

**федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Мичуринский государственный аграрный университет»**



**Тьюторское сопровождение исследовательской и проектной
деятельности по биотехнологии в рамках сетевого сотрудничества в
диаде «Школа-Вуз»**

**Папихин Роман Валериевич,
кандидат сельскохозяйственных наук**



Тьюторское сопровождение исследовательской и проектной деятельности по биотехнологии

необходимый материал для проведения лабораторных работ школах

работа с учителями биологии школ города

просветительские лекции в рамках внеурочной работы

экскурсии в Центр развития современных компетенций детей

экскурсии в лаборатории университета



Образовательная программа в Центре развития современных компетенций детей

Работа в исследовательской лаборатории

НАУЧНЫЙ ПРОЕКТ



Лаборатория биотехнологии Центра современных компетенций детей





Лаборатория биотехнологии ФГБОУ ВО Мичуринский ГАУ



**Научный центр биотехнологии и
селекции
Учебный корпус №9
ФГБОУ ВО Мичуринский ГАУ**



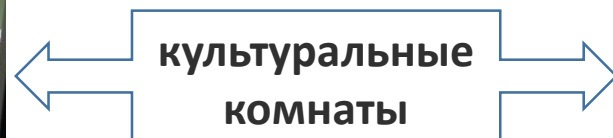
ультразвуковая



операционная



**комната приготовления
питательных сред**



Тепличный комплекс ФГБОУ ВО Мичуринский ГАУ



ПРИМЕРНАЯ СТРУКТУРА ПРОЕКТА

1. Введение

2. Цель и задачи исследования

3. Объекты и методы исследования

4. Результаты исследования

5. Выводы/Заключение

6. Список литературы



ТРЕБОВАНИЯ К СОДЕРЖАНИЮ РАБОТЫ

Оригинальность работы

(оригинальность работы должна составлять более 70%)

Этичность

(работа не должна нарушать морально-этические нормы и носить провокационный характер)

Научность (полученные результаты не должны противоречить основополагающим законам природы)

Соответствие требованиям оформления (наличие проекта, презентации, их соответствие теме и поставленной цели и задачам)



КРИТЕРИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ РАБОТ

1. Целеполагание
2. Анализ области исследования
3. Методики исследовательской деятельности
4. Качество результата
5. Самостоятельность, индивидуальный вклад в исследование
6. Качество доклада



Сирень - род кустарников, который насчитывает около 27 диких видов цветущих древесных растения семейства Oleaceae, аборигенные виды произрастают в лесах с юго-востока Европы до Восточной Азии и обычно культивируется в умеренном климате.



Сирень обычно размножается вегетативными методами, такими как прививка на подвой, отводками и черенками.

Метод клонального микроразмножения растений является на данный момент времени наиболее перспективным методом размножения растений, решающим широкий спектр задач.



ЦЕНТРЫ ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ ПРИ ВУЗАХ

Целью исследований являлось повышение эффективности клонального микроразмножения гибридов сирени посредством оптимизации углеводного питания.

Задачи исследования:

- выявить наиболее эффективный источник углевода на этапе микроразмножения гибридов сирени;
- определить влияние концентрации сахарозы и глюкозы в питательной среде на способность к пролиферации эксплантов сирени.



Объекты и методы исследования

Биологическими объектами исследования
служили гибриды сирени
Примроуз x Сенсация.



Работа выполнена на базе
Центра развития современных
компетенций детей
ФГБОУ ВО Мичуринский ГАУ
и лаборатории биотехнологии
ФГБОУ ВО Мичуринский ГАУ.



Характеристика родительских форм.

1. Сорт сирени Примроуз (Голандия) получен в 1949 года.

2. Главной характеристикой являются цветки с оригинальной жёлтой окраской, которая может доходить до лимонной, в зависимости от места произрастания (освещение, тип почвы).

3. Данный сорт обладает высокой устойчивостью к негативным абиотическим и биотическим факторам среды.

