

Документ подписан простой электронной подписью
Информация о владельце:
ФИО: Наумова Наталия Александровна
Должность: Ректор
Дата подписания: 24.10.2024 14:21:41
Уникальный программный ключ:
6b5279da4e034bff679172803da5b7b559fc69e2

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ
Государственное образовательное учреждение высшего образования Московской области
МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ОБЛАСТНОЙ УНИВЕРСИТЕТ
(МГОУ)

Биолого-химический факультет
Кафедра ботаники и прикладной биологии

Согласовано управлением организации и
контроля качества образовательной
деятельности
«22» июня 2021 г.

Начальник управления _____

/ Г.Е. Суслин /

Одобрено учебно-методическим советом

Протокол «22» июня 2021 г. № 5

Председатель _____

/ О.А. Шестакова /

Рабочая программа дисциплины

Биотехнология

Направление подготовки

06.03.01 Биология

Профиль:

Биомедицинские технологии

Квалификация

Бакалавр

Форма обучения

Очная

Согласовано учебно-методической комиссией
биолого-химического факультета
Протокол от «17» июня 2021 г. № 7
Председатель УМКом _____

/ И.Ю. Лялина /

Рекомендовано кафедрой ботаники и
прикладной биологии
Протокол от «10» июня 2021 г. № 10

Зав. кафедрой _____

/ А.В. Поляков /

Мытищи
2021

Автор–составитель:

Поляков Алексей Васильевич, профессор кафедры ботаники и прикладной биологии

Рабочая программа дисциплины «Биотехнология» составлена в соответствии с требованиями Федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по направлению подготовки 06.03.01 Биология, утвержденного приказом МИНОБРНАУКИ РОССИИ № 920 от 07.08.2020

Дисциплина входит в обязательную часть Блока 1 Дисциплины (модули) и является обязательной для изучения.

Год начала подготовки (по учебному плану) 2021

СОДЕРЖАНИЕ

1. ПЛАНИРУЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОБУЧЕНИЯ	4
1.1. Цель и задачи дисциплины	4
1.2. Планируемые результаты обучения	4
2. МЕСТО ДИСЦИПЛИНЫ В СТРУКТУРЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЙ ПРОГРАММЫ	4
3. ОБЪЕМ И СОДЕРЖАНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ	4
3.1. Объем дисциплины	4
3.2. Содержание дисциплины	5
4. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ ОБУЧАЮЩИХСЯ.....	6
5. ФОНД ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ТЕКУЩЕЙ И ПРОМЕЖУ- ТОЧНОЙ АТТЕСТАЦИИ ПО ДИСЦИПЛИНЕ	8
5.1. Перечень компетенций с указанием этапов их формирования в процессе освоения образовательной программы	8
5.2. Описание показателей и критериев оценивания компетенций на различных этапах их формирования, описание шкал оценивания.....	9
5.3. Типовые контрольные задания или иные материалы, необходимые для оценки знаний, умений, навыков и (или) опыта деятельности, характеризующих этапы формирования компетенций в процессе освоения образовательной программ	12
5.4. Методические материалы, определяющие процедуры оценивания знаний, умений, навыков и (или) опыта деятельности, характеризующих этапы формирования компетенций.	13
6. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ И РЕСУРСНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ.....	16
7. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ	17
8. ИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА ПО ДИСЦИПЛИНЕ.....	29
9. МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ	29

1. ПЛАНИРУЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОБУЧЕНИЯ

1.1. Цель и задачи дисциплины

Цель освоения дисциплины сформировать систематические знания в области биотехнологии; о специализированных методах и их аппаратном обеспечении; о практическом применении методов биотехнологии в науке и быту.

Задачи дисциплины: сформировать специальный терминологический минимум; знания о методах, используемых при получении культуры тканей, методах клеточной селекции, методах генной инженерии;

1.2. Планируемые результаты обучения

В результате освоения данной дисциплины у обучающихся формируются следующие компетенции:

ОПК-1 Способен применять знание биологического разнообразия и использовать методы наблюдения, идентификации, классификации, воспроизводства и культивирования живых объектов для решения профессиональных задач;

ОПК-5 Способен применять в профессиональной деятельности современные представления об основах биотехнологических и биомедицинских производств, генной инженерии, нанобиотехнологии, молекулярного моделирования

ДПК-2 Способен к участию в мероприятиях по мониторингу потенциально опасных биообъектов с помощью молекулярно-биологических и биотехнологических методов.

