

14

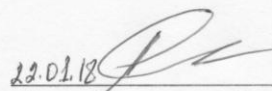
Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра генетики

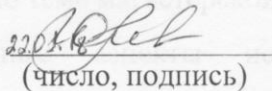
**ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ
НА ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЯХ СТУДЕНТОВ БАКАЛАВРИАТА
АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ**

Студентки 3-го курса 351 группы
Направления подготовки магистратуры
44.04.01 Педагогическое образование
по профилю «Биология и экология в системе общего и профессионального
образования»
биологического факультета
Мартыновой Алены Валерьевны

Научный руководитель:

доктор биол. наук, профессор 22.01.18  А.С. Кашин
(число, подпись)

Заведующий кафедрой:

доктор биол. наук, доцент 22.01.18  О.И. Юдакова
(число, подпись)

Саратов 2018

Введение. Достижения в области культуры клеток и тканей привели к созданию принципиально нового метода вегетативного размножения – клонального микроразмножения. В основе метода лежит уникальная способность растительной клетки под влиянием экзогенных воздействий давать начало целому растительному организму.

Не смотря на то, что в настоящее время существует множество работ, посвящённых микроразмножению редких и исчезающих растений, многие из таких видов не введены в культуру *in vitro*, оставаясь малоизученными или не изученными вовсе в этом отношении.

В частности, в литературных источниках полностью отсутствуют данные о культивировании *in vitro* лапчатки волжской (*Potentilla vulgarica* Juz.) – узколокального кальцефильного эндемика Приволжской возвышенности – вида, находящегося под угрозой исчезновения с категорией редкости «1». Разработка или оптимизация подобного рода технологии клонального микроразмножения *in vitro* растений данного вида несомненно актуальна для сохранения и воспроизводства его популяций в пределах узко локального ареала.

Цель магистерской работы - оптимизировать технологию клонального микроразмножения растений *P. vulgarica* и проанализировать возможности её использования на практических занятиях студентов бакалаврита.

Задачи исследования:

1. проанализировать имеющуюся научную, педагогическую и учебно-методическую литературу по теме магистерской работы;
2. охарактеризовать различные аспекты использования и стадии клонального микроразмножения растений;
3. апробировать метод клонального микроразмножения растений на практических занятиях студентов бакалаврита;
4. проанализировать эффективность использования данного метода.

Объект исследования – учебный процесс по дисциплине «Биотехнология и основы сельского хозяйства».

Предмет исследования – применение метода клонанального микроразмножения на практических занятиях студентов бакалавриата.

Научная новизна. Впервые в культуру *in vitro* введена *Potentilla vulgarica* – эндемичный вид, находящийся под угрозой исчезновения. Определены условия стерилизации семян, минеральный и гормональный состав питательных сред на этапах микроразмножения, укоренения и длительного депонирования. Растения-регенеранты реинтродуцированы в природные условия. С целью выявления эффективности применения метода клонанального микроразмножения на примере *Potentilla* на практических занятиях студентов бакалаврита проведён педагогический эксперимент.

Научная значимость работы. Полученные результаты используются в научно-исследовательской работе в учебно-научном центре «Ботанический сад» СГУ имени Н.Г. Чернышевского. Разработанный протокол клонанального микроразмножения *Potentilla* и методические разработки по освоению метода клонанального микроразмножения бакалаврами с использованием в качестве модельного объекта растений этого рода рекомендован для использования на практических занятиях по курсу «Биотехнология с основами сельского хозяйства» и для более широкого внедрения в практике проведения практических занятий по аналогичным курсам.

Положения, выносимые на защиту. В качестве модельного объекта исследования процессов регенерации и подбора условий культивирования *in vitro* с целью восстановления численности популяций использована *Potentilla vulgarica* – эндемичный вид, находящийся на грани исчезновения. Так как подобранные условия культивирования оказались универсальными и для *Potentilla argentea*, на этапе апробации протокола клонанального микроразмножения на практических занятиях у бакалавров в эксперименте были задействованы экспланты именно этого вида растений, обычного для

флоры Саратовской области и других регионов в пределах ареала вида. Это позволяет соблюсти принцип недопустимости использования в учебном процессе редкого и исчезающего вида растений, каковым является *Potentilla vulgarica*.

