

Міністерство освіти і науки України  
Національний університет водного господарства та  
природокористування  
Навчально-науковий інститут агроекології та землеустрою  
Кафедра водних біоресурсів

**05-03-218М**

### **МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ**

до виконання практичних та самостійних робіт з навчальної  
дисципліни «Сучасні біотехнології в аквакультурі»  
для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня  
за освітньо-професійною програмою «Водні біоресурси та  
аквакультура» спеціальності 207 «Водні біоресурси та  
аквакультура» денної та заочної форм навчання (частина 1)

Рекомендовано  
науко-методичною радою  
з якості ННІАЗ  
Протокол № 12 від 04.02.2025 р.

Рівне – 2025

Методичні вказівки до виконання практичних робіт з навчальної дисципліни «Сучасні біотехнології в аквакультури» для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня за освітньо-професійною програмою «Водні біоресурси та аквакультура» спеціальності 207 «Водні біоресурси та аквакультура» денної та заочної форми навчання (частина 1). [Електронне видання] / Гроховська Ю. Р., Кононцев С. В. – Рівне : НУВГП, 2025. – 34 с.

Укладачі: Гроховська Ю. Р. – доктор сільськогосподарських наук, професор кафедри водних біоресурсів; Кононцев С. В. – доктор технічних наук, професор кафедри водних біоресурсів.

Відповідальна за випуск: Полтавченко Т. В, кандидат ветеринарних наук, доцент, завідувач кафедри водних біоресурсів.

Керівник групи забезпечення спеціальності 207 «Водні біоресурси та аквакультура»

Петрук А. М.

### Зміст

ВСТУП	3
1. Основні методи генетичної інженерії	4
2. Методи виділення генів	10
3. Сучасні генно-інженерні технології в аквакультури: створення трансгенної конструкції	17
4. Методи транспортування та інтеграція трансгенної конструкції	22
5. Технології культивування рослин. Мікроклональне розмноження рослин	28
Рекомендована література	33

© Ю. Р. Гроховська,  
С. В. Кононцев, 2025  
НУВГП, 2025

## ВСТУП

Навчальна дисципліна «Сучасні біотехнології в аквакультурі» належить до блоку вільного вибору освітніх компонентів здобувачами вищої освіти першого (бакалаврського) рівня за спеціальністю 207 «Водні біоресурси та аквакультура». На вивчення дисципліни передбачено 5 кредитів (150 год), форма підсумкового контролю – залік.

Мета дисципліни – формування теоретичних знань про напрями, об'єкти і методи сучасної біотехнології, оволодіння практичними навичками біотехнологій в аквакультурі, у т. ч. культивування цінних живих кормів для риб. Серед завдань – шляхи використання, розведення і утримання гідробіонтів з метою отримання цінних об'єктів в промисловій і декоративній аквакультурі. Знання і навички з дисципліни необхідні для формування у здобувачів освіти комплексу фахових компетентностей для запровадження принципів сталої аквакультури в рамках Європейського Зеленого курсу, наприклад, для впровадження принципів інтегрованої мультитрофічної аквакультури з метою підтримання належної якості води в рециркуляційних системах та вирощування кормових гідробіонтів на відходах виробництва риби, тощо.

Дисципліна поєднує в собі інформацію про сучасні напрями біотехнології – генну інженерію і клонування, а також біотехнології розведення і вирощування гідробіонтів, як самостійних об'єктів, так і в ролі кормів для риб.

Дисципліна, яка передусе вивченню зазначеної: «Біохімія гідробіонтів», де студенти опановують молекулярні основи спадковості, що є необхідною умовою розуміння методів генетичної інженерії. Крім того, до числа пов'язаних дисциплін, вивчення яких формує наукову базу майбутнього фахівця, належать обов'язкові і вибіркові освітні компоненти – «Зоологія (безхребетних та хордових)», «Гідрботаніка», «Іхтіологія», «Генетика риб» тощо. Під час викладання застосовується спеціальна термінологія, переважно англomовного походження, зокрема, у списку рекомендованої літератури є відповідні посилання на англomовні сайти, а у тренувальних тестах є

окремі пояснення англійською мовою<sup>1</sup>. Цим формуються міжпредметні зв'язки з обов'язковим компонентом освітньої програми – «Іноземною мовою».

## 1. ОСНОВНІ МЕТОДИ ГЕНЕТИЧНОЇ ІНЖЕНЕРІЇ

**Мета роботи:** ознайомитися з основними термінами та методами генетичної інженерії, з досягненнями генетичної інженерії в сільському господарстві.

**Теоретична частина.** За визначенням з «Розмовного глосарію геномних і генетичних термінів» (Національний інститут дослідження геному людини, США), *генетична (генна) інженерія* – це процес, який використовує лабораторні технології для зміни структури ДНК організму. Цей процес може означати зміну однієї пари основ (А-Т або С-Г), видалення певної ділянки ДНК, або додавання нової тощо. Наприклад, генна інженерія може використовувати додавання гена одного виду до геному організму іншого виду для отримання бажаної ознаки, наприклад, морозостійкості. За визначенням (Барияк, 2006), *генетична інженерія* – це прикладна молекулярна і клітинна генетика, яка вивчає прийоми експериментального втручання в структуру геному, що дає можливість його перебудувувати шляхом зміни закладеної в ньому генетичної інформації відповідно до запрограмованих задач.

Як метод створення генетичних програм, генетична інженерія охоплює низку складних процедур, що об'єднують зусилля науковців з різних галузей – біохіміків, генетиків і мікробіологів:

- 1) штучний синтез або виділення певного гена (або групи генів) з нуклеїнової кислоти клітини організму-донора;
- 2) включення цього гена до складу вектора, який забезпечує його розмноження (клонування);

---

<sup>1</sup> У методичних вакзівках вказані адреси тренувальних тестів у Google-формі за відповідними темами, доступ до яких мають усі зареєстровані користувачі пошти НУВГП. Ці тести можна використовувати для підготовки до контрольних заходів (модулів, заліку).

- 3) трансгенез – процес перенесення гена за допомогою вектора у клітину-реципієнт із подальшим включенням до її геному;
- 4) функціонування гена в клітині-реципієнті (його адаптація).

Протягом свого розвитку генетична інженерія еволюціонувала від клонування, застосовуваного для наукового аналізу та лабораторних досліджень, до створення синтетичної біології, що відкриває нові біомедичні можливості. На сучасному етапі генетична інженерія знаходить застосування як у наукових дослідженнях, так і в промисловості. Вона використовується для створення пивних дріжджів, генетично модифікованих рослин і тварин, риб у тому числі. Досягнення цієї галузі сприяють розробці вакцин проти небезпечних захворювань, а також ліків для боротьби з раком та іншими хворобами.

**Синтез генів.** Уперше хімічний синтез гена здійснив індійський вчений Гар Гобінд Корана (англ. Har Gobind Khorana), зі співробітниками у 1969 році. Він синтезував ген, який кодує синтез аланінової тРНК дріжджів. Цей ген складається з 77 пар нуклеотидів, послідовність яких була заздалегідь відомою. Спочатку науковці синтезували дрібні фрагменти ДНК, що містили 4-13 нуклеотидних пар, потім за допомогою ферменту *лігази* їх з'єднали у правильному порядку. Однак цей штучно синтезований ген був неспроможний синтезувати аланінові тРНК, оскільки не містив акцепторної системи. У 1976 році в лабораторії Корани було синтезовано фрагмент ДНК, що складався зі структурного гена супресорної тирозинової тРНК (126 пар нуклеотидів), *промотора* (52 пари) та *термінатора* (21 пара). До кінців молекули ДНК були прикріплені так звані «липкі кінці», які склалися з чергування нуклеотидів ААТТ (один кінець) і ТТАА (другий кінець). Завдяки цим «липким кінцям» ген був вбудований в геном *фага* і нормально у ньому функціонував. Це стало першим доказом можливості штучного синтезу генів.

