

УПРАВЛЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ ГОРОДА ПЕНЗЫ
МУНИЦИПАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБЩЕОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ГИМНАЗИЯ № 53» г. ПЕНЗЫ
(МБОУ «Гимназия № 53» г. Пензы)

ул. Попова, 14, г. Пенза, 440046
телефон (8-412) 54-32-03, 54-30-32 E-mail: school53@guoedu.ru
ОКПО 24020409, ОГРН 1025801443568
ИНН/КПП 5837009907/583701001

Исследовательская работа на тему:

**«Особенности культивирования растений в
условиях *in vitro*»**

Автор: Афанасьева Дарья,
Учащаяся 9 класса МБОУ «Гимназия №53»

Научные руководители:
Солдатов С.А. к.б.н., доцент
ФГБОУ ВО «ПЕНЗЕНСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Федичкина В.А.,
учитель биологии МБОУ «Гимназия №53» г. Пензы

2020 г

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	4
1.1 Биотехнология производства культуры клеток, тканей и органов растений.....	4
1.2 Особенности культивирования изолированных клеток и тканей растений.....	5
1.3. Биотехнология микрклонального размножения растений и получения безвирусного посадочного материала.....	10
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	11
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	12
3.1. Исследование на увеличение посевного материала	12
3.2. Изучение физиологических свойств растений	15
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	20
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	22

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Культивирование растительных клеток, тканей и органов в *in vitro* к настоящему времени превратилось в разветвленную и многоплановую отрасль экспериментальной биологии.

Создание новых высокоурожайных сортов, адаптированных и устойчивых к болезням, вредителям и неблагоприятным факторам среды, связано с возможностями выбора необходимого материала из природной фауны, наиболее важным компонентом, которой для этих целей являются дикие родичи культурных растений.

В решение этих проблем биотехнология вносит большой вклад. Поэтому применение методов биотехнологии является одним из важнейших факторов повышения урожайности сельскохозяйственных культур.

Прогресс в области современной биотехнологии растений непосредственно связан с разработкой методических приемов культивирования клеток *in vitro*. Актуальными являются правильность выбора сортов, разработка оптимальной технологии для проращивания растений.

Цель исследовательской работы: «Изучить задачи, решаемые данным методом и особенности культивирования огурцов, шпината и картофеля в условиях *in vitro*».

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. освоить метод культивирования растений в условиях *in vitro*;
2. получить молодые растения шпината, огурца и картофеля в условиях *in vitro*;
3. подобрать оптимальные условия стерилизации эксплантов для данных культур растений;
4. подобрать оптимальные условия для введения в культуру *in vitro*.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Биотехнология производства культуры клеток, тканей и органов растений

В настоящее время биотехнология является одним из важных направлений научно-технического прогресса. На основе современных достижений в области биологических и технических наук, генетической и клеточной инженерии можно использовать потенциальные возможности целенаправленно созданных живых систем, в частности растений, для повышения жизненного уровня людей [1].

Биотехнология – это использование живых систем, клеток, организмов для практических нужд человека.

Современная биотехнология – это наука и отрасль производства, развивающаяся в трех основных направлениях:

- 1) молекулярная биология и генетическая инженерия;
- 2) микробиология и микробиологическая промышленность;
- 3) культура клеток и тканей *in vitro*.

Современная биотехнология охватывает широкий круг методов, отраслей и задач, объединенных в несколько крупнейших блоков. В частности, в растениеводстве 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.

Выращивание изолированных клеток и тканей на искусственных питательных средах (*in vitro*) в стерильных условиях получило название метода культуры изолированных тканей [4].

Набор объектов растительного происхождения, которые можно перевести в культуру *in vitro*, достаточно широк. Как правило, большинство исследований проводится с изолированными фрагментами разных органов, тканей и клеток семенных растений.

Метод культуры клеток и тканей растений в настоящее время широко используется для решения ряда теоретических и практических задач биологии.

