

Міністерство освіти і науки України  
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

О. О. АВКСЕНТЬЄВА

# ОТРИМАННЯ ТА ВИКОРИСТАННЯ КАЛУСНИХ КУЛЬТУР

Навчально-методичний комплекс

*Видання друге*

Харків – 2024

УДК 581.143.6:581.6(075.8)

А 20

**Рецензенти:**

**В. Ф. Тимошенко** – зав. кафедри фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, кандидат біологічних наук;

**В. Д. Навроцька** – доцент кафедри генетики та цитології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, кандидат біологічних наук.

*Затверджено до друку рішенням Науково-методичної ради  
Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна  
(протокол № 4 від 24 червня 2020 року)*

**Авксентьєва О. О.**

А 20

Отримання та використання калусних культур : навчально-методичний комплекс. 2-ге вид. / О. О. Авксентьєва. – Харків : ХНУ імені В. Н. Каразіна, 2024. – 56 с.

У комплексі представлено методичні матеріали з курсу «Отримання та використання калусних культур». Наведено загальну структуру курсу, анотований зміст лекційного матеріалу, протоколи лабораторного практикуму, рекомендовану літературу, теми семінарських занять, комплект тестових завдань для самоконтролю, методичні рекомендації до рефератів, презентацій, семінарів, контрольні питання з курсу, принципи оцінювання успішності студентів, словник термінів та додатки.

Навчально-методичний комплекс призначений для здобувачів вищої освіти, що вивчають дисципліни з біотехнології рослин.

**УДК 581.143.6:581.6(075.8)**

© Харківський національний університет  
імені В. Н. Каразіна, 2024

© Авксентьєва О. О., 2024

## ЗМІСТ

РОЗДІЛ 1. Мета та завдання курсу.....	4
РОЗДІЛ 2. Робоча програма курсу .....	5
2.1. Загальна схема та структура .....	5
2.2. Анотований зміст лекційної частини .....	5
2.3. Теми лабораторних занять .....	7
2.4. Теми семінарських занять.....	8
2.5. Рекомендована література до курсу.....	8
2.6. Контрольні запитання до курсу.....	9
РОЗДІЛ 3. Протоколи лабораторних занять .....	12
РОЗДІЛ 4. Самостійна робота студентів.....	29
4.1. Теми рефератів.....	29
4.2. Методичні рекомендації до написання реферативних робіт .....	29
4.3. Методичні рекомендації до презентацій .....	30
4.4. Рекомендації до семінарських занять .....	32
4.5. Завдання для самоконтролю .....	36
РОЗДІЛ 5. Критерії оцінювання знань студентів.....	45
Словник термінів.....	46
Додатки .....	50

## РОЗДІЛ 1. Мета та завдання курсу

**Метою курсу** є набуття студентами теоретичних знань з основ культивування рослинних калусних культур за умов *in vitro* та навичок практичної орієнтації, необхідних для професійної діяльності в галузі біотехнології рослин.

**Основними завданнями курсу** є: сформувати цілісне уявлення про основні принципи та методи організації роботи в лабораторії культури *in vitro* вищих рослин; ознайомити з основними принципами отримання та культивування калусних культур рослин, а також із різноманітністю сучасних біотехнологій на базі використання калусної культури *in vitro* вищих рослин.

### **Знати:**

- історичні відомості щодо розвитку, становлення та сучасності методів культури *in vitro* вищих рослин;
- термінологію (глосарій) сучасної біотехнології рослин;
- особливості рослинного організму як об'єкта біотехнології;
- різноманітність методів отримання калусних культур *in vitro* вищих рослин;
- основні характеристики калусних культур (морфологічну, цитологічну, генетичну, біохімічну тощо);
- особливості морфогенетичних реакцій калусів;
- використання теоретичних знань основ культивування калусних культур рослин у практиці сучасної біотехнології.

### **Вміти:**

- аналізувати, структурувати, інтегрувати теоретичний навчальний та лекційний матеріал;
- організувати роботу лабораторії культури *in vitro* вищих рослин; проводити стерилізацію рослинного матеріалу;
- вводити в культуру *in vitro* рослинні об'єкти, використовуючи різні види експлантів та отримувати калусні культури;
- проводити роботи у ламінарному боксі;
- досліджувати калусні культури за різноманітними характеристиками;
- здійснювати субкультивування калусних культур.

## РОЗДІЛ 2. Робоча програма курсу

### 2.1. Загальна схема та структура

Кількість кредитів – 4, загальна кількість годин – 120,  
лекційних – 20 , практичних – 20, самостійна робота – 80

Назви розділів і тем	Кількість годин										
	Денна форма						Заочна форма				
	Усього	у тому числі					Усього	у тому числі			
л		п	лаб	інд	ср	л		п	лаб	інд	ср
<b>Розділ 1. Основні принципи роботи в лабораторії культури <i>in vitro</i> вищих рослин</b>											
Вступ.											
Тема 1. Організація роботи в лабораторії біотехнології рослин	14	2	2			10	15				15
Тема 2. Загальна характеристика живильних середовищ	14	2	2			10	19	2	2		15
<b>Разом за розділом 1</b>	<b>28</b>	<b>4</b>	<b>4</b>			<b>20</b>	<b>34</b>	<b>2</b>	<b>2</b>		<b>30</b>
<b>Розділ 2. Калусна культура та її характеристики</b>											
Тема 1. Первинний калусогенез	16	2	4			10	19	2	2		15
Тема 2. Пересадкова калусна культура	16	2	4			10	19	2	2		15
Тема 3. Морфо-генетичні реакції калусних культур	16	2	4			10	17	2			15
<b>Разом за розділом 2</b>	<b>48</b>	<b>6</b>	<b>12</b>			<b>30</b>	<b>55</b>	<b>6</b>	<b>4</b>		<b>45</b>
<b>Розділ 3. Сучасні біотехнології рослин</b>											
Тема 1. Біотехнології на базі культури <i>in vitro</i> клітин, тканин та органів вищих рослин	44	10	4			30	31	2			29
<b>Разом за розділом 3</b>	<b>44</b>	<b>10</b>	<b>4</b>			<b>30</b>	<b>31</b>	<b>2</b>			<b>29</b>
<b>Усього годин</b>	<b>120</b>	<b>20</b>	<b>20</b>			<b>80</b>	<b>120</b>	<b>10</b>	<b>6</b>		<b>104</b>

### 2.2. Анотований зміст лекційної частини

**Вступ.** Особливості рослинного організму як об'єкта сучасних фітобіотехнологій. Тотипотентність – унікальна властивість рослинної клітини. Історія та становлення методів культури *in vitro* вищих рослин: основні етапи та досягнення. Внесок українських вчених у розвиток світової біотехнології рослин.

## **Розділ 1. Основні принципи роботи в лабораторії культури *in vitro* вищих рослин**

### ***Тема 1. Організація роботи в лабораторії біотехнології рослин.***

Основні принципи та методи організації роботи в лабораторії культури *in vitro* рослинних клітин, тканин та органів. Приміщення та обладнання лабораторії (прилади, посуд, інструмент, матеріали). Основні положення техніки безпеки. Методи та прийоми стерилізації посуду, інструментів; підтримання умов стерильності у приміщенні, робота у ламінарному боксі.

***Тема 2. Загальна характеристика живильних середовищ.*** Макро- та мікроелементи, вуглецеве живлення, додаткові органічні сполуки. Роль вітамінів, фітогормонів та регуляторів росту як складових елементів поживних середовищ.

## **Розділ 2. Калусна культура та її характеристики**

***Тема 1. Особливості первинного калусогенезу.*** Етапи введення в культуру *in vitro* вищих рослин. Ранжування систематичних груп рослин, анатомічних структур та тканин за здатністю до калусоутворення. Стерилізація рослинного матеріалу – насіння, листків, апікальних меристем тощо. Вибір та вичленення експлантів. Поняття компетентність, диференціювання, де- та редиференціювання. Отримання первинного калусу з різних експлантів та асептичних рослин. Явище фізіологічної полярності. Роль основних класів фітогормонів – ауксинів та цитокінінів у процесах індукції калусогенезу. Роль генотипу вихідної рослини. Генетичний та епігенетичний контроль калусогенезу. Основні фактори дедиференціювання та калусоутворення (склад живильного середовища, хімічні та фізичні умови культивування тощо).

***Тема 2. Пересадкова калусна культура.*** Типи калусних культур та їхні морфологічні, цитологічні, фізіологічні, біохімічні та генетичні характеристики. Класифікації типів калусів. Гетерогенність калусу – основна характеристика калусної тканини. Соматональна мінливість у калусній культурі. Крива росту – характеристика окремих фаз. Мінливість темпів росту та її можливі причини. Мітотична ритміка як показник фізіологічного стану популяцій калусних клітин. Динаміка та показники росту калусних культур – ростовий індекс (PI), пасивування, субкультивування (роль співвідношення фітогормонів). Вплив умов культивування: тривалість пасажу, склад живильного середовища, умови освітлення, температурний режим тощо. Калусна культура – основна культура *in vitro* вищих рослин. Зв'язок з іншими типами культур *in vitro* вищих рослин: суспензійна, окремих клітин, ізольованих протопластів, гаплоїдних клітин тощо.

***Тема 3. Морфогенетичні реакції калусних культур *in vitro*.*** Основні поняття: морфогенез, цитогенез, гістогенез, органогенез, флоральний

морфогенез *in vitro* тощо. Індукція різноманітних шляхів морфогенезу та їх взаємозв'язок. Прямий та непрямий шляхи морфогенезу. Соматичний ембріодогенез. Фактори, що впливають на диференціювання в культурі клітин. Фітогормональна регуляція спрямованості шляхів морфогенезу *in vitro* вищих рослин. Класичне правило Скуга–Мілера. Основні моменти отримання рослин-регенерантів *in vitro*.

### **Розділ 3. Сучасні біотехнології рослин**

**Тема 1. Біотехнології на базі культури клітин, тканин та органів вищих рослин.** Використання калусних тканин у фундаментальних дослідженнях та біотехнології. Мікроклональне розмноження та отримання безвірусного рослинного матеріалу. Оздоровлення посадкового рослинного матеріалу методами хіміо- та термотерапії. Методи отримання культур клітин – продуцентів цінних біологічно активних речовин. Культури *in vitro* у селекції та генетичній інженерії рослин. Використання культур рослинних клітин для збереження генофонду вищих рослин. Кріозбереження культур клітин та меристем.

#### **2.3. Теми лабораторних занять**

##### **Розділ 1. Основні принципи роботи в лабораторії культури *in vitro* вищих рослин**

*Лабораторна робота № 1.* Знайомство з організацією роботи та обладнанням у біотехнологічній лабораторії.

*Лабораторна робота № 2.* Підготовка біотехнологічної лабораторії до роботи.

*Лабораторна робота № 3.* Робота у ламінарному боксі.

*Лабораторна робота № 4.* Приготування маточних розчинів макро- та мікросолей, вітамінів та фітогормонів.

