

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
Биологический факультет  
Кафедра физиологии и биохимии растений

СОГЛАСОВАНО  
Председатель учебно-методической  
комиссии биологического факультета  
Поликсенова В.Д.

В.Поликсенова  
«30» июня 2013 г.

СОГЛАСОВАНО  
Декан биологического  
факультета  
Лысак В.В.

  
«03» іюня 2013 г.  
Регистрационный номер № УД-64

**УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС ПО  
УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЕ**

**Культура клеток, тканей и органов  
растений**

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

Составитель: канд. биол. наук, доцент Дитченко Т.И.

Рассмотрено и утверждено  
на заседании  
Научно-методического совета БГУ

«27» июня 2013 г.  
протокол №6

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

Кафедра ботаники и основ сельского хозяйства Учреждения образования «Белорусский государственный педагогический университет им. М. Танка»;

Волотович Антон Анатольевич, декан биотехнологического факультета Учреждения образования «Полесский государственный университет», кандидат биологических наук, доцент

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА</b>	4
<b>1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ</b>	5
<b>2. ПРАКТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ</b>	5
<b>3. КОНТРОЛЬ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ</b>	5
Структура рейтинговой системы	5
Задания и тесты для самоконтроля	6
Темы рефератов	9
Вопросы для подготовки к экзамену	11
<b>4. ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ</b>	13
Учебно-программные материалы	13
Список рекомендуемой литературы и Интернет-ресурсов	13

## ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Учебно-методический комплекс (УМК) по учебной дисциплине «Культура клеток, тканей и органов растений» создан в соответствии с требованиями Положения об учебно-методическом комплексе на уровне высшего образования и предназначен для студентов специальности 1-31 01 01 Биология (по направлениям) направления специальности 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология). Главная цель УМК – оказание методической помощи студентам в систематизации учебного материала в процессе подготовки к итоговой аттестации по курсу «Культура клеток, тканей и органов растений».

Структура УМК включает:

1. Учебно-методическое обеспечение дисциплины

1.1. Теоретический раздел (учебное издание для теоретического изучения дисциплины в объеме, установленном типовым учебным планом по специальности).

1.2. Практический раздел (материалы для проведения лабораторных занятий по дисциплине в соответствии с учебным планом).

2. Контроль самостоятельной работы студентов (материалы текущей и итоговой аттестации, позволяющие определить соответствие учебной деятельности обучающихся требованиям учебно-программной документации, в т.ч. вопросы для подготовки к экзамену, задания, тесты, вопросы для самоконтроля, тематика рефератов и др.).

3. Вспомогательный раздел.

3.1. Учебно-программные материалы (учебная программа и учебная программа (рабочий вариант)).

3.2. Информационно-аналитические материалы (список рекомендуемой литературы, перечень электронных образовательных ресурсов и их адреса и др.).

Работа с УМК должна включать на первом этапе ознакомление с тематическим планом дисциплины, представленным в учебной программе. С помощью рабочего варианта учебной программы по дисциплине можно получить информацию о тематике лекций и лабораторных занятий, перечнях рассматриваемых вопросов и рекомендуемой для их изучения литературы. Для подготовки к лабораторным занятиям и промежуточным зачетам рекомендуется использовать материалы, представленные в разделе учебно-методическое обеспечение дисциплины, а также материалы для текущего контроля самостоятельной работы. В ходе подготовки к итоговой аттестации рекомендуется ознакомиться со структурой рейтинговой системы, а также перечнем вопросов к экзамену. Для написания рефератов могут быть использованы информационно-аналитические материалы, указанные в соответствующем разделе УМК.

## 1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

Курс лекций

**Дитченко Т.И. Культура клеток, тканей и органов растений: курс лекций / Т.И. Дитченко. – Минск: БГУ, 2007. – 107 с.**

доступен по адресу <http://elib.bsu.by/handle/123456789/42225>

В курсе лекций рассмотрены принципы и методы культивирования изолированных клеток, тканей и органов растений, цитогенетические и физиолого-биохимические особенности культивируемых клеток, а также основные направления их использования в биотехнологии.