Клетки растений *in vitro* являются удобной моделью для изучения многих физиолого-биохимических процессов и генетики растительного организма. В настоящее время исследование процессов жизнедеятельности на клеточном и молекулярном уровнях позволили создать необходимые предпосылки возникновения и быстрого развития современной биотехнологии.[2]

1.2 Особенности культивирования изолированных клеток и тканей растений

Изолированные ткани и клетки растений могут успешно расти только при отсутствии конкуренции с микроорганизмами. Все работы по культивированию растительных объектов необходимо производить в асептических условиях.

Изолированные фрагменты растения (экспланты), помещаемые на питательную среду, легко поражаются микроорганизмами, поэтому их также необходимо стерилизовать.

В настоящее время изолированные клетки и ткани культивируют на многокомпонентных питательных средах, которые отличаются по своему составу в зависимости от вида культуры. В состав всех питательных сред обязательно входят необходимые растению макроэлементы. Отсутствие в питательной среде микроэлементов уже в первом пассаже (пересадке) может уменьшить интенсивность роста тканей на 30-40 %, а при последующих –

гибель тканей. В зависимости от вида изолированной культуры могут в небольших количествах использоваться: железо, бор, цинк, марганец, медь, алюминий, никель, йод и др.. [6]

Для успешного роста культур необходимы также источники углерода, поскольку даже зеленеющие, выращиваемые на свету ткани неаутоотрофны. Лучшим источником углеводного питания, является сахароза, используемая обычно в концентрации 2-5 %. Реже используется глюкоза или другие сахара.

Большинство тканей, культивируемых *in vitro*, способны к синтезу всех нужных для их жизнедеятельности витаминов, если все питательные элементы присутствуют в средах. Однако большинство культур синтезируют витамины в субминимальных количествах, поэтому дополнительное внесение витаминов в среду также способствует росту клеток, особенно это относится к витаминам группы В. Чаще используют витамины В1, В2, В3, а также кальция пантотенат, биотин, кислоты: аскорбиновую, никотиновую, фолиевую.

Составление питательной среды начинают с приготовления концентрированных (маточных) растворов. Использование маточных растворов снижает погрешности при взвешивании компонентов солей (сравните, взвешивание 1 г и 1 мг). К тому же это удобно – не нужно каждый раз взвешивать соли. Использовать менее концентрированные растворы солей также не целесообразно из-за повышенной вероятности их заражения микроорганизмами.

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 ₄ NO ₃	33
3.	KH ₂ PO ₄	3,4
4.	MgSO ₄ · 7H ₂ O или MgSO ₄ безводный	7,4 3,6
5.	CaCl ₂ · 2H ₂ O или CaCl ₂ безводный	8,8 6,65

Маточный раствор микросолей (мг на 100 мл маточного раствора)		
6.	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	25
7.	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	2,5
8.	H_3BO_3	620
9.	$\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ или $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2410 2230
10.	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	860
11.	KJ	83
12.	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	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-НСl	0,1 мг/л
Пиридоксин-НСl	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	

Компоненты среды для выращивания растительных клеток и тканей можно разделить на 7 основных групп, что обычно отражает порядок приготовления концентрированных маточных растворов: макроэлементы, микроэлементы, источники железа, хлорид кальция, витамины, источники углерода, фитогормоны. Хранят растворы в отдельных колбах в холодильнике. Делается это для того, чтобы при взаимодействии солей друг с другом не происходило образование осадка.

Последовательность приготовления питательной среды.

Растворить в 400 мл дистиллированной воды сахара, сухие компоненты питательной смеси (за исключением агар-агара). Добавить к раствору сахарозы 50 мл маточного раствора макросолей, 1 мл микросолей, 5 мл хеллата железа, 50 мл хлористого кальция, витамины и фитогормоны (ауксины).

Необходимую навеску агар-агара растворить в 300 мл холодной дистиллированной воды и оставить на 15 минут, затем нагреть на плитке при постоянном помешивании до полного растворения агар-агара. Готовый агар-агар долить к раствору солей.

Питательную среду довести до нужного объема (1 л) дистиллированной водой. Измерить рН среды: если рН превышает 5,5-6,0 добавить несколько капель 0,1 н HCl, если ниже этого значения – 0,1 н NaOH.

Готовую среду разливают в горячем виде по пробиркам или колбам. Колбы или пробирки закрывают ватными пробками, накрывают целлофаном и затягивают резинкой. Можно закрывать плотной фольгой вместо пробок. Если нет целлофана, то перед автоклавированием пробирки или колбы закрываются сверху крафтовой бумагой.