Цей метод дає змогу синтезувати відносно невеликі гени, що містять лише кілька десятків пар нуклеотидів. Однак для

створення великих генів, які кодують ферменти або структурні білки й складаються з тисячі і більше пар нуклеотидів, доцільніше використовувати *ферментативний синтез*. Цей процес здійснюється за допомогою ферменту *зворотної транскриптази (ревертази)*, який дозволяє отримати точні копії ДНК (мДНК) на основі матричної РНК (мРНК).

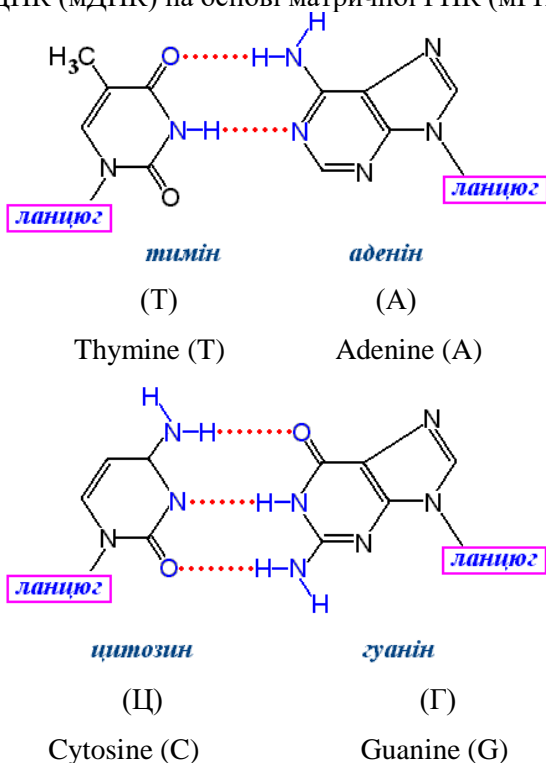


Рис. 1. Пари комплементарних основ<sup>2</sup>

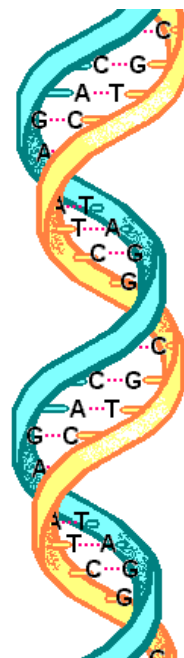


Рис. 2. Подвійна спіраль ДНК

**Схема ферментативного синтезу.** Для проведення ферментативного синтезу ДНК використовують пробірку з фізіологічним неклітинним середовищем, до якої додають:

<sup>2</sup> Зверніть увагу, що між парами основ аденін і тимін виникають два водневі зв'язки, а між цитозином і гуаніном - три.

– дезоксинуклеотидтрифосфати (dNTP) усіх чотирьох типів (A, T, G, C);

– фермент зворотну транскриптазу (ревертазу);

– матричну РНК (мРНК), що містить необхідний ген; перед синтезом мРНК очищується від домішок і може проходити обробку, наприклад, видалення інтронів, якщо це еукаріотична мРНК;

– короткі фрагменти ДНК із 8–10 повторів тиміну, які слугують «затравкою» для реакції – ці олігонуклеотиди тиміну (полі-Т) взаємодіють з полі-А хвостом мРНК, слугуючи стартовою точкою для ревертази.

Фермент ревертаза синтезує на мРНК комплементарний ланцюг ДНК. Після синтезу першого ланцюга ДНК мРНК може розщеплюватися рибонуклеазами або руйнуватися лужним середовищем, звільняючи місце для побудови другого ланцюга ДНК (фаза руйнування мРНК).

Після цього на синтезованій ДНК формується друга, комплементарна їй нитка, що приводить до утворення подвійної спіралі ДНК – точної копії вихідного гена, з якого була транскрибована мРНК. Синтезовану ДНК можна вставити у плазмідний вектор для подальшого клонування або експресії в клітині-хазяїні.

Цим методом були отримані гени, що кодують глобіни людини, кролика, миші, качки, голуба, імуноглобулін миші, ячний білок, людський інсулін, гормон росту, вакцинні антигени та інші білки.

**Генетична інженерія в сільському господарстві.** Найпоширенішим методом генетичної інженерії є метод отримання рекомбінантних, тобто таких, що містять чужорідний ген, плазмід. Цей процес складається з декількох етапів.

1. *Рестрикція* – розрізання подвійної спіралі ДНК на фрагменти.

2. *Лігування* – фрагмент з потрібним геном включають в плазміді і зшивають їх.

3. *Трансформація* – введення рекомбінантних плазмід в бактеріальні клітини. Трансформовані бактерії при цьому набувають певних властивостей. Кожна з трансформованих

бактерій розмножується і утворює колонію з багатьох тисяч нащадків – *клон*.

4. *Скринінг* – відбір серед клонів трансформованих бактерій тих, які містять плазмиди, що несуть потрібний ген рослини. Весь цей процес називається *клонуванням*.

До кінця 1980-х вдалося успішно вживити нові гени в десятки видів рослин і тварин – помідори, які легко витримують заморозки, кукурудзу, стійку до впливу пестицидів і т.д.

Одне з важливих завдань – отримання рослин, стійких до вірусів, оскільки в даний час не існує інших способів боротьби з вірусними інфекціями сільськогосподарських культур. Включення в клітини рослин генів білка оболонки вірусу, робить ці рослини стійкими до даного вірусу. На даний час отримані трансгенні рослини, які здатні протистояти впливу різних вірусних інфекцій (*англ.* Virus resistant transgenic plants, VRTPs).

Є ще одне завдання, яке пов'язане із захистом рослин від комах-шкідників. Застосування інсектицидів не повністю ефективне, по-перше, через їх токсичність, по-друге, тому що дощовою водою вони змиваються з рослин. У генно-інженерних лабораторіях Бельгії та США були успішно проведені роботи з введення в рослинну клітину генів бактерії *Bacillus thuringiensis*, що дозволяють синтезувати *інсектициди бактеріального походження*. Ці гени включили до клітин картоплі, томатів і бавовнику. Трансгенні рослини картоплі і томатів стали стійкі до колорадського жука, рослини бавовнику виявилися стійкими до різних комах, у тому числі до бавовняної совки. Використання генної інженерії дозволило скоротити застосування інсектицидів на 40 - 60%.

Генні інженери вивели трансгенні рослини з подовженим терміном дозрівання плодів. Такі помідори, наприклад, можна знімати з куща червоними, не боячись, що вони перестигнуть при транспортуванні.

Список рослин, до яких успішно застосовані методи генної інженерії, становить близько п'ятдесяти видів, включаючи яблуню, сливу, виноград, капусту, баклажани,



огірок, пшеницю, сою, рис, жито і багато інших сільськогосподарських культур.

### **Завдання**

1. Перемалювати схему рис. 1.1
2. Добудувати ланцюг ДНК, комплементарний до заданої послідовності:

CGCTTAAGTGTC.

3. Встановити будову ділянки молекули ДНК, яку отримали шляхом ферментативного синтезу з використанням ферменту ревертази, якщо ділянка мРНК з потрібним геном має вигляд:

AUGGUAUACGCAACG.

4. Написати послідовність другої нитки ДНК, яку отримали шляхом ферментативного синтезу з використанням ферменту ревертази, якщо ділянка мРНК має вигляд: GAUCCUACU.

### **5. Встановити правильність твердження (так/ні)**

1. Друга частина слова «біотехнологія» — «техне» позначає мистецтво, майстерність, уміння.
2. Об'єктами вивчення біотехнології можуть бути лише мікроорганізми.
3. Біотехнологія – це наука, яка вивчає шляхи використання біологічних об'єктів для отримання цінних видів продукції.
4. Термін «жовта біотехнологія» (Yellow biotechnology) застосовується до медичних процесів.

### **Питання для самоконтролю і обговорення**

1. Опишіть будову молекули ДНК і її функції.
2. Поясніть механізм реплікації молекули ДНК.
3. Порівняйте механізм хімічного і ферментативного синтезу генів.
4. Генетична інженерія в сільському господарстві.