Презентации лекций по курсу размещены на сайте кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета БГУ по адресу [http://www.bio.bsu.by/fbr/kursy\\_plant\\_cell\\_culture\\_bio\\_bt.html](http://www.bio.bsu.by/fbr/kursy_plant_cell_culture_bio_bt.html)

## 2. ПРАКТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

Учебно-методическое пособие

**Дитченко Т.И. Культура клеток, тканей и органов растений: Метод. рекомендации к лабораторным занятиям, задания для самостоятельной работы и контроля знаний студентов / Т. И. Дитченко. – Минск: БГУ, 2007. – 23 с.**

доступно по адресу <http://elib.bsu.by/handle/123456789/42226>

Пособие включает ряд лабораторных работ, охватывающих основные разделы специального курса «Культура клеток, тканей и органов растений», а также задания для самостоятельной работы и контроля знаний студентов. Цель пособия – закрепить знания, полученные студентами в лекционном курсе, активизировать самостоятельную работу студентов. Пособие предназначено для студентов биологического факультета специальности 1-31 01 01 Биология направления 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология).

## 3. КОНТРОЛЬ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

### Структура рейтинговой системы

Структура рейтинговой системы приведена в учебной программе учреждения высшего образования по учебной дисциплине «Культура клеток, тканей и органов растений» для специальности 1-31 01 01 Биология (по направлениям) направления специальности 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология), которая доступна по адресу <http://elib.bsu.by/handle/123456789/50909>

## Задания и тесты для самоконтроля

Примерный вариант тестового задания промежуточного зачета

1. Какое соединение с ауксиновой активностью обычно используется для индукции процесса каллусогенеза?
 

А) 2,4-Д;	Г) НУК;
Б) ИМК;	Д) ФМК;
В) ИУК;	
2. Какие компоненты питательных сред можно стерилизовать автоклавированием?
 

1) сахароза;	4) ИУК;
2) антибиотики;	5) растительные экстракты;
3) зеатин;	6) микросоли.

 А) 1, 2, 5.    Б) 1, 3, 6.    В) 1, 4, 6.    Г) 2, 3, 5.    Д) 2, 4, 5.    Е) 2, 5, 6.
3. Выберите неправильное утверждение:
  - А) первичный каллус, как правило, относится к плотным каллусам;
  - Б) для получения плотных каллусов необходимо использовать каллусы рыхлого типа;
  - В) для того, чтобы «разрыхлить» каллус необходимо снизить концентрацию  $\text{Ca}^{2+}$  в питательной среде;
  - Г) темная окраска каллусов свидетельствует о старении культуры;
  - Д) плотные каллусы могут содержать зоны с трахеиподобными элементами;
  - Е) гетерогенность каллусов по клеточному составу связана с гетерогенностью исходного экспланта.
4. Чему равны индекс роста и удельная скорость роста каллусной культуры, если масса каллуса в начале цикла выращивания равна 3 г, в конце – 9 г, а продолжительность культивирования составляет 20 суток?
 

А) 4,0 и 0,2;	Г) 8,0 и 0,2;
Б) 2,0 и 0,1;	Д) 4,0 и 0,5;
В) 1,0 и 0,5;	Е) 2,0 и 0,1.
5. Какие из перечисленных факторов способствуют повышению степени агрегированности супензионной культуры?
  - 1) повышение уровня цитокининов в питательной среде;
  - 2) снижение уровня цитокининов в среде культивирования;
  - 3) добавление в питательную среду пектоцеллюлолитических ферментов в низких концентрациях;
  - 4) повышение уровня ауксинов в среде культивирования;
  - 5) повышение концентрации сахарозы и других углеводов в питательной среде;
  - 6) возрастание частоты субкультивирования.
 А. 1, 2, 5.    Б) 1, 5, 6.    В) 2, 3, 6.    Г) 2, 4, 5.    Д) 2, 4, 6.    Е) 2, 5, 6.

6. Выберите правильные утверждения относительно условий получения протопластов:

- 1) рекомендуется использовать в качестве доноров растений, выращенных в условиях низкой освещенности;
- 2) необходимо вводить в среду выделения и культивирования осмотический стабилизатор;
- 3) свет высокой интенсивности способствует повышению выхода жизнеспособных протопластов;
- 4) растения с бутонами наиболее пригодны для получения протопластов;
- 5) каллусные либо суспензионные культуры не могут быть использованы в качестве источников получения протопластов.

А) 1, 2.      Б) 1, 3.      В) 1, 4.      Г) 2, 5.      Д) 3, 5.      Е) 4, 5.

7. Какие из перечисленных характеристик относятся к клеткам, находящимся в стационарной фазе роста?

- 1) увеличение объема цитоплазмы;
- 2) повышение активности дыхания;
- 3) активация оксидаз и гидролаз;
- 4) максимальный объем вакуоли;
- 5) максимум синтеза РНК и белка;
- 6) синтез ферментов, ключевых вторичного метаболизма.

