

Белорусский государственный университет



« 18 » марта 2011 г.

Регистрационный № УД -4050/уч.

Культура клеток, тканей и органов растений

Учебная программа для специальности:
1-31 01 01 Биология (по направлениям)
направления 1-31 01 01 - 03 Биология (биотехнология)

2011 г.

СОСТАВИТЕЛЬ:

Татьяна Ивановна Дитченко, доцент кафедры физиологии и биохимии растений Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук, доцент

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

Ирина Валерьевна Павлова, заведующая группой биотехнологии Республиканского научно-производственного дочернего унитарного предприятия «Институт овощеводства» Национальной академии наук Беларуси, кандидат биологических наук;

Ольга Валентиновна Фомина, доцент кафедры микробиологии Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук, доцент

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ В КАЧЕСТВЕ УЧЕБНОЙ:

Кафедрой физиологии и биохимии растений Белорусского государственного университета (протокол № 15 от 15 марта 2011 г.);

Учебно-методической комиссией биологического факультета Белорусского государственного университета (протокол № 8 от 16 марта 2011 г.);

Научно-методическим советом Белорусского государственного университета (протокол № 2 от 18 марта 2011 г.)

Ответственный за редакцию: Татьяна Ивановна Дитченко

Ответственный за выпуск: Татьяна Ивановна Дитченко

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Культура клеток высших растений является уникальной экспериментально созданной биологической системой – популяцией дедифференцированных соматических клеток, имеющих возможность в определенных условиях регенерировать интактное растение. Такая система может служить модельным объектом для изучения многих биохимических и физиологических процессов в растительном организме. За последние десятилетия культура клеток из лабораторного метода превратилась в теоретическую и технологическую основу биотехнологии растений. Поэтому изучение биологии растительных клеток *in vitro* и возможностей их использования для создания перспективных, принципиально новых биотехнологий является важным компонентом подготовки студентов-биотехнологов.

Предметом курса «Культура клеток, тканей и органов растений» являются принципы и методы культивирования *in vitro* клеток и тканей растений, а также биотехнологии на их основе. Курс предусматривает изучение физиологических, цитологических и генетических особенностей, свойственных клеточкам растений, культивируемым *in vitro*, поскольку такие знания совершенно необходимы для разработки современных биотехнологических методов и процессов.

Цель курса – освоение студентами теоретических основ и методических принципов культивирования клеток, тканей и органов растений и ознакомление с фундаментальными и прикладными аспектами использования культивируемых растительных клеток.

В **задачи дисциплины** входит изучение методов получения и поддержания в условиях *in vitro* каллусных, суспензионных культур, гаплоидных клеток, изолированных протопластов; изучение физиолого-биохимических процессов у растительных клеток в культуре, а также биотехнологий на основе культивируемых растительных клеток.

В результате изучения дисциплины обучаемый должен:

знать:

- технику введения в культуру и методы выращивания *in vitro* изолированных клеток и тканей растений;
- цитологические, генетические и физиолого-биохимические особенности популяций длительно культивируемых растительных клеток и тканей;
- перспективы использования клеточных культур для получения экономически важных биологически активных веществ;
- суть технологий микрклонального размножения растений и получения оздоровленного посадочного материала;
- технологии для облегчения и ускорения селекционного процесса, а также способы генетической трансформации растений;
- место и роль культуры клеток и тканей в сохранении генофонда высших растений.

уметь:

- осуществлять асептические процедуры по получению и пассированию каллусных и суспензионных культур;
- производить учет показателей роста клеточных культур, оценку их жизнеспособности и морфологических характеристик;
- определять направление морфогенеза в культуре клеток и тканей на основе варьирования соотношения ауксинов и цитокининов в питательной среде;
- применять знания об особенностях культивируемых растительных клеток при осуществлении биотехнологических процессов на их основе.

При чтении лекционного курса необходимо использовать технические средства обучения для демонстрации слайдов и презентаций, наглядные материалы в виде таблиц и схем.

Теоретические положения лекционного курса развиваются и закрепляются на лабораторных занятиях, при выполнении которых студенты знакомятся с методическими принципами культивирования различных растительных объектов в асептических условиях и получают соответствующие практические навыки.

При организации самостоятельной работы студентов по курсу следует использовать комплекс учебных и учебно-методических материалов в сетевом доступе (программу, методические пособия, список рекомендуемых источников литературы и информационных ресурсов, задания в тестовой форме и вопросы для самоконтроля, темы рефератов).

Эффективность самостоятельной работы студентов проверяется в ходе текущего и итогового контроля знаний в форме устного опроса и тестового контроля по отдельным разделам курса. Для общей оценки усвоения студентами учебного материала рекомендуется введение рейтинговой системы.

Программа учебного курса рассчитана на 102 часа, в том числе 40 часов аудиторных: 26 – лекционных, 10 – лабораторных занятий, 4 – контролируемой самостоятельной работы.