*Лабораторна робота № 5.* Приготування агаризованого живильного середовища Мурасиге і Скуга (МС).

*Лабораторна робота № 6.* Стерилізація інструментів, обладнання і матеріалів. Стерилізація рослинного матеріалу. Вирощування асептичних паростків.

##### **Розділ 2. Калусна культура та її характеристики**

###### ***Первинний калусогенез***

*Лабораторна робота № 7.* Отримання первинного калусу з асептичних проростків.

*Лабораторна робота № 8.* Отримання первинного калусу з насіння рослин.

## **Пересадкова калусна культура та її характеристики**

*Лабораторна робота № 9.* Морфологічна характеристика калусної культури.

*Лабораторна робота № 10.* Цитологічний аналіз калусної тканини.

*Лабораторна робота № 11.* Індукція різноманітних шляхів морфогенезу *in vitro* за дії фітогормонів.

*Лабораторна робота № 12.* Клональне мікророзмноження *Saintpaulia ionantha*.

### **2.4. Теми семінарських занять**

*Семінарське заняття № 1.* Особливості рослинного організму як об'єкта сучасних фітобіотехнологій.

*Семінарське заняття № 2.* Фітогормони – головні фактори регуляції морфогенезу рослин *in vitro*.

*Семінарське заняття № 3.* Генетичний та епігенетичний контроль морфогенезу.

*Семінарське заняття № 4.* Сучасні біотехнології рослин.

### **2.5. Рекомендована література до курсу**

1. Авксентьева О. О., Чумакова В. В. Біотехнологія вищих рослин: культура *in vitro*. Х. : ХНУ імені В. Н. Каразіна, 2021. 88 с.

2. Мельничук М. Д., Новак Т. В., Кунах В. А. Біотехнологія рослин. К. : Вища освіта, 2003. 520 с.

3. Рудишин С. Д. Біотехнологія рослин. Суми: «Корпункт», 2024. 200 с.

4. Сатарова Т. М., Абраїмова О. Є., Вінніков А. І., Черенков А. В. Біотехнологія рослин. Дніпропетровськ : Адверта, 2016. 136 с.  
[https://institut-zerna.com/library/docs/biotechnologia\\_roslin.pdf](https://institut-zerna.com/library/docs/biotechnologia_roslin.pdf)

5. Chawla, H.S. Introduction to plant biotechnology.--3nd ed. 2009, 745 pp. Introduction to Plant Biotechnology PDF  
<https://bcrti.co.in/digitallibrary/includeFolder/noticeFolder/211111032202117.pdf>

6. Plant Biotechnology, Volume 1. Principles, Techniques, and Applications, 1st Edition. Edited by Bishun Deo Prasad, Sangita Sahni, Prasant Kumar, Mohammed Wasim Siddiqui. Apple Academic Press. 562 p.

7. PRINCIPLES OF PLANT BIOTECHNOLOGY – електронний ресурс [Principles-of-Plant-Biotechnology.pdf]

## Інтернет ресурси

<http://www.ncbi.nih.gov> – (Center for Biotechnology Information – NCBI)

Сайти наукових журналів

1. <http://www.plantphysiol.org/>
2. <http://www.annualreviews.org/loi/arplant>
3. <https://www.crops.org/publications>
4. <https://journal.unisza.edu.my/agrobiotechnology>
5. <http://biotech.nature.com>
6. <https://link.springer.com/journal/11240>

## Відео-фільми

1. Plant tissue culture overview  
<https://www.youtube.com/watch?v=dFrX-t5J0PA>
2. Plant Biotech Lab Tour  
<https://www.youtube.com/watch?v=HHYDmfj4ojk>
3. Plants BIOTECHNOLOGY.mp4 - YouTube  
<https://www.youtube.com/watch?v=bKe3YivIqJc>
4. Organogenesis in plant tissue culture | Types: Direct and indirect organogenesis | Differences <https://www.youtube.com/watch?v=0Oy9ijxf5us>

## 2.6. Контрольні питання до курсу

### «ОТРИМАННЯ ТА ВИКОРИСТАННЯ КАЛУСНИХ КУЛЬТУР»

1. Культура клітин вищих рослин – унікальна модельна біологічна система.
2. Особливості рослинного організму як об'єкта сучасних біотехнологій рослин.
3. Тотипотентність – унікальна властивість рослинної клітини.
4. Історія та становлення методів культури *in vitro* вищих рослин: основні етапи та досягнення.
5. Внесок українських вчених у розвиток світової біотехнології рослин.
6. Фундаментальні та практичні напрями використання методів культури *in vitro* вищих рослин.
7. Основні принципи та методи організації роботи лабораторії біотехнології рослин.
8. Приміщення та обладнання лабораторії (посуд, інструмент, матеріали; підтримання умов стерильності).
9. Загальна характеристика поживних середовищ.
10. Макро- та мікроелементи, вуглецеве живлення, додаткові органічні сполуки.

11. Роль вітамінів, фітогормонів та регуляторів росту як складових елементів поживних середовищ.
12. Методи стерилізації у біотехнології рослин.
13. Стерилізація рослинного матеріалу – насіння, листки, апікальні меристеми тощо. Вирощування асептичних проростків *in vitro*.
14. Дедиференціювання тканин вищих рослин та отримання первинного калусу.
15. Явище фізіологічної полярності.
16. Поняття компетентність, диференціювання, де- та редиференціювання.
17. Роль основних класів фітогормонів – ауксинів та цитокінінів у роцесах індукції калусогенезу.
18. Роль генотипу вихідної рослини та генетичний контроль калусогенезу.
19. Основні фактори дедиференціювання та калусоутворення (склад живильного середовища, хімічні та фізичні умови культивування тощо).
20. Основні етапи отримання калусної культури.
21. Первинна та пересадкова калусна культура.
22. Морфологічна та цитологічна характеристика калусів.
23. Фізіологічна та біохімічна характеристика калусної культури.
24. Генетична та епігенетична характеристика калусів.
25. Динаміка та показники росту калусних культур, пасивування, субкультивування (роль співвідношення фітогормонів).
26. Крива росту калусної культури: характеристика окремих фаз.
27. Гетерогенність калусу – основна характеристика калусної тканини.
28. Сомаклональна мінливість у калусній культурі.
29. Мітотична ритміка як показник фізіологічного стану популяцій калусних клітин.
30. Вплив умов культивування: тривалість пасажу, склад живильного середовища, умови освітлення, температурний режим тощо.
31. Калусна культура – основна культура *in vitro* вищих рослин. Зв'язок з іншими типами культур *in vitro* вищих рослин: суспензійна, окремих клітин, ізольованих протопластів, гаплоїдних клітин тощо.
32. Основні поняття: морфогенез, цитогенез, гістогенез, органогенез, флоральний морфогенез *in vitro* тощо.
33. Індукція різноманітних шляхів морфогенезу та їх взаємозв'язок.
34. Прямий та непрямий шляхи морфогенезу *in vitro*.
35. Соматичний ембріодогенез.
36. Фактори, що впливають на диференціювання в культурі клітин.
37. Фітогормональна регуляція спрямованості шляхів морфогенезу *in vitro* вищих рослин.
38. Класичне правило Скуга–Мілера.

39. Основні аспекти отримання рослин-регенерантів *in vitro*.
40. Культура рослинних клітин, тканин та органів як основа сучасних біотехнологій.
41. Мікроклональне розмноження рослин.
42. Отримання здорового (безвірусного) рослинного посадкового матеріалу.
43. Культура рослинних клітин, тканин та органів і гена інженерія рослин.
44. Культури рослинних клітин – продуценти цінних біологічно активних речовин – речовин вторинного метаболізму.
45. Кріозбереження рослинних культур клітин, тканин, органів.



**Завдання: заповнити таблицю з техніки безпеки (див. додаток А)**

Таблиця 1.

Основні правила техніки безпеки в лабораторії біотехнології рослин

Джерела небезпеки та особливості роботи	Правила техніки безпеки, яких необхідно дотримуватись
Електроприлади	
Пожежна небезпека (відкрите полум'я)	
Хімічні реактиви	
Опромінення УФ	
Робота з лабораторним посудом	
Особливості роботи для дотримання стерильності	
Біологічне забруднення	
Правила поведінки в б/т лабораторії	

## **Робота 2. Підготовка біотехнологічної лабораторії до роботи**

**Матеріали та обладнання:** сушильна шафа, термостат, дистилятор, автоклав, ламінарний бокс, спиртівка, простерилізовані інструменти і посуд, спирт.

Біотехнологічна лабораторія є спеціалізованим блоком приміщень, обладнаних відповідно до робіт, що в них проводяться на кожному з етапів введення та культивування рослинних експлантів.

### **Хід роботи**

1. Ознайомитися з приміщенням та обладнанням біотехнологічної лабораторії.

2. Вивчити методику стерилізації приміщень, посуду, інструментів, живильних середовищ.

3. Визначити основні правила роботи в асептичних умовах.

**Завдання: заповнити таблицю.**

Таблиця 2.

### Будова та обладнання біотехнологічної лабораторії

Приміщення	Обладнання
Кімната для миття посуду	
Приміщення для стерилізації (автоклавна)	
Кімната для приготування живильних середовищ	
Стерильний бокс	
Культуральна кімната	
Кліматичні камери	
Лабораторне приміщення	

### Робота 3. Робота в ламінарному боксі

**Мета роботи:** засвоїти навички проведення робіт у ламінарному боксі (розливання середовища культивування в чашки Петрі, вичленення експлантів, пасивування калусних, суспензійних культур тощо).

**Матеріали та обладнання:** ламінарний бокс, спиртівка, простерилізовані інструменти і посуд, спирт.

#### Хід роботи

1. Підготувати ламінарний бокс до роботи.
2. Провести роботи у ламінарі відповідно до завдань дослідження.
3. Навести порядок у ламінарному боксі після закінчення робіт.





## Робота 6. Стерилізація приміщень, обладнання, інструментів і матеріалів

**Мета роботи:** ознайомитися і засвоїти методи стерилізації, що застосовуються в біотехнологічній лабораторії; простерилізувати посуд, матеріали, інструменти, живильне середовище, воду.

**Матеріали та обладнання:** чашки Петрі, колби з дистильованою водою, штативи з пробірками, заповненими живильним середовищем, препарувальні голки, пінцети, скальпелі, папір: фільтрувальний і пергаментний.

### Хід роботи

Дайте відповіді на запитання:

1. Який спосіб стерилізації металевих інструментів?
2. Який режим стерилізації (автоклавування) живильних середовищ, що використовуються для культивування рослинних клітин та тканин?

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## Робота 6. Стерилізація рослинного матеріалу. Вирощування асептичних проростків (продовження)

**Мета роботи:** підібрати концентрацію стерилізуючого розчину і час стерилізації насіння, що забезпечать найвищу ефективність цього процесу. Простерилізувати насіння і виростити з них асептичні проростки.