### **Джерела**

1. Барияк І. Р.. Генетична інженерія. *Енциклопедія Сучасної України*: електронна версія [онлайн] / гол. редкол.: І. М. Дзюба, А. І. Жуковський, М. Г. Железняк та ін.; НАН України, НТШ. Київ: Інститут енциклопедичних досліджень НАН України, 2006. URL: [https://esu.com.ua/search\\_articles.php?id=29066](https://esu.com.ua/search_articles.php?id=29066).
2. Genetic engineering. *Talking Glossary of Genomic and Genetic Terms*. National Human Genome Research Institute. URL: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Genetic-Engineering>.

## 2. МЕТОДИ ВИДІЛЕННЯ ГЕНІВ

**Мета роботи:** ознайомитися з основними векторами, які використовуються у генетичній інженерії, навчитися створювати схеми генетичних конструкцій для включення фрагментів чужорідного генома в ядро досліджуваного організму (реципієнта).

**Теоретична частина.** Генетична інженерія використовує методи, які дозволяють одночасно виділити з молекули ДНК фрагмент відповідного гена і вбудувати його у *вектор*, за допомогою якого він може бути розмножений і включений в геном клітини-реципієнта.

Фрагменти ДНК, які містять потрібний ген, найчастіше отримують за допомогою ферментів – *рестриктаз*. Ці ферменти здатні розрізати молекулу ДНК у чітко визначеному місці, де розташовані нуклеотиди, які розпізнаються даною рестриктазою.

У генетичній інженерії використовують *вектори*, які включають фрагменти ДНК і переносять їх у клітину-реципієнт, тобто функціонують як «молекулярне таксі»: плазміди, бактеріофаги, віруси, косміди.

**Плазміди** – це дрібні дволанцюгові кільцеві молекули ДНК, які фізично відокремлені від хромосом в клітині і здатні до автономної реплікації. Переважно плазміди зустрічаються у бактерій, а також у деяких архей та еукаріотів (Esser et al, 1986; Wickner et al, 1987).



Рис.3. Ілюстрація бактерії з хромосомною ДНК і плазмідами  
(на основі File:Cosmid, 2020)

Природні плазміди часто містять гени, які сприяють виживанню організму в складних умовах та надають йому певні переваги, наприклад, стійкість до антибіотиків, пестицидів

тощо. На відміну від великих за розміром хромосом, які містять всю необхідну генетичну інформацію для життя організму в нормальних умовах, плазмідки зазвичай дуже малі. Вони містять лише додаткові гени, які можуть бути корисними в певних ситуаціях або умовах.

Штучні плазмідки широко використовуються як вектори в молекулярному клонуванні, для реплікації рекомбінантних послідовностей ДНК в організмі господаря. У лабораторії плазмідки можуть бути введені в клітину шляхом трансформації.

Плазмідки вважаються репліконами<sup>3</sup>, одиницями ДНК, здатними до автономної реплікації в клітині відповідного господаря. Однак плазмідки, як і віруси, зазвичай не розглядають як живі організми (Sinkovics et al., 1998).

Плазмідки передаються від однієї бактерії до іншої (навіть іншого виду) переважно шляхом кон'югації (Smillie et al., 2010). Передача генетичного матеріалу від одного господаря до іншого є одним із механізмів горизонтального переносу генів і плазмідки вважаються частиною мобілома<sup>4</sup>. На відміну від вірусів, у яких генетичний матеріал вкритий захисною білковою оболонкою (капсидом), плазмідки є «голою» ДНК і не кодують гени, необхідні для укладання генетичного матеріалу для передачі новому господарю; однак деякі класи плазмід кодують кон'югативну статеву ворсинку (англ. *a pilus*, множ. *pili*), необхідну для їх власного перенесення.

Розмір плазмід варіюється від 1 до понад 400 kbp (від англ. kilobase – тисяча пар основ, bp – пара основ двох нуклеотидів на комплементарних ланцюжках нуклеїнових кислот, ДНК або РНК, з'єднаних за допомогою водневих зв'язків) (Summers, 2008), а кількість ідентичних плазмід в одній клітині за певних обставин може коливатися від однієї до тисячі.

Отже, плазмідки складаються з декількох тисяч пар нуклеотидів, тобто містять додаткову генетичну інформацію, здатні автономно, незалежно від ДНК хромосом реплікуватися; деякі плазмідки володіють здатністю вбудовуватися в хромосому

---

<sup>3</sup> Реплікон — це молекула ДНК або її ділянка, яка незалежно реплікується з однієї точки початку реплікації.

<sup>4</sup> Мобілом – це весь набір мобільних генетичних елементів у геномі.

бактерії і виходити з неї; деякі можуть переходити з однієї клітини в іншу. Плазмідни є автономними генетичними елементами, які реплікуються в бактеріальній клітині не в той же час, що основна молекула ДНК.

**Косміди** – вектори, отримані шляхом об'єднання невеликих фрагментів ДНК бактеріофага  $\lambda$  (лямбда) і плазмід. Косміди вперше сконструйовані 1978 року (Collins, Hohn, 1978). Їхня назва походить від скорочення двох термінів: cos-ділянка (сам термін у свою чергу походить від англ. **cohesive ends** — липкі кінці) та плазмідна.

Косміди містять гени, що забезпечують їх розмноження в бактеріальній клітині, ген стійкості до антибіотика тетрацикліну і особливу ділянку з фага  $\lambda$  під назвою «кос», який містить всі речовини, які необхідні для упаковки рекомбінантної<sup>5</sup> ДНК, в білкову головку фага (рис. 4). Косміда складається з 35-40 тис. нуклеодних пар. За допомогою цих векторів гени можуть бути перенесені в бактеріальні, рослинні і тваринні клітини, що культивуються *in vitro*.

**Віруси** використовують у ролі векторів, що проникають у клітини тварин. Наприклад, онкогенний вірус SV40 (від англ. Simian vacuolating virus 40, Simian virus 40) мавп. Він належить до дрібних вірусів – ДНК складається з 5200 нуклеотидних пар. Геном цього вірусу має здатність вбудовуватися в хромосоми клітин ссавців.

Іноді вірус SV40 перетворюється у віріон, в якому всередині білкової оболонки (капсиду) міститься не ДНК вірусу, а ДНК клітини-господаря. За допомогою SV40 гени  $\beta$ -ланцюга гемоглобіну миші і кролика були перенесені в клітини мавп, де вони активно функціонували.

---

<sup>5</sup> Рекомбінація – поява нових поєднань генів, яке веде до нової комбінації ознак у потомства.

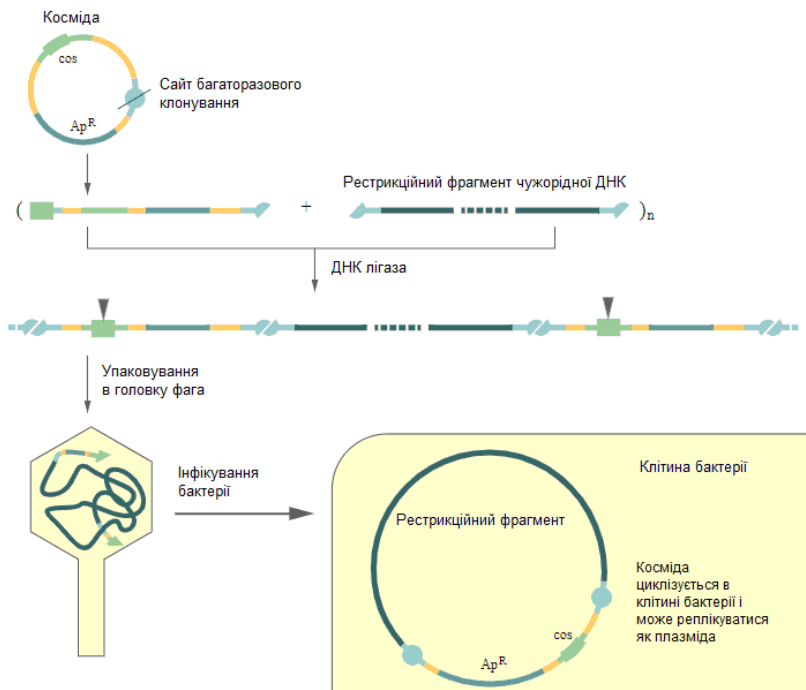


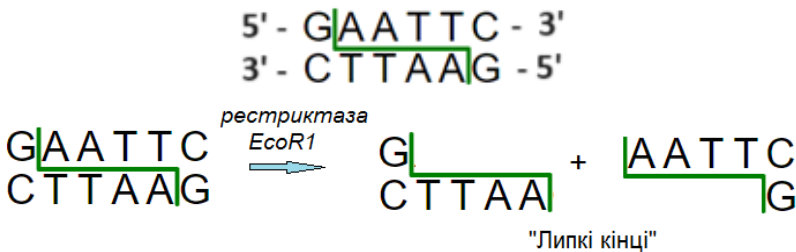
Рис.4. Схема клонування ДНК у космідному векторі  
(на основі File:Plasmid, 2023)