База исследования: учебно-научный центр «Ботанический сад» СГУ имени Н.Г. Чернышевского.

Работа состоит из введения, основной части, включающей два раздела, заключения, списка использованных источников и приложений с разработками практических занятий.

Во введении формулируется цель, задачи, а также раскрывается актуальность темы.

Основное содержание работы. В первом разделе «Клональное микроразмножения растений» дается определение клональному микроразмножению.

Указывается на то, культура клеток растений – область биологии, тесно связанная с практикой. Почти каждый открытый здесь научный факт находит свое отражение в прикладных исследованиях. В отличие от клеток животных практически любая растительная клетка способна в определенных условиях и на соответствующих питательных средах регенерировать полноценные растения.

Однако результаты некоторых исследований показали, что значение этого метода существенно возрастает для клоновой селекции растений (экспериментальный мутагенез и расхимеривание), криосохранение ценного исходного материала, а так же ряда других.

Способность к образованию больших количеств (несколько миллионов и более) соматических зародышей в условиях *in vitro* используется для разработки технологии массового и непрерывного получения «искусственных» семян. Более того, метод клонального микроразмножения может быть с успехом использован для создания синтетических сортов. К

настоящему времени число видов, которые можно клонировать «в пробирке», уже составляет около одной тысячи.

Впервые в культуру *in vitro* введена *Potentilla vulgarica* – эндемичный вид, находящийся под угрозой исчезновения. Определены условия стерилизации семян, минеральный и гормональный состав питательных сред на этапах микроразмножения, укоренения и длительного депонирования. Растения-регенеранты реинтродуцированы в природные условия.

В настоящее время методы микроклонального размножения растений благодаря своим преимуществам широко привлекаются для решения проблемы сохранения редких и исчезающих видов растений. Использование этих методов идет по двум основным направлениям: создание банков культур тканей растений и микроклональное размножение нуждающихся в охране видов для последующего пополнения живых коллекций ботанических садов либо репатриации растений в природную среду в места бывшего произрастания

В работе приведены виды практических занятий по курсу «Биотехнология и основы сельского хозяйства» с использованием метода клонального микроразмножения.

Во втором разделе приводятся материалы по использованию метода клонального микроразмножения на практических занятиях бакалавров по курсу «Биотехнология с основами сельского хозяйства» и оценке эффективности использования этого метода при обучении бакалавров.

В качестве модельного объекта для изучения был выбран *Potentilla argentea*, является узколокальным кальцефильным эндемиком Приволжской возвышенности и имеет категорию «1» – вид, находящийся под угрозой исчезновения – как в Красной книге Саратовской области, так и в Красной книге Российской Федерации. В настоящее время вид сохраняется на территории национального парка «Хвалынский» и памятника природы «Мухин дол» в Вольском районе, а также культивируется на участках

открытого грунта учебно-научного центра «Ботанический сад» СГУ имени Н.Г. Чернышевского. В экспериментальной части работы представлены результаты проведения педагогического эксперимента, проведенного с целью выявления эффективности применения метода клонального микроразмножения на практических занятиях студентов бакалавриата.

База исследования лаборатория микрклонального размножения учебно-научного центра «Ботанический сад» СГУ имени Н.Г. Чернышевского. В эксперименте приняли участие 12 студентов 4 курса обучающихся по направлению подготовки 44.03.01 Педагогическое образование профиль подготовки «Биология». Время проведения эксперимента: октябрь – декабрь 2017 года. Эксперимент включал три этапа: констатирующий, формирующий и контролирующий. После проведения эксперимента проведён- анализ полученных результатов.

В процессе наблюдения за учащимися во время лекций и практических занятиях, проходивших до эксперимента, было выявлено, что больше половины студентов на практических занятиях неактивны, неохотно выполняют задания преподавателя. Кроме того, они не всегда усваивают нужный объем информации, так как зачастую на прохождение программного материала не хватает времени и та часть, которая дается на самостоятельное изучение, остается не понятной.

