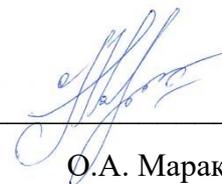


МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова»

Кафедра ботаники и микробиологии

УТВЕРЖДАЮ
Декан факультета
биологии и экологии



О.А. Маракаев
«19» мая 2023 г.

Рабочая программа дисциплины

«Биотехнологические основы размножения растений *in vitro*»

программы подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре
по научной специальности 1.5.21 Физиология и биохимия растений

Форма обучения очная

Программа одобрена на заседании кафедры
ботаники и микробиологии
протокол № 9 от «18» апреля 2023 года

Ярославль

1. Цели освоения дисциплины

- ознакомление аспирантов с биотехнологическими основами размножения растений в культуре *in vitro*;
- изучение основных физиолого-биохимических параметров у растений в культуре *in vitro*;
- развитие у аспирантов способностей к самостоятельному анализу, сопоставлению и обобщению материала, касающегося биотехнологических методов размножения растений с целью решения практических задач.

2. Место дисциплины в структуре программы аспирантуры

Дисциплина «Биотехнологические основы размножения растений *in vitro*» является дисциплиной по выбору. Она показывает биотехнологические основы размножения растений в культуре *in vitro*, технологии работ с недифференцированными зародышами и клонального микроразмножения растений, способы организации физиологических исследований растительных объектов *in vitro*. Данная дисциплина имеет логические и содержательно-методические взаимосвязи с дисциплинами «Физиология и биохимия растений», «Интеграция физиологических процессов у растений» и «Взаимоотношения растений с другими организмами».

3. Планируемые результаты освоения дисциплины

В результате освоения дисциплины аспирант должен:

Знать:

- биотехнологические основы размножения растений в культуре *in vitro*;
- методы культивирования растений *in vitro*, их практическое значение.

Уметь:

- оценивать физиологические аспекты роста и развития растительных объектов в культуре *in vitro*;
- применять полученные знания по физиологии и биохимии растений при решении конкретных биотехнологических задач.

Владеть:

- навыками обработки теоретической информации по физиологическим основам жизнедеятельности растений в культуре *in vitro*;
- методами физиолого-биохимических исследований растений в целях биотехнологии.

4. Объем, структура и содержание дисциплины

Общая трудоемкость дисциплины составляет 3 зачетные единицы, 108 акад. часов.

№ п/п	Темы (разделы) дисциплины, их содержание	Семестр	Виды учебных занятий и их трудоемкость (в академических часах)					Формы текущего контроля успеваемости	
			лекции	практические	лабораторные	консультации	самостоятельная работа	Форма промежуточной аттестации	
1	Технология работ с недифференцированным и зародышами растений	2	1				10	реферат	
2	Технология клонального микроразмножения растений	2	1				10	реферат	
3	Технология работы с эксплантами и посевным материалом растений	2	0,5				15	реферат	
4	Технология приготовления питательных сред и материалов	2	1				10	контрольная работа	
5	Технология культивирования растений <i>in vitro</i>	2	1				10	реферат	
6	Технология физиологических исследований в культуре <i>in vitro</i>	2	1				10	реферат	
7	Технология увеличения количества растительного материала	2	0,5				15	реферат	
						2	20	зачет	
	Всего		6			2	100		

Содержание разделов дисциплины:

Тема 1. Технология работ с недифференцированными зародышами растений

Основные принципы. Сбор и хранение материала. Культура изолированных зародышей. Работы с зародышами незрелых семян. Стерилизация. Особенности семенного размножения орхидных. Метод стерильных культур семян. Адаптация и доразвивание сеянцев. Перспективы введения редких видов в культуру *in vitro*. Репатриация и другие технологии охраны редких видов.

Тема 2. Технология клонального микроразмножения растений

Принципы микроразмножения растений. Клональное микроразмножение растений. Задачи и перспективы. Потенциальные системы размножения. Этапы клонального микроразмножения. Метод активации развития существующих меристем. Индукция образования адвентивных почек на первичном экспланте. Факторы, влияющие на процесс клонального микроразмножения. Генотип и состояние родительского растения. Прямой соматический эмбриогенез. Получение генетически однородного и безвирусного растительного материала. Термотерапия. Хемотерапия. Практическое значение метода клонального микроразмножения. Клональное микроразмножение хозяйственно полезных и редких видов растений.

Тема 3. Технология работы с эксплантами и посевным материалом растений

Состояние экспланта. Возраст, размер, регенерационная способность экспланта. Происхождение ткани. Физиологическое состояние и таксономическая принадлежность растения-донора. Особенности введения эксплантов в стерильную культуру. Стерилизация растительного материала, посев. Физические факторы. Способы и условия культивирования. Оптимизация условий клонального микроразмножения растений. Организация работы с недифференцированными зародышами и по клональному микроразмножению растений. Макроклональное размножение.

