

Белорусский государственный университет

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе

А.Л. Толстик

« 06 » июня 2011 г.

Регистрационный № УД - 4226 /уч.

Биотехнология растений и биобезопасность

Учебная программа для специальности:

1-31 01 01 Биология

специализаций 1-31 01 01-01 07 и 1-31 01 01-02 07 Генетика

2011 г.

СОСТАВИТЕЛЬ:

Александр Петрович Ермишин, заведующий лабораторией генетики картофеля Государственного научного учреждения «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси», доктор биологических наук, доцент

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

Олег Георгиевич Давыденко, заведующий лабораторией нехромосомной наследственности Государственного научного учреждения «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси», доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент НАН Беларуси;

Евгений Артурович Николайчик, доцент кафедры молекулярной биологии Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук, доцент

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ В КАЧЕСТВЕ УЧЕБНОЙ:

Кафедрой генетики Белорусского государственного университета
(протокол № 13 от 10 мая 2011 г.);

Учебно-методической комиссией биологического факультета Белорусского государственного университета
(протокол № 11 от 26 мая 2011 г.);

Научно-методическим советом Белорусского государственного университета
(протокол № 4 от 31 мая 2011 г)

Ответственный за редакцию: Александр Петрович Ермишин

Ответственный за выпуск: Александр Петрович Ермишин

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Предметом курса «Биотехнология растений и биобезопасность» является изучение фундаментальных основ и методологии культуры клеток растений *in vitro* и генетической инженерии растений, использование достижений этой науки в селекционно-генетических исследованиях и хозяйственной деятельности. В задачу курса входит рассмотрение многообразия направлений биотехнологии растений, изучение подходов, основанных на использовании методов культуры клеток растений, для решения различных селекционно-генетических проблем. Большое внимание уделено знакомству с достижениями генетической инженерии растений на современном этапе и их использованию в сельском хозяйстве и других областях человеческой деятельности. В курсе также рассматриваются вопросы безопасности генно-инженерной деятельности, которые приобрели значительную актуальность в связи со стремительным ростом продукции трансгенных культур. Одна из задач спецкурса – дать студентам практические навыки проведения работ с изолированными тканями и клетками растений в условиях асептики. Изучаемая дисциплина связана с некоторыми областями физиологии и биохимии растений, генетики и селекции растений, молекулярной биологии и биотехнологии, экологии.

В результате изучения дисциплины обучаемый должен:

знать:

- историю разработки методов биотехнологии растений;
- базовые принципы культуры клеток, тканей и протопластов растений *in vitro*;
- методические основы культивирования органов, тканей, клеток и протопластов растений *in vitro*;
- направления использования культуры органов, тканей, клеток и протопластов растений для производства химических соединений, клонального размножения растений *in vitro*, сохранения генетических коллекций *in vitro*, для повышения эффективности селекции растений;
- основы генетической инженерии растений и направления практического использования трансгенных растений;
- принципы безопасности генно-инженерной деятельности.

уметь:

- использовать полученные при изучении курса знания для более глубокого понимания современных проблем генетики, селекции и сельского хозяйства;
- использовать полученные при изучении курса знания для решения конкретных задач селекции, экологии и биотехнологии, а также применять полученные знания в дальнейшей практической деятельности.

Для организации самостоятельной работы студентов по курсу предполагается использовать современные информационные технологии: разместить в сетевом доступе комплекс учебных и учебно-методических материалов (программа, учебные пособия, методические указания к

лабораторным занятиям, список рекомендуемой литературы и информационных ресурсов, задания в тестовой форме для самоконтроля и др.).

Эффективность самостоятельной работы студентов целесообразно проверять в ходе текущего и итогового контроля знаний – докладов и презентаций, написания рефератов, тестового компьютерного контроля по темам и разделам курса. Для общей оценки качества усвоения студентами учебного материала рекомендуется использование рейтинговой системы.

Программа курса рассчитана на 102 часа, из них 40 аудиторных: 26 лекционных, 10 часов лабораторных занятий, 4 часа контролируемой самостоятельной работы.

ПРИМЕРНЫЙ ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН

№ разделов и тем	Наименование разделов и тем	Всего	Лекционные часы	Лабораторные занятия	КСР	Сам. работа
1-2.	Введение Методические основы культивирования органов, тканей, клеток и протопластов растений <i>in vitro</i>	4	2			2
3.	Базовые принципы культуры клеток, тканей и протопластов растений <i>in vitro</i>	8	2	2		4
4.	Использование культуры клеток растений для производства химических соединений	8	2			6
5.	Культура апикальных меристем. Клональное размножение растений <i>in vitro</i> . Сохранение генетических коллекций <i>in vitro</i>	12	2	2		8
6.	Клеточная селекция	12	2	2	2	6
7.	Получение гаплоидов и манипуляции с плоидностью для повышения эффективности селекции растений	14	2	2		10
8.	Использование методов культуры клеток и тканей растений <i>in vitro</i> для преодоления межвидовых репродуктивных барьеров	8	2			6
9.	Основы генетической инженерии растений	14	4	2		8
10.	Направления практического использования трансгенных растений	6	2			4

11.	Основы безопасности генно-инженерной деятельности	16	6		2	8
ИТОГО:		102	26	10	4	62

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

1. Введение

Традиционная и современная (новая) биотехнология, биотехнология растений, биобезопасность. История разработки методов биотехнологии растений.