4. Сирень Примроуз обладает высокой морозостойкостью до -40°C и устойчивостью к характерным для рода *Syringa* заболеваниям и вредителям.



Характеристика родительских форм

1. Сирень Сенсация получена в результате мутагенеза сорта Гуго де Фриз селекционером из Голландии Д.Е. Маарс в 1938 году.

2. Сорт сирени Сенсация обладает хорошей устойчивостью к негативным абиотическим и биотическим факторам среды.

3. Сорт «Сенсация» обладает оригинальной окраской цветков. При общей фиолетовой окраске окантовка лепестков имеет белый цвет.



Объекты и методы проведения исследований

Место проведения исследований

Центр развития современных компетенций детей
Лаборатория биотехнологии ФГБОУ ВО Мичуринский ГАУ



учебные классы



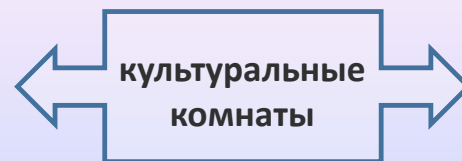
ультразвуковая



операционная



комната приготовления
питательных сред



Микрорастения культивировали на среде MS (Murashige, Skoog, 1962)

Для оценки влияния различных источников углерода на способность данных генотипов к образованию побегов, верхние части микропобегов одинакового размера (25 мм) были перенесены на среды с разными концентрациями сахарозы и глюкозы: 10; 20; 30; 40; 50 г/л.

Ph среды довели до 5,8 перед автоклавированием при 121°C в течение 15 минут. Эксперимент был проведён в 3-х кратной повторности. Данные регистрировали через 4 недели по общему количеству побегов на пролиферирующий эксплантат, длине побегов (см) и свежей массе (мг) побегов.



Состав среды Мурасиге и Скуга (MS)

Группа веществ	Вещество	Концентрация, мг/л	Навеска в-ва на заданный объем маточного р-ра, мг		Объем маточного р-ра на 1 л среды, мл
Макроэлементы	NH ₄ NO ₃	1650	16500	Разводят на 1 л	100
	KNO ₃	1900	19000		
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	3700		
	KH ₂ PO ₄	170	1700		
Источник кальция	CaCl ₂ ·2H ₂ O	440	4400	На 100 мл	10
Микроэлементы	MnSO ₄ ·4H ₂ O	22,3	2230 620 860 25 2,5 2,5 83	Разводят на 1 л	10
	H ₃ BO ₃	6,2			
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,6			
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25			
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025			
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,025			
	KI	0,83			
Хелат железа	FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,8	557	На 100 мл каждый	10
	Na ₂ ЭДТА·2H ₂ O	37,3	745		
Агар		8000	Добавляют в сухом виде		

pH питательной среды в процессе приготовления устанавливали в пределах 5,6-5,8 с помощью децинормального раствора NaOH. Среда стерилизовали автоклавированием (1 атм., 20 мин.). Витамины и регуляторы роста растений стерилизовали фильтрованием и добавляли после автоклавирования (“Millipore” 0,22 µm, France).

Культивирование растений осуществляли в специально оборудованной культуральной комнате при 16-часовом световом дне с освещенностью 2500-3000 люкс (люминесцентные лампы Osram L36W/765 Cool Daylight), температуре воздуха 26±2⁰С и влажности воздуха 50-60%.

Статистическую обработку данных проводили в программной среде Microsoft Excel.

Смесь витаминов по Мурасиге-Скугу (MS)

Вещество	Концентрация, мг/л	Навеска на 50 мл фильтруемого раствора, мг	Объем стерильного раствора на 1 л среды
Тиамин (В ₁)	0,4	20	1
Пиридоксин (В ₆)	0,5	25	
Никотиновая кислота	0,5	25	
Глицин	2	100	
Инозитол	100	Добавляется в сухом виде перед автоклавированием	