**Створення рекомбінантних ДНК.** Для перенесення необхідного генетичного матеріалу використовуються вектори – плазмиди і віруси. Плазмиди є основним матеріалом векторів.

ДНК вектора розрізають тими ж рестриктазами, які використовувалися для екзогенної ДНК.

Рестриктази, які зазвичай використовуються в генній інженерії, розрізають обидві ланцюги ДНК в симетричних точках *паліндромів* – коротких ділянок ДНК, в яких запис нуклеотидів зліва направо в одному ланцюзі аналогічний записам справа наліво в іншому ланцюзі. Так, перша рестриктаза, яку почали широко застосовувати, – *EcoRI*, впізнає послідовність GAATTC і розрізає дволанцюгову ДНК утворюючи 4-нуклеотидний липкий кінець з виступаючим 5'-

фрагментом ААТТ. Ділянку ланцюга ДНК вона завжди розрізає між точками **G** і **A**:



Тому фрагменти ДНК, отримані за допомогою цієї рестриктази, завжди несуть на своїх кінцях одноланцюгові ділянки ААТТ і ТТАА, комплементарні один одному. Такі ділянки отримали назву «*липкі кінці*», оскільки вони дозволяють будь-які фрагменти ДНК, отримані за допомогою однієї рестриктази, з'єднувати один з одним. Це властивість і використовується для з'єднання отриманої ДНК і ДНК вектора.

Кожна рестриктаза впізнає свою специфічну послідовність. Деякі рестриктази дають «липкі кінці», інші - «тупі кінці», впливаючи на зв'язки, розташовані точно один навпроти одного.

«Тупі кінці» можна перетворити в «липкі», приєднавши штучно синтезовані послідовності, які впізнаються певною рестриктазою, – *лінкери*. Вони дозволяють клонувати будь-які фрагменти чужорідної ДНК безвідносно до специфіки сайтів рестрикції. Іноді до «тупих кінців» приєднують (за допомогою ферменту термінальної трансферази) комплементарні «хвости» – полі (А) і полі (Т).

Отже, генетична інженерія (генна інженерія) – сукупність прийомів, методів і технологій отримання рекомбінантних РНК і ДНК, виділення генів з організму (клітин), здійснення маніпуляцій з генами, введення їх в інші організми і вирощування штучних організмів після видалення обраних генів з ДНК. Генетична інженерія не є наукою в широкому сенсі, а є інструментом біотехнології, використовує методи таких біологічних наук, як молекулярна та клітинна біологія, генетика, мікробіологія, вірусологія.

### Завдання

1. Перемалювати схему рис. 1
2. Добудувати ланцюг ДНК, комплементарний до заданої послідовності: CGCTTAAGTGTC. Які нуклеотиди потрібно приєднати до цієї ділянки ДНК, щоб отримати «липкі» кінці?
3. Встановити будову ділянки молекули ДНК, яку отримали шляхом ферментативного синтезу з використанням ферменту ревертази, якщо ділянка мРНК з потрібним геном має вигляд: AUGGUAUACGCAACG.
4. Написати послідовність другої нитки ДНК, яку отримали шляхом ферментативного синтезу з використанням ферменту ревертази, якщо ділянка мРНК має вигляд: GAUCCUACU.
5. Заповнити таблицю

Вектор	Розмір	Особливості будови	Використання у генетичній інженерії

**Тренувальні тести** у Google-формі (включають питання перших лекцій та практичної роботи)  
<https://forms.gle/XJRoS5AcXnPWYgQJ9/>

**Тести. Оберіть одну правильну відповідь.**

- 1) Дрібні кільцеві дволанцюгові молекули ДНК, які присутні у клітинах бактерій  
лінкери  
плазмідни  
косміди
- 2) Ці ферменти розрізняють молекулу ДНК в строго визначеному місці  
лінкери  
плазмідни  
косміди  
рестриктази  
лігази  
ліази
- 3) Де розриває зв'язок рестриктаза *EcoRI*?

G\*ААТТС

GAA\*ТТС

GAАТТ\*С

GA\*АТТС

- 4) Ділянки (сайти), багаті на А, Т дезокси- (аденозин/тимідин), поширені в областях ДНК, що відповідають сайтам промоторів, оскільки (оберіть усі можливі відповіді)

Основи А і Т загалом зв'язані слабше, ніж пари основ С і G  
А і Т мають лише 4 водневі зв'язки, тоді як С і G мають 5  
А і Т утворюють між собою 2 водневі зв'язки, тоді як С і G утворюють 3 водневі зв'язки

Сайти, багаті А, Т, не можуть утворювати подвійну спіраль  
Існують різні цукри в А і Т проти С і G.

- 5) Промислова біотехнологія, або біотехнологія, що застосовується для промислових процесів

«червона» (Red biotechnology)

«блакитна» (Blue biotechnology)

«біла» біотехнологія (White biotechnology)

«зелена» (Green biotechnology)

«жовта» (Yellow biotechnology)

#### Питання для самоконтролю і обговорення

1. Які є етапи отримання рекомбінантних плазмід?
2. Розповісти про етапи створення генетичної конструкції: плазміда вектор - ядро клітини реципієнта.
3. Як віруси використовують у ролі векторів у генетичній інженерії?

#### Джерела

1. Collins J., Hohn B. Cosmids: a type of plasmid gene-cloning vector that is packageable in vitro in bacteriophage lambda heads. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1978. 75 (9): 4242–6. DOI: [doi:10.1073/pnas.75.9.4242](https://doi.org/10.1073/pnas.75.9.4242)
2. Esser K., Kück U., Lang-Hinrichs C., Lemke P., Osiewacz H.D., Stahl U., Tudzynski P. *Plasmids of Eukaryotes: fundamentals and Applications*. Berlin: Springer-Verlag, 1986.
3. File: Cosmid (2020, December 29). *Wikimedia Commons*. Retrieved February 9, 2024. URL: <https://surl.li/lszswi>.



4. File: Plasmid (2023, October 7). *Wikimedia Commons*. Retrieved, February 9, 2024. URL: <https://surl.li/prhwaaw>
5. Sinkovics J., Horvath J., Horak A. The origin and evolution of viruses (a review). *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*. 1998, 45 (3–4): 349–90. PMID 9873943.
6. Smillie C., Garcillán-Barcia M.P., Francia M.V., Rocha E.P., de la Cruz F. Mobility of plasmids. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2010. 74 (3): 434–52. DOI: 10.1128/MMBR.00020-10.
7. Thomas C.M., Summers D. Bacterial Plasmids. *Encyclopedia of Life Sciences*, 2008. DOI: 10.1002/9780470015902.a0000468.pub2.
8. Wickner R.B., Hinnebusch A., Lambowitz A.M., Gunsalus I.C., Hollaender A., eds. Mitochondrial and Chloroplast Plasmids. *Extrachromosomal Elements in Lower Eukaryotes*. Boston, MA: Springer US, 1987. pp. 81–146.