ПРИМЕРНЫЙ ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН

№ п/п	Наименование разделов, тем	Количество часов				
		Аудиторные				Самост. работа
		Лекции	Практ., семинар.	Лаб. занятия	КСР	
1	Введение	2	–	–	–	4
2	Методы культивирования <i>in vitro</i> клеток и тканей высших растений	10	–	8	–	22
3	Биология клеток высших растений <i>in vitro</i>	4	–	2	2	10
4	Биотехнологии на основе культивируемых клеток, тканей и органов растений	10	–	–	2	26
	ИТОГО:	26	–	10	4	62

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

1. ВВЕДЕНИЕ

Культура клеток, тканей и органов растений: предмет, задачи. История развития методов культивирования изолированных клеток, тканей и органов растений. Значение культуры клеток, тканей и органов растений для решения фундаментальных проблем биологии. Культура клеток и тканей как основа биотехнологии растений.

2. МЕТОДЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *IN VITRO* КЛЕТОК И ТКАНЕЙ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Условия асептики при выполнении работ по культивированию растительных объектов *in vitro*. Методы и приемы стерилизации растительного материала при введении в культуру. Питательные среды. Регуляторы роста растений и их применение для культивирования растительных клеток и тканей *in vitro*. Влияние физических факторов на физиологическое состояние изолированных клеток и тканей растений.

Каллусные культуры. Роль каллусной ткани в интактном растении. Получение каллусных тканей *in vitro*. Молекулярно-физиологические основы процесса дедифференциации клеток. Типы каллусных культур и их характеристика. Субкультивирование каллусов. Показатели роста каллусных культур. Использование каллусных тканей в фундаментальных исследованиях и биотехнологии.

Суспензионные культуры. Основные преимущества культивирования клеточных суспензий. Способы получения суспензионных культур. Типы клеточных суспензий. Факторы, влияющие на степень их агрегированности. Основные параметры суспензионных культур. Способы культивирования клеточных суспензий.

Культивирование одиночных клеток. Методы изолирования одиночных клеток. Методы выращивания *in vitro* одиночных клеток (метод культуры – няньки, метод плейтинга, метод микрокультуры). «Фактор кондиционирования». Значение культуры отдельных клеток для доказательства тотипотентности растительной клетки.

Культуры гаплоидных клеток. Методы получения гаплоидных растений. Основные пути андрогенеза. Факторы, влияющие на эффективность андрогенеза. Метод культуры пыльников и метод культуры микроспор, их преимущества и недостатки. Гиногенез *in vitro*. Способы идентификации гаплоидов.

Культуры изолированных протопластов. Использование изолированных протопластов для решения теоретических и прикладных проблем биологии. Методы получения протопластов. Условия и способы культивирования протопластов. Методы слияния протопластов, механизм слияния протопластов.

3. БИОЛОГИЯ КЛЕТОК ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ IN VITRO

Основные перестройки, происходящие при переводе клеток растений в культуру *in vitro*. Сравнительная характеристика соматических клеток высших растений и клеток, культивируемых в условиях *in vitro*. Морфологическая и генетическая гетерогенность популяций длительно культивируемых клеток высших растений. Сохранение эпигенетических особенностей растения донора. Асинхронность клеточных культур.

Рост клеток в культуре *in vitro*. Характеристика фаз ростового цикла. Способы синхронизации клеточных культур.

Дифференцировка клеток к культуре *in vitro*. Типы дифференцировки. Молекулярно-физиологические основы процесса дифференциации. Основные типы дифференцировки. Гистогенез. Физиологические аспекты стимуляции флоэмо- и ксилемогенеза. Морфогенез. Прямой и непрямой морфогенез. Морфофизиологическая характеристика ризогенеза, флорального и стеблевого органогенеза. Факторы, определяющие возможность и направленность процесса органогенеза. Соматический эмбриогенез. Регенерация растений.

4. БИОТЕХНОЛОГИИ НА ОСНОВЕ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК, ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ РАСТЕНИЙ

Клеточные технологии получения экономически важных биологически активных веществ растительного происхождения. Преимущества использования клеточных культур в качестве продуцентов биологически активных веществ по сравнению с интактными растениями. Особенности вторичного метаболизма в культурах изолированных клеток высших растений. Факторы, влияющие на накопление вторичных метаболитов культивируемыми клетками растений.

Ферментерное выращивание биомассы клеток-продуцентов, конструктивные особенности биореакторов. Режимы культивирования растительных клеток в биореакторах. Этапы работ по созданию промышленных технологий для получения биологически активных веществ с помощью культивируемых клеток растений. Преимущества и перспективы использования иммобилизованных растительных клеток в биотехнологических производствах. Основные направления использования культивируемых растительных клеток для биотрансформации.