Автоклавированную среду, содержащую ауксины, лучше использовать сразу; если среду необходимо хранить продолжительное время, её помещают в холодильник при 2-4°C. Некоторые фитогормоны, например гибберелловую кислоту и зеатин, а также аминокислоты автоклавировать нельзя по причине их термолабильности. В таких случаях среду готовят без этих веществ, автоклавируют, охлаждают до 50°C, в стерильных условиях добавляют термолабильный компонент, пропущенный через бактерицидный фильтр с размером пор 0,22 мкм, разливают по пробиркам и колбам.

Таблица 3 – Модифицированная питательная среда Мурасиге-Скуга для культивирования шпината и огурцов

Компоненты питательной среды

Маточный раствор макросолей	50 мл/л
Маточный раствор микросолей	1 мл/л
Fe-хеллат	5 мл/л
CaCl ₂	50 мл/л
Тиамин-НСl	1 мг/л
Пиридоксин-НСl	1 мг/л
Витамин В ₁₂	0,015 мг/л
Фолиевая кислота	0,5 мг/л
Мезоинозит	100 мг/л
Гидролизат казеина	1 г/л
Аденин	40 мг/л
Пантотенат Са	10 мг/л
Рибофлавин	0,5 мг/л
ГК	2 мг/л
Кинетин	0,5 мг/л
Сахароза	20 г/л
Глюкоза	20 г/л
Агар-агар	7 г/л
рН 5,7-5,8	

На рост и развитие растительных тканей и клеток *in vitro* большое влияние оказывают физические факторы: свет, температура, аэрация, влажность воздуха.

В некоторых случаях свет может использоваться как фактор, обеспечивающий морфогенез или активизирующий процесс синтеза биологически активных веществ. Для освещения чаще используют люминесцентные лампы с интенсивностью светового потока 1000-1500 люкс. Оптимальная температура для успешного роста большинства культур составляет 25-27 °С, для индукции их морфогенеза требуются более низкие

температуры (18-25 °С). Влажность в помещении, где растут культуры, должна составлять 60-70 %.

Таким образом, чтобы вырастить растение в культуре *in vitro* необходимо:

- знать методы стерилизации семян и эксплантов;
- правильно приготовить питательную среду *in vitro*;
- подобрать условия для выращивания растений (свет, температуру).

1.3. Биотехнология микрклонального размножения растений и получения безвирусного посадочного материала

Термином «микрклонального размножения» называют массовое бесполое размножение растений *in vitro*, при котором полученные особи растений генетически идентичны исходному экземпляру.

Микрклональное размножение – получение *in vitro*, неполовым путем, генетически идентичных исходному экземпляру растений.

Существует несколько моделей микрклонального размножения, каждая из них имеет свои преимущества и недостатки:

а) индукция развития адвентивных побегов непосредственно из ткани экспланта; метод является очень эффективным, все признаки размножаемого образца полностью сохраняются;

б) развитие пазушных побегов; основано на снятии апикального доминирования, считается, что метод имеет минимальную степень риска для получения однородного потомства;

в) получение каллусной ткани с последующей индукцией органогенеза, теоретически этот метод наиболее перспективен с точки зрения коэффициента размножения, однако, в процессе дедифференциации появляется риск получить вегетативное потомство с вменными формами, поэтому рекомендуется избегать длительной каллусной культуры и вести обязательный цитологический контроль растений-регенерантов.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Шпинат – однолетнее растение семейства маревых. В фазе хозяйственной годности образует прикорневую розетку листьев, а затем прямостоячий стебель высотой 50-90 см.

Это холодостойкое растение: семена прорастают при температуре 4 °С, всходы и взрослые растения выдерживают заморозки до 6 °С. Оптимальная температура для роста и развития шпината 15 °С. Потребительская зрелость наступает через 30-45 дней после появления всходов. Шпинат ценен прежде всего тем, что служит источником незаменимых аминокислот и многих витаминов.

Шпинат можно высевать до 3-4 раз за лето.

Объекты исследования – огурец сорта «Кустовой».