**Матеріали та обладнання:** 70 % розчин етилового спирту, стерильна вода, комерційний розчин препарату «білизна» (концентрація 15–30 %), стаканчики для стерилізуючих розчинів, насіння сої, пшениці та інших культур, пробірки зі стерильним безгормональним середовищем МС, інструменти, ламінарний бокс.

### Хід роботи

Написати схему (етапи) стерилізації рослинного матеріалу для вибраних об'єктів.

---

---

---

---

---



**Калусна культура. Первинний калусогенез**  
**Робота 7. Отримання первинного калусу**  
**з асептичних проростків**

**Мета роботи:** засвоїти техніку виділення експлантів з асептичних проростків та отримати первинну калусну тканину.

**Матеріали та обладнання:** асептичні проростки, чашки Петрі зі стерильним середовищем для індукції первинного калусогенезу (з додаванням 2,4-Д), інструменти (пінцети, препарувальні голки, леза), ламінарний бокс.

Дайте визначення термінам:

калус –

---

---

---

---

пасаж (субкультивування) –

---

---

---

---

**Хід роботи**

Накресліть схему роботи.

Результати занесіть у таблицю.

Об'єкт, тип експланту	Кількість експлантів, шт.	Частота калусогенезу	
		шт.	%

Зробіть висновки відповідно до результатів експерименту.

---

---

---

---

---

Дайте відповідь на питання.

Які органи рослини можуть використовуватися в якості експлантів для отримання калусної культури?

---

---

---

---

---

Чим відрізняється первинний калус від пересадкової калусної культури?

---

---

---

---

---

---

### **Робота 8. Отримання первинного калусу з насіння рослин**

**Мета роботи:** засвоїти методи стерилізації насіння різноманітних представників сільськогосподарських культур, отримати первинний калус, оцінити ефективність стерилізації і частоту калусогенезу.

**Матеріали та обладнання:** ламінар-бокс, чашки Петрі з живильним середовищем для індукції калусогенезу МС + 2,4-Д (2–10 мг/л), насіння різноманітних представників рослин, інструменти: пінцети, скальпелі, вата, бинт, розчин «білизни», стерильна дистильована вода, спиртівки, 70 % спирт.

Дайте визначення термінам:

тотипотентність –

---

---

---

---

---

дедиференціація –

---

---

---

---

### Хід роботи

Накресліть схему досліду.

Результати занесіть у таблицю.

Об'єкт	Кількість насіння, шт.	Кількість асептичних насінин		Кількість насінин, які утворюють калус	
		шт.	%	шт.	%

Зробіть висновки відповідно до результатів експерименту.

---

---

---

---

Дайте відповідь на запитання:

Які живильні середовища використовують для індукції калусогенезу та субкультивування калусів?

---

---

---

---

За якими критеріями класифікують калусні тканини?

---

---

---

---

## *Пересадкова калусна культура та її характеристики*

### **Робота 9. Морфологічна характеристика та визначення обводненості калусної культури**

**Мета роботи:** ознайомитися і засвоїти методи морфологічного аналізу калусних культур різних представників рослинних об'єктів та типів калусів, засвоїти методи визначення ступеню обводненості калусних культур різних представників рослинних об'єктів, зробити відповідні висновки і фотографії.

**Матеріали та обладнання:** чашки з калусною культурою різних представників рослинних об'єктів (соя, пшениця, томати, гірчиця тощо), калуси різного віку, походження тощо, сушильна шафа, інструменти: пінцети, препарувальні голки, 96 % спирт, ламінар-бокс, спиртівка.

Дайте визначення термінам:  
ростовий цикл –

---

---

---

---

ауксини–

---

---

---

---

### **Хід роботи**

Накресліть схему досліду.

За результатами вимірювання визначити ступінь обводненості калусної культури за формулою:

$$\text{Обв} = (\text{Мсир} - \text{Мсух} / \text{Мсир}) \times 100 \%,$$

де Обв – обводненість калуса.

Мсир – сира маса калуса.

Мсух – суха маса калуса.

Результати занесіть у таблицю.

Об'єкт	Морфологічна характеристика				
	колір	структура	Розмір	щільність	обводненність

Зробіть висновки відповідно до результатів експерименту.

---

---

---

---

Дайте відповідь на запитання:

Що таке фізіологічна та генетична гетерогенність калусів?

---

---

---

---

---

### Робота 10. Цитологічний аналіз калусів

**Мета роботи:** ознайомитися і засвоїти методи цитологічного аналізу калусних культур різних представників рослинних об'єктів, зробити відповідні висновки і фотографії.

**Матеріали та обладнання:** чашки з калусною культурою різних представників рослинних об'єктів (соя, пшениця, томати, гірчиця тощо), стерильні чашки Петрі, хромова кислота, 96 % спирт, пінцети, препарувальні голки, ламінар-бокс, шейкер (качалка), водяна баня, спиртівка, камера Фукса–Розенталя, мікроскоп, терези, папір.

Дайте визначення термінам:

цитокініни –

---

---

---

---

трансплант –

---

---

---

---

проліферація –

---

---

---

---

---

### Хід роботи

Накресліть схему досліду.

Проведіть відповідні розрахунки за формулою

$$N = \frac{n \times 10^3 \times m}{0,2 \times d},$$

де N – вміст клітин в одному грамі;

n – середня кількість клітин в одному великому квадраті;

m – об'єм суспензії клітин в хромовій кислоті, мл;

d – наважка тканини, г;

0,2 – глибина камери.

Зробіть висновки відповідно до результатів експерименту.

---

---

---

---

---

Дайте відповідь на запитання:

Які фази виділяють у «кривій росту» калусної культури?

---

---

---

---

---

---

Як часто і чому необхідно пасивувати калусні культури?

---

---

---

### Робота 11. Індукція різних шляхів морфогенезу *in vitro* калусних тканин за дії фітогормонів

**Мета роботи:** виявити фітогормональну регуляцію спрямованості процесів морфогенезу *in vitro*.

**Матеріали та обладнання:** пересадкові калусні культури, колби із живильними середовищами МС: для стеблового органогенезу (гемогенезу), соматичного ембріодогенезу та індукції ризогенезу, 96 % спирт, стерильні пінцети і препарувальні голки, спиртівка.

Дайте визначення термінам.

Морфогенез –

---

---

---

Ризогенез –

---

---

---

гемогенез –

---

---

---

соматичний ембріодогенез –

---

---

---

### Хід роботи

Накресліть схему досліджу.

Результати занесіть у таблицю.

Об'єкт/ ФГ склад МС	Загальна кількість експлантів	Шляхи морфогенезу					
		гемогенез		ризогенез		калусогенез	
		шт	%	шт	%	шт	%

Зробіть висновки відповідно до результатів експерименту.

---

---

---

---

---

Дайте відповідь на запитання.

Накресліть класичну схему шляхів морфогенезу *in vitro* тотипотентної рослинної клітини.

Сформулюйте класичне правило Скуга–Мілера:

---

---

---

---

---

Чим відрізняється прямий та непрямий шляхи морфогенезу?

---

---

---

---

---

## Робота 12. Клональне мікророзмноження *Saintpaulia ionantha*

**Мета роботи:** оволодіти методикою клонального мікророзмноження рослин на основі прямого морфогенезу.

**Матеріали та обладнання:** листя сенполій, стерильне середовище МС з половинним складом солей, стерильні чашки Петрі, інструменти, ламінар-бокс, стерильна вода, етанол, білізна.

Дайте визначення термінам.

клон –

---

---

---

---

мериклон –

---

---

---

---

сомаклональна мінливість –

---

---

---

---

преадаптація –

---

---

---

---

### Хід роботи

Накресліть схему досліду.

Результати занесіть у таблицю.

Об'єкт/ФГ склад МС	Загальна к-сть експлантів	Утворення мериклонів				
		стерильність		Прямий морфогенез		
		шт.	%	експланти з меріклонами	%	шт./ експлант

Зробіть висновки відповідно до результатів експерименту.

---

---

---

---

---

Дайте відповідь на запитання:

Що називають клональним мікророзмноженням рослин?

---

---

---

---

---

Які існують методи клонального мікророзмноження рослин?

---

---

---

---

---

---

У чому перевага методу клонального мікророзмноження порівняно із традиційними методами розмноження рослин?

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## РОЗДІЛ 4. Самостійна робота студентів

### 4.1. Теми рефератів

1. Культура рослинних клітин, тканин та органів як основа сучасних біотехнологій.
2. Мікроклональне розмноження рослин – основні етапи та методи.
3. Особливості мікроклонального розмноження деревних рослин.
4. Особливості мікроклонального розмноження декоративних рослин.
5. Рослинний організм як об’єкт сучасних біотехнологій.
6. Отримання здорового (безвірусного) рослинного посадкового матеріалу.
7. Культура рослинних клітин, тканин і органів у селекції рослин.
8. Культура рослинних клітин, тканин і органів та генна інженерія рослин.
9. Культури рослинних клітин – продуценти цінних біологічно активних речовин – речовин вторинного метаболізму.
10. Кріозбереження рослинних культур клітин, тканин, органів.
11. Генетичні банки культур *in vitro*.
12. Використання культур *in vitro* для збереження біорізноманіття.
13. Історія культури рослинних клітин, тканин та органів.
14. Культура клітин вищих рослин – унікальна модельна система.
15. Особливості рослинної клітини як об’єкта для створення культури клітин, тканин та органів.

### 4.2. Методичні рекомендації до написання реферативних робіт

Реферування (від лат. „refere” – доповідати, повідомляти; “abstractus” – виводити висновок) – це процес переробки та письмового викладу тексту, результатом якого є складання вторинного документу – реферату. Мета реферату – у найбільш короткій, стислій формі передати зміст, виділити при цьому особливо важливу або нову інформацію, що міститься у реферованому матеріалі.

Спочатку студент за своїм бажанням обирає одну із запропонованих тем рефератів з курсу «Отримання та використання калусних культур» (див. 4.1). Потім він вивчає наукову літературу з цього питання, проводить пошук літературних джерел – підручників, навчальних посібників, монографій, наукових статей у періодичних вітчизняних та закордонних виданнях (журнали «Фізіологія рослин та генетика», «Biotechnologia Acta», «Plant Physiology», «Plant Biotechnology Reports», «Plant Cell», «Plant Biotechnology Journal», «Plant Cell, Tissue and Organ Culture» тощо).

Опрацювавши достатню кількість літературних джерел, ознайомившись з основною інформацією за темою, студент обов'язково складає ретельний план реферативної роботи.

Структура реферату має бути такою:

- 🌿 титульний аркуш;
- 🌿 вступ;
- 🌿 зміст або план;
- 🌿 основна частина (розділи та підрозділи);
- 🌿 висновки;
- 🌿 список використаної літератури.

Титульний аркуш оформлюється згідно із правилами ЗВО.

Номер сторінки на титульному аркуші не зазначається.

Зміст або план містить список розділів та підрозділів (пунктів та підпунктів) та номерів сторінок до них.

Вступ може бути обсягом від одного абзацу до сторінки. Головна мета вступу – ввести у суть проблеми, обґрунтувати вибір теми, її актуальність та важливість.