А) 1, 3, 6.      Б) 2, 3, 4.      В) 3, 4, 5.      Г) 3, 4, 6.      Д) 3, 5, 6.      Е) 4, 5, 6.

8. Что из перечисленного не относится к цитогенетическим особенностям популяций культивируемых *in vitro* растительных клеток?

- А) асинхронность;
- Б) сохранение эпигенетических особенностей растения-донора;
- В) повышение генетической гетерогенности в результате мутагенного воздействия регуляторов роста;
- Г) более высокая степень морфологической гетерогенности клеток суспензионных культур по сравнению с каллусными;
- Д) повышение уровня полидности клеток в результате увеличения продолжительности культивирования;
- Е) увеличение продолжительности митотического цикла.

9. Повышенная активность, какого ферmenta может быть использована в качестве маркера процесса ксилемогенеза?

- А) пероксидазы;
- Б) ксантиноксидазы;
- В) ФЕП-карбоксилазы;
- Г) кумаратлигазы;
- Д) фенилаланинамиаклиазы;
- Е) АЛК-синтетазы.

10. Какой тип дифференцировки может иметь место как в каллусных, так и суспензионных культурах?

- А) ризогенез;
- Б) флоральный органогенез;
- В) стеблевой органогенез;
- Г) соматический эмбриогенез;
- Д) ксилемогенез;
- Е) флоэмогенез.

11. Какие факторы способствуют повышению выхода БАВ в культурах растительных клеток?

- 1) повышение уровня сахарозы в питательной среде;
- 2) снижение уровня сахарозы в питательной среде;
- 3) добавление в среду культивирования предшественников вторичных метаболитов;
- 4) уменьшение концентрации фосфатов;
- 5) уменьшение концентрации 2,4-Д;
- 6) увеличение концентрации 2,4-Д.

А) 1, 2, 5.      Б) 1, 2, 4.      В) 1, 3, 5.      Г) 1, 4, 5.      Д) 4, 5, 6.

12. Какой из способов микроклонального размножения в наибольшей степени обеспечивает получение растений, идентичных исходному?

- А) прямой соматический эмбриогенез;
- Б) непрямой соматический эмбриогенез;
- В) индукция возникновения адвентивных побегов непосредственно из тканей экспланта;
- Г) индукция возникновения адвентивных побегов в каллусной ткани;
- Д) активация развития боковых и пазушных почек под действием экзогенных цитокининов.

13. При каком условии наблюдается стимуляция ризогенеза?

- А) в присутствии в питательной среде 2,4-Д в качестве ауксина;
- Б) при высоком соотношении между цитокининами и ауксинами (100:1);
- В) в присутствии только цитокининов;
- Г) при высоком соотношении между ауксинами и цитокининами;
- Д) при отсутствии регуляторов роста в среде культивирования.

14. Выберите правильные утверждения относительно метода эмбриокультуры:

- 1) для культивирования недифференцированных зародышей требуются достаточно сложные по составу питательные среды;
- 2) преодоление постгамной несовместимости, обусловленной физиологическими причинами, осуществляется путем получения гибридного каллуса и растений-регенерантов на его основе;
- 3) культивирование полностью сформированных зародышей требует добавления витаминов и растительных экстрактов в питательные среды;
- 4) постгамная несовместимость таксономически отдаленных партнеров является непреодолимой;
- 5) культивирование тканей летальных гибридных зародышей позволяет получать сомаклональные варианты.

А) 1, 5.      Б) 2, 3.      В) 2, 4.      Г) 3, 4.      Д) 3, 5.      Е) 4, 5.

15. Какие трансгенные растения получают в результате переноса генов PR-белков?

- 1) устойчивые к окислительному стрессу;
  - 2) устойчивые к насекомым-вредителям;
  - 3) устойчивые к грибам;
  - 4) устойчивые к бактериям;
  - 5) устойчивые к вирусам.
- А) 1, 2.      Б) 2, 3.      В) 2, 4.      Г) 3, 4.      Д) 3, 5.      Е) 4, 5.