Его компактность позволяет собрать отличные урожаи даже на самых маленьких участках. Особого ухода растение не требует, также оно хорошо растет практически в любой почве.

Огурец сорта «Кустовой» является раннеспелым сортом. Период от появления первых побегов до начала плодоношения составляет 46-47 дней.[6]

Официальное описание показывает, что кустовые огурцы отличаются необычным для этого растения строением побегов. Плети их сильно укорочены и не вырастают длиннее 50 см. Кустовой огурец можно собирать уже в начале июня, а к середине месяца он полностью входит в период плодоношения. [5]

Объект исследования – картофель сорта: «Батя». Данный сорт картофеля районирован в условиях Пензенской области.

Сорт «Батя» относится к группе среднеспелых сортов. Вегетационный период составляет 110-130 дней, товарный урожай формируется через 80-100 дней.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Исследование на увеличение посевного материала

В качестве исходного материала для введения растений картофеля в условия *in vitro* использовали апексы почек.

Стерилизацию эксплантов (верхушечные почки) проводили в септических и асептических условиях. Изначально была проведена поверхностная стерилизация. Предварительно часть растения, из которой был извлечен эксплант, обрабатывали раствором синтетического моющего средства для удаления поверхностных загрязнений, затем промывали в проточной воде. Верхние кроющие листья удалялись.

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

Перед проведением работы необходимо было обработать поверхности ламинара 96 % спиртом, простерилизованные инструменты, материалы, растительный материал помещаются на стол бокса и перед работой включается ультрафиолетовое излучение и биофильтры на 1 час 45 минут. Для работы в ламинар-боксе надевается стерильный халат, руки обрабатываются 96 % спиртом или 0,05 % раствором хлоргексидина биглюконата. Пинцеты, скальпели и препарировальные иглы, микробиологические петли и лезвия помещались в стакан с 96 % спиртом. Перед каждой манипуляцией инструменты обжигались на пламени спиртовки и остужались.

Стерилизовали растительный материал по следующей схеме: 0,5 % KMnO_4 (15 минут) → 1 % CuSO_4 (15 минут) → 70 % этанол (1 минута) → H_2O_2 (1 минута) → многократная промывка стерильной дистиллированной водой (зараженность составила 15 %).

Проращивали клубни растений на свету. Это тормозит рост столонов и индуцирует распускание почек, образование придаточных корней. Срезали

почку и часть растительной ткани с зачатками придаточных корней. Проводили стерилизацию экспланта по предложенной схеме и высаживали его на питательную среду в чашки Петри.

Через 3-5 дней (время достаточное, чтобы выявить бактериальную или грибковую инфекцию) отбирали незараженные проростки и пересаживали их. При данном методе введения растений в культуру *in vitro* число зараженных растений возрастало (до 25 %), но зато резко сокращалось время получения пробирочных растений. Уже на 2-3 день корни растений трогались в рост и к 7-ми дневному возрасту, их длина могла достигать 20-30 мм. На 5 день начинала распускаться почка и разворачиваться листочки. К 15 дню у растений было по 6-7 придаточных корней, появлялись боковые корни первого порядка. Высота растений составляла 25-40 мм. Побег состоял из 6-7 междоузлий. Такие растения уже можно использовать для микрочеренкования.



Рисунок 2. Растения картофеля сорта «Батя» в возрасте 7 дней.

Растения, сформировавшие 5-6 листочков, в стерильных условиях извлекали из пробирок и разрезали на части (отрезок стебля с листом и

пазушной почкой). Черенки высаживали на глубину междоузлия в питательную среду. На 3-4 день после посадки начинался рост стеблей.

Если почки или черенки высадить на питательные среды с высоким содержанием цитокининов (класс гормонов, которые, стимулируют деление клеток), то образуется конгломерат почек и побегов. Полученные побеги легко отделяются друг от друга, их можно либо укоренить, либо использовать для дальнейшего микрочеренкования.



Рисунок 3. Растения картофеля сорта «Батя» в возрасте 12 дней

Таким образом, представленная технология ускорения размножения *in vitro* высококачественного посадочного материала картофеля способствует улучшению количественно-качественных параметров относительно существующих традиционных способов размножения и имеет ряд преимуществ:

- высокий коэффициент размножения;
- сокращение сроков размножения сортов по сравнению с традиционными методами;
- возможность производить посадку в любое время года и др..

