

Міністерство освіти і науки України
Національний університет водного господарства та
природокористування
Навчально-науковий інститут агроєкології та
землеустрою
Кафедра агрохімії, ґрунтознавства та землеробства

05-01-273М

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ

до лабораторних занять та самостійної роботи
із освітньої компоненти «Біотехнології в рослинництві»
для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня
за освітньо-професійною програмою «Агрономія»
спеціальності 201 «Агрономія»
денної (з елементами дуальної освіти)
та заочної форм навчання

Рекомендовано науково-
методичною радою з якості
ННІАЗ
Протокол № 1 від 29.08.2023 р.

Рівне – 2023

Методичні вказівки до лабораторних занять та самостійної роботи із освітньої компоненти «Біотехнології в рослинництві» для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня за освітньо-професійною програмою «Агрономія» спеціальності 201 «Агрономія» денної (з елементами дуальної освіти) та заочної форм навчання [Електронне видання] / Олійник О. О., Колесник Т. М., Володимирець В. О., Солодка Т. М. – Рівне : НУВГП, 2023. – 19 с.

Укладачі: Олійник О. О., к.с.-г.н, доцент кафедри агрохімії, ґрунтознавства та землеробства; Колесник Т. М., к.с.-г.н., доцент кафедри агрохімії, ґрунтознавства та землеробства; Володимирець В. О., к.біол.н., доцент кафедри агрохімії, ґрунтознавства та землеробства; Солодка Т. М., к.с.-г.н., доцент кафедри агрохімії, ґрунтознавства та землеробства.

Відповідальний за випуск: Колесник Т. М., к.с.-г.н., доцент, завідувач кафедри агрохімії, ґрунтознавства та землеробства.

Керівник групи забезпечення: Колесник Т. М., к.с.-г.н., доцент, завідувач кафедри агрохімії, ґрунтознавства та землеробства.

© О. О. Олійник,
Т. М. Колесник,
В. О. Володимирець,
Т. М. Солодка, 2023
© НУВГП, 2023

ЗМІСТ

1. Загальні положення.....	4
2. Рекомендації до виконання практичних завдань.....	5
3. Рекомендації для виконання самостійної роботи.....	18
4. Рекомендована література	19

1. ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

Сучасна біотехнологія передбачає пом'якшення наслідків зміни клімату, захист екосистем і сільськогосподарських ресурсів. Без цього неможливо подолати глобальну, продовольчу, енергетичну, сировинну та екологічну проблеми, що постають перед людством.

Метою дисципліни «Біотехнології в рослинництві» є ознайомлення здобувачів з основами сучасної біотехнології, їх використанням у різних галузях агропромислового комплексу на основі найновіших досягнень біологічної науки.

Основним завданням навчальної дисципліни є знання особливостей біотехнологічних процесів із використанням рослинного матеріалу різного рівня складності;

-засвоєння студентами знань про умови культивування протопластів, клітин, тканин та біологічних структур вищого рівня;

-розуміння практичної значимості біотехнологічних процесів і перспектив їхнього подальшого використання.

Об'єктами біотехнології є віруси, бактерії, гриби, клітини (тканини) рослин, тварин і людини, деякі біогенні та функціонально подібні до них речовини (наприклад, ферменти, простагландини, нуклеїнові кислоти та ін.).

2.Рекомендації до виконання лабораторних завдань

Лабораторна робота 1. Біотехнологічна лабораторія

Мета роботи: ознайомити студентів з комплектацією та основними вимогами до біотехнологічних лабораторій.

Культивування рослинних клітин, тканин і органів рослин вимагає дотримання умов стерильності. Біотехнологічна лабораторія має бути укомплектована спеціальними приміщеннями і обладнанням.

1. Кімната для миття посуду оснащена раковинами із кислотостійкого матеріалу, дистиллятором, бідистиллятором, мийними машинами, стелажми для сушіння посуду.

2. Кімната для приготування середовищ забезпечена технічними, аналітичними, торсійними вагами, рН-метром, електричними або газовими плитами, бідистиллятором, холодильними камерами, лабораторними столами, шафами для зберігання чистого посуду.

3. Приміщення для стерилізації поживних середовищ, інструментів, по- суду, оснащене горизонтальними (ГК – 100) або вертикальними (ВК – 60) автоклавами, сушильною шафою з режимом роботи 160-180°C для стерилізації сухим жаром.