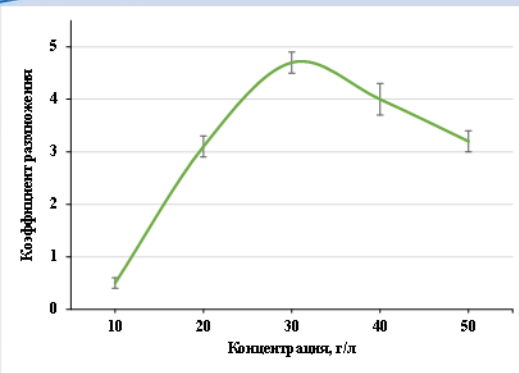


Результаты исследований

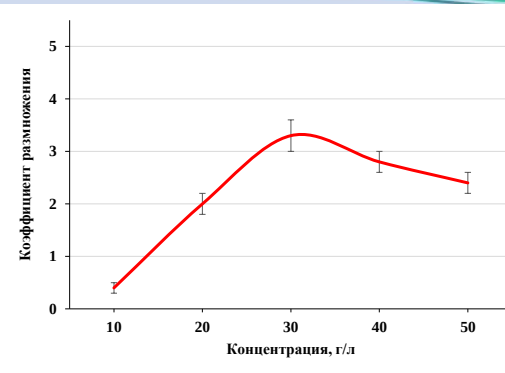
Влияние различных концентраций источников углерода на количество побегов у гибридов сирени

Источник углевода, концентрация (г/л)	Количество побегов, шт/ экплант									
	S1-1	S1-2	S1-3	S1-4	S1-5	S1-6	S1-7	S1-8	Примроуз	Сенсация
Сахароза (10)	1,2±0,1	0,9±0,1	0,4±0,1	2,4±0,2	0,8±0,1	1,1±0,1	0,3±0,1	0,3±0,1	0,5±0,1	0,4±0,1
(20)	3,3±0,2	3,1±0,2	1,8±0,2	2,4±0,2	2,2±0,2	2,9±0,2	1,8±0,2	1,9±0,2	3,1±0,2	2,0±0,2
(30)	4,3±0,2	3,9±0,2	2,8±0,2	3,1±0,2	3,9±0,2	3,5±0,2	2,8±0,2	3,2±0,2	4,7±0,2	3,3±0,2
(40)	3,9±0,2	3,5±0,2	2,6±0,2	3,1±0,2	3,7±0,3	3,6±0,3	2,5±0,2	2,6±0,2	4,0±0,3	2,8±0,2
(50)	3,1±0,2	2,8±0,2	2,4±0,2	1,9±0,1	3,1±0,2	2,2±0,1	2,4±0,2	1,7±0,2	3,2±0,2	2,4±0,2
Глюкоза (10)	0,8±0,1	0,5±0,1	0,3±0,1	1,2±0,1	0,1±0,1	0,9±0,1	0,3±0,1	0,2±0,1	0,6±0,1	0,3±0,1
(20)	2,7±0,2	2,2±0,2	1,5±0,1	1,4±0,1	1,3±0,1	2,8±0,2	1,4±0,2	1,0±0,2	3,2±0,2	1,7±0,1
(30)	3,1±0,2	2,5±0,2	2,6±0,2	1,9±0,2	1,7±0,2	3,6±0,3	2,6±0,2	2,3±0,2	4,3±0,3	2,6±0,2
(40)	3,3±0,2	3,5±0,2	3,8±0,3	1,8±0,1	3,1±0,3	3,5±0,2	2,8±0,2	3,0±0,2	5,3±0,2	3,2±0,2
(50)	2,4±0,2	1,7±0,2	2,2±0,2	1,3±0,1	2,8±0,2	3,0±0,3	2,0±0,2	2,±0,2	3,6±0,2	2,6±0,2