2. Методические основы культивирования органов, тканей, клеток и протопластов растений *in vitro*

Оборудование и инструменты. Методы стерилизации помещений, инструментов, питательных сред. Компоненты питательных сред и их значение. Приготовление питательных сред. Вычлнение и стерилизация эксплантатов. Условия культивирования. Перенос культур на свежую питательную среду.

3. Базовые принципы культуры клеток, тканей и протопластов растений *in vitro*.

Дедифференцировка как условие перехода специализированной клетки к делению и образованию каллюсной ткани. Гормоны – индукторы дедифференцировки. Цитоморфологические особенности и фазы роста каллюсных культур. Явление “привыкания” (гормоннезависимость). Гетерогенность каллюсной ткани. Генетические и эпигенетические изменения клеток в культуре *in vitro*. Культура клеток растений (суспензионная культура). Культура одиночных клеток. Получение колоний из клеточных суспензий. Тотипотентность растительных клеток. Вторичная цитодифференцировка: гистогенез, органогенез, эмбриогенез. Индукция морфогенеза. Гормоны – индукторы морфогенеза. Получение растений-регенерантов. Культура протопластов растений. Парасексуальная (соматическая) гибридизация путем слияния протопластов. Способы слияния протопластов. Методы отбора соматических гибридов. Симметричные и асимметричные соматические гибриды.

4. Использование культуры клеток растений для производства химических соединений

Вторичные метаболиты, их роль в жизни растений и ценность для человека. Синтез вторичных метаболитов в культуре клеток растений. Селекция и сохранение клеточных культур-продуцентов вторичных метаболитов. Биотехнология производства вторичных метаболитов в культуре клеток растений.

5. Культура апикальных меристем. Клональное размножение растений *in vitro*. Сохранение генетических коллекций *in vitro*

Использование культуры апикальных меристем для получения свободного от патогенов посадочного материала. Клональное размножение растений *in vitro* (микроразмножение). Методы микроразмножения: индукция развития пазушных меристем, образование адвентивных побегов, регенерация из каллюса. Направления промышленного микроразмножения растений. Сохранение генофонда: коллекции пробирочных растений, получение микроклубней и микролуковиц, криоконсервация клеточных культур.

6. Клеточная селекция

Гетерогенность и генетическая изменчивость клеток в культуре *in vitro* как основа клеточной селекции. Соматоклональная изменчивость. Мутагенез и селекция мутантов *in vitro*. Экспрессия мутаций у растений-регенерантов. Основные направления практического использования клеточной селекции: получение растений, толерантных к гербицидам, устойчивых к стрессам, к болезням, повышение продукции незаменимых аминокислот.

7. Получение гаплоидов и манипуляции с ploидностью для повышения эффективности селекции растений

Культура *in vitro* пыльников и микроспор. Особенности морфогенеза в культуре пыльников и микроспор. Проблема альбинизма растений-регенерантов, полученных в культуре пыльников и микроспор злаковых растений. Культура неоплодотворенных семязачек и завязей. Получение гаплоидов с помощью гаплопродюсеров. Гаметоклональная изменчивость и ее использование в селекции. Удвоенные гаплоиды в селекции самоопылителей и перекрестников. Изменчивость растений-регенерантов, полученных из нередуцированных гамет. Манипуляции с ploидностью исходного материала для повышения эффективности селекции полиплоидов (на примере картофеля): получение дигаплоидов, отбор на диплоидном уровне и его преимущества по сравнению с селекцией на тетраплоидном уровне, возвращение на тетраплоидный уровень (митотическое и мейотическое удвоение хромосом, соматическая гибридизация).

8. Использование методов культуры клеток и тканей растений *in vitro* для преодоления межвидовых репродуктивных барьеров

Пре- и постзиготная (постгамная) межвидовая несовместимость. Опыление *in vitro* для преодоления межвидовой несовместимости. Применение эмбриокультуры для устранения последствий постгамной межвидовой несовместимости. Получение межвидовых гибридов путем слияния протопластов для интрогрессии ценных генов в селекционный материал. Проблемы беккроссирования соматических гибридов культурным родителем и способы их решения.