СПК-1 Способен участвовать в работах (проектах) на биотехнологических производствах и в области медицинской и природоохранной биотехнологии

2. МЕСТО ДИСЦИПЛИНЫ В СТРУКТУРЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЙ ПРОГРАММЫ

Дисциплина входит в обязательную часть Блока 1 Дисциплины (модули) и является обязательной для изучения.

К исходным данным, необходимым для изучения дисциплины «Биотехнология» относятся знания в области ботаники, физиологии растений, зоологии.

3. ОБЪЕМ И СОДЕРЖАНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

3.1. Объем дисциплины

Показатель объема дисциплины	Форма обучения
	Очная
Объем дисциплины в зачетных единицах	4
Объем дисциплины в часах	144
Контактная работа:	56,3
Лекции	24
Лабораторные занятия	30
Контактные часы на промежуточную аттестацию:	2,3
Экзамен	0,3
Предэкзаменационная консультация	2
Самостоятельная работа	78
Контроль	9,7

Форма промежуточной аттестации: экзамен в 6 семестре.

3.2.Содержание дисциплины

Наименование разделов (тем) Дисциплины с кратким содержанием	Кол-во часов	
	Лекции	Лабораторные занятия
Тема 1. Общие представления о биотехнологии. Основные этапы развития биотехнологии. Технологии и биотехнологии. Основные направления развития биотехнологии. Задачи биотехнологии. Биотехнологические основы высоких технологий.	2	2
Тема 2. Основные объекты биотехнологий и их народнохозяйственное значение. Вирусы. Бактерии. Водоросли. Лишайники. Грибы. Водные растения. Высшие растения <i>in vivo</i> и <i>in vitro</i> . Животные <i>in vivo</i> и <i>in vitro</i> .	2	2
Тема 3. Клеточная и тканевая инженерия растений. История развития метода клеточной и тканевой инженерии растений. Основные направления клеточной инженерии растений. Клетка как основа жизни биологических объектов. Дедифференциация – основа формирования клеточных культур растений. Каллусные культуры растений. Суспензионные культуры растений. Морфогенез в клеточных культурах растений.	2	2
Тема 4. Методы клеточной инженерии растений в ускорении селекционного процесса. Клональное микроразмножение растений и его практическое применение. Изолированные протопласты. Гаплоиды. Дигаплоиды. Тетраплоиды. Триплоиды.	2	2
Тема 5. Генетическая инженерия. Молекулярные основы генетической инженерии. Основные этапы создания трансгенных организмов. Генетическая инженерия прокариот. Генетическая инженерия растений. Генетическая инженерия животных. Генодиагностика и гено-терапия человека.	2	2
Тема 6. Коллекции и криобанки клеточных культур. Сохранение организмов и клеточных культур. Криосохранение и его основы. Криобанки.	4	6
Тема 7. Основы промышленной биотехнологии и получение первичных и вторичных метаболитов. Основные методы и подходы, используемые в промышленной биотехнологии. Технологическое оборудование промышленного назначения. Продукты биотехнологии и блок-схемы их производств. Белковые продукты. Аминокислоты. Гормоны. Инсулин. Витамины. Интерфероны. Вакцины. Антибиотики. Моноклональные антитела. Вторичные соединения.	2	6
Тема 8. Энзиматическая инженерия. Роль и значение ферментов. Имобилизованные ферменты. Имобилизованные полиферментные системы. Биосенсоры. Биочипы.	2	2
Тема 9. Экологическая биотехнология. Биотехнология утилизации твердых отходов. Биотехнология очистки сточных вод. Биоочистка газовоздушных выбросов. Биогео-технология и получение металлов. Биоэнергетика. Ксенобиотики и их биodeградация. Биоремедиация.	2	2