В рамках педагогического эксперимента было проведено анкетирование учащихся с целью выяснения их отношения к применению метода клонального микроразмножения на практических занятиях. Анкетирование проводилось в два этапа. Первый этап - до начала эксперимента. Второй этап – в конце эксперимента после проведения практических занятий. Анкета включает в себя 14 вопросов, на которые нужно дать ответ «да», «нет» либо «не знаю».

Предварительное анкетирование показало, что 83% студентов бакалавров испытывают интерес к самообразованию, но всего лишь 42% -

хотят более глубоко узнать о биотехнологиях. Около двух третей обучающихся (67%) хотели бы узнать, что такое клональное микроразмножение. Однако на большинство вопросов анкеты бакалавры ответили «нет» или «не знаю».

Во время проведения формирующего этапа эксперимента проводилась разработка и проведение практических занятий с применением метода клонального микроразмножения: 1 лекция «Клональное микроразмножение» и 5 практических занятий на темы: «Методы стерилизации растительного материала, посуды, инструментов и питательных сред»; «Приготовление питательных сред»; «Выращивание стерильных проростков»; «Клональное микроразмножение *Potentilla* черенкованием побегов»; «Измерение полученных черенков»;

Одним из примеров применения метода клонального микроразмножения на практических занятиях служит занятие по теме «Клональное микроразмножение *Potentilla* черенкованием побегов» (приложение Г). Практическое занятие планировалось по принципам научности, доступности и наглядности.

В начале практического занятия была выдана методическая рекомендация с инструкцией по выполнению практического занятия. Такой метод позволил сформировать у студентов активную самостоятельную деятельность. В ламинарном боксе у них уже было приготовлено заранее оборудование (скальпели, пинцеты, чашки Петри, бумага, 96%-ный спирт, стерильные химические стаканы, перчатки, маркер, горелка, спички, баночка под мусор, пленка пищевая. Асептические растения *Potentilla*, баночки с модифицированной стерильной питательной средой Мурасиге-Скуга).

В начале практического занятия студенты изучили данный материал задали вопросы, которые у них возникли в ходе изучения материала. Затем сотрудник лаборатории им объяснила, что и как необходимо делать на

данном этапе освоения технологии, затем студенты сами начали выполнять работу.

Работа начиналась с протирки своего рабочего места 96%-ным спиртом, затем студенты обжигали инструменты в 96%-ный спирте и выкладывали их между слоями крафт-бумаги. Асептическое растение *Potentilla* вынимали в ламинар-боксе из пробирки, помещали на бумагу, разрезали на части, содержащие отрезок стебля с листом и пазушной почкой так, чтобы часть стебля над листом была в два-три раза короче, чем часть ниже листа. В процессе работы необходимо было соблюдать строгую стерильность. Черенки высаживали в пробирки на модифицированную питательную среду Мурасиге-Скуга. Пробирку с черенками закрывали пищевой плёнкой и подписывали, затем ставили в световую комнату. В последующем наблюдали за развитием побега через 7 и 14 дней.

На заключительном этапе педагогического эксперимента после проведения практических занятий по дисциплине «Биотехнология и основы сельского хозяйства» была проведена итоговая контрольная работа, которая позволила выявить степень освоения студентами новых знаний и практических навыков по клональному микроразмножению.

После проведения всех практических занятий в конце педагогического эксперимента было проведено повторное анкетирование тех же студентов. По итогам второго анкетирования выяснилось, что мнения у учащихся изменились. После проведения практических занятий доля положительных ответов существенно возросла. Так более чем в 11 раз возросла доля положительных ответов на вопросы «сколько стадий выделяют в клональном микроразмножении?» и «любые ли части эксплантов можно использовать для клонального микроразмножения?». Вчетверо увеличилась доля положительных ответов на вопросы «знаете ли Вы что такое клональное микроразмножение?» и «может ли проходить укоренение в нестерильных условиях?». Почти вдвое выросла доля положительных ответов на вопросы

«хотели бы Вы более глубоко узнать биотехнологии?», «возник ли у Вас интерес к изучению современных проблем биологии?» и «знаете ли Вы на какой питательной среде происходит укоренение побегов?». На треть больше стало положительных ответов на вопрос «хотите ли Вы больше узнать, что такое клональное микроразмножение?». Несколько выросла доля положительных ответов и на вопросы «считаете ли Вы, что инструменты и растительный материал нужно стерилизовать?» и «можно ли использовать клональное микроразмножение в сельском хозяйстве?», но ответы на эти вопросы и при предварительном анкетировании были преимущественно положительными.