4. Операційна (асептична) кімната для ізолювання та пересадки тканин і рослин обладнана ламінар-боксами.

5. Культуральна кімната з кондиційованим повітрям температурою 25- 26°C, відносною вологістю 70-80 %, 14-годинним фотоперіодом використовується для вирощування рослин-регенерантів, оснащена стелажми.

Питання для самоконтролю:

1. Якими спеціальними приміщеннями має бути укомплектована біотехнологічна лабораторія?
2. Яким обладнанням має бути укомплектована кімната для миття по- суду?
3. Яким обладнанням має бути укомплектована кімната для приготування середовищ?
4. Яким обладнанням має бути укомплектоване приміщення для стерилізації поживних середовищ?
5. Яке призначення ламінар – боксу?

Рекомендована література [1,2,4,5]

Лабораторна робота 2

Методи стерилізації посуду, інструментів і середовищ

Мета роботи: ознайомити студентів з основними способами

стерилізації посуду, інструментів і середовищ.

Матеріали та обладнання: автоклав, сушильна шафа, пергаментний папір, інструменти (пінцети, шпателі), лабораторний посуд (чашки Петрі, колби і т.д.).

При проведенні стерилізації використовують наступні методи та прийоми: 1. стерилізація сухим жаром; 2. стерилізація сухим паром; 3. стерилізація полум'ям.

Перед виконанням операцій в ламінар-боксі, необхідно підготувати його до роботи. Для цього, при наявності бактерицидних ламп, використовують стерилізацію ультрафіолетом протягом 30 хв., або протирають робочу поверхню 70-96 % етанолом. Для дотримання умов стерильності необхідно витримати (2-3 години при температурі 160-180°) в сушильній шафі інструменти та посуд. Посуд можна стерилізувати автоклавованням при 1-2 атм протягом 25 хвилин. Безпосередньо перед роботою інструменти занурюють в етанол і обпалюють в полум'ї спиртівки.

Брудний посуд миють кислотним або лужним методом, потім ретельно промивають проточною водою і споліскують дистиллятом. Чистий посуд висушують в сушильній шафі і зберігають в закритих шафах.

Питання для самоконтролю:

1. Як проводиться стерилізація приміщень біотехнологічної лабораторії?
2. Навести умови стерилізації поживних середовищ.
3. Як проводиться стерилізація сухим жаром?
4. Як проводиться стерилізація сухим паром?
5. Як проводиться стерилізація полум'ям?

Рекомендована література [1,2,4,5]

Лабораторна робота 3 **Приготування маточних розчинів для** **середовища Мурасіге – Скуга**

Мета роботи: освоїти техніку приготування маточних розчинів макро- і мікросолей, Fe – хелату.

Матеріали і обладнання: макро – і мікросолі, що входять до складу поживного середовища МС, ваги, магнітний змішувач, плитка, шпателі, хімічний стакан – 400 мл, 100 мл, мірний циліндр – 500 мл, 100 мл, пляшка з темного скла – 1 л, 100 мл.

Теоретичні відомості

1. Для зручності приготування поживних середовищ готують маточні розчини макро-та мікроелементів зважуючи і розчиняючи

окремо кожну наважку в новій порції бідистильованої води.

2. Розчин фітогормонів готують таким чином:

* ауксини: 2,4-Д, ІОК, ІМК, НОК – розчиняють 100 мг речовини в 0,5- 2 мл етанолу, підігрівають, додають води до 100 мл (концентрація 1мг/мл);

* цитокиніни: Кін, Зеа, БАП – розчиняють 100 мг речовини в 2 мл 1н НСІ, підігрівають, доводять водою до 100 мл;

* гібереліни: ГК₃ – розчиняють у воді;

* абсцизини: АБК – розчиняють в 3 мл 70 % етанолу, доводять водою до потрібного об'єму.