### Темы рефератов

1. Культура клеток как модель для исследования физиологических процессов растений.
2. История развития методов культивирования растительных объектов *in vitro*.
3. Применение регуляторов роста для выращивания культур растительных клеток и тканей *in vitro*.
4. Физиолого-биохимические механизмы влияния экзогенных факторов на изолированные клетки, ткани и органы растений.
5. Морфологические, физиологические, биохимические и генетические характеристики каллусов.
6. Питательные среды и физические факторы культивирования каллусных тканей.
7. Морфологические, физиологические, биохимические и генетические характеристики суспензионных культур растительных клеток.
8. Физиолого-биохимические характеристики культивируемых растительных клеток на разных фазах ростового цикла.
9. Изолированные протопласты растений - объект и модель для физиологических исследований.
10. Использование изолированных протопластов в фундаментальных исследованиях и биотехнологии.
11. Основные подходы и условия культивирования *in vitro* одиночных растительных клеток.
12. Практические аспекты использования культур гаплоидных клеток.
13. Метод культуры пыльников: питательные среды и физические факторы культивирования.
14. Метод культуры пыльцы: питательные среды и физические факторы культивирования.
15. Получение гаплоидных растений методами гиногенеза *in vitro*.
16. Тотипотентность и типы дифференциации растительных клеток в культуре *in vitro*.
17. Основные этапы дифференцировки. Компетентное и детерминированное состояния клеток.
18. Дедифференциация тканей высших растений *in vitro* и каллусообразование.

19. Молекулярно-биологические характеристики и биохимические маркеры дифференцировки растительных клеток *in vitro*.
20. Физиологические аспекты стимуляции флоэмогенеза и ксилемогенеза в культурах *in vitro*.
21. Первичный и аддитивный, прямой и непрямой морфогенез *in vitro*.
22. Морфофизиологическая характеристика ризогенеза и стеблевого органогенеза.
23. Условия индукции флорального органогенеза *in vitro*.
24. Регенерация растений *in vitro*.
25. Асинхронность и генетическая гетерогенность популяций длительно культивируемых клеток высших растений.
26. Культура клеток и тканей как основа биотехнологии растений.
27. Клеточные технологии для получения экономически важных веществ растительного происхождения.
28. Регуляция синтеза вторичных соединений в культуре клеток растений.
29. Конструктивные особенности биореакторов для культивирования клеток растений.
30. Преимущества и ограничения использования иммобилизованных растительных клеток в биотехнологических производствах.
31. Использование процессов биотрансформации в производствах, основанных на культивировании клеток высших растений.
32. Культуры клеток и тканей лекарственных растений и перспективы их использования в фармации.
33. Типы регенерации, используемые для клонирования растений *in vitro*.
34. Физиологические особенности регенерантов и необходимость в создании особых условий для их адаптации *ex vitro*.
35. Особенности и перспективы методов получения безвирусного посадочного материала.
36. Основные способы клеточной селекции.
37. Мутагены и их применение на клеточных культурах.
38. Виды соматических гибридов и их анализ.
39. Природа и механизмы возникновения сомаклональной изменчивости.
40. Разнообразие сомаклональных вариантов и их практическое использование.
41. Векторы переноса генетической информации у растений.
42. Экспрессия чужеродных генов и ее регуляция в трансгенных растениях.
43. Отбор трансформированных клеток и регенерация растений.
44. Конструирование трансгенных растений, устойчивых к фитопатогенам.
45. Конструирование трансгенных растений, устойчивых к вирусам.
46. Конструирование трансгенных растений, устойчивых к насекомым и другим вредителям.
47. Конструирование трансгенных растений, устойчивых к гербицидам.
48. Конструирование трансгенных растений, устойчивых к окислительному и солевому стрессам.
49. Конструирование трансгенных растений-продуцентов целевых белков.

50. Получение трансгенных растений с измененной пищевой ценностью.
51. Получение трансгенных растений с измененным вкусом и внешним видом плодов, окраской цветков.
52. Экологические риски применения генетически трансформированных растений.
53. Оценка риска возможных неблагоприятных эффектов генно-инженерных организмов на здоровье человека.
54. Проблема сохранения генофонда высших растений и пути ее решения.
55. Криоконсервация клеток растений.

### **Вопросы для подготовки к экзамену**

1. Предмет культуры клеток, тканей и органов растений. Тотипотентность растительной клетки.
2. Значение метода культуры клеток, тканей и органов растений для решения фундаментальных проблем биологии.
3. Культура клеток и тканей как основа биотехнологии растений.
4. История развития метода культивирования клеток, тканей и органов растений.
5. Условия асептики при выполнении работ по культивированию растений *in vitro*.
6. Методы и приемы стерилизации растительного материала при введении в культуру.
7. Питательные среды для культивирования растительных клеток и тканей *in vitro*.
8. Регуляторы роста растений и их использование для культивирования растительных клеток и тканей *in vitro*.
9. Физические факторы, оптимальные для культивирования клеток и тканей *in vitro*.
10. Роль каллусной ткани в интактном растении. Фазы ее развития. Основные этапы получения каллусных культур.
11. Механизмы каллусогенеза.
12. Типы каллусных культур.
13. Использование каллусных культур в фундаментальных исследованиях и биотехнологии.
14. Основные преимущества супензионных культур для использования в биотехнологии.
15. Способы получения супензионных культур.
16. Типы супензионных культур. Факторы, влияющие на степень их агрегированности.
17. Способы культивирования клеточных супензий.
18. Основные показатели роста каллусных и супензионных культур.
19. Способы изолирования отдельных клеток.
20. «Фактор кондиционирования».