Тема 10. Нанобиотехнологии. Представления о нанотехнологиях. Нанотехнологии в медицине и биологии. Основные направления развития нанобиотехнологии. Возможные риски, связанные с использованием нанобиотехнологий.	2	2
Тема 11. Биобезопасность и государственный контроль. Международная законодательная база по биобезопасности и ее реализация. Законодательная база Российской Федерации по биобезопасности и ее реализация.	2	2
Итого	24	30
Вид промежуточной аттестации	Экзамен в 6 семестре	

4. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ ОБУЧАЮЩИХСЯ

Темы для самостоятельного изучения	Изучаемые вопросы	Количество часов	Формы самостоятельной работы	Методическое обеспечение	Формы отчетности
Основные объекты биотехнологий и их народнохозяйственное значение.	Вирусы. Бактерии. Водоросли. Лишайники. Грибы. Водные растения. Высшие растения <i>in vivo</i> и <i>in vitro</i> . Животные <i>in vivo</i> и <i>in vitro</i> .	8	Подготовка доклада с презентацией	учебная и научная литература, ресурсы Internet	Текст реферата, доклад, презентация
Клеточная и тканевая инженерия растений.	История развития метода клеточной и тканевой инженерии растений. Основные направления клеточной инженерии растений. Каллусные культуры растений. Суспензионные культуры растений. Морфогенез в клеточных культурах растений.	10	Подготовка доклада с презентацией	учебная и научная литература, ресурсы Internet	Текст реферата, доклад, презентация
Методы клеточной инженерии растений в ускорении селекционного процесса.	Клональное микроразмножение растений и его практическое применение. Изолированные протопласты. Гаплоиды. Дигаплоиды. Тетраплоиды. Триплоиды.	10	Подготовка доклада с презентацией	учебная и научная литература, ресурсы Internet	Текст реферата, доклад, презентация
Генетическая инженерия.	Молекулярные основы генетической инженерии. Основные этапы создания трансгенных ор-	10	Подготовка доклада с презентацией	учебная и научная литература,	Текст реферата, доклад,

	ганизмов. Генетическая инженерия прокариот. Генетическая инженерия растений. Генетическая инженерия животных. Генодиагностика и гено-терапия человека.		ей	ресурсы Internet	презентация, коллоквиум
Основы промышленной биотехнологии и получение первичных и вторичных метаболитов..	Основные методы и подходы, используемые в промышленной биотехнологии. Технологическое оборудование промышленного назначения. Продукты биотехнологии и блок-схемы их производств. Белковые продукты. Аминокислоты. Гормоны. Инсулин. Витамины. Интерфероны. Вакцины. Антибиотики. Моноклональные антитела. Вторичные соединения.	8	Подготовка доклада с презентацией	учебная и научная литература, ресурсы Internet	Текст реферата, доклад, презентация
Энзиматическая инженерия.	Роль и значение ферментов. Иммуобилизованные ферменты. Иммуобилизованные полиферментные системы. Биосенсоры. Биочипы.	8	Подготовка доклада с презентацией	учебная и научная литература, ресурсы Internet	Текст реферата, доклад, презентация
Экологическая биотехнология.	Биотехнология утилизации твердых отходов. Биотехнология очистки сточных вод. Биоочистка газовоздушных выбросов. Биогеотехнология и получение металлов. Биоэнергетика. Ксенобиотики и их биodeградация. Биоремедиация.	8	Подготовка доклада с презентацией	учебная и научная литература, ресурсы Internet	Текст реферата, доклад, презентация
Биобезопасность и государственный контроль.	Международная законодательная база по биобезопасности и ее реализация. Законодательная база Российской Федерации по биобезопасности и ее реализация.	8	Подготовка доклада с презентацией	учебная и научная литература, ресурсы Internet	Текст реферата, доклад, презентация
Нанобиотехнологии.	Представления о нанотехнологиях. Нанотехнологии в медицине и биологии. Основные	8	Подготовка доклада с презентацией	учебная и научная литература, ресурсы	Текст реферата, доклад, презентация

	направления развития нанобиотехнологии. Возможные риски, связанные с использованием нанобиотехнологий.		ей	Internet	тация
ИТОГО		78			

5. ФОНД ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ТЕКУЩЕЙ И ПРОМЕЖУ-ТОЧНОЙ АТТЕСТАЦИИ ПО ДИСЦИПЛИНЕ

5.1. Перечень компетенций с указанием этапов их формирования в процессе освоения образовательной программы