Таблиця 1

Склад основних поживних середовищ, мг/л

Компоненти	Мурасіге - Скуга (МС)	Калусне середовище № 1	Калусне середовище № 2
NH ₄ NO ₃	1650	1650	1650
KNO ₃	1900	1900	1900
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440	440	440
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	370	370
KH ₂ PO ₄	170	170	170
H ₃ BO ₃	6	6	6
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22,3	22,3	22,3
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025	0,025	0,025
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,6	8,6	8,6
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25	0,25	0,25
KI	0,83	0,83	0,83
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0,025	0,025	0,025
FeSO ₄ · 7H ₂ O	27,8	27,8	27,8
Na ₂ EDTO · 2H ₂ O	37,3	37,3	37,3
Мезоінозит	100	100	100
В ₁	0,1	0,1	0,1
В ₆	0,5	0,5	0,5
PP	0,5	0,5	0,5
НОК	-	-	2
2,4 – Д	-	3	2
Кінетин	-	1	1
Сахароза	30000	25000	25000
Агар	0,7 %	0,7 %	0,7 %
pH	5,6 – 5,8		

3. Розчини вітамінів: тіамін HCl (B₁), піродиксин (B₆), нікотинову кис- лоту (PP), аскорбінову кислоту (C), фолієву кислоту (B₉), біотин (H), пара- амінбензойну кислоту, Са – пантотенат, ціанкобаламін (B₁₂), рибофлавін (B₂) – розчиняють в воді (концентрація 1мг/мл, або 0,1 мг/мл).

Маточні розчини зберігають в холодильній камері при температурі +4°C. Розчини вітамінів заморожують в невеликих кількостях (3 – 5 мл).

Хід роботи

1. Приготувати маточні розчини макро – і мікросолей.

Макро МС – 1 л розчину солей; по 100 мл розчину солей в 1 л пожив- ного середовища:

NH₄NO₃ – 16,5 г; KNO₃ – 19,0 г; CaCl₂ – 3,3 г; MgSO₄ *7 H₂O – 4,2 г; KH₂PO₄ – 1,7 г.

Мікро МС – 100 мл розчину солей; по 1 мл розчину солей в 1 л пожив- ного середовища:

H₃BO₃ – 620 мг; MnSO₄*4H₂O – 2,33 г; ZnSO₄*4H₂O – 860 мг;

KI – 83 мг, розчиняти окремо; Na₂MoO₄*2H₂O – 25 мг, розчиняти окре- мо; CuSO₄*5H₂O – 2,5 мг; CoCl₂*6H₂O – 2,5мг.

2. Приготувати розчин Fe – хелату: на 100 мл розчину беруть FeSO₄*7H₂O – 557 мг; Na₂EDTA*2H₂O – 745 мг. мо у бідистиляті, злити і довести до кипіння Наважки розчинити окремо у бідистиляті, злити і довести до кипіння.

3. Приготувати розчини фітогормонів: 2,4 – Д і кінетин, концентрація 1 мг/мл.

4.Приготувати розчини вітамінів B₁, B₆ і PP, концентрація 1 мг/мл.

Питання для самоконтролю:

1. Які фітогормони входять до складу поживних середовищ?
 2. Які макросолі входять до складу поживних середовищ?
 3. Які мікросолі входять до складу поживних середовищ?
 4. Що таке «маточні розчини» для поживних середовищ?
 5. Які особливості приготування розчину солей в хелатній формі
- Рекомендована література [1,2,4,5]

Лабораторна робота 4

Приготування середовища Мурасіге – Скуга.

Стерилізація середовища

Мета роботи: освоїти техніку приготування поживного середовища МС з маточних розчинів та його стерилізації автоклавуванням.

Матеріали і обладнання: маточні розчини макро – і мікросолей, Fe – хелату і вітамінів, мезоінозит, сахароза, агар, 1н HCl і 1н KOH,

ваги, шпа- телі, магнітний змішувач, рН – метр, мірні циліндри – 500 мл, 100 мл, мір- ні піпетки – 5 мл, 1 мл, ватні пробки, хімічні пляшки на 250 мл.

Хід роботи

Для приготування 1 л середовища МС необхідно взяти наступні кілько- сті маточних розчинів:

макро МС – 100 мл; мікро МС – 1 мл; Fe – хелат – 5 мл; В₁ – 1 мг; В₆ – 1 мг; РР – 0,5 мг; мезоінозит – 100 мг; сахароза – 30 г (3 %); агар – 7 г.

1. Колбу об'ємом 1 л помістити на магнітний змішувач, налити 250 – 300 мл бідистилляту і додати необхідну кількість макро- і мікросолей, Fe – хелат, вітамінів і фітогормонів.