Основна частина – це викладення основних концепцій, положень, аспектів теми реферату, що є у літературних джерелах. Перед написанням основної частини необхідно чітко визначитися з назвами розділів та підрозділів, побудувати логічний ланцюг викладу реферованого матеріалу. Обов'язково під час викладу матеріалу робити посилання на авторів та літературні джерела, що використовуються у роботі (вказуються у квадратних дужках як номер джерела зі списку літератури).

Висновки – у стислій формі наводяться узагальнення за темою реферату, також викладається погляд автора на проблему та шляхи її вирішення.

Список використаної літератури – подається згідно із правилами бібліографічного опису.

Під час перевірки реферату оцінюється:

- знання фактичного матеріалу, засвоєння загальних понять, ідей, уявлень тощо;
- реалізація мети та завдань роботи;
- ступінь обґрунтованості узагальнень та висновків;
- використання літературних джерел;
- культура письмового викладу матеріалу;
- культура оформлення роботи.

### **4.3. Методичні рекомендації до підготовки презентацій доповіді**

Виконання презентацій дозволяє логічно вибудувати матеріал, систематизувати його, представити до захисту, набути досвіду виступу перед аудиторією, формує комунікативні компетенції студентів.

Кількість слайдів відповідає змісту і тривалості виступу (наприклад, для 5-хвилинного виступу рекомендується використовувати не більше 10 слайдів).

На першому слайді обов'язково надається тема виступу і відомості про авторів. Наступні слайди можна підготувати, використовуючи дві різні стратегії їх підготовки:

1 стратегія: на слайди виноситься опорний конспект виступу і ключові слова, щоб користуватися ними як планом для виступу. В цьому разі слайди повинні відповідати таким вимогам:

- ✚ обсяг тексту на слайді – не більш 7 рядків;
- ✚ маркований/нумерований список містить не більше 7 елементів;
- ✚ немає знаків пунктуації в кінці рядків в маркованих і нумерованих списках;
- ✚ значуща інформація виділяється за допомогою кольору, кегля, ефектів анімації.

Особливо уважно необхідно перевірити, чи немає в тексті граматичних і друкарських помилок. Основна помилка під час вибору цієї стратегії полягає в тому, що доповідачі заміняють свою промову читанням тексту зі слайдів.

2 стратегія: на слайдах розміщується фактичний матеріал (таблиці, графіки, фотографії тощо), що є доречним і достатнім засобом наочності, допомагає в розкритті головної ідеї виступу. В цьому разі слайди повинні відповідати таким вимогам:

- ✚ вибрані засоби візуалізації інформації (таблиці, схеми, графіки тощо) відповідають змісту;
- ✚ використані ілюстрації хорошої якості (з високою розподільною здатністю), з чітким зображенням (зазвичай, ніхто з присутніх не зацікавлений вчитуватися в текст на ваших слайдах і вдивлятися в дрібні ілюстрації);

### **Вимоги до оформлення презентацій (додаток Б)**

Для оформлення слайдів презентації рекомендується використовувати прості шаблони без анімації, дотримуватися єдиного стилю оформлення всіх слайдів. Не рекомендується на одному слайді використовувати більше 3 кольорів: один для фону, один для заголовків, один для тексту. Зміна слайдів встановлюється одним порухом.

Шрифт, що обирається для презентації повинен забезпечувати виразність на екрані і бути в межах розмірів – 18–72 пт, що забезпечує презентабельність поданої інформації. Шрифт на слайдах презентації повинен відповідати обраним шаблонам оформлення. Не слід використовувати різні шрифти в одній презентації. Під час копіювання тексту з програми Word на слайд він повинен бути вставлений в текстові рамки на слайді.

У презентації матеріал доцільніше подавати у вигляді таблиць, моделей, програм.

Максимальна кількість графічної інформації на одному слайді – 2 малюнки (фотографії, схеми тощо) з текстовими коментарями (не більше 2 рядків до кожного). Найбільш важлива інформація повинна розташовуватися в центрі екрану.

Звичайний слайд без ефектів анімації має демонструватися на екрані не менше 10–15 секунд. Особливо ретельно необхідно поставитися до оформлення презентації. Для всіх слайдів презентації по можливості необхідно використовувати один і той же шаблон оформлення, кегль – для заголовків – не менше ніж 24 пунктів, для інформації – не менше 18. У презентаціях варто використовувати переноси в словах.

Для кращої орієнтації в презентації під час виступу слід пронумерувати слайди. Бажано, щоб на слайдах залишалися поля, не менше за 1 см з кожного боку.

Після підготовки презентації корисно проконтролювати себе питаннями:

- чи вдалося досягти кінцевої мети презентації (що вдалося визначити, пояснити, запропонувати або продемонструвати)?
- яким особливостям об'єкта презентації вдалося залучити увагу аудиторії?
- чи не відволікає створена презентація від усного виступу?

Після підготовки презентації необхідна репетиція виступу.

#### **4.4. Рекомендації до семінарських занять**

Семінарське заняття (семінар) – одна з основних форм організації навчального процесу, що являє собою колективне обговорення студентами теоретичних питань під керівництвом викладача. Семінарські заняття в рамках конкретних розділів навчальних дисциплін передбачені насамперед для глибокого опрацювання теоретичного матеріалу. Семінари формують у студентів навички вільного ведення дискусії, первинні навички наукової роботи, стимулюють інтерес до самостійного пошуку нових ідей і фактів.

Семінарські заняття будуються на системі доповідей (повідомлень), що готуються студентами за заздалегідь обраною темою. Під час підготовки доповіді (повідомлення, презентації) до семінарського заняття метою є проведення порівняльного аналізу проблемних ситуацій, а також способи і пецифіка вирішення перерахованих проблем, де основне завдання для студента – самостійний аналіз.

Семінарське заняття передбачає не тільки виступ студентів з доповідями, підготовленими заздалегідь, але і розгорнуту бесіду за кожним із виступів. Саме тому участь в семінарі – це ще й участь у такій бесіді, що

передбачає постановку питань, пов'язаних з темою доповіді, формулювання відповідей на них, полеміку як з авторами доповідей, так і з іншими студентами, які беруть участь в семінарському занятті. Саме тому підготовка до семінарського заняття повинна містити не тільки підготовку власного виступу, але і знайомство з кожним з питань, що пропонуються до обговорення на семінарі. Питання до доповідача ставлять насамперед студенти, а не викладач. Необхідно вимагати, щоб питання, що ставляться студентами, були глибокі, пов'язані з темою, ясно і чітко сформульовані, доречні, такі, що пробуджують живий інтерес.

Порядок проведення семінарського заняття передбачає таку послідовність:

- 1) вступне слово викладача (обговорюються: тема семінару, основні проблеми, порядок проведення);
- 2) виступи з доповідями студентів;
- 3) питання до доповідачів та їх відповіді;
- 4) розгорнута бесіда – обговорення проблеми;
- 5) висновок викладача (загальна оцінка заняття, короткий аналіз доповідей, інформація щодо нерозкритих питань, завдання до наступних занять).

## Семінарське заняття № 1.

### **Особливості рослинного організму як об'єкта сучасних фіто біотехнологій**

1.1. Тотипотентність – унікальна властивість рослинних клітин.

1.2. Стволові клітини рослинного організму – особливості, порівняння з тваринними.

1.3. Меристеми рослин. Процеси диференціації, дедиференціації, редиференціації.

1.4. Історія становлення методів культури *in vitro* в дослідженні рослин.

### **Рекомендована література**

1. Aggarwal S., Sardana C., Ozturk M. & Sarwat M. Plant stem cells and their applications: special emphasis on their marketed products. *Biotech*, (2020), 10(7), 291. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02247-9>

2. Hong L, Fletcher JC. Stem Cells: Engines of Plant Growth and Development. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24(19):14889. <https://doi.org/10.3390/ijms241914889>

3. Jin J., Lu P., Xu Y. et al. PCMDB: a curated and comprehensive resource of plant cell markers, *Nucleic Acids Research*. 2022, Vol. 50, Issue D1, P. D1448–D1455, <https://doi.org/10.1093/nar/gkab949>

4. Pierre-Jerome E., Drapek C. & Benfey P. N. Regulation of Division and Differentiation of Plant Stem Cells. *Annual review of cell and developmental biology*. 2018, 34, 289–310. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100617-062459>


5. Satterlee J. W., Strable J. and Scanlon M. J. Plant stem-cell organization and differentiation at single-cell resolution, *PNAS*, 2020 117 (52) 33689 - 33699 <https://doi.org/10.1073/pnas.2018788117>

6. Stahl Y., Simon R. Plant primary meristems: shared functions and regulatory mechanisms. *Curr Opin Plant Biol.* 2010, 13(1):53-8. doi: 10.1016/j.pbi.2009.09.008.

Інтернет платформи

Pubmed, ScienceDirect, Google Scholar, ResearchGate

## Семінарське заняття № 2.

 **Фітогормони – головні фактори регуляції морфогенезу рослин *in vitro*.**

2.1. Ауксини – головні рістстимулюючі фітогормони. Морфофізіологічні процеси, що регулюють ауксини *in vivo* та *in vitro*.

2.2. Цитокініни. Морфофізіологічні процеси, що регулюють *in vivo* та *in vitro*.

2.3. Фітогормональна система рослин. Рецептори, синергічні та антагоністичні дії.

2.4. Інші класи фітогормонів – загальна характеристика.

2.5. Синтетичні фітогормони та речовини з гормональною дією – регулятори морфогенезу *in vitro* – використання у практиці біотехнології рослин.

## Рекомендована література

1. Aoki M., Kisiala Anna B., Rahman T., Morrison E. N., Neil Emery R.J. Cytokinins are pervasive among common *in vitro* culture media: An analysis of their forms, concentrations and potential sources. *Journal of Biotechnology*. 2021.Vol.334, P. 43-46. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2021.05.005

2. Gao J., Gao J., Zhuang S., Zhang W. Advances in Plant Auxin Biology: Synthesis, Metabolism, Signaling, Interaction with Other Hormones and Roles under Abiotic Stress. *Plants*. 13(17):2523. DOI: 10.3390/plants13172523

3. Kieber J. J., & Schaller, G. E. Cytokinins. *The arabidopsis book*. 2014. 12, e0168. <https://doi.org/10.1199/tab.0168>

4. Liu Y., Zhang M., Meng Z., Wang B. & Chen M. Research Progress on the Roles of Cytokinin in Plant Response to Stress. *International journal of molecular sciences*. 2020. 21(18), 6574. <https://doi.org/10.3390/ijms21186574>

5. Mroue S., Simeunovic A., Robert H. S. Auxin production as an integrator of environmental cues for developmental growth regulation. *Journal of Experimental Botany*. 2018. Vol. 69, Iss. 2, P. 201–212. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx259>

6. Phillips G. C., & Garda M. Plant tissue culture media and practices: an overview. *In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant*. 2019. 55(3), 242–257. <https://doi.org/10.1007/s11627-019-09983-5>

7. Yan H, Yang Z., Chen S., Wu J. Exploration and development of artificially synthesized plant growth regulators. *Advanced Agrochem*. 2024. Vol. 3, Iss. 1. 47-56. <https://doi.org/10.1016/j.aac.2023.07.008>

Інтернет платформи

Pubmed, ScienceDirect, Google Scholar, ResearchGate

### Семінарське заняття № 3.

#### Генетичний та епігенетичний контроль морфогенезу

- 3.1. Епігенетичний контроль розвитку в рослинному організмі – модифікація ДНК, гістонів, мікроРНК.
- 3.2. Гени та транскрипційні фактори – регулятори розвитку рослин
- 3.3. Генетичний контроль морфогенезу *in vitro*.
- 3.4. Епігенетичний контроль морфогенезу *in vitro*.