Результаты проведенного педагогического эксперимента полностью подтвердили необходимость и результативность использования практических занятий по дисциплине «Биотехнология и основы сельского хозяйства» с применением метода клонального микроразмножения. В результате экспериментального исследования доказано, что применение метода клонального микроразмножения на практических занятиях в процессе обучения является оправданным, способствует повышению познавательной активности учащихся, и, как следствие, интереса к дисциплине «Биотехнология и основы сельского хозяйства», что отразилось на успеваемости и качестве обучения. Применение метода клонального микроразмножения на практических занятиях имеет смысл и положительный результат.

Заключение. В заключении сделали выводы по работе.

1. Впервые в культуру *in vitro* введена *Potentilla vulgarica* – эндемичный вид, находящийся под угрозой исчезновения. Определены оптимальные условия стерилизации семян, эффективный минеральный и гормональный состав питательных сред на этапах микроразмножения, укоренения и длительного депонирования. Растения-регенеранты реинтродуцированы в природные условия. Выявлены корреляции между

концентрациями отдельных фитогормонов и морфогенетическим ответом культуры *in vitro*.

2. Оптимизированный протокол клонального микроразмножения *Potentilla* успешно применён в ходе реализации педагогического эксперимента на практических занятиях студентов бакалавриата. Студенты за пять практических занятий освоили все основные этапы метода, полностью овладели навыками введения эксплантов в культуру *in vitro*, приёмами микрочеренкования и анализа эффективности проведённых работ. Это позволило им узнать основные направления практического использования микрклонального размножения растений, усвоить способы стерилизации помещений, растительного материала, посуды, инструментов и питательных сред, изучить состав питательных сред, освоить приёмы выделения апикальных меристем растений, их выращивания на питательных средах и микрочеренкования.

3. Путем проведения анкетирования и диагностики успеваемости студентов бакалавриата показано, что использование метода клонального микроразмножения растений на практических занятиях помогает в усвоении материала и способствует повышению интереса студентов к биотехнологии. После проведения эксперимента 45% обучающихся написали контрольную работу на отметку «отлично», 36 % студентов получили отметку «хорошо» и лишь 19% - отметку «удовлетворительно». В ответах на большую часть вопросов при анкетировании после проведения практических занятий доля положительных ответов существенно возросла (в 2 – 10 раз).

4. На основании анализа полученных результатов по микрочеренкованию разработана шкала оценки эффективности освоения по длине микрочеренка после 21 суток роста расчеренкованного студентами материала. В соответствии с ней лишь 1/6 участников эксперимента выполнили работы на оценку «удовлетворительно», в то время как 1/2 бакалавров - на оценку «хорошо» и 1/3 – на оценку «отлично».

Министерство образования и науки Российской Федерации
В приложениях представлены разработки практических занятий с применением методов клонального микроразмножения.

«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ГЕОРГИЯ АДАМОВИЧА ДАВЫДОВА»
Кафедра генетики

Марьяна

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ
НА ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЯХ СТУДЕНТОВ БАКАЛАВРИАТА

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 3-го курса 351 группы

Направленная подготовка магистратуры

44.04.01 Педагогическое образование

по профилю «Биология и экология в системе общего и профессионального образования»

биологического факультета

Мартыновой Алёны Валерьевны

Научный руководитель:

доктор биол. наук, профессор

А.С. Кашин
(число, подпись)

А.С. Кашин

Заведующей кафедрой:

доктор биол. наук, доцент

О.И. Юдаков
(число, подпись)

О.И. Юдаков

Саратов 2018