21. Методы выращивания *in vitro* одиночных клеток.
22. Андрогенез *in vitro*. Пути андрогенеза.
23. Метод культуры пыльников.
24. Метод культуры пыльцы.
25. Факторы, влияющие на эффективность андрогенеза.
26. Гиногенез *in vitro*.
27. Идентификация гаплоидов.
28. Направления использования гаплоидов.
29. Основные направления использования изолированных протопластов.
30. Методы и условия получения протопластов.
31. Способы и условия культивирования протопластов.
32. Слияние протопластов. Механизм слияния протопластов.
33. Сравнительная характеристика соматических клеток растений *in vivo* и *in vitro*.
34. Морфологическая и генетическая гетерогенность популяций растительных клеток *in vitro*.
35. Физиолого-биохимические особенности популяций растительных клеток *in vitro*.
36. Фазы ростового цикла в клеточных культурах.
37. Асинхронность. Способы синхронизации клеточных культур.
38. Сохранение эпигенетических особенностей растения-донора.
39. Основные типы дифференцировки.
40. Гистогенез *in vitro*.
41. Морфогенез *in vitro*.
42. Факторы, определяющие направление морфогенеза.
43. Соматический эмбриогенез.
44. Культивируемые клетки растений как продуценты биологически активных веществ, их преимущества по сравнению с целыми растениями.
45. Особенности вторичного метаболизма в популяциях культивируемых клеток.
46. Факторы, влияющие на накопление вторичных метаболитов в культурах клеток растений.
47. Системы культивирования клеток для получения вторичных метаболитов.
48. Основные этапы разработки промышленных технологий получения БАВ на основе культивируемых растительных клеток.
49. Преимущества использования иммобилизованных растительных клеток.
50. Основные преимущества клonalного микроразмножения растений, области его применения.
51. Способы клonalного микроразмножения растений.
52. Основные этапы клonalного микроразмножения.
53. Факторы, влияющие на процесс клonalного микроразмножения растений.
54. Получение безвирусного посадочного материала.
55. Клеточные технологии в селекции растений.
56. Оплодотворение *in vitro*. Эмбриокультура.
57. Получение сомаклональных вариантов.

- 58.Индуцированный мутагенез и клеточная селекция *in vitro*.  
 59.Соматическая гибридизация. Цибридизация.  
 60.Генетическая трансформация растений. Общая характеристика методов получения трансгенных растений.  
 61.Метод агробактериальной трансформации. Баллистический метод.  
 62.Основные направления в создании трансгенных растений.  
 63.Использование метода культуры клеток, тканей и органов растений для сохранения генофонда.  
 64.Характеристика пересадочных и депонированных коллекций.  
 65.Основные этапы технологии криосохранения растительных объектов.

#### **4. ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ**

##### **Учебно-программные материалы**

Учебная программа (базовая) учреждения высшего образования по учебной дисциплине «Культура клеток, тканей и органов растений» для специальности 1-31 01 01 Биология (по направлениям) направления специальности 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология) доступна по адресу

<http://elib.bsu.by/handle/123456789/42219>

Учебная программа учреждения высшего образования по учебной дисциплине «Культура клеток, тканей и органов растений» для специальности 1-31 01 01 Биология (по направлениям) направления специальности 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология) доступна по адресу

<http://elib.bsu.by/handle/123456789/50909>

##### **Список рекомендуемой литературы и Интернет-ресурсов**

Список рекомендуемой литературы содержится в учебной программе по дисциплине «Культура клеток, тканей и органов растений» для специальности 1-31 01 01 Биология (по направлениям) направления специальности 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология) доступна по адресу

<http://elib.bsu.by/handle/123456789/42219>

Интернет-ресурсы:

1.<http://biotechnolog.ru>

2.<http://molbiol.ru>

3.[www.twirpx.com](http://www.twirpx.com) › ... › Микробиология и биотехнология

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.

4.[http://files.lib.sfu-kras.ru/ebibl/umkd/1323/u\\_lab.pdf](http://files.lib.sfu-kras.ru/ebibl/umkd/1323/u_lab.pdf)

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.