2. Зважити потрібну кількість сахарози і органічних добавок. Кожну наважку розчиняти у окремій порції бідистильованої води.

3. Довести рН до 5,6 – 5,8 за допомогою 1н КОН або 1н НСІ.

4. Наважку агару помістити в термостійкій стакан і залити холодною бідистильованою водою (300 – 400 мл), залишити на 20 хв для набухання і нагріти, постійно помішуючи до повного розчинення агару.

При приготуванні рідкого середовища агар не додається.

5. Додати розчинений агар до розчину 1 і довести до потрібного об'єму бідистильованою водою. Розчин і воду підігріти.

6. Розлити тепле середовище у колби або пробірки і закрити ватними пробками або фольгою.

7. Простерилізувати середовище в автоклаві при тиску 0,8 – 1 атм ($t^0=115 - 120^0\text{C}$) 20 – 25 хв.

Питання для самоконтролю:

1. Як проводиться стерилізація поживного середовища?
2. Який рівень кислотності має бути у поживному середовищі?
3. Яка методика приготування агар – агару для поживного середовища?
4. В який послідовності додаються маточні розчини при приготуванні поживного середовища?

Рекомендована література [1,2,4,5]

Лабораторна робота 5

Стерилізація насіння і вирощування асептичних рослин

Мета роботи: підібрати концентрацію стерилізуючого розчину та час стерилізації насіння, що забезпечить найвищу ефективність стерилізації. Отримати стерильне насіння і виростити з нього

асептичні рослини.

Матеріали і обладнання: насіння сої, мильний розчин, 70 - % розчин спирту, концентрований розчин “Білизни”, марлеві мішечки, кристалізатор, стаканчик на 50 мл та 100 мл, мірний циліндр 25 мл, пробірки з безгормональним середовищем МС (табл.1), чашки Петрі зі стерильним фільтрувальним папером, стерильні чашки Петрі, пінцети, спиртівка, спирт для стерилізації інструментів, ламінар – бокс, термостат.

Хід роботи

1. Приготувати розчин “Білизни” різної концентрації:

I – 1 частина препарату і 4 частини води (1:4); II – 1:3; III – 1:2; IV – 1:1.

2. Промити соєві боби мильним розчином, а далі дистильованою водою. У марлеві мішечки покласти по 10 насінин.

3. Підготовлені соєві боби у боксі на 1 хв помістити у стаканчик з 70 % етанолом. Стерильним пінцетом перенести мішечки з бобами у стаканчики з відповідною концентрацією стерилізуючого розчину і витримати в ньому згідно табл. 2. Об’єм насіння має займати $\frac{1}{4}$ об’єму стерилізуючого розчину. Мішечки потрібно перевертати кожні 2 хвилини.

4. Простерилізоване насіння промити у стерильній дистильованій воді. Стерильним пінцетом перенести мішечки у стакан із стерильною дистильованою водою та витримати 10 хв. Промивання повторити 3 рази використовуючи нову порцію води.

5. Мішечки з промитим насінням стерильним пінцетом перенести у стерильну чашку Петрі з стерильним паперовим фільтром, щоб забрати надлишок води.

6. Стерильним пінцетом перенести один із мішечків до іншої чашки Петрі, розгорнути двома пінцетами і згребти насіння у чашку Петрі. Стерильним пінцетом перенести насіння на безгормональне середовище у відповідно підписану пробірку.

Відкрити пробірку, обпалити горло пробірки у полум’ї спиртівки, стерильним пінцетом помістити біб на середовище, знову обпалити горло пробірки і пробку у полум’ї спиртівки, закрити горло пробірки пробкою.

7. Пробірки з насінням помістити у термостат при температурі 25°C. Через 4 – 6 діб перевірити чистоту посіву і схожість насіння. Після проростання насіння пробірки перенести у термостат з освітленням 400 лк і температурою 25 °C.

Таблиця 2

№	Концентрація розчину	Тривалість стерилізації, хв	Загальна кількість насіння	Кількість інфікованого насіння через 7 днів		Схожість насіння		Ефективність, %
				шт	%	шт	%	
1	1:4	10						
2		15						
3		30						
4	1:3	10						
5		15						
6		30						
7	1:2	10						
8		15						
9		30						
10	1:1	10						
11		15						
12		30						

Питання для самоконтролю:

1. Для чого використовується етанол при стерилізації насіння?
2. Наведіть послідовність дій при проведенні стерилізації насіння.
3. Як готується розчин «Білизни» різної концентрації для проведення стерилізації насіння.
4. За якою методикою підраховують кількість інфікованого насіння після стерилізації?