#### Рекомендована література

1. Артеменко О. А. Транскрипційні фактори рослин у реакціях відповіді на абіотичні стресори: МҮВ-білки. *Вісник ХНАУ. Серія : Біологія*. 2020. № 1(49). С. 6-17. <https://repo.btu.kharkov.ua/handle/123456789/8229>
2. Тищенко О. М., Михальська С. І. Транскрипційні фактори НАС-субродини у підвищенні рівня стійкості культурних рослин до осмотичних стресів. *Фізіологія рослин та генетика*. 2017. Т. 49, № 3. С. 211-217. <http://jnas.nbu.gov.ua/article/UJRN-0000713934>
3. Fehér A. Callus, dedifferentiation, totipotency, somatic embryogenesis: what these terms mean in the era of molecular plant biology? *Front. Plant Sci.* Vol. 10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00536>
4. Hemenway E. A., & Gehring M. Epigenetic Regulation During Plant Development and the Capacity for Epigenetic Memory. *Annual review of plant biology*. 2023. 74, 87–109. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-070122-025047>
5. Lee K., Seo P. J. Dynamic Epigenetic Changes during Plant Regeneration. *Trends Plant Sci*, 2018. 23 (3) P. 235–247. DOI: 10.1016/j.tplants.2017.11.009
6. Liu L., White M. J., MacRae T. H. Transcription factors and their genes in higher plants. Functional domains, evolution and regulation. *European Journal of Biochemistry* 1999. Vol.262, Is.2. P. 247-257. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1999.00349.x>
7. Long Y., Yang Y., Pan G., & Shen, Y. New Insights Into Tissue Culture Plant-Regeneration Mechanisms. *Frontiers in plant science*, 2022, 13, 926752. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.926752>
8. Momoko Ikeuchi, Keiko Sugimoto, and Akira Iwase Plant Callus: Mechanisms of Induction and Repression. *The Plant Cell*, 2013. Vol. 25. P. 3159–3173. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.116053>
9. Strader L., Weijers D., Wagner D. Plant transcription factors — being in the right place with the right company. *Current Opinion in Plant Biology*. 2022. Vol. 65. 102136. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2021.102136>
10. UsCamas R., Rivera-Solís G. Duarte-Aké F., De-la-Peña C. In vitro culture: an epigenetic challenge for plants. *Plant Cell Tiss Organ Cult*. 2014. 16 p. DOI 10.1007/s11240-014-0482-8
11. Zou X., Sun H. DOF transcription factors: Specific regulators of plant biological processes. *Front. Plant Sci.* 2023. Vol.14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1044918>

Інтернет платформи:

Pubmed, ScienceDirect, Google Scholar, ResearchGate

## Семінарське заняття № 4.

### Сучасні біотехнології рослин

- 4.1. Мікроклональне розмноження рослин. Отримання «штучного насіння».
- 4.2. Оздоровлення посадкового рослинного матеріалу.
- 4.3. Методи отримання культур клітин – продуцентів цінних біологічно активних речовин.
- 4.4. Збереження (кріозбереження) генофонду – колекції культур *in vitro*.
- 4.5. Отримання «штучного насіння».
- 4.6. 3-D біодрук рослинними клітинами.

### Рекомендована література

1. Barat V.A., Kavi Kishor P.B., Jalaja N., Jain S.M., Penna S. Plant Cell Cultures: Biofactories for the Production of Bioactive Compounds. *Agronomy*. 2023, 13, 858. <https://doi.org/10.3390/agronomy13030858>
2. Hasnain A., Naqvi S., Ayesha et al. Plants in vitro propagation with its applications in food, pharmaceuticals and cosmetic industries; current scenario and future approaches. *Frontiers in plant science* 2022. 13, 1009395. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1009395>
3. Rihan H.Z., Kareem F., El-Mahrouk M.E., Fuller, M.P. Artificial Seeds (Principle, Aspects and Applications). *Agronomy* 2017, 7, 71. <https://doi.org/10.3390/agronomy7040071>
4. Roque-Borda C. A., Kulus D., Vacaro de Souza A., Kaviani B., & Vicente E. F. Cryopreservation of Agronomic Plant Germplasm Using Vitrification-Based Methods: An Overview of Selected Case Studies. *International journal of molecular sciences*. 2021. 22(11), 6157. <https://doi.org/10.3390/ijms22116157>
5. Susmita Ghosh, Hee-Gyeong Yi. A Review on Biopinks and their Application in Plant Bioprinting. *International Journal of Bioprinting* 2022, 8(4), 612. <https://doi.org/10.18063/ijb.v8i4.612>
6. Wang M. R., Cui Z. H., Li J. W., Hao X. Y., Zhao, L. & Wang, Q. C. In vitro thermo-therapy-based methods for plant virus eradication. *Plant methods*. 2018. 14, 87. <https://doi.org/10.1186/s13007-018-0355-y>

Інтернет платформи:

Pubmed, ScienceDirect, Google Scholar, ResearchGate

### 4.5. Завдання для самоконтролю

#### Тести групи А (одна правильна відповідь)

1. Для рослинних клітин оптимальна рН середовища культивування:
  - А) 5.0–5.5
  - Б) 6.5–7.0
  - В) 9.0–10.0
  - Г) 11.0–12.0
2. Найбільш універсальне та широко розповсюджене живильне середовище:
  - А) Мурашіге–Скуга (МС)
  - Б) середовище Шенка–Хільденбранта (ШХ)
  - В) середовище Гамборга (В5)
  - Г) середовище Уайта

3. Живильне середовище для індукції калусогенезу обов'язково містить:

- А) цитокініни
- Б) ауксини
- Г) гібереліни
- Д) безгормональне

4. Для стерилізації рослинного матеріалу використовують:

- А) опромінення УФ
- Б) автоклавування
- В) хлорамін
- Г) спирт + полум'я пальника

5. Асептичні проростки культивують на середовищі:

- А) МС + 2,4 Д
- Б) безгормональному МС
- В) рідкому МС
- Г) твердому МС + 6 БАП

6. Пухкий, оводнений калус використовують для:

- А) отримання суспензії клітин
- Б) регенерації рослин
- В) отримання ізольованих протопластів
- Г) ГМ-рослин

7. Для отримання калусних тканини як експлант краще використовувати:

- А) меристему
- Б) продихи
- В) кореневий чохлак
- Г) склеренхіму

8. Причиною загибелі первинних експлантів зазвичай є накопичення в тканинах:

- А) ауксинів
- Б) цитокінінів

- В) фенолів
- Г) вуглеводів

9. До цитокінінів належать:

- А) БАП
- Б) НОК
- В) АБК
- Г) 2,4 Д

10. Який ступінь життєздатності допустимий для суспензійної культури:

- А) 30 %
- Б) 50 %
- В) 70 %
- Г) 90 %

11. Суспензійні культури в сучасних біотехнологіях використовують для:

- А) отримання вторинних метаболітів
- Б) збереження генофонду
- В) мікроклонального розмноження
- Г) отримання трансгенних рослин

12. Для промислового отримання вторинних метаболітів використовують суспензійні культури в стадії:

- А) стаціонарної фази
- Б) логарифмічної фази
- В) лаг-фази
- Г) фази деградації

13. Для промислового отримання біомаси використовують суспензійні культури в стадії:

- А) стаціонарної фази
- Б) логарифмічної фази
- В) лаг-фази
- Г) фази деградації

14. Для створення «годуючого шару» використовують:

- а) суспензію клітин
- б) калусну тканину
- в) багате живильне середовище
- д) збіднене середовище

15. Фактор кондиціонування замінити фітогормонами:

- а) можливо
- б) неможливо
- в) можливо з додаванням інших БАВ
- г) можливо на деякий час

16. Протопласти рослинних клітин ензиматичним шляхом вперше виділив:

- а) Селтон
- б) Коккінг
- в) Клеркер
- г) Уайт

17. Зняти апікальне домінування можна, додаючи до живильного середовища:

- а) ауксини
- б) абсцизову кислоту
- в) цитокініни
- г) гібереліни

18. Ризогенез стимулюється у разі співвідношення цитокініни / ауксини:

- А) 10:1
- Б) 1:1
- В) 1:10
- Г) 100:1

19. Мікроклональне розмноження це:

- А) нестатеве розмноження
- Б) статеве розмноження

В) вегетативне розмноження *in vitro*  
Г) апоміксис

20. У разі мікроклонального розмноження потомство є:

- а) генетичною однорідним
- б) генетично гетерогенним
- в) гаплоїдним
- г) анеуплоїдним

21. Диференціація із соматичних клітин зародкоподібних структур називається:

- А) ембріодогенез
- Б) гомогенез
- В) геморизогенез
- Д) гіногенез

22. Аморфна маса тонкостінних, паренхімних, сильно вакуолізованих клітин, схильних до постійної проліферації, називається:

- А) калюс
- Б) пасаж
- В) інокулум
- В) експлант

23. Рослина-регенерант, що містить цитоплазму обох батьків і дро одного з них називається:

- А) цибрид
- Б) гібрид
- В) клон
- Г) транс ген

24. Отримання гаплоїдів з пилку або з пиляків називається:

- А) андрогенез
- Б) гіногенез
- В) гомогенез
- Д) калусогенез

25. Частина тканини або органа, що перенесена на живильне середовище, називається:

- А) експлант
- Б) калус
- В) інокулюм
- Г) трансплант

26. Втрата клітинами спеціалізації (структурних та функціональних властивостей) називається:

- А) дедиференціація
- Б) спеціалізація
- В) редиференціація
- Г) детермінація

27. Оздоровлення посадкового матеріалу шляхом підвищення температури називають:

- А) хіміотерапія
- Б) термотерапія
- В) радіотерапія
- Г) трансгенез

28. Ізольовані протопласти біологічні властивості клітини:

- А) зберігають
- Б) не зберігають
- Г) змінюють
- Д) модифікують

29. Середовище для культивування ізольованих протопластів обов'язково містить:

- А) фітогормони
- Б) вуглеводи
- В) осмотичні стабілізатори
- Г) ферменти

30. Прямий та непрямий шлях морфогенезу відрізняються за:

А) наявністю стадії калюсної тканини

Б) можливістю утворення рослин-регенерантів

В) обов'язковою стадією ембріогенезу

Г) обов'язковою стадією гомогенезу

31. Мікроклональне розмноження рослин базується на:

А) активації роботи пазушних меристем

Б) активації роботи апікальних меристем

В) утворенні з тканин експланту ембріодів

Г) всі відповіді правильні

32. До складу поживного середовища активоване вугілля додають для:

А) абсорбції фенолів та інших інгібіторів росту рослин

Б) для стимулювання калусоутворення

В) для стимулювання ризогенезу

Г) для інактивації росту ендofітної мікрофлори

33. До складу живильного середовища антибіотики додають для:

А) абсорбції фенолів та інших інгібіторів росту рослин

Б) для стимулювання калусоутворення

В) поверхневої стерилізації експлантів

Г) для інактивації росту ендofітної мікрофлори

**Тести групи Б (декілька правильних відповідей)**

34. Для успішного культивування рослин *in vitro* обов'язковою умовою є:
- А) стерильність
  - Б) селективне середовище
  - В) освітлення
  - Г) доступ кисню
35. Методи культур *in vitro* використовуються для:
- А) отримання вторинних метаболітів
  - Б) збереження генофонду
  - В) мікроклонального розмноження
  - Г) отримання трансгенних рослин
36. Біотехнологічна лабораторія обов'язково містить:
- А) кімнату для зберігання реактивів
  - Б) ламінарний бокс
  - В) культуральну (світлову) кімнату
  - Г) центрифужну кімнату
37. Ламінарний бокс – це:
- А) бокс для створення стерильних умов
  - Б) бокс для вичленення експлантів
  - В) бокс для зважування реактивів
  - Г) бокс для вирощування культур
38. Обов'язковими компонентами живильних середовищ є:
- А) макро- і мікросоли
  - Б) агар-агар
  - В) фітогормони
  - Г) сахароза
39. До БАР (біологічно активних речовин) в складі поживних середовищ належать:
- А) ФГ (фітогормони)
  - Б) вітаміни
  - В) синтетичні регулятори росту
  - Г) Fe-хелат
40. Калусні клітини рослин від пухлинних морфологічно:
- а) відрізняються
  - б) не відрізняються
  - в) подібні
  - г) неподібні
41. Пухлинні клітини рослин у культурі *in vitro*:
- а) гормонозалежні
  - б) гормонезалежні
  - в) гормоночутливі
  - д) гормонечутливі
42. Для індукції первинного калусогенезу використовують середовище:
- А) безгормональне МС
  - Б) МС + кінетин
  - В) МС + ІОК
  - Г) МС + 2,4 Д
43. Властивість тотіпотентності рослинної клітини є основою отримання:
- А) біологічно активних речовин
  - Б) рослин-регенерантів
  - В) мікроклонів
  - Г) ГМ-рослин
44. Калусна тканина:
- А) гетерогенна
  - Б) гомогенна

- В) гетеротрофна
- Г) мікотрофна

45. Щільний, з меристематичними зонами калус використовують для:

- А) отримання суспензії клітин
- Б) регенерації рослин
- В) отримання ізольованих протопластів
- Г) ГМ-рослин

46. До ауксинів належать:

- А) БАП
- Б) НОК
- В) АБК
- Г) 2,4 Д

47. До синтетичних регуляторів росту належать:

- А) БАП
- Б) НОК
- В) АБК
- Г) 2,4 Д

48. За якими критеріями класифікують калусні тканини:

- А) колір
- Б) щільність
- В) морфологія
- Г) синтетична активність

49. Суспензійну культуру можна отримати з:

- А) інтактної рослини
- Б) калусної культури
- В) культури поодиноких клітин
- Г) культури ізольованих протопластів

50. Суспензійні культури характеризуються:

- а) високою агрегованістю
- б) утворенням груп з 25–50 клітин

- в) утворенням груп з 5–10 клітин
- в) поодинокими клітинами

51. За фізичного методу злиття протопластів діючою силою є:

- а) поліетиленгліколь
- б) постійне електричне поле
- в) змінне електричне поле
- г) осмотичний розчин

52. У цибридів обидва партнери мають цитоплазматичний статус:

- а) рівний
- б) нерівний
- в) однаковий
- г) неоднаковий

53. Гаплоїдні рослини:

- а) фертильні
- б) стерильні
- в) нежиттєздатні
- г) життєздатні

54. У культурі пилку поява дигаплоїдних рослин:

- а) можлива
- б) неможлива
- в) спонтанна
- г) індукована

55. Ауксини в культурі *in vitro* стимулюють:

- А) ріст клітин розтягненням
- Б) проліферацію клітин
- В) адвентивне пагоноутворення
- Г) ризогенез

56. Цитокиніни в культурі *in vitro* стимулюють:

- А) ріст клітин розтягненням
- Б) проліферацію клітин
- В) гемогенез
- Г) ризогенез

57. Адвентивні бруньки утворюються у разі співвідношення цитокініні/ауксини:

- А) 10:1
- Б) 1:1
- В) 1:10
- Г) 100:1

58. До різних шляхів реалізації морфогенезу *in vitro* належать

- А) геморизогенез
- Б) термогенез
- В) калусогенез
- Г) ембріодогенез

59. До основних способів мікроклонального розмноження належать:

- А) активація пазушних меристем
- Б) активація адвентивного пагоноутворення
- В) прямий ембріодогенез
- Г) непрямий ембріодогенез

60. Перерахуйте основні етапи мікроклонального розмноження:

- 1)
- 2)
- 3)
- 4)

### **Тести групи В (послідовність, відповідність, терміни)**

61. Встановіть відповідність між культурою *in vitro* (або шляхом морфогенезу) та складом живильного середовища.

А) первинний калусогенез	1) МС + 0,5 мг/л БАП + 1 мг/л НОК
Б) мікроклональне розмноження	2) МС + 2 – 10 мг/л 2,4 Д
В) асептичні проростки	3) ½ МС + 3 мг/л БАП + 0,5 мг/л НОК
Г) ризогенез	4) МС

62. Встановіть послідовність етапів отримання пересадкової калусної культури.

А) вичленення експланту	1)
Б) отримання первинного калюсу	2)
В) субкультивування	3)
Г) поверхнева стерилізація	4)

63. Встановіть відповідність культури *in vitro* та її характерних рис.

А) калусна культура	1) експлант мікроспора
Б) культура поодиноких клітин	2) поверхнєве культивування
В) суспензійна культура	3) фактор «кондиціонування»
Г) андрогенез	4) постійне струшування

64. Встановіть відповідність між класом БАР та їх представником.

А) ауксини	1) БАП
Б) цитокініні	2) 2,4 Д
В) вітаміни	3) ІОК
Г) синтетичні регулятори росту	4) мезоінозит

65. Процес перенесення транспланта або інокулюму на свіже живильне середовище називають \_\_\_\_\_

66. Група дедиференційованих клітин, що виникла шляхом неорганізованої проліферації *in vivo* або *in vitro* – це \_\_\_\_\_

67. Властивість \_\_\_\_\_ – це здатність соматичних клітин повністю реалізувати генетичний потенціал цілого фертильного рослинного організму.

68. Середовище для культивування рослинних клітин, тканин та органів у стерильних умовах, що містить сукупність макро- та мікроелементів, джерело вуглеводного живлення, вітаміни та регулятори росту, буває рідке або тверде – називають \_\_\_\_\_

69. Рослинну клітину, яку отримують при злитті двох ізольованих протопластів, ядерний матеріал одного з яких повністю елімінує, називають \_\_\_\_\_

70. Сукупність генетичної інформації пластидної системи рослинної клітини – це \_\_\_\_\_

71. Бруньки (пагони), що виникли з тканин рослин, що зазвичай їх не утворюють, називають \_\_\_\_\_

72. Процес отримання рослин-регенерантів із зародкових мішків (жіночих статевих клітин рослини) – це \_\_\_\_\_

73–80. Дайте визначення таким термінам:

Гемогенез –

---

---

---

Дедиференціація –

---

---

---

Гіногенез –

---

---

---

Ембріодогенез –

---

---

---

Мікроклональне розмноження –

---

---

Андрогенез –

---

---

Тератома –

---

---

Ізольований протопласт –

---

---

81–85. Розшифруйте скорочені назви.

НОК \_\_\_\_\_

БАП \_\_\_\_\_

2,4-Д \_\_\_\_\_

ІОК \_\_\_\_\_

МС \_\_\_\_\_

#### Відкриті питання

86. Що розуміють під «методами культури *in vitro*»?

87. Які існують способи стерилізації хімічного посуду та інструментів для роботи в біотехнологічній лабораторії?

88. Які основні вимоги до складу живильних середовищ для культур рослин *in vitro*?

89. За якими показниками аналізують ростову реакцію калусних тканини?

90. Чим відрізняється первинний калус від пересадкової калусної культури?

91. За якими морфологічними ознаками калусні культури поділяють на типи?

92. Що таке обсяг осаджених клітин – ООК %? Як розраховують цей показник?

93. Що таке «фактор кондиціонування»?

94. Що таке соматична гібридизація?

95. Що таке цибрид? Чим відрізняється симетричний і асиметричний соматичний гібрид?

96. Для чого використовуються гаплоїди в селекції та генетиці?

97. Чим відрізняються прямий і непрямий шляхи морфогенезу *in vitro*?

98. Сформулюйте правило Скуга–Міллера.

99. Що таке апікальне домінування? Які фітогормони регулюють цей процес?

100. Як здійснюється оздоровлення посадкового рослинного матеріалу методами *in vitro*?

## РОЗДІЛ 5. Критерії оцінювання знань студентів

Оцінку «відмінно» заслуговує студент, який протягом навчання отримав 90–100 балів за всіма формами учбової діяльності, показав систематичні, глибокі та різнобічні знання матеріалу за програмою дисципліни з розділів:

- основні принципи організації роботи біотехнологічної лабораторії;
- характеристика калусних культур: отримання та культивування – первинний калусогенез;
- пересадкова калусна культура – основні характеристики та регуляція росту;
- сучасні біотехнології на основі калусних культур.

Виконав усі заплановані програмою завдання, засвоїв основну літературу й ознайомився з додатковою, пройшов у повному обсязі лабораторний практикум з дисципліни й активно брав участь у виконанні самостійної роботи. Оцінку «відмінно» виставляють студенту, який вміє встановлювати взаємозв'язок між основними розділами та поняттями дисципліни, проявляє творчий підхід у розумінні, інтерпретації та використанні програмного матеріалу.

Оцінку «добре» заслуговує студент, який протягом навчання отримав 70–89 балів, показав повні знання програмного матеріалу, успішно виконав програмні завдання, засвоїв основну літературу, пройшов у повному обсязі лабораторний практикум з дисципліни і брав участь у самостійній роботі. Оцінку «добре» отримує студент, який показав систематичні знання з дисципліни та здатність їх самостійно поповнювати й оновлювати в подальшій навчальній роботі та професійній діяльності.