### 3. СУЧАСНІ ГЕННО-ІНЖЕНЕРНІ ТЕХНОЛОГІЇ В АКВАКУЛЬТУРІ: СТВОРЕННЯ ТРАНСГЕННОЇ КОНСТРУКЦІЇ

**Мета роботи:** ознайомитися з сучасними генно-інженерними технологіями в аквакультурі та їхня роль у підвищенні продуктивності.

**Теоретична частина.** *Аквакультура* — це розведення і вирощування гідробіонтів, включаючи риб, молюсків, ракоподібних і водних рослин у прісній або солоній воді. Вона передбачає певну форму втручання в процес вирощування, включаючи регулярне зариблення, годівлю та захист від хижаків для підвищення продуктивності. Сільське господарство також передбачає індивідуальне чи корпоративне володіння тваринами, що вирощуються (FAO, 2020).

Прісноводну аквакультуру можна розділити на екстенсивну, напівінтенсивну та інтенсивну за вхідними ресурсами (альфа-, бета- і гамма-технології).

У екстенсивній системі культивування організми виживають і ростуть на кормі, доступному у навколишньому середовищі, тоді як у випадку напівінтенсивної системи культивування додаткові корми постачаються для посилення росту, а в системі інтенсивного культивування організми живуть

і ростуть виключно на кормі, що надходить із зовнішнього джерела.

У системі інтенсивної аквакультури продуктивність дуже висока, як і витрати.

Зараз широко впроваджується модифікований тип системи інтенсивного вирощування, а саме рециркуляційна система аквакультури, де всі параметри якості води, подачі корму та видалення екскреторних речовин контролюються в режимі реального часу для забезпечення максимальної продуктивності. Цей тип системи використовується для вирощування високоцінної риби, включаючи декоративних риб, і є найдорожчою системою вирощування.

Щодо деяких сучасних технологій ще вивчаються можливості використання на комерційному рівні. До них належать *трансгенез, редагування генів і мікроРНК* та їхня роль підвищенні продуктивності аквакультури. На практичних роботах теоретично розглянемо використання сучасних технологій – трансгенезу.

**Трансгенез** – це процес інтеграції чужорідного гена в живий організм, який надає організму нові властивості (фенотип), які він передаватиме своїм нащадкам у незмінному вигляді.

Інтеграція чужорідного гена може бути різних типів:

- широка – перенесення може відбуватися між двома різними царствами (наприклад, від бактерії до рослини чи тварини);
- близька – передача гена може відбуватися в межах одного царства (наприклад, від одного виду тварин до іншого);
- налаштування – ген уже присутній, але його експресія може бути змінена (Tester 1999).

Для мети трансгенезу найважливішим є близьке перенесення – інтеграція, яку можна розділити наступним чином:

- гетерологічний – перенос генів відбувається між різними типами (наприклад, від риби до амфібій);
- гомологічний – передача відбувається між двома родами або видами;

- цисгенний – організми належать до різних видів, але можуть схрещуватися в певних спеціалізованих умовах.
- аутотрансгенний – перенесення відбувається в межах одного виду,
- соматично-трансгенний, коли трансген залишається та експресується виключно в соматичній тканині (тканинах).

Перш ніж приступати до виробництва трансгенної риби, необхідно визначити мету таких експериментів. Метою можуть бути промислова або декоративна аквакультура, як модельний організм для наукових експериментів, екологічного моніторингу, генної терапії тощо.

Залежно від мети експерименту – для розуміння основного біологічного явища чи для комерційних цілей, – організм і подальші процеси вибираються відповідно.

Після того, як мета визначена, кроки, які необхідно зробити для отримання трансгенної особини, такі:

- сконструювати трансгенну конструкцію,
- доставити трансген,
- отримати популяцію-засновника,
- створити трансгенну гомозиготну групу.

Докладніше про трансгенез можна почитати у Chen et al. 1995, Devlin et al. 2009.

**Створення трансгенної конструкції.** У першу чергу необхідно ідентифікувати ген, який потрібно ввести в рибу залежно від мети трансгенезу. Потрібні також інші компоненти – це регуляторні послідовності 50 і 30, які регулюватимуть функцію введеного гена.

Зазвичай регуляторна послідовність 50 є промотором, який також може бути обраний на основі власної функціональності, яка конститутивна або індукцйбельна, може бути сильною або слабкою. Загалом, обраний промотор не обов'язково є тим самим промотором з вибраного гена, який буде використовуватися в трансгенній конструкції. Вибір сильного/слабкого або конститутивного/індукцйбельного промотора залежить від того, як трансгенна функція буде використана в трансгенному організмі.

Для трансгенезу риб використовуються 13 різних промоторів (Devlin et al. 2009).

Регуляторна послідовність 30 містить сигнал поліаденілування та сигнал термінації транскрипту (рис. 5).

Після того, як усі компоненти трансгену відібрано, його необхідно виділити та окремо клонувати у відповідний *вектор*, щоб він міг рости у великих кількостях для майбутнього використання. Кінцеву трансгенну конструкцію готують у такій послідовності: 500 промотор—вибраний ген—30 регуляторна послідовність, і всю конструкцію вбудовують у відповідний вектор.

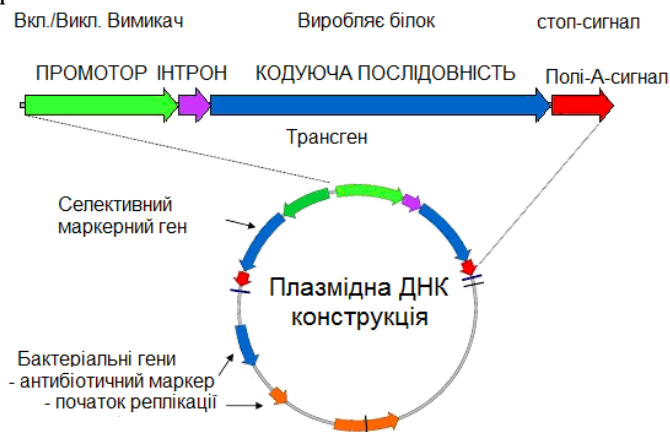


Рис. 5. Схема створення трансгенів

Після того як така конструкція підготовлена, функціональність кожного компонента може бути перевірена в системі *in vitro* з використанням відповідних клітинних ліній.

### Завдання

1. Перемалювати схему рис. 5.
2. З'ясувати і записати значення термінів та ідіом: аквакультура, трансгенез, вектор, промотор, термінація, гіногенез, *in vivo*.

### Встановити правильність твердження (так/ні)

1. Широка інтеграція чужорідного гена може відбуватися між двома різними царствами.

2. У системі екстенсивної аквакультури продуктивність дуже висока, як і витрати.
3. Широка інтеграція чужорідного гена передбачає гетерологічний перенос.

**Тести. Оберіть одну правильну відповідь.**

**1. Яка система культивування передбачає використання кормів риб з водного середовища?**

- рециркуляційна
- екстенсивна
- напівінтенсивна
- інтенсивна

**2. Перенос генів, який здійснюється між різними видами, здатними до схрещування.**

- гетерологічний
- гомологічний
- цигенний
- аутогенний
- сوماتично-генний

**3. Перенос генів, який здійснюється між плазунами і рибами - це...**

- гетерологічний
- гомологічний
- цигенний
- аутогенний
- сوماتично-генний.

**4. Напівінтенсивна прісноводна аквакультура – це**

- альфа-технології,
- бета-технології
- гамма-технології.

**Питання для самоконтролю і обговорення**

1. Які розрізняють системи прісноводної аквакультури за вхідними ресурсами?
2. Що таке трансгенез і які типи трансгенезу використовують в аквакультурі?
3. Як створюють транс генну конструкцію? Яку функцію виконують промотор і термінатор в цій конструкції?