Рекомендована література [1,2,4,5]

Лабораторна робота 6 **Стерилізація бульб, коренеплодів і кореневищ**

Мета роботи: оволодіти методикою стерилізації обпалюванням бульб, коренеплодів і кореневищ, отримати первинний калус.

Матеріали і обладнання: бульби картоплі, кореневища моркви, кристалізатор з мильним розчином, чашки Петрі з калусним середовищем № 1 (табл.1), стерильні: пінцети, скальпелі, пробкові свердла; спирт, спиртівка, ламінар – бокс.

Хід роботи

1. Бульби вимити проточною водою та обчистити від шкірки.
2. Бульби вимити у мильному розчині, а потім ополоснути дистиллятом.
3. У боксі бульбу на кілька секунд занурити у спирт, а потім дати

йому стекти і обпалити у полум'ї спиртівки.

4. Покласти обпалену бульбу у стерильну чашку Петрі. Скальпелем відрізати частину бульби. Стерильним пробковим свердлом вичленити циліндр з бульби. Циліндр тканини порізати скальпелем на диски, які помістити на середовище для калусогенезу. Два крайні диски відкинути.

5. Чашки Петрі з експлантами культивувати у термостаті без освітлення при 25⁰ С.

Питання для самоконтролю:

1. Яке поживне середовище використовується для вирощування первинного калусу?
2. Наведіть послідовність дій при проведенні стерилізації бульб обпалюванням.
3. В яких умовах проводиться культивування експлантів?
4. Яким методом проводиться стерилізація бульб?

Рекомендована література [1,2,4,5]

Лабораторна робота 7 **Стерилізація листків**

Мета роботи: підібрати оптимальні умови стерилізації листків, отримати стерильну калусну культуру.

Матеріали і обладнання: листки картоплі, мильний розчин, 70 - % розчин спирту, концентрований розчин “Білизни”, кристалізатор, стаканчик на 50 мл та 100 мл, мірний циліндр 25 мл, чашки Петрі із стерильним калусним середовищем № 1, чашки Петрі зі стерильним фільтрувальним папером, стерильні чашки Петрі, пінцети, спиртівка, спирт для стерилізації інструментів, ламінар – бокс, термостат.

Хід роботи

1. Приготувати розчин “Білизни” відповідної концентрації (табл. 3).
2. Промити листки картоплі мильним розчином далі дистильованою водою.
3. Підготовлені листки у боксі на 10-15 с помістити у стаканчик з 70% етанолом.
4. Стерильним пінцетом перенести листки у стаканчики з відповідною концентрацією стерилізуючого розчину і витримати в ньому згідно табл.3.
5. Простерилізоване листя промити у стерильній дистильованій воді. Стерильним пінцетом перенести у стакан із стерильною дистильованою водою та витримати 10 хв. Промивання повторити 3

рази використовуючи нову порцію води.

6. Стерильним пінцетом перенести листки у стерильну чашку Петрі з фільтрувальним папером для підсушування.

7. Стерильний листок розчленити на експланти по 5 – 10 мм та помістити на ПС.

8. Чашки з експлантами помістити у термостат при температурі 25⁰ С. Через 4 – 6 діб перевірити оптимальні умови стерилізації.

9. Через 25 – 30 днів оцінити життєздатність культури по кількості новоутвореного калусу.

Таблиця 3

№	Концентрація розчину	Тривалість стерилізації, хв	Загальна кількість експлантів	Кількість стерильних експлантів через 7 днів		Кількість життєздатних експлантів через 30 днів	
				шт	%	шт	%
1	1:4	5					
2		10					
3		15					
4	1:3	5					
5		10					
6		15					
7	1:2	5					
8		10					
9		15					
10	1:1	5					
11		10					
12		15					

11

Питання для самоконтролю:

1. Яке поживне середовище використовується для вирощування первинного калусу?
2. Наведіть послідовність дій при проведенні стерилізації листків.
3. В яких умовах проводиться культивування експлантів?
4. Яким методом проводиться стерилізація листків?