Тема 4. Технология приготовления питательных сред и материалов

Лабораторное оборудование и техника проведения работ. Посуда, инструменты и материалы. Питательные среды. Состав, приготовление и стерилизация. Среда Бургеффа, Вацина и Вента, Вимбера, Кнопа, Кнудсона, Мореля, Мурасиге-Скуга, Томпсона, Хеллера. Оптимизация питательных сред.

Тема 5. Технология культивирования растений *in vitro*

Основные принципы культивирования. Климатические камеры. Условия освещенности и температуры. Влажность воздуха. Значение состава воздуха. Условия увлажнения. Оптимизация условий культивирования *in vitro*. Сроки и способы пересадки. Подбор оптимального субстрата. Создание благоприятных микроклиматических условий. Элементный состав и физико-химические свойства субстратов. Организация многофакторного эксперимента. Культивирование семян и растений-регенерантов.

Тема 6. Технология физиологических исследований в культуре *in vitro*

Принципы исследования растений *in vitro*. Фиксация материала для исследований. Цито- и гистологические исследования. Определение цитофизиологических параметров. Метод приготовления микротомных срезов. Метод приготовления давленных препаратов. Исследование структурно-функциональных параметров. Определение параметров роста и развития. Измерение объектов под микроскопом. Использование цифровой техники и программного обеспечения. Подсчет клеток в счетных камерах. Гистохимические методы. Качественный анализ. Определение содержания элементов минерального питания. Определение содержания углеводов, белков, соединений вторичного метаболизма. Определение фотосинтетических пигментов. Определение активности окислительных ферментов.

Тема 7. Технология увеличения количества растительного материала

Размножение микропобегов (микрочеренкование). Укоренение микропобегов. Значение возрастного состояния черенков. Размножение покоящимися вегетативными почками. Размножение отделением стеблекорневых тубероидов. Размножение посредством деления протокормов. Депонирование растений-регенерантов. Культивирование *in vitro* целых растений, значение и перспективы. Перевод растений в тепличные условия. Высадка растений-регенерантов в поле. Контейнерная культура. Значение стимуляторов роста и витаминов. Методы их применения. Методы определения активности стимуляторов роста. Применение стимуляторов роста при пересадке растений.

5. Образовательные технологии, в том числе технологии электронного обучения и дистанционные образовательные технологии, используемые при осуществлении образовательного процесса по дисциплине

В процессе обучения используются следующие образовательные технологии:

Вводная лекция – дает первое целостное представление о дисциплине и ориентирует студента в системе изучения данной дисциплины. Дается краткий обзор курса, история развития науки и практики, достижения в этой сфере, имена известных ученых, излагаются перспективные направления исследований. На этой лекции высказываются методические и организационные особенности работы в рамках данной дисциплины, а также дается анализ рекомендуемой литературы.

Академическая лекция с элементами лекции-беседы – последовательное изложение материала, осуществляемое преимущественно в виде монолога преподавателя. Элементы лекции-беседы обеспечивают контакт преподавателя с аудиторией, что позволяет привлекать внимание аспирантов к наиболее важным темам дисциплины, активно вовлекать их в учебный процесс, контролировать темп изложения учебного материала в зависимости от уровня его восприятия.

Проблемная лекция – изложение материала, предполагающее постановку проблемных и дискуссионных вопросов, освещение различных научных подходов, связанные с различными моделями интерпретации изучаемого материала. Проблемная лекция начинается с вопросов, с постановки проблемы, которую в ходе изложения материала необходимо решить. В лекции сочетаются проблемные и информационные начала. При этом процесс познания аспирантом в сотрудничестве и диалоге с преподавателем приближается к поисковой, исследовательской деятельности.

Консультации – вид учебных занятий, являющийся одной из форм контроля самостоятельной работы аспирантов. На консультациях по просьбе аспирантов рассматриваются наиболее сложные разделы дисциплины, преподаватель отвечает на вопросы аспирантов, которые возникают у них в процессе самостоятельной работы.

Самостоятельная работа включает использование библиотечного фонда и электронно-библиотечной системы, подготовку рефератов по темам с использованием журналов «Биотехнология», «Физиология растений» и др. Предусмотрено проведение контрольных работ; обсуждение научных данных по итогам освоения каждой темы; обсуждение рефератов. В период самостоятельной подготовки студенты имеют возможность обсудить заданные вопросы с преподавателем.