3.2. Изучение физиологических свойств растений

В качестве исходного материала для введения растений в условия *in vitro* использовали семена огурца и шпината. Все манипуляции с семенами и эксплантами (введение в культуру, пересадка на свежую питательную среду) проводились в асептическом помещении (ламинар-боксе) стерильными инструментами.

Основными стерилизующими агентами служили растворы перманганата калия 1 %, перекиси водорода 3 % и этилового спирта 70 %.

Для снижения повреждающего эффекта этилового спирта на семена и растительные экспланты стоит довести концентрацию до 70 %.

Была выбрана следующая схема стерилизации семян шпината и огурцов: 1 % раствор $KMnO_4$ (5 минут), 3 % раствор H_2O_2 (5 минут), 70 % раствор этилового спирта (5 минут). Это снизило зараженность до 40-80 %.

Рисунок 4. Стерилизация семян

После выдерживания в дезинфицирующих растворах семена



промывали дистиллированной водой и помещали на чашки Петри.

После стерилизации семена заложили на фильтровальную бумагу, смоченной дистиллированной водой, в чашки Петри.



Рисунок 5. Заложенные семена шпината и огурцов в чашки Петри

Спустя двое суток семена огурцов сорта «Кустовой» проросли, через четверо суток проросли семена шпината сорта «Виктория»

После прорастания семян следует отделить зародыши от семенной кожуры. Эта манипуляция проводилась в ламинар-боксе на стерилизованной чашке Петри.

Перед этим все поверхности ламинара обрабатываются 96 % спиртом, простерилизованные инструменты, материалы, растительный материал помещаются на стол бокса и перед работой включается ультрафиолетовое излучение и биофильтры на 1 час 45 минут. Для работы в ламинар-боксе надевается стерильный халат, руки обрабатываются 96 % спиртом или 0,05 % раствором хлоргексидина биглюконата. Пинцеты, скальпели и препарировальные иглы, микробиологические петли и лезвия помещались в стакан с 96 % спиртом. Перед каждой манипуляцией инструменты обжигались на пламени спиртовки и остужались.

Затем зародыши в стерильных условиях последовательно обрабатывали следующими дезинфицирующими растворами: 1 % раствором перманганата калия и перекисью водорода по 3-5 мин. Далее пересаживали экспланты на питательную среду, которая заранее была разлита по стерильным пробиркам и стерилизована.



Рисунок 6. Заложённые культуры в питательную среду Мурасиге-Скуга

21 ноября 2019 года были простерилизованы семена шпината сорта «Виктория» и огурца сорта «Кустовой» и заложены в чашки Петри.

Проросшие семена в ламинар-боксе очистили от кожуры и 25 ноября 2019 года посадили зародыши в большие пробирки с питательной средой.

Растения росли довольно быстро. Спустя 8 дней после посадки эксплантов средняя высота побега огурца сорта Кустовой составила 44,5 мм. Средняя высота побега шпината сорта Виктория составила 51 мм.

