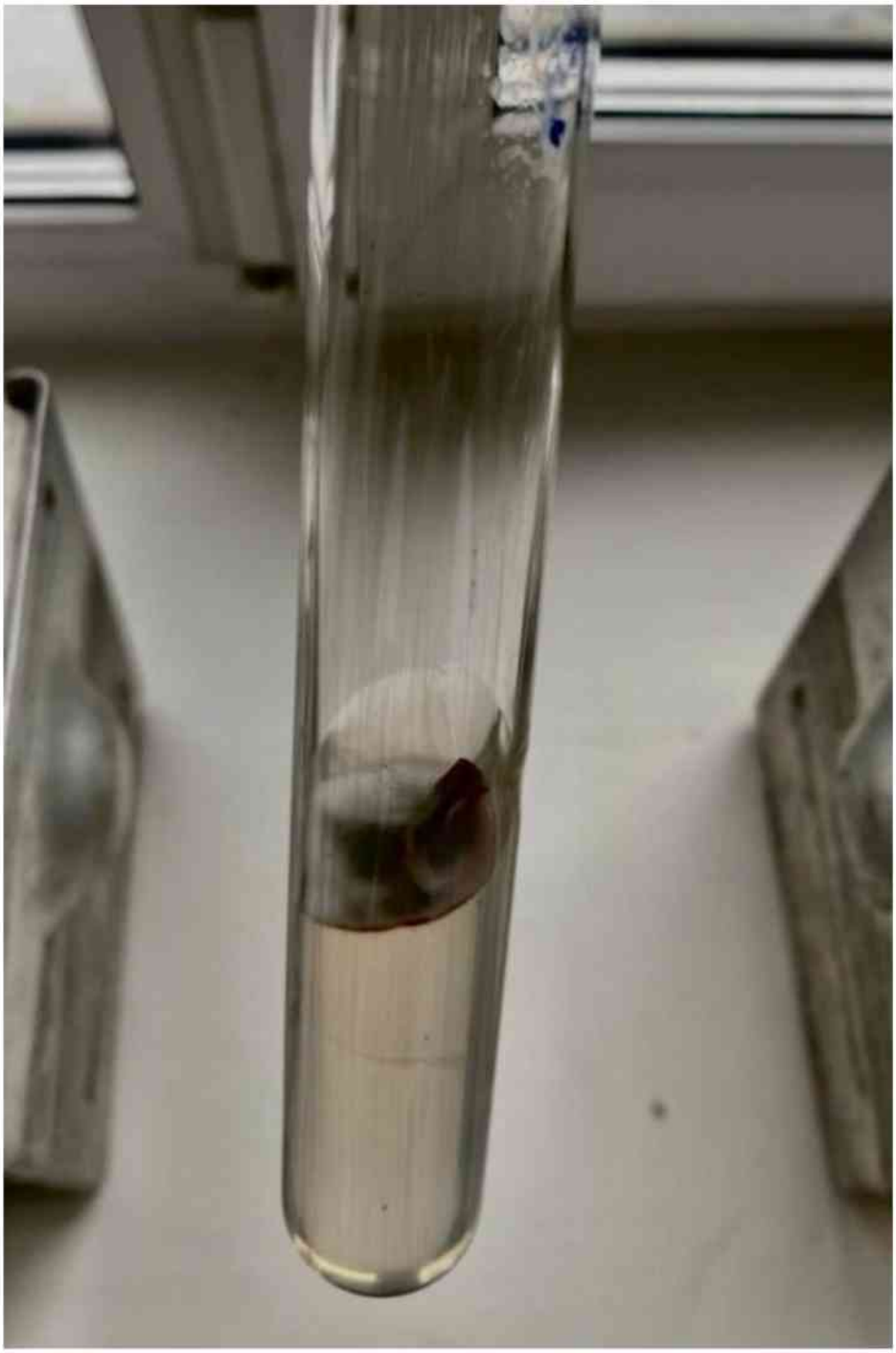

Рисунок 15. Семя лука, пораженное грибковой инфекцией

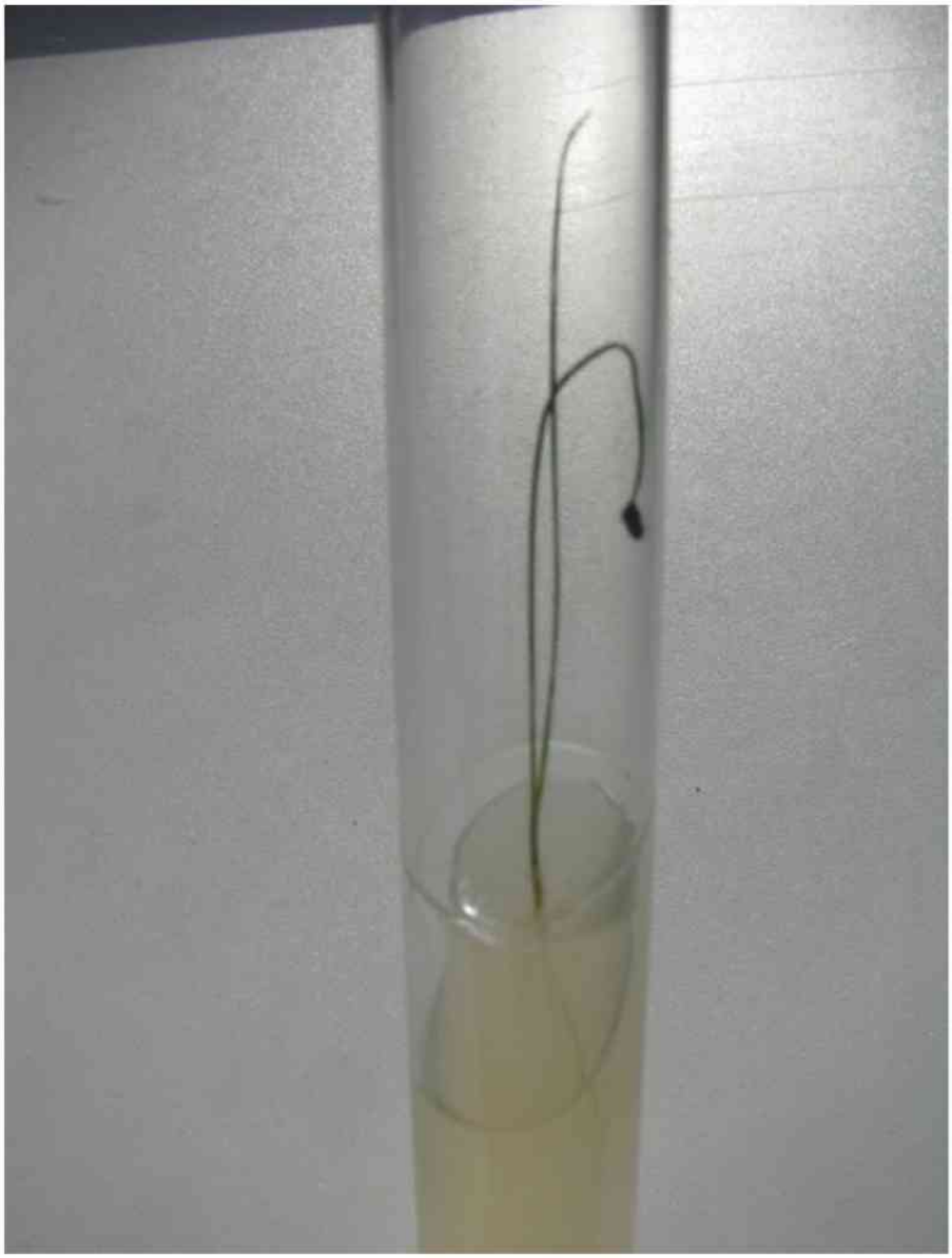

Рисунок 16. Ювенильное растение Allium flavescens Besser в возрасте 30 дней. Виден хорошо сформированный первый лист и отмирающий семядольный лист

После не удачных попыток, мы еще раз простерилизовали проростки, выдержали их в дезинфицирующих растворах, промыли дистиллированной водой и в стерильных условиях пересадили в культуру *in vitro.*

Рисунок 17. Ювенильное растение Allium flavescent sBesser в возрасте 60 дней. Видны два настоящих листа и засохший семядольный лист

Через 10 дней начал проявляться проросток, состоящий из первичного корня, гипокотиля и семядоли. У основания была видна зародышевая почка. Через 15 дней появился листочек и 2 придаточных корня, это говорит нам о том, что проросток перешел в ювенильное состояние.

Лук желтеющий переходит в ювенильное состояние в возрасте 20 дней. Переход растения в ювенильное состояние характеризуется наличи-

ем розеточного побега с 3-4 листочками, корневой системой, которая состоит из 7-10 придаточных корней. Луковица еще не образуется, так как основания листьев еще не утолщены [9].

Переход растений в имматурное состояние т.е., когда у растения отсутствуют семядольные листья, теряется связь с семенем, происходит отмирание ювенильного листа и растение начинает активно учувствовать в круговороте веществ, в природных условиях наблюдается в возрасте 4-5 лет. Для установления максимально возможного времени культивирования, мы оставили растение в культуре *in vitro*.