## Джерела

1. Chen T.T., Lu J.K., Shablott M.J., Chench C.M., Lin C.M., Burns J.C., Reimschuessel R., Chatakondi N., Dunham R.A. Transgenic fish: ideal models for basic research and biotechnological applications. *Zool. Stud.*, 1995. 34:215–234.
2. Devlin R.H., Raven P.A., Sundstrand L.F., Uh M. Issues and methodology for development of transgenic fish for aquaculture with a focus on growth enhancement. In: Overturf K. (ed) *Molecular research in aquaculture*. Wiley-Blackwell, London, 2009. P. 217–260.
3. Majumdar K.C., Ramachandran R. Aquaculture productivity enhancement through advanced technologies. *Advances in Fisheries Biotechnology*, 2021. P. 1-23. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-981-16-3215-0>
4. Tester M. Seeking clarity in the debate over the safety of GM foods. *Nature*, 1999. 402:575.

## 4. МЕТОДИ ТРАНСПОРТУВАННЯ ТА ІНТЕГРАЦІЯ ТРАНСГЕННОЇ КОНСТРУКЦІЇ

**Мета роботи:** ознайомитися зі способами транспортування трансгенної конструкції в ікру риби та її інтеграцією в геномі.

**Транспортування трансгену.** Після створення трансгенної конструкції її необхідно ввести в (не)запліднену ікру риби для подальшого розмноження. З цією метою було застосовано кілька методів з різним успіхом.

**Мікроін'єкції** в незапліднені яйцеклітини найбільш популярний серед цих методів. Для мікроін'єкції ДНК беруть у тонку мікрокапілярну трубку та доставляють у ядро одразу після запліднення. Приблизно 1–2 нл розчину ДНК з еквівалентним числом копій від  $10^6$  до  $10^7$  вводять у кожен яйцеклітину. У більшості риби пронуклеуси не видно в заплідненій ікринці. ДНК (від  $10^6$  до  $10^7$  копій в об'ємі 1–2 нл) вводять безпосередньо в цитоплазму.

Зазвичай яйцеклітини риби оточені хоріоном, який стає твердим після запліднення, що призводить до труднощів з мікроін'єкцією. Можна успішно виконати видалення хоріона вручну, хімічним способом або навіть свердлінням перед мікроін'єкцією.

Ікра риби має добре помітне мікропіле, через яке потрапляє сперма у процесі запліднення. Мікроін'єкцію в цитоплазму можна здійснити через мікропіле яйцеклітини, де знаходяться ядра після запліднення. Однією з переваг мікроін'єкції в яйцеклітині риби є те, що за допомогою техніки індукованого розведення можна отримати велику кількість ікринок.

У методу мікроін'єкції є такі недоліки:

- 1) потрібен кваліфікований персонал для виконання мікроін'єкцій із достатньо високою швидкістю;
- 2) короткий час для ін'єкції — приблизно 30 хвилин від запліднення до першого поділу клітини, що є критичним; якщо робити мікроін'єкцію на двоклітинній стадії, це збільшує шанси отримання мозаїчної індивідуальної форми;
- 3) швидкість інтеграції становить лише близько 20%;
- 4) інколи трансген може утворювати конкатамер і залишатися таким протягом кількох клітинних поділів як вільна молекула без інтеграції;
- 5) поява великої кількості мозаїчних особин.

**Електропорація.** Цей метод успішно використовується для перенесення трансгенів в ікру риби. Спочатку його використовували для трансформації різних типів клітин в умовах *in vitro* та *in vivo*.

За цього методу яйцеклітини зберігаються в розчині ДНК, і на короткий проміжок часу подається висока напруга у кілька імпульсів. Під час цього процесу в мембрані відбувається тимчасове утворення пор, що дозволяє ДНК (та іншим макромолекулам) проникати в клітину шляхом простої дифузії. Як тільки ДНК потрапляє в клітину вона переміщується в ядра та інтегрується в геном.

Перевага цього методу полягає в тому, що велика кількість яйцеклітин може бути оброблена одночасно, і для цього не потрібна висококваліфікована робоча сила.

Через наявність хоріона цей метод не дуже ефективний у випадку ікри риби, але після видалення хоріона повідомлялося

про більш високі показники успішності застосування методу для коропів, сомів і даніо.

Перенесення ДНК за допомогою цього методу є дуже успішним для яєць молюсків, які є невеликими і мають або дуже тонкий хоріон, або його взагалі немає.

Метод електропорації простий у виконанні, і швидкість інтеграції становить близько 20% або вище, що є аналогічним або трохи вищим, ніж швидкість, досягнута за допомогою техніки мікроін'єкцій (Buono і Linser 1992, Lu et al. 1992, Powers et al. 1992).

**Перенесення трансгенів за допомогою сперми** – це ще один метод, який успішно використовується в трансгенезі. Сперматозоїди риби можуть залишатися в стані спокою в сім'яній рідині або в штучному середовищі протягом тривалого періоду і можуть бути активовані при створенні правильних умов без зниження швидкості запліднення яєць.

Також відомо, що ДНК може зв'язуватися зі сперматозоїдом під час інкубації. Такі сперматозоїди, якщо їх використовувати для запліднення, можуть призвести до утворення трансгенних риб. Таким чином, сперматозоїд діє як транспортний засіб для перенесення трансгену в яйцеклітину. Частота таких переносів, на жаль, низька. Цікаво, однак, що електропорація сперматозоїдів у присутності ДНК призводить до різкого збільшення частоти трансгенних особин (Müller та ін. 1992; Powers та ін. 1992; Symonds та ін. 1994; Tsai та ін. 1995a, b).

Ця процедура також не вимагає високої кваліфікації робочої сили і може застосовуватися в польових умовах у масовому масштабі. Таким чином, електропорація (опосередкована спермою чи іншим способом) вважається ефективною та універсальною технологією перенесення генів (Powers та ін. 1992; Chen та ін. 1995; Rajesh та Majumdar 2005).

Інші методи включають перенесення генів за допомогою вірусів. Перенесення генів, включаючи ліпофекцію, біолистику (бомбардування мікрочастинками, «генна гармата») і ретровірусну інфекцію, використовувалися на рибах з різними показниками успіху. Модифікація та трансплантація



ембріональних стовбурових клітин також мають потенціал для революції в галузі трансгенезу риб (Tonelli та ін. 2017).

**Технічне утримування ін'єкційних яєць.** Після перенесення генів яйцеклітинам дозволяють рости в стерильних умовах, іноді в присутності антибіотиків, щоб запобігти бактеріальній інфекції.

Як правило, тропічні риби вилуплюються протягом 24 годин, тоді як видам помірнього клімату потрібно набагато більше часу, щоб вилупитися, тому вони вимагають більшої обережності в цей період їх розвитку.

Після поглинання жовтка личинок годують природним/штучним кормом, поки вони не будуть готові до подальших експериментів.

**Трансгенна інтеграція.** Після того, як трансген переноситься в ядро/цитоплазму заплідненої яйцеклітини, необхідно спостерігати, чи інтегрувався він у хромосому реципієнта чи ні. У більшості випадків видно, що трансген не інтегрується відразу, а реплікується, і лише на першій стадії розщеплення він інтегрується. Здебільшого це призводить до появи трансгенних особин G<sub>0</sub>, які є мозаїчними за своєю природою, тобто не всі клітини містять трансген (рис. 6).

Оскільки швидкість інтеграції трансгену низька, застосовуються різні методи, включаючи (1) сигнальний білок ядерної локалізації з трансгеном (2) псевдотипований ретровірус зі спеціальним білком інтеграції або (3) використання транспозаз разом із трансгеном для підвищення швидкості інтеграції.

Також видно, що низький відсоток трансгенних індивідів має трансген, інтегрований у багатьох місцях.

Інша проблема трансгенезу полягає в тому, що інтеграція відбувається випадковим чином у геномі, а не в певному місці.

Еукаріотична хромосома має як гетерохроматичні, так і еухроматичні ділянки, причому виявлено, що гетерохроматичні ділянки транскрипційно мовчать, тоді як еухроматичні ділянки активні.