Код и наименование компетенции	Этапы формирования
ОПК-1 Способен применять знание биологического разнообразия и использовать методы наблюдения, идентификации, классификации, воспроизводства и культивирования живых объектов для решения профессиональных задач;	Работа на учебных занятиях Самостоятельная работа
ОПК-5 Способен применять в профессиональной деятельности современные представления об основах биотехнологических и биомедицинских производств, генной инженерии, нанобиотехнологии, молекулярного моделирования	Работа на учебных занятиях Самостоятельная работа
ДПК-2 Способен к участию в мероприятиях по мониторингу потенциально опасных биообъектов с помощью молекулярно-биологических и биотехнологических методов.	Работа на учебных занятиях Самостоятельная работа
СПК-1 Способен участвовать в работах (проектах) на биотехнологических производствах и в области медицинской и природоохранной биотехнологии	Работа на учебных занятиях Самостоятельная работа

5.2. Описание показателей и критериев оценивания компетенций на различных этапах их формирования, описание шкал оценивания

Оцениваемые компетенции	Уровень сформированности	Этап формирования	Описание показателей	Критерии оценивания	Шкала оценивания
ОПК-1	Пороговый	Работа на учебных занятиях Самостоятельная работа	<i>Знать:</i> основные термины и понятия, отражающие специфику биотехнологии как науки; основные методы, используемые в биотехнологии; основное аппаратное обеспечение науки; <i>Уметь:</i> правильно выполнять последовательность приемов введения эксплантов in vitro	Опрос, доклад, презентация, реферат экзамен	41-60
ОПК-1	Продвину-тый	Работа на учебных занятиях Самостоятельная работа	<i>Знать:</i> приемы выделения апикальных меристем; методы введения эксплантов в культур у in vitro; методы пересадки и адаптации регенерантов; основы клеточной селекции; основные понятия и методы генной инженерии. <i>Уметь:</i> организовывать работу по отбору биологического материала и для дальнейшего введения in vitro в лабораторных условиях <i>Владеть:</i> навыками приготовления питательных сред введения эксплантов; навыками пересадки и адаптации регенерантов;	коллоквиум, тестирование, экзамен	61-100

ОПК-5	Пороговый	Работа на учебных занятиях Самостоятельная работа	<i>Знать:</i> нормативные документы, определяющие организацию и технику безопасности работ, <i>Уметь:</i> оценивать биобезопасность продуктов биотехнологических и биомедицинских производств	Опрос, доклад, презентация, реферат, экзамен	41-60
ОПК-5	Продвинутый	Работа на учебных занятиях Самостоятельная работа	<i>Знать:</i> нормативные документы, определяющие организацию и технику безопасности работ, <i>Уметь:</i> оценивать биобезопасность продуктов биотехнологических и биомедицинских производств <i>Владеть</i> приемами определения биологической безопасности продукции биотехнологических и биомедицинских производств	коллоквиум тестирование, экзамен	61-100
ДПК-2	Пороговый	Работа на учебных занятиях Самостоятельная работа	<i>Знать:</i> основы природоохранных биотехнологий <i>Уметь:</i> применять знания о природоохранной биотехнологии в профессиональной деятельности	Опрос, доклад, презентация, реферат, экзамен	41-60
ДПК-2	Продвинутый	Работа на учебных занятиях Самостоятельная работа	<i>Знать:</i> молекулярно-биологические и биотехнологические методы, используемые на биотехнологических и биомедицинских производствах <i>Уметь:</i> использовать молекулярно-биологические и биотехнологические методы определения потенциально опасных биологических объектов <i>Владеть:</i> навыками проведения научно-исследовательских и поисковых работы в области диагностики потенциально опасных биологических объектов	коллоквиум тестирование, экзамен	61-100