Биотехнологии клонального микроразмножения и оздоровления растений. Преимущества клонального микроразмножения в сравнении с традиционными методами вегетативного размножения растений. Области применения микроразмножения. Требования к объектам, используемым для клонального микроразмножения растений *in vitro*. Способы микроклонирования растений. Характеристика основных этапов микроразмножения. Физиологические особенности регенерантов и необходимость в создании особых условий их адаптации *ex vitro*. Факторы, влияющие на эффективность процесса микроклонального размножения растений. Методы получения безвирусного посадочного материала, возможности и перспективы их использования.

Культура изолированных клеток и тканей в селекции и генетической инженерии растений. Общая характеристика технологий на основе культивируемых растительных клеток, применяемых в селекции и генетике растений.

Использование метода эмбриокультуры для преодоления *in vitro* прогамной и постгамной несовместимости при скрещивании таксономически отдаленных партнеров. Культивирование незрелых гибридных зародышей. Экспериментальная гаплоидия. Основные преимущества и направления использования гаплоидов в генетической и селекционной работах. Соматональная вариабельность растительных клеток и ее использование в биотехнологии. Мутагенез и клеточная селекция растений в культуре *in vitro*. Гибридизация соматических клеток (межвидовая и межродовая) и ее роль в селекционном процессе. Цибридизация. Перенос клеточных органелл.

Генетическая трансформация растений. Основные направления в создании трансгенных растений. Общие принципы разработки конструкций для генетической трансформации растений. Характеристика методов введения экзогенного генетического материала в растительные клетки. Генетическая трансформация растений *in vitro* с помощью *Agrobacterium* spp. Баллистический метод генетической трансформации растений.

Использование культур растительных клеток для сохранения генофонда высших растений. Необходимость и проблемы сохранения генофонда растений. Особенности методов сохранения растительных культур *in vitro*. Характеристика пересадочных коллекций. Депонирование культур клеток, тканей и органов растений. Основные этапы технологии криоконсервации растительных объектов.

ЛИТЕРАТУРА

О с н о в н а я:

1. Биотехнология растений: культура клеток. М. : Агропромиздат, 1989. 280 с.
2. Бутенко, Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: учеб. пособие / Р.Г. Бутенко. М. : ФБК–ПРЕСС, 1999. 160 с.
3. Валиханова, Г.Ж. Биотехнология растений / Г.Ж. Валиханова. Алматы : «Конжык», 1996. 272 с.
4. Войнов Н. А. Современные проблемы и методы биотехнологии: электрон. учеб. пособие / Н. А. Войнов, Т. Г. Волова, Н. В. Зобова и др. ; под науч. ред. Т. Г. Воловой. – Красноярск: ИПК СФУ, 2009.
5. Войнов Н. А. Современные проблемы и методы биотехнологии: лаб. практикум / Н. А. Войнов, Т. Г. Волова, Н. В. Зобова и др. – Красноярск: ИПК СФУ, 2009.
6. Дитченко, Т.И. Культура клеток, тканей и органов растений: курс лекций / Т. И. Дитченко. Мн.: БГУ, 2007.
7. Дитченко, Т.И. Культура клеток, тканей и органов растений: методические рекомендации к лабораторным занятиям, задания для контроля самостоятельной работы студентов / Т. И. Дитченко. Мн.: БГУ, 2007.

8. *Егорова, Т.А.* Основы биотехнологии: учеб. пособие / Т.А. Егорова, С.М. Клунова, Е.А. Живухина. М. : Изд. Центр «Академия», 2003. 208 с.
9. *Картель, Н. А.* Биотехнология в растениеводстве: учебник / Н.А. Картель, А.В. Кильчевский. Мн.: Технология, 2005. 310 с.
10. *Муромцев, Г.С.* Основы сельскохозяйственной биотехнологии / Г.С. Муромцев, Р.Г. Бутенко, Т.И. Тихоненко, М.И. Прокофьев. М. : Агропромиздат, 1990. 384 с.
11. *Першина Л.А.* Культивирование изолированных клеток и тканей высших растений: учеб. пособие. Ч. 1. / Л.А. Першина. Новосибирск : НГУ, 2000. 46 с.
12. *Сельскохозяйственная биотехнология: учебник / В.С. Шевелуха, Е.А. Калашникова, Е.С. Воронин [и др.].* М. : Высш. шк., 2003. 469 с.

Д о п о л н и т е л ь н а я :

1. Биотехнология сельскохозяйственных растений. М. : Агропромиздат, 1987. 302 с.
2. *Глик, Б.* Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б. Глик, Дж. Пастернак. М. : Мир, 2002. 589 с.
3. *Калинин, Ф.Л.* Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Ф.Л. Калинин, В.В. Сарнацкая, В.Е. Полищук. Киев: Наукова думка, 1980. 356 с.
4. *Endreb R.* Plant Cell Biotechnology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 1994. 353 p.