Биотест для определения биологической активности веществ ауксиновой природы.

**Цель задачи:** изучение биологической активности ауксинов.

**Объект исследования**:

**Реактивы и оборудование**:

стерильные колбы с агаризованной средой Мурасиге и Скуга (МС) 300 мл, 70%-ый раствор этилового спирта; диметилсульфоксид (DMСO), раствор фитогормона (β-индолилуксусной кислоты (ИУК), 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-D) и α-нафтилуксусной кислоты (НУК)) 5 мг в 1500 мкл DMSO); стерилизующий раствор 5% Н2О2 на 960С этиловом спирте;

автоматические пипетки (5-40 мкл и 40-200 мкл) и стерильные наконечники, стерильные пробирки «Эппендорф» (объемом 1,5 мл), стерильные стаканы на 50 мл, стерильные чашки Петри (5 шт. диаметром 9 см и 1шт. диаметром 6см), стерильные фильтры, ножницы, пинцеты, парафилм или пленка.

**Ход работы:**

Плавление среды MС на водяной бане.

* 1. Подготовка ламинар-бокса к работе: продувка воздуха ламинар-бокса за 15 мин. до начала работы и в течение всей работы.
  2. Предварительные расчеты:

-расчет количества вносимого в среду раствора ФГ

-расчет разбавления исходного раствор ФГ (при необходимости)

-расчет количества вносимого в среду ДМСО

* 1. 1. Приготовление сред для выращивания растений (в стерильных условиях).

*1.1.* Приготовление разбавленного раствора фитогормона.

*1.2.* Приготовление питательной среды в чашке Петри (d=9 см): к 50 мл среды MС добавляют, согласно расчетам, раствор ФГ и(или) ДМСО.

2. Стерилизация растительного материала (в стерильных условиях):

обработка семян на стерильном бумажном фильтре в течение 3-х минут стерилизующим раствором в стерильной чашке Петри (d=6см).

3. Высаживание семян (в стерильных условиях):

равномерное размещение 25 семян на застывшей среде.

4. Герметизация чашек Петри парафилмом или пленкой.

Дальнейшую работу проводиться в нестерильных условиях.

* 1. Выращивание растений:

в течение 2-х недель в условиях 16-тичасового светового дня при t =+200С.

**Результаты:**

**Обсуждение результатов:**

**Выводы:**

**Оформление работы:**

Отчет о работе

- название задачи,

- цель работы,

- объект,

- реактивы и оборудование,

- ход работы,

- результаты (по всем трем ФГ)

- обсуждение результатов (по всем трем ФГ):

1. концентрация ФГ,

2. пигментация семядолей,

3. размер семядолей,

4. утолщение корней,

5. ветвление корней,

6. геотропизм корней,

7. размеры гипокотилей и корней.

- выводы: (по тем же пунктам, что и обсуждение результатов)

**К зачету**: 1) свойства фитогормонов, 2) группы фитогормонов, 3) ауксины (физиологические эффекты ауксинов, различия между природными и синтетическими ауксинами в деградации, запасании, транспорте, рецепции, физиологических эффектах), 4) взаимодействие разных групп фитогормонов, 5) объяснение полученных в ходе работы над задачей результатов, 6) индивидуальный отчет.

ЛИТЕРАТУРА к зачету:

«Физиология растений» под ред. И. П. Ермакова. - Учеб. для студ. вузов. М.: Изд. Центр "Академия", 2005.

Р. Г. Бутенко Биология клеток высших растений in vitro и биотехнологии на их основе. М., ФБКПРЕСС, 1999.