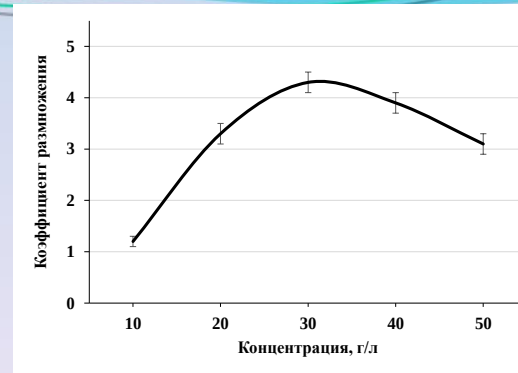
Изменение коэффициента размножения микрорастений сирени в зависимости от концентрации сахара в питательной среде



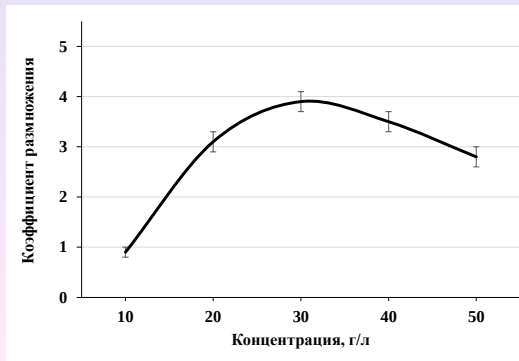
Примроуз



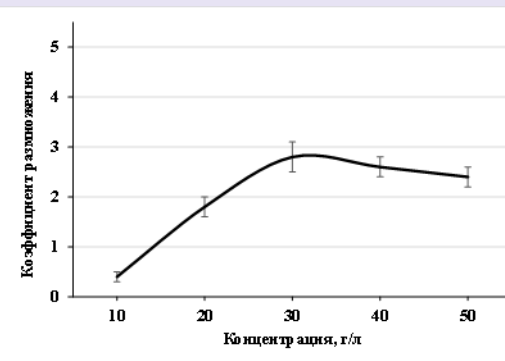
Сенсация



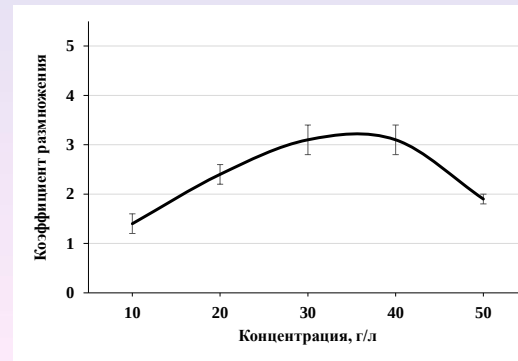
S1-1



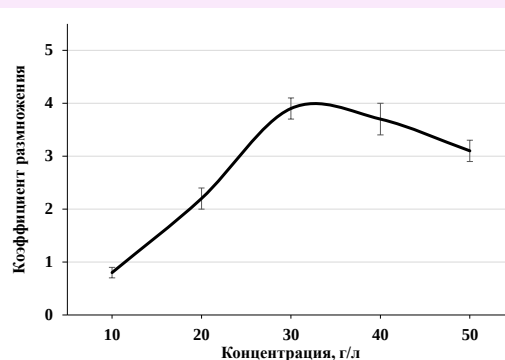
S1-2



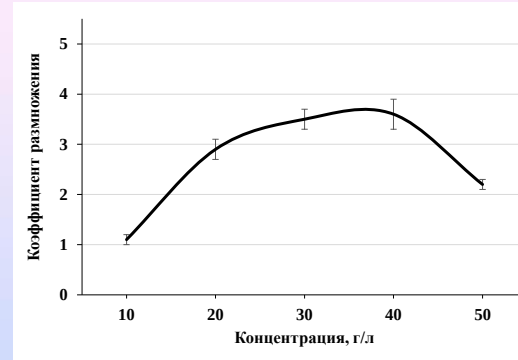
S1-3



S1-4

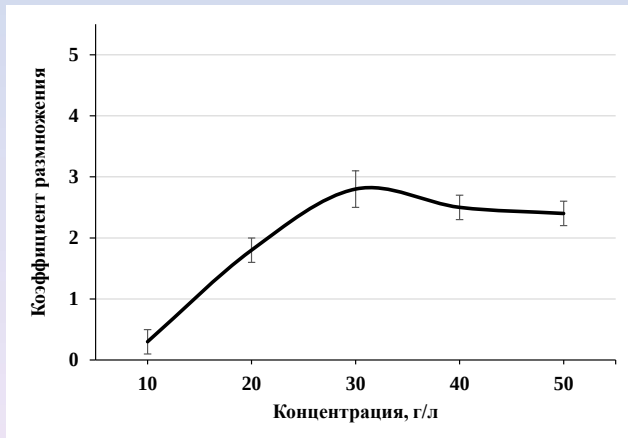