СПК-1	Пороговый	Работа на учебных занятиях Самостоятельная работа	<i>Знать:</i> методику планирования, подготовки исследовательских работ (проектов) <i>Уметь:</i> проводить испытания (исследования) по требованиям и установленным процедурам	Опрос, доклад, презентация, реферат, экзамен	41-60
СПК-1	Продвинутый	Работа на учебных занятиях Самостоятельная работа	<i>Знать:</i> методику и методы реализации исследовательских работ (проектов) <i>Уметь:</i> оценивать проведенные испытания (исследования) на соответствие требованиям и установленным процедурам <i>Владеть:</i> методами и инструментами управления, в том числе реализации и управления проектами	коллоквиум тестирование, экзамен	61-100

5.3. Типовые контрольные задания или иные материалы, необходимые для оценки знаний, умений, навыков и (или) опыта деятельности, характеризующих этапы формирования компетенций в процессе освоения образовательной программ

Примерные темы рефератов, докладов презентаций

1. Высшие растения *in vivo* и *in vitro*.
2. Животные *in vivo* и *in vitro*.
3. История развития метода клеточной и тканевой инженерии растений.
4. Основные направления клеточной инженерии растений.
5. Каллусные культуры растений.
6. Суспензионные культуры растений
7. Морфогенез в клеточных культурах растений.
8. Клональное микроразмножение растений и его практическое применение.
9. Изолированные протопласты. Гаплоиды. Дигаплоиды. Тетраплоиды. Триплоиды.

Примерная тематика обобщающего коллоквиума

Клеточная, тканевая, генная инженерия

- История развития метода клеточной и тканевой инженерии растений.
- Основные направления клеточной инженерии растений.
- Каллусные культуры растений.
- Суспензионные культуры растений.
- Морфогенез в клеточных культурах растений.
- Клональное микроразмножение растений и его практическое применение
- Изолированные протопласты.
- Методы получения гаплоидов. Дигаплоидов. Тетраплоидов. Триплоидов.

Примерные тестовые задания

1. Возникновение геномики как научной дисциплины стало возможным после:

- а) установления структуры ДНК;б) создания концепции гена;
- в) дифференциации регуляторных и структурных участков гена;г) полного секвенирования генома у ряда организмов.

2. Существенность гена у патогенного организма - кодируемый геном продукт необходим:

- а) для размножения клетки;
- б) для поддержания жизнедеятельности;в) для инвазии в ткани;
- г) для инактивации антимикробного вещества

3. Гены *house keeping* у патогенного микроорганизма экспрессируются:

- а) в инфицированном организме хозяинаб) всегда
- в) только на искусственных питательных средахг) под влиянием индукторов

4. Протеомика характеризует состояние микробного патогена:

- а) по ферментативной активности
- б) по скорости роста
- в) по экспрессии отдельных белков
- г) по нахождению на конкретной стадии ростового цикла

5. Для получения протопластов из клеток грибов используется:

- а) лизоцим
- б) трипсин
- в) «улиточный фермент»
- г) пепсин

Примерные вопросы к экзамену

1. История становления биотехнологии как науки.
2. Основные понятия биотехнологии: эксплант, регенерант, клеточная инженерия, клональное микроразмножение, каллус, генная инженерия.
3. Основные направления развития биотехнологии. Задачи биотехнологии. Биотехнологические основы высоких технологий.
4. Этапы ступенчатой стерилизации биологического материала. выделение апикальных меристем. Введение в культуру клеток.
5. Основные направления клеточной инженерии растений.
6. Каллусные культуры растений. Суспензионные культуры растений.
7. Морфогенез в клеточных культурах растений.
8. Основные этапы создания трансгенных организмов.
9. Генетическая инженерия прокариот.
10. Генетическая инженерия растений.
11. Генетическая инженерия животных.
12. Генодиагностика и генотерапия человека

5.4. Методические материалы, определяющие процедуры оценивания знаний, умений, навыков и (или) опыта деятельности, характеризующих этапы формирования компетенций.

Итоговая оценка знаний студентов по изучаемой дисциплине составляет 100 баллов, которые конвертируется в «оценки по пятибалльной шкале» (промежуточная форма контроля – экзамен), по следующей схеме:

86–100 баллов	«отлично»
60–85 баллов	«хорошо»
41–60 баллов	«удовлетворительно»
40 и менее баллов	«неудовлетворительно»

Текущий контроль освоения компетенций студентом оценивается из суммы набранных баллов в соответствии с уровнем сформированности компетенций: пороговым или продвинутым. При этом учитывается посещаемость студентом лекций, лабораторных/практических занятий, активность студента на лабораторных/практических занятиях, результаты промежуточных письменных и устных контрольных опросов, итоги контрольных работ (тестов), участие студентов в научной работе (например, написание рефератов, докладов и т.п.). Лабораторные занятия проводятся с группой студентов численностью 10-12 человек. Каждый компонент имеет соответствующий удельный вес в баллах.