После проведения исследований, можно сделать вывод о том, что была разработана схема стерилизации семян, введения растений лука в культуру *in vitro*, установлены особенности прорастания семян разных видов луков, изучены начальные этапы онтогенеза.

3.2 Особенности культивирования в условиях *in vitro* некоторых видов рода *Allium* L. (2015-2016 гг)

Работа с растениями лука проводятся на кафедре «Общая биология и биохимия» начиная с 2015 года. Мы провели сравнительный анализ данных, полученных в 2015-2016 годах с данными, которые мы получили в 2021-2022 годах.

В качестве объектов исследования были взяты следующие виды луков: Лук алтайский – *Allium altaicum* Pall.; Лук беловатый – *Allium albidum* Fisch. ex M. Bieb.; Лук косой – *Allium obliquum* L.

Таблица 4 – Всхожесть семян разных видов луков (M ± m, n=3)

Вид растений	26.01.15 – посев, количество семян, шт.	29.01.15 – всхожесть, %	31.01.15 – всхожесть, %
Лук косой (*Allium obliquum* L.)	15	33,3±1,7	46,7±2,3
Лук алтайский (*Allium altaicum* Pall.)	15	93,3±4,7	93,3±4,7
Лук беловатый (*Allium albidum* Fisch. ex M. Bieb.)	15	0,0±0,0	26,7±1,3

Для культивирования растений использовали питательную среду B5 Gamborg, так как приживаемость растений в данной среде выше, чем в среде Murashige Skoog. Исследования показали, что для луковичных растений больше подходят полужидкие питательные среды, так как культивирование проводилось при естественном освещении. Если использовать плотные питательные среды, то при естественном освещении и комнатной температуре они начинают подсыхать, что негативно сказывается на развитии и росте растения.

Из всех исследуемых семян, наиболее высокую всхожесть показал лук алтайский. У лука косого и беловатого всхожесть была меньше 50%, это связано с тем, что у семян данных видов существует неглубокий физиологический покой всхожесть наблюдается на второй и третий год хранения. Исследуемые нами виды: лук стебельчатый, лук победный, лук высочайший и лук поникающий, так же показали низкую всхожесть. Можно сделать вывод о том, что для семян луковичных растений характерно состояние покоя, поэтому даже при благоприятных условиях и сразу после созревания, они могут иметь низкую всхожесть. В природных условиях прорастание семян занимает несколько лет. Скорость прорастания характеризуется наличием оптимальной температуры, увлажненности почвы, достаточным количеством кислорода. Способность семян впадать в состо-

яние покоя выработалось в процессе эволюции, как защитная реакция на неблагоприятные условия окружающей среды.

Проанализировав прорастание семян, мы сделали вывод о том, что у каждого вида свои особенности.

Лук беловатый переходит в ювенильное состояние в возрасте 50 дней. В данном состоянии появляется первый лист, корневая система состоит из 4-5 придаточных корней. Основания листа утолщены и похожи на луковицу.

Лук косой переходит в ювенильное состояние в возрасте 30 дней. В данном состоянии появляется первый лист, корневая система состоит из 3-4 придаточных корней.

Лук алтайский переходит в ювенильное состояние в возрасте 30 дней. В данном состоянии появляется первый лист и 1-2 придаточных корня, характерно наличие розеточного побега, корневая система состоит из 8-10 придаточных корней. Основания листа не утолщены, луковицы не образуется [17].

Таким образом, для семян каждого вида существуют определенные условия прорастания, переход растения в ювенильное состояние отличается и характеризуется определенными признаками.

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

В настоящее время в школах активно развивается проектная деятельность. Данный вид деятельности является неотъемлемой частью учебного процесса. При выполнении данного вида деятельности у детей формируются навыки участия в различных формах организации учебно-исследовательской и проектной деятельности; возможность применения теоретических знаний на практике; развиваются коммуникативные навыки, навыки планирования и самоконтроля. Научно-исследовательская работа пишется под руководством педагога, который помогает определится с выбором темы и в дальнейшем помогать при выполнении практической части работы. Тема индивидуального проекта должна быть интересна и актуальна для ученика; работа должна быть выполнима [21].

Опыты, эксперименты и исследования, которые проводились в бакалаврской работе можно использовать при подготовке школьников к научно-практической конференции.

Данная работа может осуществляться в несколько этапов:

1) Подготовительный

- определение темы; актуальность; постановка целей и задач.

2) Основной

- изучение литературы по данной теме, расширение и углубление знаний.

