

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

О. О. АВКСЕНТЬЄВА  
В. В. ШУЛІК

**БІОТЕХНОЛОГІЯ ВИЩИХ РОСЛИН  
КУЛЬТУРА IN VITRO**

Навчально-методичний посібник

Харків – 2017

**Рецензенти:**

**А. І. Божков** – доктор біологічних наук, професор, зав. кафедри молекулярної біології та біотехнології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна;

**О. В. Білинська** – кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, провідний науковий співробітник лабораторії генетики та біотехнології, Інститут рослинництва імені В. Я. Юр'єва.

*Затверджено до друку Науково-методичною радою  
Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна  
(протокол № 3 від 17.03.2017 р.)*

**Авксентьєва О. О.**

А 20

Біотехнологія вищих рослин: культура *in vitro* : навчально-методичний посібник / О. О. Авксентьєва, В. В. Шулік. – Х. : ХНУ імені В. Н. Каразіна, 2017. – 92 с.

У навчально-методичному посібнику розглядаються основні методи культур *in vitro*, які використовуються в біотехнології вищих рослин. Наведено особливості організації біотехнологічної лабораторії, відомості про живильні середовища та методи стерилізації рослинного організму. Дана характеристика основних культур *in vitro*: калусна, суспензійна, культура поодиноких клітин, ізольованих протопластів, гаплоїдних клітин. Представлено методи мікроклонального розмноження рослин.

Для студентів біологічних та біотехнологічних спеціальностей, викладачів, аспірантів, фахівців, що працюють у галузі біотехнології рослин.

**УДК 602.3: 58.086.83: 582.4 (075.8)**

© Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, 2017

© Авксентьєва О. О., Шулік В. В., 2017

© Дончик І. М., макет обкладинки, 2017

## ЗМІСТ

Список скорочень .....	6
Вступ .....	7
ТЕМА 1. Організація біотехнологічної лабораторії .....	8
Робота 1.1. Знайомство з облаштуванням та організацією роботи в біотехнологічної лабораторії.....	8
Робота 1.2. Підготовка біотехнологічної лабораторії до роботи.....	9
Робота 1.3. Робота в ламінарному боксі.....	10
Контрольні питання .....	11
ТЕМА 2. Приготування штучних живильних середовищ для культивування рослинних експлантів .....	12
Робота 2.1. Приготування маточних розчинів макро- і мікросолей, вітамінів і фітогормонів .....	13
Робота 2.2. Приготування агаризованого живильного середовища Мурасіге і Скуга (МС) .....	14
Контрольні питання .....	16
ТЕМА 3. Способи стерилізації в біотехнології .....	17
Робота 3.1. Стерилізація приміщень, інструментів і устаткування .....	17
Робота 3.2. Стерилізація рослинного матеріалу. Вирощування асептичних проростків.....	19
Контрольні питання .....	21
ТЕМА 4. Калусна культура.....	22
<i>Отримання калусної культури.....</i>	22
Робота 4.1. Отримання первинного калусу з асептичних проростків .....	22
Робота 4.2. Отримання первинного калусу з насіння рослин .....	23
Робота 4.3. Отримання первинного калусу з листкових експлантів.....	25
Робота 4.4. Отримання первинного калусу із зрілих зародків пшениці.....	26

<i>Пересадкова калусна культура</i> .....	28
Робота 4.5. Субкультивування (пасивування) калусу. Визначення параметрів ростової реакції калусної культури: приріст площі (біомаси), швидкість росту, ростовий індекс .....	28
Контрольні питання .....	30
<i>Аналіз калусних культур</i> .....	31
Робота 4.6. Морфологічна характеристика калусної культури .....	31
Робота 4.7. Визначення оводненості калусних тканин .....	32
Робота 4.8. Цитологічний аналіз: мацерація, визначення довжини клітин, кількості клітин в 1 г калусної тканини (щільності) .....	33
Робота 4.9. Цитогенетичний аналіз калусних тканин .....	35
Робота 4.10. Молекулярно-біологічний аналіз. Виділення ДНК з калусів .....	37
Робота 4.11. Біохімічний аналіз калусних тканин .....	41
4.12.1. Визначення легкорозчинного білка .....	41
4.12.2. Визначення розчинних вуглеводів .....	43
Контрольні питання .....	46
 ТЕМА 5. Суспензійна культур .....	 47
Робота 5.1. Отримання і культивування суспензії клітин .....	47
Робота 5.2. Підрахунок щільності суспензії клітин .....	48
Робота 5.3. Визначення ступеня агрегованості та життєздатності суспензійної культури .....	49
Контрольні питання .....	52
 ТЕМА 6. Культура поодиноких клітин .....	 53
Робота 6.1. Отримання клітинних клонів на щільних середовищах методом Плейтінга .....	53
Контрольні питання .....	54
 ТЕМА 7. Культура ізольованих протопластів .....	 55
Робота 7.1. Приготування ферментних розчинів і ферментація рослинних тканин .....	56
Робота 7.2. Виділення та очистка ізольованих протопластів вищих рослин .....	57
Робота 7.3. Культивування ізольованих протопластів і регенерація рослин .....	59
Контрольні питання .....	60

ТЕМА 8. Культура гаплоїдних клітин .....	61
Робота 8.1. Отримання калусів з пиляків .....	62
Робота 8.2. Андрогагенез: отримання рослин-регенерантів з пилоквих калусів.....	62
Контрольні питання .....	63
ТЕМА 9. Гормональна регуляція в культурі клітин і тканин .....	64
Робота 9.1. Індукція різних шляхів морфогенезу калусних тканин під впливом фітогормонів.....	65
Робота 9.2. Активація ризогенезу за дії ауксинів.....	67
Робота 9.3. Індукція пагоноутворення за дії цитокінів .....	68
Контрольні питання .....	69
ТЕМА 10. Клональне мікророзмноження рослин .....	70
Робота 10.1. Виділення і культивування апікальних і пазушних меристем картоплі.....	71
Робота 10.2. Виділення і культивування апікальних меристем суниці .....	72
Робота 10.3. Оздоровлення посадкового матеріалу методом термо- та хіміотерапії у поєднанні з культивуванням апікальних меристем .....	73
Робота 10.4. Проліферація пагонів і мікрочеренкування стерильних проростків.....	73
Робота 10.5. Індукція коренеутворення за клонального мікророзмноження .....	75
Робота 10.6. Клональне мікророзмноження <i>in vitro Brassica oleracea</i> L. var. <i>Botrytis</i> L.....	76
Робота 10.7. Мікроклональне розмноження <i>Saintpaulia ionantha</i> .....	77
Робота 10.8. Мікроклональне розмноження <i>Rosa sp</i> .....	78
Робота 10.9. Преадаптація мікроклонів та культивування за умов <i>ex vitro</i> .....	79
Контрольні питання .....	81
Словник термінів .....	82
Додатки .....	86
Література .....	90