Рекомендована література [1,2,4,5]

Лабораторна робота 8

Стерилізація меристем

Мета роботи: підібрати оптимальні умови стерилізації апікальних меристем суниці, отримати стерильну культуру суниці.

Матеріали і обладнання: рослини суниці, мильний розчин, 70 - % розчин спирту, концентрований розчин “Білизни”, мішечки, кристалізатор, стаканчик на 50 мл та 100 мл, мірний циліндр 25 мл, пробірки з ПС МС + 0,8 мг/л БАП, стерильні чашки Петрі, пінцети, препарувальні голки, біноклярний мікроскоп, нейлон, спиртівка, спирт для стерилізації інструментів, ламінар – бокс, термостат.

Хід роботи

1. Приготувати розчин “Білизни” відповідної концентрації (табл. 4).
2. З вусиків суниці зрізати верхівки 1,5 – 2 см. Промити їх мильним розчином далі дистильованою водою.
3. Очистити бруньки від покривних листків і лусок та помістити по 10 штук у нейлонові мішечки.
4. Стерильним пінцетом перенести листки у стаканчики з відповідною концентрацією стерилізуючого розчину і витримати в ньому згідно табл. 4.
5. Простерилізований рослинний матеріал промити у стерильній дистильованій воді. Стерильним пінцетом перенести у стакан із стерильною дистильованою водою та витримати 5 хв. Промивання повторити 3 рази використовуючи нову порцію води.
6. Стерильним пінцетом у стерильній чашці Петрі розгорнути нейлоновий мішечок та перенести стерильним пінцетом один експлант на стерильну чашку Петрі, що встановлена на столику біноклярного мікроскопа. Біноклярний мікроскоп попередньо простерилізувати УФ-опроміненням.
7. Під біноклярним мікроскопом, підтримуючи верхівку пагона очним пінцетом, очним скальпелем відділити покривні листки та листкові примордії. Меристему відділити стерильним лезом.
8. Ізольовану меристему стерильним пінцетом перенести на ПС.
9. Пробірки помістити у термостат при температурі 23-26⁰ С. Через 4 – 6 діб перевірити оптимальні умови стерилізації.
10. Через 25 – 30 днів підрахувати кількість рослинки суниці, що вирости.

Таблиця 4

№	Концент- рація розчину	Трива- лість стери- лізації, хв	Загальна кількість експлантів	Кількість сте- рильних екс- плантів через 6 днів		Кількість рослин суни- ці через 30 днів	
				шт	%	шт	%
1	1:4	10					
2		15					
3		30					
4	1:3	10					
5		15					
6		30					
7	1:2	10					
8		15					
9		30					
10	1:1	5					
11		10					
12		15					

Рекомендована література [1,2,4,5]

Лабораторна робота 9

Мікроклональне розмноження рослин живцями

Мета роботи: оволодіти методикою вегетативного розмноження рослин *in vitro*, яка базується на активації пазушних меристем.

Матеріали і обладнання: асептичні рослини картоплі, стерильне середовище МС у пробірках, стерильні чашки Петрі, скальпелі, пінцети, спирт, спиртівка, ламінар – бокс.

Хід роботи

1. Пробірку з рослиною протерти спиртом і обпалити горло у полум'ї спиртівки.

2. Стерильним пінцетом витягти рослину – регенерант із пробірки, в якій вона росла і помістити її у стерильну чашку Петрі.

3. Підтримуючи рослину пінцетом, скальпелем порізати стебло на

сегменти довжиною 10 мм так, щоб частина над брунькою становила 2 – 3 мм, а під нею 5 – 7мм. Обрізати листки. У верхівки листки не одрізаються. Пінцетом перенести кожний сегмент у пробірку з поживним середовищем МС. Пазуха листка має знаходитись над агаром.

4. Культивувати при температурі 25⁰ – 28⁰ С, освітленні 2 – 3 клк, 16-годинному фотоперіоді, відносній вологості повітря 70 – 75 %.

5. Через 3 – 4 тижні з пазушних бруньок розвиваються рослини – регенеранти, які знову можна використати для розмноження живцюванням та інших цілей.

Питання для самоконтролю:

1. Яке поживне середовище використовується для мікроклонального розмноження рослин живцями?

2. Наведіть послідовність дій при проведенні мікроклонального розмноження рослин живцями.

3. В яких умовах проводиться мікроклональне розмноження рослин живцями?