В процессе обучения используются следующие технологии электронного обучения и дистанционные образовательные технологии:

Электронный учебный курс «Биотехнологические основы размножения растений *in vitro*» в LMS Электронный университет Moodle ЯрГУ, в котором:

- представлены задания для самостоятельной работы аспирантов по темам дисциплины;
- представлен список литературы, рекомендуемой для освоения дисциплины;
- представлена информация о форме и времени проведения консультаций по дисциплине в случае их проведения в дистанционном формате в режиме онлайн.

6. Перечень основной и дополнительной литературы, ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет» (при необходимости), рекомендуемых для освоения дисциплины

а) основная литература

1. Егорова Т.А., Клунова С.М., Живухина Е.А. Основы биотехнологии: учебное пособие для вузов. М.: Академия, 2003. 208 с.

б) дополнительная литература

1. Биотехнология: в 8 кн. / Под ред. Н.С. Егорова, В.Д. Самуилова. Кн. 3: Клеточная инженерия. Б.м.: Б.и., 1987. 127 с.
2. Сельскохозяйственная биотехнология и биоинженерия: учебник для вузов / Под. ред. В.С. Шевелухи. М.: ЛЕНАНД, 2015. 700 с.

в) ресурсы сети «Интернет»

Автоматизированная библиотечно-информационная система «БУКИ-NEXT»
http://www.lib.uniyar.ac.ru/opac/bk_cat_find.php

Научная библиотека ЯрГУ предоставляет доступ к лицензионным современным библиографическим, реферативным и полнотекстовым профессиональным базам данных и информационным справочным системам: реферативные базы данных Web of Science, Scopus; научная электронная библиотека eLIBRARY.RU; Национальная электронная библиотека; электронно-библиотечные системы Юрайт, Проспект, Лань, Консультант студента; автоматизированная библиотечно-информационная система «БУКИ-NEXT»; ProQuest Dissertations and Theses Global (Международная база данных диссертаций); электронные коллекции Springer Journals, Springer Nature Experiment; издательство Elsevier на платформе ScienceDirect; журналы Nature Journals, онлайн версия Кембриджской базы структурных данных http://www.lib.uniyar.ac.ru/content/resource/net_res.php

7. Материально-техническая база, необходимая для осуществления образовательного процесса по дисциплине

Материально-техническая база, необходимая для осуществления образовательного процесса по дисциплине включает в свой состав следующие помещения:

- учебные аудитории для проведения лекций;
- учебные аудитории для проведения групповых и индивидуальных консультаций;
- учебные аудитории для проведения промежуточной аттестации;
- помещения для самостоятельной работы.

Помещения для самостоятельной работы обучающихся оснащены лабораторным оборудованием (лиофильная сушка; флуориметр; рефрактометр; шейкер-инкубатор; планшетный люминометр; весы аналитические; лабораторные электронные весы; камера для горизонтального электрофореза; трансиллюминатор; ДНК-амплификатор; система гель-документирования; персональный вортекс; муфельная печь; сушильный шкаф; центрифуги; спектрофотометр; фотоэлектроколориметр; спектроскоп; рН-метр; люксметр; термостат; водяная баня; гомогенизатор тканей; дозаторные пипетки; микротом с термоохлаждающим столиком; микроскопы), а также компьютерной техникой с возможностью подключения к сети «Интернет» и обеспечением доступа в электронную информационно-образовательную среду ЯрГУ.

Автор:

Доцент кафедры ботаники и микробиологии, к.б.н.

О.А. Маракаев

Приложение № 1
к рабочей программе дисциплины
«Биотехнологические основы размножения растений *in vitro*»

Оценочные материалы
для проведения текущей и/или промежуточной аттестации
аспирантов по дисциплине

1. Контрольные задания и (или) иные материалы,
используемые в процессе текущего контроля успеваемости

В качестве средств текущего контроля используется одна контрольная работа, а также написание в течение семестра одного реферата на выбранную тему.

Вопросы к контрольной работе

1. Принципы работы с зародышами незрелых семян.
2. Метод стерильных культур семян.
3. Способы доращивания сеянцев.
4. Перспективы введения редких видов в культуру *in vitro*.
5. Репатриация и другие технологии охраны редких видов.
6. Потенциальные системы размножения.
7. Этапы клонального микроразмножения.
8. Метод активации развития существующих меристем.
9. Индукция образования адвентивных почек на первичном экспланте.
10. Получение безвирусного растительного материала.
11. Клональное микроразмножение редких видов растений.
12. Особенности введения эксплантов в стерильную культуру.
13. Оптимизация условий клонального микроразмножения растений.
14. Макрклональное размножение.
15. Питательные среды и их оптимизация.