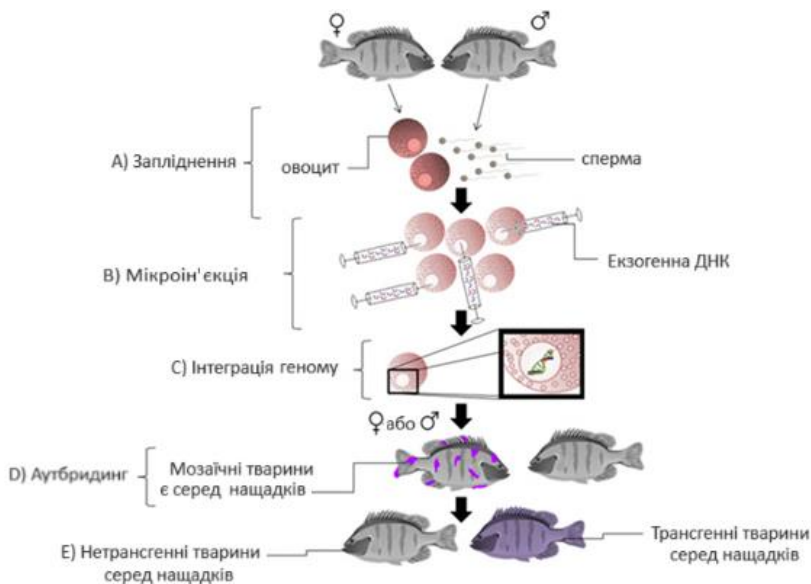


Рис. 6. Схема отримання трансгенних риб (за Tonelli et al., 2017)

Відомо, що транскрипційно активний ген з еухроматичної області при транспонуванні в гетерохроматичну область замовчується, тоді як ген з гетерохроматичної області при транспонуванні в еухроматичну область стає транскрипційно активним. Подібно до згаданого, трансген стає мовчазним, якщо його інтегрувати поблизу гетерохроматичної області хромосоми.

### Завдання

1. Перемалювати рисунок 6 та «Схему використання мікроін'єкції для трансгенезу».
2. Заповнити таблицю

Методи перенесення трансгену	Переваги	Недоліки
Мікроін'єкція		
Електропорація		
...		

### **Встановити правильність твердження (так/ні)**

Для виконання електропорації сперматозоїдів під час переносу генів не потрібна висококваліфікована робоча сила.

Під час процесу мікроін'єкції в мембрані відбувається тимчасове утворення пор, що дозволяє ДНК вносити в клітину шляхом простої дифузії.

Якщо мікроін'єкція генної конструкції в яйцеклітину відбулася відразу після запліднення, це збільшує шанси отримання мозаїчної індивідуальної форми.

Методом мікроін'єкції велика кількість яйцеклітин може бути оброблена одночасно.

Якщо трансген інтегрувати в гетерохроматичну ділянку хромосоми, то він замовчується.

**Тести. Оберіть одну правильну відповідь.**

**1) Під час цього процесу перенесення трансгену в мембрані відбувається тимчасове утворення пор, що дозволяє ДНК проникати в клітину шляхом простої дифузії.**

мікроін'єкції  
електропорації  
біолістики  
ретровірусної інфекції

**2) Під час цього процесу перенесення трансгену в клітину здійснюється за допомогою віріонів.**

мікроін'єкції  
електропорації  
біолістики  
інфекції

**3) Як називається ділянка хромосоми, яка є транскрипційно активною?**

Еукаріотична  
Еухроматична  
Гетерохроматична  
Транскрипційна

### **Питання для самоконтролю і обговорення**

1. Які методи транспортування транс генної конструкції використовують в аквакультурі?

2. Порівняти методи електропорації і мікроін'єкції, їх переваги і недоліки.
3. Чим зумовлена поява мозаїчних особин в процесі розмноження трансгенних риб?

#### Джерела

1. Fernanda M.P. Tonelli, Samyra M.S.N. Lacerda, Flávia C.P. Tonelli, Guilherme M.J. Costa, Luiz Renato de França, Rodrigo R. Resende. Progress and biotechnological prospects in fish transgenesis. *Biotechnology Advances*, 2017. Vol. 35, 6, P. 832-844. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.06.002>.
2. Majumdar K.C., Ramachandran R. Aquaculture productivity enhancement through advanced technologies. *Advances in Fisheries Biotechnology*, 2021. P. 1-23.

## 5. ТЕХНОЛОГІЇ КУЛЬТИВУВАННЯ РОСЛИН. МІКРОКЛОНАЛЬНЕ РОЗМНОЖЕННЯ РОСЛИН

**Мета роботи:** вивчити сучасні методи селекції та культивування рослин на прикладі мікроклонального розмноження; ознайомитися з основними етапами мікророзмноження рослин.

**Теоретична частина.** Мікроклональне розмноження рослин, або мікророзмноження (англ. micropropagation) — це метод швидкого розмноження рослинного матеріалу для отримання великої кількості рослин-нащадків за допомогою сучасних методів культивування тканин рослин. Мікроклональне розмноження це вегетативне нестатеве розмноження рослин *in vitro*.

Його переваги перед традиційними способами розмноження рослин:

- 1) отримання генетично однорідного посадкового матеріалу;
- 2) звільнення рослин від вірусів;
- 3) високий коефіцієнт розмноження;
- 4) скорочення тривалості селекційного процесу;
- 5) прискорення переходу рослин від ювенільної до репродуктивної фази розвитку;
- 6) розмноження рослин, які важко розмножуються традиційними способами;

- 7) можливість проведення робіт впродовж усього року;
- 8) можливість автоматизації процесу вирощування.

Можна виділити чотири етапи мікророзмноження:

1. Вибір материнської рослини – рослини-донора, ізолювання експлантів і отримання добре зростаючої стерильної культури.
2. Мультиплікація, власне мікророзмноження, коли отримують максимальну кількість меристематичних клонів.
3. Укорінення та акліматизація – розмножені пагони укорінюються з наступною адаптацією їх до ґрунтових умов.
4. Перенесення нових рослин у ґрунт – вирощування рослин в умовах теплиці та підготовка їх до реалізації або висадки на поле.

Методи мікроклонального розмноження

1. Активація вже існуючих в рослині меристем (апекс стебла, пазухи і сплячі бруньки стебла).

2. Індукція виникнення бруньок або ембріодів *de novo*:

- утворення адвентивних пагонів безпосередньо тканинами експлантів;
- індукція соматичного ембріогенезу;
- диференціація адвентивних бруньок в первинній та пересадженій калусній тканині.

**Основний метод** - активація розвитку вже існуючих в рослині меристем. Він заснований на усуненні апікального домінування<sup>6</sup>. Є 2 способи:

1. Видалення верхівкової меристеми стебла і подальше мікроживцювання пагона *in vitro* на безгормональному середовищі.
2. Додавання в поживне середовище речовин цитокініновою<sup>7</sup> типу дії (Ц), які індукують розвиток численних пазушних пагонів.

---

<sup>6</sup> Апікальне домінування — пригнічення верхньою брунькою росту бічних бруньок

**Другий метод** – індукція виникнення адвентивних бруньок безпосередньо тканинами експлантів. Заснований на здатності ізольованих частин рослини при сприятливих умовах поживного середовища відновлювати відсутні органи і таким чином регенерувати цілі рослини. Таким способом були розмножені багато представників родини лілійних, помідори, деревні рослини.

**Третій метод** – соматичний ембріогенез. Ґрунтується на диференціації з соматичних клітин зародкоподібних структур, які за своїм виглядом нагадують зиготичні зародки. Соматичні зародки проходять 3 стадії розвитку: глобулярну, серцеподібну, торпедоподібну і в кінцевому підсумку, розвиваються в проросток (рис. 5).