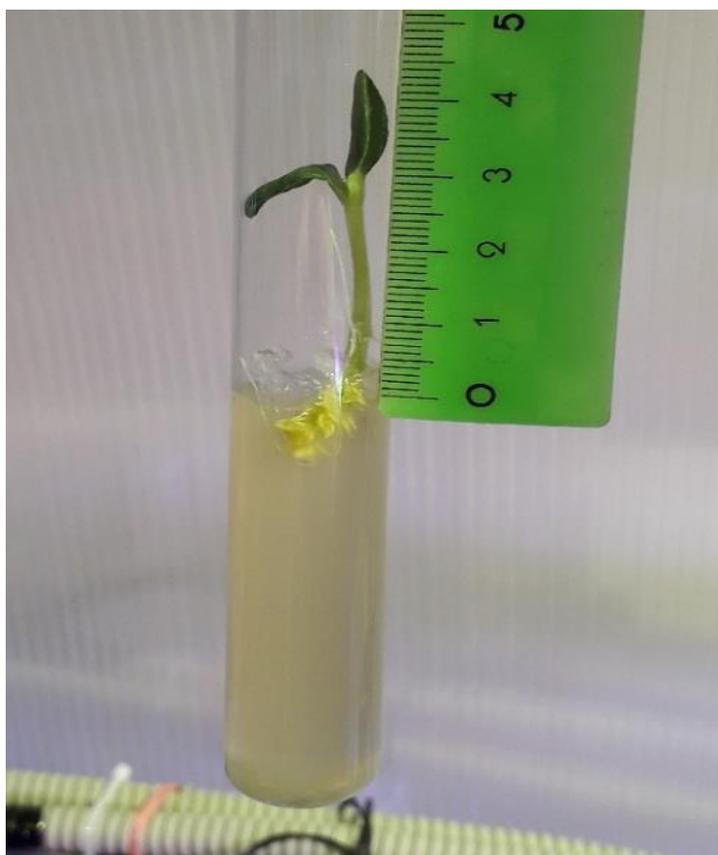


Рисунок 7. Огурец сорт «Кустовой» спустя 8 дней после посадки

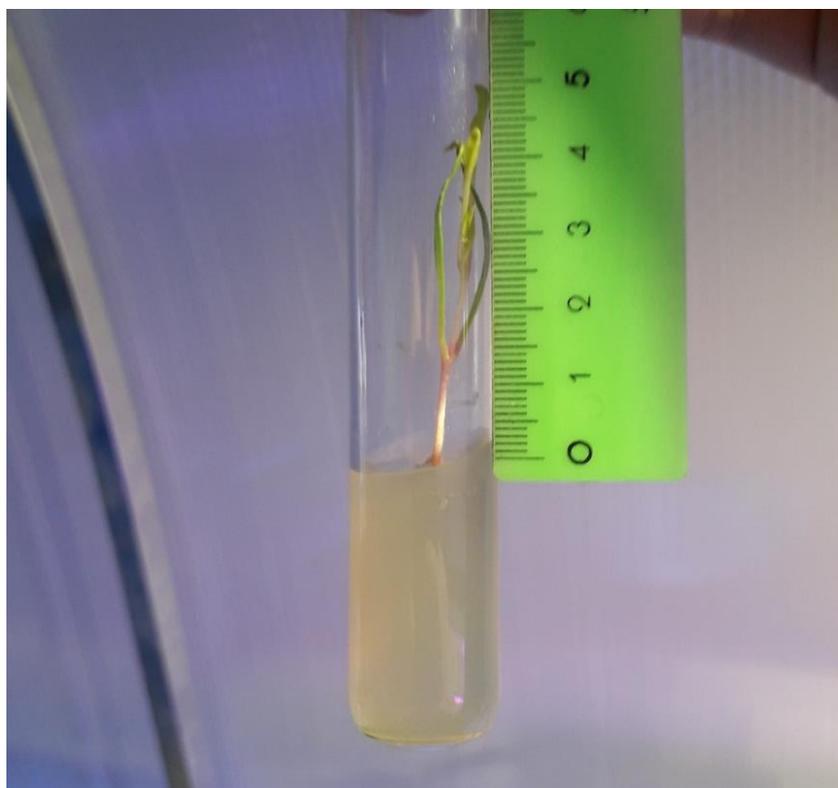


Рисунок 8. Шпинат сорта «Виктория» спустя 8 дней после посадки

В 65 % случаев пробирки со средой не были заражены бактериями или грибной микрофлорой. Но в некоторых пробирках (35 % 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.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По итогам исследовательской работы можно сделать вывод, что цель и задачи, поставленные на 1 этапе работы, достигнуты.

Результатом проведенных исследований стало освоение метода культивирования растений в условиях *in vitro*. Мы подобрали оптимальные условия для введения в культуру эксплантов растений огурцов сорта «Кустовой», шпината сорта «Виктория» и почек картофеля сорта «Батя».

Для проведения физиологических экспериментов приготовили твердую (агаризированную) питательную среду Мурасиге-Скуга. Выращивали растения огурца и шпината в тепличных условиях при разном спектральном освещении. А растение картофеля выращивали на свету, это позволяло тормозить рост столонов и индуцировать распускание почек и образование придаточных корней.