- контроль посещений – 20 баллов,
- опрос и собеседование - 20 баллов;
- доклад и презентация – 10 баллов,

- реферат – 10 баллов
- коллоквиум – 10 баллов,
- тестирование – 20 баллов (2 теста за курс),
- экзамен – 20 баллов.

При проведении экзамена учитывается посещаемость студентом лекционных занятий, активность на практических занятиях, выполнение самостоятельной работы, отработка пропущенных занятий по уважительной причине:

15-20 баллов – регулярное посещение занятий, высокая активность на практических занятиях, содержание и изложение материала отличается логичностью и смысловой завершенностью, студент показал владение материалом, умение четко, аргументировано и корректно отвечать на поставленные вопросы, отстаивать собственную точку зрения.

10-15 баллов – систематическое посещение занятий, участие на практических занятиях, единичные пропуски по уважительной причине и их отработка, изложение материала носит преимущественно описательный характер, студент показал достаточно уверенное владение материалом, однако недостаточное умение четко, аргументировано и корректно отвечать на поставленные вопросы и отстаивать собственную точку зрения.

5-10 балла – нерегулярное посещение занятий, низкая активность на практических занятиях, студент показал неуверенное владение материалом, неумение отстаивать собственную позицию и отвечать на вопросы.

0-5 балла – регулярные пропуски занятий и отсутствие активности работы, студент показал незнание материала по содержанию дисциплины.

Для оценки реферата используют следующие критерии:

10-8 баллов – содержание соответствует поставленным цели и задачам, изложение материала отличается логичностью и смысловой завершенностью, студент показал владение материалом, умение четко, аргументировано и корректно отвечать на поставленные вопросы, отстаивать собственную точку зрения.

7-5 баллов – содержание недостаточно полно соответствует поставленным цели и задачам исследования, работа выполнена на недостаточно широкой источниковой базе и не учитывает новейшие достижения логопедии, изложение материала носит преимущественно описательный характер, студент показал достаточно уверенное владение материалом, однако недостаточное умение четко, аргументировано и корректно отвечать на поставленные вопросы и отстаивать собственную точку зрения.

4-2 балла – содержание не отражает особенности проблематики избранной темы; содержание работы не полностью соответствует поставленным задачам, источниковая база является фрагментарной и не позволяет качественно решить все поставленные в работе задачи, работа не учитывает новейшие достижения историографии темы, студент показал неуверенное владение материалом, неумение отстаивать собственную позицию и отвечать на вопросы.

1-0 балла – работа не имеет логичной структуры, содержание работы в основном не соответствует теме, источниковая база исследования является недостаточной для решения поставленных задач, студент показал неуверенное владение материалом, неумение формулировать собственную позицию.

Для оценки тестовых работ используются следующие критерии:

0-20 % правильных ответов оценивается как «неудовлетворительно» (2-балла);
 30-50% - «удовлетворительно» (3-5 баллов);
 60-80% - «хорошо» (6-8 баллов);
 80-100% – «отлично» (8-10 баллов).

Шкала оценивания опроса и собеседования

Уровень оценивания	Критерии оценивания	Баллы
Опрос и собеседование	Свободное владение материалом	4
	Достаточное усвоение материала	3
	Поверхностное усвоение материала	1
	Неудовлетворительное усвоение материала	0

Максимальное количество баллов – 20 (по 4 балла за каждый опрос).