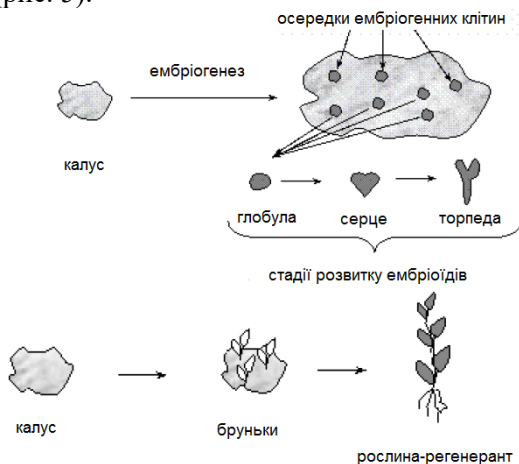


Рис. 5. Диференціація адвентивних бруньок калусу на поживному середовищі

Калус (калюс) - особлива тканина, що складається з недиференційованих клітин. Через калусну культуру успішно розмножуються цукрові буряки, злакові, капустяні, соняшник та інші культури (рис. 6).

<sup>7</sup> Цитокиніни — клас рослинних гормонів, які стимулюють поділ клітин та їх диференціацію

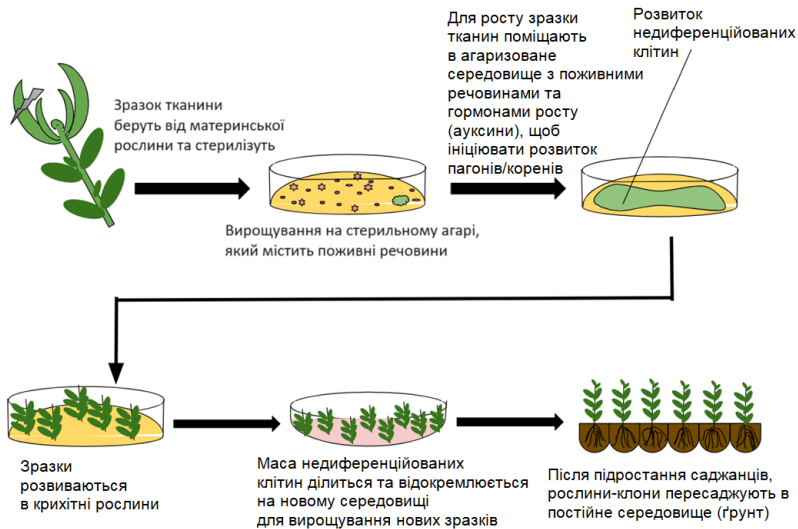


Рис. 6. Метод мікророзмноження в культурі тканин. Його етапи складаються з отримання зразка від материнської рослини, поміщення цього зразка в підготовлену культуру з поживними речовинами для розвитку калусу, розмноження пагонів, укорінення пагонів і перенесення саджанців у ґрунт  
(за File:Simple micropropagation technique, 2023)

### Завдання

1. З'ясувати і записати значення термінів та ідіом: тотипотентність, цитокініни, адвентивні бруньки, апікальне домінування, *in vitro*, *de novo*.
2. Перемалювати ілюстрації (рис. 4, 5, 6).

**Тренувальні тести** у Google-формі (включають питання лекцій та практичної роботи) <https://forms.gle/gzFgaGr5FnCw7pPEA>.

**Встановити правильність твердження** (так/ні)

1. Мікроклональне розмноження це вегетативне нестатеве розмноження рослин *in vivo*.
2. Мікроклональне розмноження використовують для рослин, які погано реагують на вегетативне розмноження.
3. Мультиплікація, або власне мікророзмноження - етап, коли розмножені пагони укорінюють з наступною адаптацією їх до ґрунтових умов.

4. «Загартовування» означає підготовку рослин до природного середовища росту.

### **Питання для самоконтролю і обговорення**

1. Що таке мікроклональне розмноження рослин, які його методи і переваги?
2. Які є способи активації розвитку вже існуючих в рослині меристем?
3. Що таке соматичний ембріогенез?
4. Пояснити поняття «тотипотентність» рослинних клітин.

### **Джерела**

1. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи : Моногр. / В. А. Кунах; НАН України. Ін-т молекуляр. біології і генетики. К. : Логос, 2005. 724 с.
2. Мельничук М. Д., Новак Т. В., Кунах В. А. Біотехнологія рослин.
3. Підручник. Київ: Поліграфконсалтинг, 2003. 520с.
4. Рудишин С. Д. Основи біотехнології рослин. Вінниця, 1998. 272 с.
5. Ніколайчук С. І., Горбатенко І. Ю. Генетична інженерія. Ужгород, 1999. 101 с.
6. Кушнір Г.П., Сарнацька В.В. Мікроклональне розмноження рослин. Теорія і практика. К.: Наук. думка, 2005. 270 с.
7. File:Simple micropropagation technique.svg. (2023, June 2). *Wikimedia Commons*. Retrieved 14:55, February 9, 2024. URL: <https://surl.li/dvqahw>
8. Plants from Test Tubes: An Introduction to Micropropagation. 4th Edition / Scoggins H ., Bridgen M. Timber Press, 2013. ISBN-10: 1604692065, ISBN-13: 978-1604692068
9. Мікроклональне розмноження рослин (31.12.2023). *Вікіпедія*. URL: <https://uk.wikipedia.org/w/index.php?>
10. Micropropagation. (31.12.2023). In *Wikipedia*. URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/Micropropagation>



## РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Біотехнологія : підручник / В. Г. Герасименко, М. О. Герасименко, М. І. Цвіліховський та ін. К. : «ІНКОС», 2006. 647с.
2. Костенко С. О. Біотехнологічні методи розведення риб. Тваринництво, кормовиробництво, збереження та переробка. *Таврійський науковий вісник*, 2018. № 102. С. 116–123.
3. Костенко С. О. Історія, створення та використання трансгенних риб. *Водні біоресурси та аквакультура*, 2020. С. 149–170. DOI <https://doi.org/10.32851/wba.2020.2.14>
4. Лобова О. В., Левішко А. С., Гуменюк І. І. Біотехнології : навч. посібник. К. : Видавництво НУБіП України, 2021. 548 с.
5. Мотроненко В. В., Луценко Т. М., Дронько Л. М. Біотехнологія та біоінженерія. Частина 1. *Основи біотехнології рекомендації до виконання лабораторних робіт* : навчальний посібник. Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2022. 82 с.
6. Петренко С., Кірович Н., Ясько В. та ін. Біотехнологія вирощування та переробки ейхорнії. *Agrarian Bulletin of the Black Sea Littoral*. 2021, Issue 99. С. 111–115. DOI: <https://doi.org/10.37000/abbsl.2021.99.18>
7. Романенко В. Д., Крот Ю. Г. Біотехнологічний напрямок досліджень в Інституті гідробіології НАН України. *Гідробіологічний журнал*. 2015. Т. 51, № 2. С. 23–33. URL: <http://dspace.nbu.gov.ua/handle/123456789/122813>.
8. Шерман І. М., Рилов В. Г. Технологія виробництва продукції рибництва : підручник. К. : Вища школа, 2005. 351 с.
9. Юлевич О. І., Ковтун С. І., Гиль М. І. Біотехнологія: навчальний посібник / за ред. М. І. Гиль. Миколаїв : МДАУ, 2012. 476 с.
10. Omole I. A. Biotechnology as an Important Tool for Improving Fish Productivity. *American Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2017. Vol. 5. No. 1. P. 17–22. DOI: <https://doi.org/10.11648/j.bio.20170501.14>

### Електронні ресурси

11. Державне агентство рибного господарства України. URL: <http://darg.gov.ua>.
12. Сайт журналу «Гідробіологічний журнал», рубрика «Рибне господарство та аквакультура» URL: <http://hydrobiolog.com.ua/>.
13. Науковий журнал «Біотехнологія». URL: <http://dspace.nbuiv.gov.ua/handle/123456789/225>.
14. Інститут рибного господарства НААНУ. URL: <http://if.org.ua/index.php/uk/>.
15. Сайт журналу «Рибогосподарська наука України». URL: <http://fsu.ua/index.php/uk/arkhiv-zhurnalu> .
16. Сайт FAO. Biotechnologies in Fisheries and Aquaculture in Developing Countries. URL: <https://www.fao.org/biotech/sectoral-overviews/fisheries/en/>
17. Сайт FAO. Fisheries and Aquaculture. URL: <https://www.fao.org/fishery/en>.