- выполнение лабораторных опытов, исследований, наблюдений

- обобщение и анализ результатов

3) Заключительный

- оформление работы

- подготовка к выступлению по данной теме.

Метод микроклонального размножения растений позволяет получить растения со всеми признаками, присущими данному виду, то есть растение будет размножаться обычным способом. Преимуществом данного метода является то, растения не поражаются вирусами, характерна высокая урожайность и получение однородных растений за короткий промежуток времени.

В результате проделанной работы знания учеников становятся более расширенными, развиваются навыки самостоятельной и учебно-познавательной деятельности [14].

Работа «Культивирование растений в условиях *in vitro*» была представлена на Региональном конкурсе исследовательских работ для студентов и учащихся образовательных учреждений. Работа была награждена дипломом победителя 3 степени.

Рисунок 18. Диплом 3 степени, полученный на Региональном конкурсе исследовательских работ для студентов и учащихся образовательных учреждений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе данной работы изучались растения – Луки. Исследования проводились с растениями, которые выращиваются в Пензенском Ботаническом саду им. И. И. Спрыгина.

Объекты исследования – растения из отдела Цветковые (Магнолиофиты, Покрытосеменные) – отдел *Magnoliophyta*. Класс Лилиопсиды (Лилиевые, Однодольные) – класс *Liliopsida*. Порядок Амариллисоцветные – порядок *Amaryllidales*. Семейство Луковые – семейство *Alliaceae*. Род Лук – род *Allium*. Виды: лук стебельчатый *(Allium stipitatum* Regel), лук высочайший (*Allium altissimum* Regel), лук трубчатый (*Allium fistulosum* L.), лук победный (*Allium victorialis* L.), лук желтеющий (*Allium flavescens* Besser) [20].

В ходе написания бакалаврской работы были изучены биологические особенности луков; типы покоя семян; проводились наблюдения за ростом растений их прорастанием.

Основной питательной средой выбрана среда Гамборга, успешно применяемая для размножения луковичных растений. Полужидкие питательные среды удобны тем, что не подсыхают при естественном освещении и комнатной температуре.

Стерилизацию проросших семян растений проводили в септических и асептических условиях. В септических условиях семена поэтапно обрабатывали 0,5%-ным раствором марганцевокислого калия и 1%-ным раствором медного купороса по 15 минут для освобождения от бактериальных и грибковых инфекций. Затем в стерильных условиях обрабатывали следующими дезинфицирующими растворами: 70% раствором этанола и перекисью водорода по 1 мин. После выдерживания в дезинфицирующих растворах семена несколько раз промывали дистиллированной водой.

Для стерилизации проростков применяли следующую схему: стерилизация 1% раствором «Жавель-клейд», содержащим натриевую соль ди-

хлоризоциануровой кислоты; трехпроцентным раствором пероксида водорода в течении 15 минут после чего промывали в течение стерильной дистиллированной водой три раза.

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

Высокую всхожесть семян была у лука стебельчатого, она составляет 93%. Самую низкую всхожесть показал лук победный – 26%.

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

1. Правильная стерилизация семян
2. Правильно подобранная и подготовленная питательная среда.
3. Внешние условиях, необходимые для прорастания растения.
4. Соблюдение стерильности.

При написании бакалаврской работы были изучены особенности видового разнообразия рода *Allium*, особенности культивирования выбранного рода в условиях «*in vitro*» и выяснена 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. 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. 41-51 с.

3. Васильева М.З. Методика преподавания биологии: учебно- методический комплект (для студентов, обучающихся по специальности «Биология»). Горно-Алтайск: РИО ГАГУ, 2008. 138 с.

4. Викторов Д.П. Практикум по физиологии растений. Воронеж: ВГУ, 1991. 160 с.

5. Генкель П.А. Физиология растений. Физиология растений. Учебное пособие по факультативному курсу. Для 9 класса. Москва: Просвещение, 1970. 175 с.

6. Гольд В.М., Гаевский Н.А., Голованова Т.И. Электронный учебно-методический комплекс «Физиология растений». Красноярск: ИПК СФУ, 2008. 148 с.

7. Грязнов В.П., Сиротина Л.В. Практикум по физиологии растений. Белгород: БелГУ, 2000. 68 с.

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

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

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

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

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

13. Родионенко Г.И. Род Allium – *Allium*. Л.: Изд-во Академии наук СССР, 1961. 215 с.

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

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

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

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

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

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

20. Ботанический сад [Офиц. сайт]. URL: https://botsad.pnzgu.ru. (Дата обращения: 10.10.2023).

21. 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).