Спустя 8 дней после посадки, средняя высота побега огурца сорта «Кустовой» составила 44,5 мм. Средняя высота побега шпината сорта «Виктория» составила 51 мм.

От пересадки растений из чашки Петри в пробирку до формирования проростков с 6-7 междоузлиями в среднем проходит 15-20 дней.

И так, 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. Использование фитогормонов способны ускорить скорость роста и развития растений.

Таким образом, метод *in vitro* имеет ряд преимуществ перед существующими традиционными способами размножения:

1. получение генетически однородного посадочного материала;

2. освобождение растений от вирусов за счет использования меристемной культуры;
3. высокий коэффициент размножения;
4. сокращение продолжительности селекционного процесса;
5. ускорение перехода растений от ювенильной к репродуктивной фазе развития;
6. размножение растений, трудно размножаемых традиционными способами;
7. возможность проведения работ в течение всего года, а не только в течение вегетационного периода;
8. возможность автоматизации процесса выращивания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бабилова, А. В. Растение как объект биотехнологии / А. В. Бабилова, Т. Ю. Горпенченко, Ю. Н. Журавлев // Комаровские чтения. – 2007. – Вып. LV. – С. 184-211.
2. Бутенко, Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе / Р. Г. Бутенко. – М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. – 160 с.
3. Викторов, Д. П. Практикум по физиологии растений / Д. П. Викторов. – Воронеж: Изд-во ВГУ, 1991. – 160 с.
4. Основы биотехнологии растений. Культура клеток и тканей: Учеб. пособие / Составители: И. К. Сорокина, Н. И. Старичкова, Т. Б. Решетникова, Н. А. Гринь. – Саратов: Изд-во СГУ им.Н. Г. Чернышевского, 2002. – 45 с.
5. Шевелуха, В. С. Сельскохозяйственная биотехнология: Учеб. / В. С. Шевелуха, Е. А. Калашникова, С. В. Дегтярев и др.: Под ред. В. С. Шевелухи. – М.: Высш. шк., 1998. – 416 с.
6. Широков, А. И. Основы биотехнологии растений: Электронное учебно-методическое пособие / А. И. Широков, Л. А. Крюков. – Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2012. – 49 с.
7. Огурец Кустовой. Описание сорта [Офиц. сайт]. URL: <https://ogorodum.ru/ogurec-kustovoj-opisanie-sorta-foto-i-otzyvy.html> (Дата обращения: 25.11.2020)
8. Характеристика и особенности шпината [Офиц. сайт]. URL: <http://gardenweb.ru/shpinat> (Дата обращения 21.11.2020))
9. Шпинат огородный Виктория. Описание [Офиц. сайт]. URL: <https://leplants.ru/spinacia-oleracea-viktoriya/> (Дата обращения: 27.11.2020)

**Рецензия на работу «Особенности культивирования растений в условиях
in vitro»**

**Автор: учащаяся 9 класса МБОУ «Гимназия № 53» г. Пензы
Афанасьева Дарья**

Работа Афанасьевой Дарьи посвящена актуальной теме развития одной из важных отраслей сельского хозяйства овощеводства.

Прогресс в области современной биотехнологии растений непосредственно связан с разработкой методических приемов культивирования клеток *in vitro*. Этим методом получен ряд форм и сортов растений с ценными признаками, которые используются во многих странах мира.

Поэтому целью исследовательской работы было выбрано изучение особенностей культивирования овощных культур в условиях *in vitro*.

Практическая часть была посвящена освоению метода культивирования растений в условиях *in vitro*; определению сорта растений, которые наиболее подходят для выращивания и проведения опытов по культуре клеток и тканей; подбору оптимальных условий для введения в культуру *in vitro*; получению молодых растений, оцениванию их прорастания в условиях *in vitro*.

На мой взгляд, рецензируемая работа является законченной и имеет хорошие перспективы для дальнейшего развития. Несомненно, работа может быть представлена на научно-практической конференции школьников г. Пенза.

Руководитель МО учителей
естественного цикла МБОУ
«Гимназия №53»

Туровцева В.Ю.

Подпись В.Ю.Туровцевой заверяю директор гимназии

Р.В.Наумова