Темы рефератов

1. Адаптация растений *in vitro* к нестерильным условиям.
2. Гистохимическое выявление белков.
3. Гистохимическое выявление углеводов.
4. Гистохимическое выявление ферментов.
5. Индукция органогенеза в каллусной ткани.
6. Исследования растений *in vitro*.
7. Культивирование апикальных меристем.
8. Микроразмножение черенкованием побегов.
9. Получение безвирусного посадочного материала.
10. Получение каллусной ткани из листьев растений.
11. Получение каллусов из корней.
12. Получение каллусов из незрелых зародышей.
13. Примеры культивирования редких видов *in vitro*.
14. Семенное размножение нетропических орхидных.
15. Субкультивирование каллусов.
16. Техника цифрового микроскопирования.

2. Список вопросов и (или) заданий для проведения промежуточной аттестации

Список вопросов к зачету:

1. Культура изолированных зародышей.
2. Работы с зародышами незрелых семян.
3. Особенности семенного размножения орхидных.
4. Метод стерильных культур семян.
5. Перспективы введения редких видов в культуру *in vitro*.
6. Репатриация и другие технологии охраны редких видов.
7. Принципы микроразмножения растений.
8. Клональное микроразмножение растений.
9. Потенциальные системы размножения.
10. Этапы клонального микроразмножения.
11. Метод активации развития существующих меристем.
12. Индукция образования адвентивных почек на первичном экспланте.
13. Факторы, влияющие на процесс клонального микроразмножения.
14. Прямой соматический эмбриогенез.
15. Практическое значение метода клонального микроразмножения.
16. Клональное микроразмножение хозяйственно полезных и редких видов растений.
17. Физиологическое состояние и таксономическая принадлежность растения-донора.
18. Особенности введения эксплантов в стерильную культуру.
19. Стерилизация растительного материала, посев.
20. Оптимизация условий клонального микроразмножения растений.
21. Организация работы с недифференцированными зародышами.
22. Макроклональное размножение.
23. Питательные среды. Состав, приготовление и стерилизация.
24. Климатические камеры.
25. Оптимизация условий культивирования *in vitro*.
26. Элементный состав и физико-химические свойства субстратов.
27. Культивирование сеянцев и растений-регенерантов.
28. Принципы исследования растений *in vitro*.
29. Цито- и гистологические исследования растений *in vitro*.
30. Определение цитофизиологических параметров.
31. Метод приготовления микротомных срезов.
32. Метод приготовления давленных препаратов.
33. Исследование структурно-функциональных параметров.
34. Определение параметров роста и развития.
35. Измерение объектов под микроскопом.
36. Подсчет клеток в счетных камерах.
37. Гистохимические методы. Качественный анализ.
38. Размножение микропобегов (микрочеренкование).
39. Размножение покоящимися вегетативными почками.
40. Размножение отделением стеблекорневых тубероидов.
41. Размножение посредством деления протокормов.
42. Культивирование *in vitro* целых растений, значение и перспективы.
43. Перевод растений в тепличные условия.
44. Высадка растений-регенерантов в поле.
45. Контейнерная культура.
46. Применение стимуляторов роста при пересадке растений.

2.1 Описание процедуры выставления оценки

По итогам зачета выставляется одна из оценок: «зачтено», «незачтено».

Правила выставления оценки на зачете:

Устный ответ аспиранта на зачете оценивается по 2-х балльной системе.

Отметка «зачтено» ставится, если:

- знания отличаются глубиной и содержательностью, дается полный исчерпывающий ответ, как на основные вопросы к зачету, так и на дополнительные;
- аспирант свободно владеет научной терминологией;
- ответ аспиранта структурирован, содержит анализ существующих теорий, научных школ, направлений и их авторов;
- ответ аспиранта логично и доказательно раскрывает проблему, предложенную для решения;
- ответ аспиранта характеризуется глубиной, полнотой и не содержит фактических ошибок;
- ответ аспиранта иллюстрируется примерами, в том числе из собственной научно-исследовательской деятельности;
- аспирант демонстрирует умение аргументировано вести диалог и научную дискуссию;
- аспирант демонстрирует навыки поиска и обработки научной информации и экспериментальных данных.

Отметка «незачтено» ставится, если:

- ответ аспиранта обнаружил незнание или непонимание сущностной части дисциплины;
- содержание вопросов не раскрыто, допускаются существенные фактические ошибки, которые аспирант не может исправить самостоятельно;
- на большую часть дополнительных вопросов по содержанию зачета аспирант затрудняется дать ответ или не дает верных ответов;
- аспирант не демонстрирует навыки поиска и обработки научной информации и экспериментальных данных.