S1-5

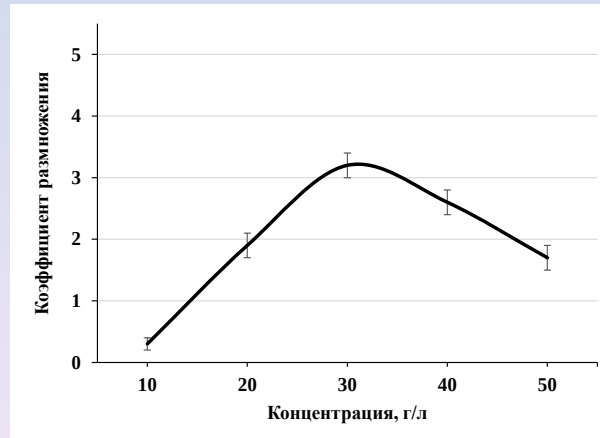


S1-6

Изменение коэффициента размножения микрорастений сирени в зависимости от концентрации сахарозы в питательной среде



S1-7



S1-8

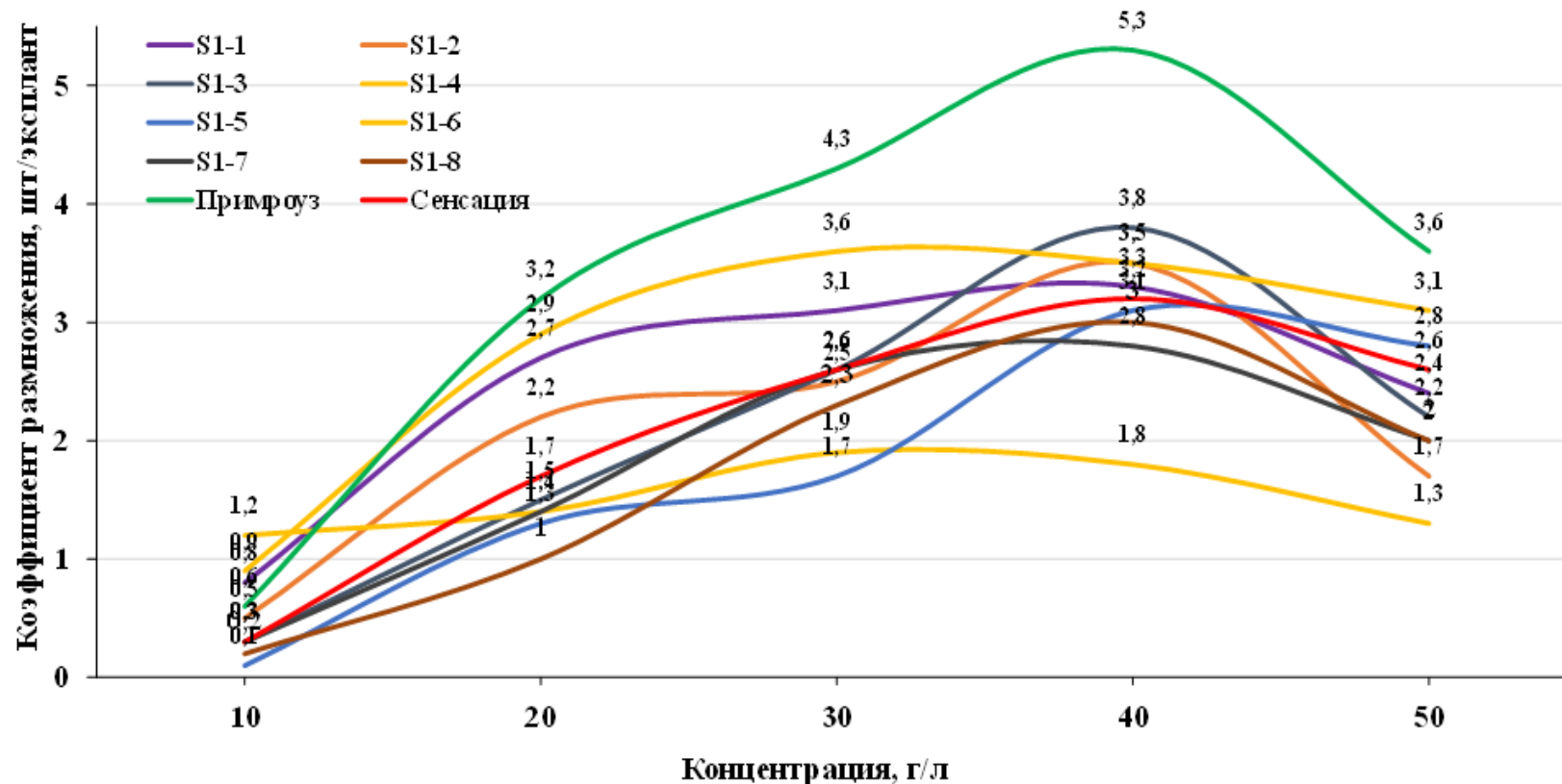
Анализ эффективности микроразмножения гибридов сирени на средах с разными концентрациями глюкозы показал, что коэффициент размножения опытных растений ниже, чем при культивировании на питательной среде с сахарозой