Оцінку «задовільно» заслуговує студент, який протягом навчання отримав 50–69 балів, показав знання основного програмного матеріалу в обсязі, що необхідний для подальшого навчання, виконав програмні завдання, ознайомився з основною літературою програми. Оцінку «задовільно» отримує студент, який допустив помилки під час складання завдань поточного та підсумкового контролю, пропустив до 30 % занять лабораторного практикуму з неповажної причини і не брав участі в самостійній роботі.

Оцінку «незадовільно» отримує студент, у якого немає знань окремих розділів основного програмного матеріалу та загальних уявлень про основні принципи організації роботи біотехнологічної лабораторії; характеристики калусних культур: отримання та культивування – основи первинного калусогенезу, пересадкова калусна культура – основні характеристики та регуляція росту; сучасні біотехнології на основі калусних культур.

Оцінку "незадовільно" отримує студент, який допустив принципових помилок під час виконання програмних завдань поточного та підсумкового контролю, пропустив більш ніж 40 % занять із лабораторного практикуму з неповажної причини та не брав участі у самостійній роботі.

## СЛОВНИК ТЕРМІНІВ

**Адвентивні бруньки (пагони)** – бруньки (пагони), що виникли з тканин і клітин рослини, які звичайно їх не утворюють.

**Андрогенез** – процес отримання рослин-регенерантів з пиляків чи пилку (тобто чоловічих статевих клітин рослини).

**Анеуплоїди** – ядро, клітина, організм з кількістю хромосом, що відхиляються від  $n$  і від чисел, кратних  $n$ .

**Апекс** – верхівкова частина стебла або кореня.

**Апікальне домінування** – явище пригнічення росту бічних бруньок пагону, якщо є верхівкова (апикальна) брунька.

**Ауксини** – фітогормони (ІОК, НОК, 2,4-Д), що активують ріст «розтягненням» та стимулюють утворення коренів у проростків.

**Гаплоїд** – ядро, клітина, організм, що характеризуються половинним набором хромосом, властивому виду (символ –  $n$ ).

**Гемогенез** – процес формування і розвитку бруньок в умовах *in vitro* на калусних тканинах або безпосередньо на експлантах.

**Гібереліни** – фітогормони, що активують ріст стебел за рахунок подовження міжвузлів, стимулюють проростання насіння.

**Гібридизація соматична** – процес злиття ізольованих протопластів, тобто соматичних клітин.

**Гіногенез** – процес отримання рослин-регенерантів з зародкових мішків (тобто жіночих статевих клітин рослини)

**Гістогенез** – одна з форм прояву морфогенезу *in vitro* – процес формування тканин.

**Дедиференціація** – перехід спеціалізованих клітин до проліферації і еорганізованого росту калусу (втрата клітинами спеціалізації).

**Диплоїд** – ядро, клітина, організм, що характеризуються подвійним набором гомологічних хромосом, представленим у кількості, що властива для цього виду (символ –  $2n$ ).

**Диференціація** – комплекс процесів, що призводять до відмінностей між клітинами.

**Експлант** – фрагмент тканини або органу, культивований на живильному середовищі самостійно або використовуваний для отримання первинного калусу.

**Ембріоїд** – зародкоподібна структура, що виникає з соматичних клітин

**Ембріоїдогенез (ембріогенез)** – процес утворення зародкоподібних структур (ембріоїдів) нестатевим шляхом в культурі тканин і клітин *in vitro*.

**Епігенетичні зміни** – зміни експресії генів або фенотипу клітини, викликані механізмами, що не порушують послідовності ДНК; вони

зберігаються в ряді мітотичних поділів соматичних клітин, а також можуть передаватися наступним поколінням.

**Еуплоїд** – ядро, клітина, організм з кількістю хромосом, що кратна  $n$ .

**Ізольований протопласт** – рослинна клітина, позбавлена клітинної оболонки за допомогою ферментативного або механічного руйнування.

**Інокулюм** – частина клітинної суспензії, що використовується для перенесення на свіже живильне середовище.

**Калус** – група дедиференційованих клітин, що виникли *in vivo* або *in vitro* шляхом неорганізованої проліферації.

**Клональне мікророзмноження або мікроклональне розмноження** – отримання *in vitro* нестатевим шляхом рослин, генетично ідентичних вихідному (метод вегетативного розмноження рослин в культурі *in vitro*).

**Клон** – культура, що виникла з однієї клітини.

**Компетенція** – здатність клітини, тканини, органу сприймати індукуючий вплив і специфічно реагувати або не реагувати зміною програми розвитку.

**Культура зиготичних зародків *in vitro*** – асептичне культивування на штучному живильному середовищі незрілих або зрілих ізольованих зародків.

**Культура ізольованих протопластів** – культивування клітин, що позбавлені стінок (оболонок), в рідкому або агаризованому живильному середовищі.

**Культура коренів *in vitro*** – асептичне культивування на штучному живильному середовищі в пересадковому режимі ізольованих коренів.

**Культура меристем *in vitro*** – асептичне вирощування на штучному живильному середовищі ізольованого апекса або пазушної бруньки пагону конуса наростання з одним або двома листковими примордіями.

**Культура «нянька»** – калусна культура, що використовується як субстрат (джерело «фактора кондиціонування») під час культивування культури поодиноких клітин.

**Культура органів *in vitro*** – асептичне вирощування на штучному живильному середовищі в пересадковому режимі ізольованих коренів, стеблових апексів, незрілих частин квітки, незрілих плодів.

**Культура суспензійна або культура клітин *in vitro*** – асептичне вирощування окремих клітин або їх невеликих груп (агрегатів) в рідкому живильному середовищі.

**Культура тканин *in vitro*** – вирощування в тривалій пересадковій культурі тканин, що виникли шляхом проліферації клітин ізольованих сегментів різних органів або органів рослин.

**Меристема** – твірна тканина з дрібними, активно проліферуючими клітинами.

**Морфогенез *in vitro*** – процес формоутворення, тобто закладення, росту і розвитку клітин (цитогенез), тканин (гістогенез) і органів (органогенез) в культурі клітин і тканин *in vitro*.

**Органогенез** – одна з форм прояву морфогенезу *in vitro* – процес формування органів.

**Пасивування (субкультивування)** – процес періодичної пересадки калусу на свіже живильне середовище для підтримки пересадкової калусної культури.

**Пластом** – сукупність генетичної інформації пластидної системи рослинної клітини.

**Поліплоїдія** – ядро, клітина, організм, що характеризуються кратним збільшенням основного набору хромосом (символ –  $3n$ ,  $4n$  і тощо).

**Проліферація** – новоутворення клітин і тканин шляхом розмноження (поділу) вже існуючих.

**Рослина-регенерант** – рослина, що отримана в результаті реалізації морфогенезу *in vitro*.

**Регенерація** – відновлення цілісного організму з клітини, тканини, органу.

**Редиференціація** – перехід спеціалізованих клітин з одного стану диференціювання в інші з попередніми поділами або безпосередньо.

**Ризогенез** – процес закладення, росту і розвитку коренів.

**Ростовий цикл** – зростання популяції клітин в циклі періодичного вирощування, що характеризується S-подібною кривою. Фази ростового циклу: латентна (лаг-фаза), експонентна (фаза логарифмічного росту), фаза уповільнення зростання, стаціонарна і фаза деградації.

**Злиття ізольованих протопластів** – формування однієї клітини з двох і більше об'єднанням їх поверхневих мембран.

**Соматична (парасексуальна) гібридизація** – спосіб створення гібридних клітинних ліній і соматичних гібридів рослин шляхом злиття соматичних (нестатевих) клітин, наприклад шляхом злиття ізольованих протопластів.

**Соматичний гібрид** – рослина, отримана шляхом гібридизації ізольованих протопластів.

**Сомаклональна мінливість (варіабельність)** – епігенетичні або генетичні зміни в клітинах або групах клітин, що розвиваються в культурі, які призводять до зміни фенотипу регенеруючого з них організму.

**Середовище живильне** – середовище для культивування рослинних клітин, тканин органів в стерильних умовах *in vitro*, що містить набір макро- і мікроелементів, джерело вуглеводного живлення, вітаміни і регулятори росту; буває рідке або тверде.

**Субкультивування** – процес перенесення трансплантата або інокулюму в культуральну посудину на свіже живильне середовище.

**Тератоми** – формування морфологічно аномальних органів рослин за культивування *in vitro*.

**Тотипотентність** – властивість соматичних клітин повністю реалізувати генетичний потенціал цілого рослинного організму.

**Трансплант** – частина калусних тканин, що використовується для перенесення на нове живильне середовище.

**Фітогормони** – (гормони рослин) - біологічно активні сполуки, що утворюються в рослинах в малих кількостях, викликають специфічний ростовий або морфогенетичний ефект.

**Химера** – організм-мозаїка, який поєднує в собі клітини, тканини, органи різних організмів (приклад: тварина + рослина).

**Цибрид** – рослина, яку отримують шляхом злиття двох ізольованих протопластів, ядерний матеріал одного з яких повністю елімінував.

**Цикл вирощування** – період від пасивування клітинного інокулюму або калусного трансплантата на живильне середовище до подальшого субкультивування.

**Цитокініни** – фітогормони (кінетин, 6-БАП), що активують розвиток меристем, поділ клітин, стимулюють утворення бруньок.

**Ex planta** – «поза рослиною» – біологічний процес, форма біологічного аналізу в органі, частині організму, клітині, відокремленої з рослини.

**In planta** – «всередині цілісної рослини» – біологічний процес або біологічний аналіз в цілісній рослині.

**Ex vitro** – перенесення культур *in vitro* в неасептичні умови

**In vitro** – вирощування рослинних об'єктів «в склі» (пробірці, колбі, біореакторі) на штучних живильних середовищах, в асептичних умовах.

**In vivo** – «всередині живого організму» – біологічний процес або біологічний аналіз в цілісному живому організмі.

## ДОДАТКИ

Додаток А

### ПРАВИЛА РОБОТИ В БІОТЕХНОЛОГІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ

Під час роботи у біотехнологічній лабораторії слід суворо дотримуватись вимог, викладених в інструкції з техніки безпеки. Якщо здобувач вищої освіти не ознайомлений із зазначеними вимогами, він повинен повідомити про це викладача. **Здобувач вищої освіти несе персональну відповідальність за власну безпеку під час перебування у лабораторії, що підтверджує підписом у журналі з техніки безпеки під час проведення інструктажу.** У лабораторію забороняється входити у верхньому одязі. Усі здобувачі вищої освіти повинні працювати в чистих бавовняних халатах, які мають бути застебнуті на всі гудзики. Волосся необхідно прибрати з обличчя та сховати під шапочку. На робочому місці потрібно підтримувати зразковий порядок. Особисті речі повинні зберігатися в спеціально відведеному місці.