4. Як проводиться поділ рослин на сегменти?

Лабораторна робота №10
Фітогормональна регуляція росту та розвитку
рослинних організмів у біотехнологічних процесах.
Зберігання рослинного матеріалу в спеціальних умовах

Мета роботи: дослідити вплив різних концентрацій ауксину на ростові процеси.

Матеріали і обладнання: проросле насіння вівса, дистильована вода, 2%розчин сахарози, розчин ІОК, 6 пробірок, 6 чашок Петрі, скальпелі, пінцети, спирт, спиртівка, ламінар – бокс.

Хід роботи

1. У шість пронумерованих пробірок наливають по 18 мл 2%-го розчину сахарози, необхідної як джерело енергії.
2. У першу пробірку наливають 2 мл розчину ІОК, збовтуючи її вміст. Чистою піпеткою з неї беруть 2 мл розчину і вносять його в другу пробірку. З другої пробірки теж відбирають 2 мл і вливають у третю пробірку. Операцію повторюють. У шосту (контрольну) пробірку наливають 2 мл води. Таким чином готують розчини п'яти концентрацій індолілоцтової кислоти.
3. Виготовлені розчини і воду наливають у шість чашок Петрі, в які пензликом вносять по 10 декапітованих (без апексів) колеоптилів завдовжки 10 мм. Верхівки їх відрізають, щоб природні ауксини, які синтезуються в них, не впливали на ріст. Колеоптилі зручно нарізати спеціальним різакон, відступаючи 3 мм від верхівок. 41
4. Чашки накривають кришками і залишають у темряві на 3 дні за температури 25 °С.
5. За три дні вимірюють довжину колеоптилів. Результати записують у таблицю.

Питання для самоконтролю:

- 1.Механізм росту рослин та його регуляція
- 2.Фітогормони, які впливають на ріст рослин
- 3.Зберігання рослинного матеріалу

3. РЕКОМЕНДАЦІ ДЛ Я В И К О Н А Н Н Я САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ

Розподіл годин самостійної роботи для студентівденної форми навчання:

підготовка до аудиторних занять – 0,5 год./1 год.занять
 $= 0,5 \times (10+10) = 10$ год.

підготовка до контрольних заходів – 6 год. на 1кредит
ЄКТС = $6 \times 4 = 24$ год.

опрацювання окремих тем програми або її частин,які не викладаються на лекціях - 46 год.

Розподіл годин самостійної роботи для студентівзаочної форми навчання:

підготовка до аудиторних занять – $(6+2) \times 0,5 \text{ год.} = 4 \text{ год.}$

підготовка до контрольних заходів – 4 кредитів ·6год. =
24 год.

опрацювання окремих тем програми або її частин, якіне викладаються на лекціях – 86 год.

Теми самостійної роботи

№ з/п	Теми самостійної роботи
1	Цитотехнології
2	Гістотехнології
3	Молекулярна генетика
4	Інженерна ензимологія
5	Метод соматичної гібридизації

Звітом про самостійну роботу здобувача є конспект матеріалу за вище наведеними темами. Конспектування опрацьованого матеріалу проводиться в довільній формі в рукописному вигляді в робочому зошиті або на стандартному папері формату А4 (210х297 мм) українською мовою. Захист опрацьованого матеріалу здійснюється при проведенні контрольних заходів поточного оцінювання разом із іншим даної теми.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

Базова

1. Слободян В. О. Основи біотехнології : навчальний посібник. Івано-Франківськ : Вид-во ІМЕ, 2002. 188 с.
2. Мусяк М. М., Панюта О. О. Біотехнологія рослин. Київ : Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2005. 114 с.

Допоміжна література

1. Россихин В. В. Биотехнология: введение в науку будущего. Харьков : Колорит, 2005. 288 с.
2. Шекера Л.И. Биотехнология: достижения и перспективы. Одесса, 1987. 24 с.
3. Галяс В. Л., Колотницький А. Г. Біохімічний і біотехнологічний словник. Львів : Оріяна, 2006. 468 с.
4. Гвоздяк П. І. 50 запитань і 49 відповідей з нової біотехнології очистки води. К. : Знання, 1990. 28 с.
5. Юлевич О. І., Ковтун С. І. Біотехнологія. Миколаїв : МДАУ, 2012. 476 с.