Реакция на изменение концентрации сахарозы в целом одинаковая, а именно, кривая имеет одномодульный характер, но в зависимости от генотипической реакции конкретной формы фаза деградации кривой может иметь более пологий характер.

Это вероятно связано с большей устойчивостью к высоким концентрациям углеводов.



Изменение коэффициента размножения микрорастений сирени в зависимости от концентрации глюкозы в питательной среде



Многие гибриды имеют промежуточные характеристики микроразмножения по сравнению с родительскими формами, что позволяет предположить, что с увеличением этого показателя и доказанными нами фактами улучшения показателей ризогенеза по сравнению с сортом Примроуз, полученные формы будут обладать необходимыми качествами при размножении.

Увеличение концентрации глюкозы до 50 г/л у всех генотипов приводит к снижению пролиферации



а



б



в



г



д



е

Микроразмножение гибридов сирени на среде мурасиге Скуга с 40 г/л глюкозы: а- Сенсация; б - Примроуз; в - S1-1; г - S1-2; д - S1-3; е - S1-6.



а



б



в



г

**Аномалии в развитии эксплантов при культивировании на средах с различной концентрацией углеводов: а – некрозы нижних листьев сирени сорта Сенсация (сахароза 50 г/л);
б – некрозы листьев сирени сорта Примроуз (глюкоза 50 г/л);
в – удлинённые микропобеги S1-7 (сахароза 20 г/л);
г – отсутствие роста с образованием незначительного количества микропобегов (глюкоза 10 г/л).**

Заключение

Таким образом, выделены гибридные генотипы сирени S1-1, S1-2, S1-5, S1-6, обладающие высокой способностью к микроразмножению на питательных средах с сахарозой и глюкозой в качестве источника углеводов.

Оптимальной концентрацией для клонального микроразмножения гибридов сирени служит среда Мурасиге Скуга с 30 г/л сахарозы или 40 г/л глюкозы. Повышение концентрации до 50 г/л сахарозы или глюкозы вызывает некротическую реакцию листовых пластинок и снижает эффективность пролиферации.





Вместе к успеху!