**У лабораторії забороняється вживати їжу та напої.** До роботи не допускаються здобувачі вищої освіти, які мають пошкодження на відкритих ділянках шкіри, не оброблені та не заклеєні бактерицидним пластиром. Працюючи з **відкритим полум'ям** (газовий пальник, спиртівка), потрібно дотримуватися таких вимог: запалювати спиртівку та газовий пальник лише за допомогою сірника. Гасити запалену спиртівку потрібно, закривши доступ повітря спеціальним ковпачком, а газовий пальник – перекриттям доступу газу. Розташовувати спиртівку потрібно на відстані не менш, ніж 20 см від краю робочого стола. Запалену спиртівку заборонено пересувати з місця на місце. Із закінченням роботи з газовими пальниками необхідно перевірити, що вихід газу перекрито.

**Роботу у ламінарному боксі** дозволено проводити лише за проходження додаткового інструктажу з техніки безпеки, наявності відповідного захисного одягу (халат, шапочка, захисна маска та захисні окуляри). Категорично забороняється заходити у бокс за увімкненої **бактерицидної лампи**. Забороняється користуватися скляним посудом, що має сколи, тріщини, гострі краї.

У лабораторії необхідно дотримуватися правил безпеки під час роботи з **хімічними речовинами**. За необхідності (робота з концентрованими хімічними речовинами) потрібно використовувати засоби індивідуального захисту (рукавички, респіратори, гумовий фартух, захисні окуляри). У процесі розведення концентрованої кислоти необхідно кислоту додавати до розчинника, а не навпаки. У разі потрапляння будь-яких хімічних речовин на шкіру необхідно змити реактив великою кількістю води; нейтралізувати

кислоту необхідно слабким розчином соди, а луг – слабким розчином оцтової кислоти.

Роботу з концентрованими та леткими хімічними речовинами необхідно проводити *під витяжною шафою*. Необхідно суворо дотримуватися вимог *електробезпеки*. Забороняється використовувати несправне електрообладнання і вмикати прилади без дозволу викладача або лаборанта, а також торкатися поверхні приладу мокрими руками.

Після закінчення роботи здобувач вищої освіти повинен упорядкувати робоче місце, руки необхідно ретельно вимити, а за потреби обробити дезінфікуючим розчином. Слід мати індивідуальний рушник або серветки для витирання рук.

## ВИМОГИ ДО ОФОРМЛЕННЯ СЛАЙДІВ ПРЕЗЕНТАЦІЇ

Стиль	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ дотримуйтесь єдиного стилю оформлення</li> <li>▪ уникайте стилів, що будуть відволікати від самої презентації</li> <li>▪ допоміжна інформація (керуючі кнопки) не повинні переважати над основною інформацією (текстом, ілюстраціями)</li> </ul>
Фон	Для фону переважні холодні тони (синій, зелений)
Використання кольору	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ на одному слайді рекомендується використовувати не більше трьох кольорів: один для фону, один для заголовка, один для тексту</li> <li>▪ для фону і тексту використовуйте контрастні кольори</li> </ul>
Анімаційні ефекти	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Не варто зловживати різними анімаційними ефектами, вони не повинні відволікати увагу від змісту інформації на слайді</li> </ul>

### Представлення інформації

Зміст інформації	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ використовуйте короткі слова і пропозиції</li> <li>▪ мінімізуйте кількість прикметників, прислівників, прикметників</li> <li>▪ заголовки повинні привертати увагу аудиторії</li> </ul>
Розташування інформації на сторінці	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ переважно горизонтальне розміщення інформації</li> <li>▪ найбільш важлива інформація повинна розташовуватися в центрі екрану</li> <li>▪ якщо на слайді розташовується рисунок, фото напис повинен розташовуватися під ним</li> </ul>
Шрифти	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ для заголовків – не менше за 24</li> <li>▪ для інформації не менше за 18</li> <li>▪ не можна змішувати різні типи шрифтів в одній презентації</li> <li>▪ для виділення інформації слід використовувати жирний шрифт, курсив або підкреслення</li> <li>▪ не можна зловживати прописними буквами (вони читаються гірше рядкових)</li> </ul>
Способи виділення інформації	<p>Слід використовувати:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ рамки; кордони, заливку; штрихування, стрілки</li> <li>▪ рисунки, діаграми, схеми для ілюстрації найбільш важливих фактів</li> </ul>
Обсяг інформації	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ не варто заповнювати один слайд дуже великим об'ємом інформації: люди можуть одноразово запам'ятати не більше трьох фактів, висновків, визначень</li> <li>▪ найбільша ефективність досягається тоді, коли ключові пункти відображаються по одному на кожному окремому слайді</li> </ul>
Види слайдів	<p>Для забезпечення різноманітності слід використовувати різні види слайдів:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ з текстом</li> <li>▪ з таблицями</li> <li>▪ з діаграмами</li> </ul>

## УМОВИ СТЕРИЛІЗАЦІЇ ПОСУДУ, ІНСТРУМЕНТІВ, ЖИВИЛЬНИХ СЕРЕДОВИЩ ТА ІНВЕНТАРЯ

Співвідношення температур і тисків під час автоклавування

Тиск насиченої пари в автоклаві, кПа	Температура, °С
34,47	108
68,95	116
103,42	121
137,90	127
172,37	131
206,84	134
1 атм.=101,325 кПа	

Температурні умови стерилізації живильних середовищ,  
посуду, інструментів та інвентарю

Вид стерилізації	Об'єкт стерилізації	Температура/ тиск, °С / атм.	Час стерилізації, хв
Обробка парюю під тиском (автоклавування)	середовище	115–121 / 0,7–1	15–30
	посуд (чашки Петрі, термостійкі колби)	110–115 / 0,5	20–40
		121 / 1	15
	інвентар (вата, марля, ватні пробки, фільтрувальний папір)	134 / 2	25–30
Сухий спосіб (сухожарова шафа)	посуд (чашки Петрі, термостійкі колби)	140	120
		160	80
		170	60
	інструменти* (скальпелі, пінцети, голки і тощо)	140	120
		160	80

\*Шприці, ножиці тощо зручніше кип'ятити. Металеві предмети не можна автоклавувати: під впливом пари вони іржавіють і тупляться.

## Додаток Г

### СКЛАД ЖИВИЛЬНИХ СЕРЕДОВИЩА МУРАСІГЕ–СКУГА (МС) ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ РОСЛИН *IN VITRO*

Компоненти середовища	Кількість на 1 л			
	безгормон. для асепт. проростків	для індукції калусо- генезу	½ МС для клон. мікророзмн.	для суспенз. культури
Маточні розчини макросолей	100 мл	100 мл	50 мл	100 мл
Маточні розчини мікросолей	1 мл	1 мл	0,5 мл	1 мл
Fe-хелат	5 мл	5 мл	2,5 мл	5 мл
Вітаміни: РР	0,5 мг	0,5 мг	0,5 мг	0,5 мг
В1	1 мг	1 мг	1 мг	1 мг
В6	1 мг	1 мг	1 мг	1 мг
Мезоінозит	100 мг	100 мг	50 мг	100 мг
ФГ: НОК	-	-	0,5–1 мг	-
ІОК	-	-	0,5–1 мг	0,5–1 мг
2,4-Д	-	2–10 мг	-	2–5 мг
Кінетин	-	-	1–3 мг	-
БАП	-	-	1–3 мг	1–3 мг
Сахароза	30 г	30 г	15 г	30 г
Агар-агар	7 г	7 г	7 г	-

## Додаток Д

### СКЛАД ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ КЛОНАЛЬНОГО МІКРОРОЗМНОЖЕННЯ РІЗНИХ РОСЛИН

Компоненти середовища на 1 л	Об'єкт (вид/рід, сорт рослини)					
	Картопля <i>Solanum tuberosum</i>	Суниця <i>Fragaria sp.</i>	Капуста <i>Brassica oleracea</i>	Роза <i>Rosa sp.</i>	Лілія <i>Lilium sp.</i>	Фіалка <i>Saintpaulia ionantha</i>
Маточні р-ни макросолей	50 мл	50 мл	50 мл	50 мл	50 мл	50 мл
Маточні р-ни мікросолей	0,5 мл	0,5 мл	0,5 мл	0,5 мл	0,5 мл	0,5 мл
Fe-хелат	2,5 мл	2,5 мл	2,5 мл	2,5 мл	2,5 мл	2,5 мл
Вітаміни: РР	0,5 мг	0,5 мг	0,5 мг	0,5 мг	0,5 мг	0,5 мг
В1	1 мг	1 мг	1 мг	1 мг	1 мг	1 мг
В6	1 мг	1 мг	1 мг	1 мг	1 мг	1 мг
Мезоінозит	50 мг	50 мг	50 мг	50 мг	50 мг	50 мг
ФГ: НОК	0,5 мг	0,5 мг	0,5 мг	0,5 мг	0,5 мг	0,1–0,5 мг
ІОК	0,5 мг	0,5 мг	0,5 мг	0,5 мг	0,5 мг	0,1–0,5 мг
Кінетин	1–3 мг	1–3 мг	1–3 мг	1–3 мг	1–3 мг	1–3 мг
БАП	1–3 мг	1–3 мг	1–3 мг	1–3 мг	1–3 мг	1–3 мг
Сахароза	15 г	20 г	20 г	20 г	20 г	20 г
Агар-агар	7 г	7 г	7 г	7 г	7 г	7 г

### СКЛАД ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНДУКЦІЇ РІЗНИХ ШЛЯХІВ МОРФОГЕНЕЗУ КАЛУСНИХ КУЛЬТУР

Компоненти середовища на 1 л	Прояв органогенезу		
	Гемогенез	Ризогенез	Ембріоїдогенез
Маточні р-ни макросолей	50 мл	50 мл	50 мл
Маточні р-ни мікросолей	0,5 мл	0,5 мл	0,5 мл
Fe-хелат	2,5 мл	2,5 мл	2,5 мл
Вітаміни: РР	0,5 мг	0,5 мг	0,5 мг
В1	1 мг	1 мг	1 мг
В6	1 мг	1 мг	1 мг
Мезоінозит	50 мг	50 мг	50 мг
ФГ: НОК	-	0,5–1 мг	0,2 мг
ІОК	-	0,5–1 мг	0,2 мг
2,4-Д	-	-	0,2–1 мг
Кінетин	1–3 мг	0–0,5 мг	0–0,1 мг
БАП	1–3 мг	0–0,5 мг	0–0,1 мг
Сахароза	20 г	20 г	20–30 г
Агар-агар	7 г	7 г	7 г

Навчальне видання

**Авксентьєва** Ольга Олександрівна

**ОТРИМАННЯ ТА ВИКОРИСТАННЯ  
КАЛУСНИХ КУЛЬТУР**

Навчально-методичний комплекс

*Видання друге*

Комп'ютерне верстання *О. О. Авксентьєва*

В авторській редакції

Формат 60x84/16. Ум. друк. арк. 3,33. Наклад 50 пр.

Видавець і виготовлювач

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна,  
61022, м. Харків, майдан Свободи, 4.

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК №3367 від 13.01.2009  
Видавництво ХНУ імені В. Н. Каразіна