Шкала оценивания подготовки и сдачи коллоквиума

Уровень оценивания	Критерии оценивания	Баллы
Коллоквиум	Ответы на вопросы коллоквиума даны в развернутом виде, с соответствующими пояснениями, при необходимости иллюстрациями.	8-10
	Ответы на вопросы коллоквиума даны с небольшими неточностями (ошибками)	5-7
	Ответы на вопросы даны краткие, без пояснений, с использованием некорректной терминологии	2-4
	Ответы на вопросы «слабые», студент не владеет научной терминологией и материалом	0-1

Шкала оценивания доклада

Показатель	Балл
Доклад соответствует заявленной теме, выполнен с привлечением достаточного количества научных и практических источников по теме, магистрант в состоянии ответить на вопросы по теме доклада.	5
Доклад в целом соответствует заявленной теме, выполнен с привлечением нескольких научных и практических источников по теме, студент в состоянии ответить на часть вопросов по теме доклада.	2
Доклад не совсем соответствует заявленной теме, выполнен с использованием только 1 или 2 источников, студент допускает ошибки при изложении материала, не в состоянии ответить на вопросы по теме доклада.	1

Шкала оценивания презентации

Показатель	Балл
Представляемая информация систематизирована, последовательна и логически связана. Проблема раскрыта полностью. Широко использованы возможности технологии Power Point.	5
Представляемая информация в целом систематизирована, последовательна и логически связана (возможны небольшие отклонения). Проблема раскрыта. Возможны незначительные ошибки при оформлении в Power Point (не более двух).	2

Представляемая информация не систематизирована и/или не совсем последовательна. Проблема раскрыта не полностью. Выводы не сделаны или не обоснованы. Возможности технологии Power Point использованы лишь частично.	1
---	---

Оценивание ответа на экзамене

Критерий оценивания	Баллы
Полно раскрыто содержание материала в объеме программы; четко и правильно даны определения и раскрыто содержание понятий; верно использованы научные термины; для доказательства использованы различные умения, выводы из наблюдений и опытов; ответ самостоятельный, использованы ранее приобретенные знания.	20
Раскрыто основное содержание материала; в основном правильно даны определения понятий и использованы научные термины; определения понятий неполные, допущены незначительные нарушения последовательности изложения, небольшие неточности при использовании научных терминов или в выводах и обобщениях из наблюдений и опытов.	15
Усвоено основное содержание учебного материала, но изложено фрагментарно, не всегда последовательно; определения понятий недостаточно четкие; не использованы в качестве доказательства выводы и обобщения из наблюдений и опытов или допущены ошибки при их изложении; допущены ошибки и неточности в использовании научной терминологии, определении понятий.	10
Основное содержание вопроса не раскрыто; не даны ответы на вспомогательные вопросы; допущены грубые ошибки в определении понятий, при использовании терминологии.	5

6. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ И РЕСУРСНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

1. Биотехнология : учебник и практикум для вузов / под ред. Н. В. Загоскиной, Л. В. Назаренко. — 3-е изд. — Москва : Юрайт, 2021. — 381 с. — Текст : электронный. — URL: <https://urait.ru/bcode/477128>
2. Биотехнология растений : учебник и практикум для вузов / Л. В. Назаренко, Ю. И. Долгих, Н. В. Загоскина, Г. Н. Ралдугина. — 2-е изд. — Москва : Юрайт, 2021. — 161 с. — Текст : электронный. — URL: <https://urait.ru/bcode/471466>
3. Чечина, О. Н. Общая биотехнология : учебное пособие для вузов. — 3-е изд. — Москва : Юрайт, 2021. — 266 с. — Текст : электронный. — URL: <https://urait.ru/bcode/474715>

6.2. Дополнительная литература

1. Алаудинова, Е. В. Методологические основы исследований в биотехнологии : учебное пособие / Е. В. Алаудинова, П. В. Миронов. — Красноярск : Сибирский государственный университет науки и технологий имени академика М. Ф. Решетнева, 2018. — 98 с. — Текст : электронный. — URL: <https://www.iprbookshop.ru/94888.html>
2. Артюхова, С. И. Биотехнология микроорганизмов: пробиотики, пребиотики, метабиотики / С. И. Артюхова, О. В. Козлова. — Кемерово : Кемеровский государственный университет, 2019. — 225 с. — Текст : электронный. — URL: <https://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=600329>
3. Биотехнология : учебник / под ред. Колодяжной В. А. , Самотруевой М. А. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2020. - 384 с. - Текст : электронный. - URL : <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970454367.html>
4. Кузнецова, Т. А. Морфология и физиология объектов биотехнологии : учебно-методическое пособие / Т. А. Кузнецова, О. Б. Иванченко, Н. Т. Жилинская. — Санкт-Петербург : Троицкий мост, 2020. — 206 с. — Текст : электронный. — URL: <https://www.iprbookshop.ru/99731.html>