9. Основы генетической инженерии растений

Технология рекомбинантных ДНК. Этапы создания генно-инженерных организмов (ГИО). Методы выделения, идентификации и клонирования генов. Строение трансгенных конструкций. Целевые гены. Трансгены и цисгены. Селективные и репортерные гены. Регуляторные элементы. Смысловые и антисмысловые конструкции. Методы переноса генов в растения. Агробактериальная трансформация. Метод биолистики. Трансформация протопластов. Отбор и молекулярно-генетический анализ трансгенных растений. Детекция ГМ-компонентов в продуктах питания и кормах. Проблема экспрессии трансгенов. Получение трансгенных растений без селективных генов.

10. Направления практического использования трансгенных растений

Трансгенные растения, толерантные к гербицидам. Трансгенные растения, устойчивые к насекомым-вредителям. Трансгенные растения, устойчивые к вирусам. Трансгенные растения с улучшенными качественными и технологическими характеристиками: удлиненный срок хранения, улучшенный состав жирных кислот в масле, продукция безамилозного крахмала, улучшенные кормовые характеристики, пониженное содержание вредных для здоровья компонентов, пригодность для производства биотоплива. Трансгенные растения с системой мужской стерильности/восстановления фертильности для получения гетерозисных гибридов. Трансгенные растения, устойчивые к стрессам. Трансгенные растения, устойчивые к грибным болезням. Трансгенные растения-продуценты протеинов фармацевтического и другого назначения.

11. Основы безопасности генно-инженерной деятельности

Базовые принципы и методология оценки риска генно-инженерной деятельности.

Оценка риска возможных неблагоприятных эффектов ГИО на здоровье человека. Основные факторы риска генно-инженерной деятельности для здоровья человека. Оценка риска патогенности ГИО для человека. Подходы к исследованию пищевой безопасности ГИО. Применение концепции существенной эквивалентности для оценки безопасности ГИО и ГМ-продуктов питания. Потенциальная токсичность новых для организма-хозяина молекулярных продуктов трансгенов. Потенциальная аллергенность ГМ-продуктов. Вероятность горизонтального переноса маркерных генов устойчивости к антибиотикам.

Оценка риска возможных неблагоприятных эффектов ГИО для окружающей среды. Экологические риски, связанные с высвобождением и распространением ГИО в окружающей среде. Появление новых сорняков в результате генетической модификации или переноса трансгенов диким родственными видами. Миграция и последующая интрогрессия трансгена в дикие популяции в результате вертикального или горизонтального переноса

генов. Неблагоприятные эффекты ГИО на организмы, не являющиеся мишенью привнесенного признака. Появление живых организмов, резистентных или толерантных к продуктам трансгенов. Влияние трансгенных вирусных ДНК (РНК) на естественную эволюцию вирусов. Сокращение биологического разнообразия в результате изменения естественных биоценозов. Оценка экологического риска использования ГИО.

Государственное регулирование в области безопасности генно-инженерной деятельности. Международные соглашения по биобезопасности.

ИНФОРМАЦИОННАЯ ЧАСТЬ

ЛИТЕРАТУРА

Основная:

1. Биотехнология. Биобезопасность. Биоэтика. (Под ред. А.П. Ермишина). Мн.: Тэхналогія. 2005.
2. *Бутенко, Р.Г.* Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. М.: ФБК-ПРЕСС, 1999.
3. *Глик Б., Пастернак Дж.* Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. М.: Мир, 2002.
4. *Картель Н.А., Кильчевский А.В.* Биотехнология в растениеводстве. Мн.: Тэхналогія. 2005.
5. *Кузьмина, Н.А.* Основы биотехнологии. Эл.-ресурс: <http://www.biotechnolog.ru/map.htm>.
6. Сельскохозяйственная биотехнология (под ред. В.С. Шевелухи). М.: Высшая школа. 1998.

Дополнительная:

1. Биотехнология растений: культура клеток (пер. с англ/ под ред. Р.А. Диксона) М.: Агропромиздат, 1989.
2. *Глеба Ю.Ю., Сытник К.М.* Клеточная инженерия растений. Киев.: Наукова думка. 1984.
3. *Ермишин А.П.* «Генетически-модифицированные организмы: мифы и реальность». Мн. «Тэхналогія», 2004.
4. *Ермишин А.П., Воронкова Е.В., Козлов В.А.* Картофель / В кн. «Генетические основы селекции растений» в 4 т. Т.2. Частная генетика растений / науч ред. А.В. Кильчевский, Л.В.Хотылева. – Минск: Беларус. навука, 2010.
5. *Калинин Ф.А., Кушнир Г.А., Сарнацкая В.В.* Технология микроклонального размножения растений. Киев.: Наукова думка. 1992.
6. *Сидоров В.А.* Биотехнология растений: клеточная селекция. Киев.: Наукова думка. 1990.