5. Микробиология с основами биотехнологии (теория и практика) : учебное пособие / Г. П. Шуваева, Т. В. Свиридова, О. С. Корнеева [и др.]. — Воронеж : Воронежский государственный университет инженерных технологий, 2017. — 316 с. — Текст : электронный . — URL: <https://www.iprbookshop.ru/70810.html>
6. Музафаров, Е.Н. История и география биотехнологий : учеб.пособие. - 2-е изд. - СПб. : Лань, 2018. - 344с – Текст: непосредственный.
7. Орехов, С.Н. Биотехнология : учебник для вузов / С. Н. Орехов, И. И. Чакалева. - 2-е изд. - М. : Академия, 2016. - 288с. – Текст: непосредственный.
8. Руденко, Е. Ю. Современные проблемы экологии, энерго- и ресурсосбережения в биотехнологии : лаб. практикум. — Самара : Самарский государственный технический университет, 2018. — 51 с. — Текст : электронный. — URL: <https://www.iprbookshop.ru/90918.html>
9. Саткеева, А. Б. Молекулярная биотехнология : учебное пособие / А. Б. Саткеева, К. А. Сидорова. — Тюмень : Государственный аграрный университет Северного Зауралья, 2020. — 116 с. — Текст : электронный. — URL: <https://www.iprbookshop.ru/107596.html>
10. Якупов, Т.Р. Молекулярная биотехнология : учебник для вузов / Т. Р. Якупов, Т. Х. Фаизов. - СПб. : Лань, 2019. - 160с. – Текст: непосредственный.

7. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ

Методические рекомендации к лекциям

Лекция представляет собой логическое изложение материала в соответствии с планом лекции, который сообщается студентам в начале каждой лекции, и имеет законченную форму, содержит пункты, позволяющие охватить весь материал, который требуется довести до студентов. Содержание каждой лекции имеет определенную направленность и учитывает уровень подготовки студентов.

Лекции по дисциплине «Биотехнология» проводят с мультимедийном сопровождении.

Студент должен иметь лекционную тетрадь. Пропущенные лекции студент восполняет конспектированием соответствующего раздела учебника

Методические рекомендации к лабораторным занятиям

Лабораторные занятия по курсу «Биотехнология» проводятся в соответствии с учебным планом и на основе утвержденной рабочей программы дисциплины (РПД) по вычитанному на лекциях материалу и связаны с детальным разбором отдельных вопросов лекционного курса. Только после усвоения лекционного материала он закрепляется на лабораторных занятиях.

Целью лабораторных занятий является закрепление теоретических знаний через выполнение практических заданий, обсуждение актуальных вопросов и более детальной их проработки. Задания на лабораторных работах представляют собой набор заданий и вопросов, соответствующих заявленной теме.

Студентам заблаговременно сообщаются содержание и задачи предстоящего занятия. Перед началом работ проводится предварительная беседа по изучаемому материалу, к которой студенты готовятся, используя имеющиеся учебники и практикумы.

При подготовке к лабораторным занятиям нужно прорабатывать каждый изучаемый вопрос, исходя из теоретических положений курса.

При подготовке к коллоквиуму также следует прорабатывать каждый изучаемый вопрос. Полезно составить краткий план решения вопроса. Решение проблемных вопросов следует излагать подробно, логические посылки и суждения располагать в строгом порядке. Выводы при необходимости нужно сопровождать примерами, комментариями, схемами и рисунками. Следует помнить, что решение каждой учебной задачи должно доводиться до окончательного логического ответа, и по

возможности с конкретными примерами и выводом. При этих условиях студент не только хорошо усвоит материал, но и научится применять знания на практике, расширит научный кругозор, а также получит дополнительный стимул для активной проработки лекции.

В процессе изучения дисциплины студенты выполняют ряд домашних заданий, в том числе по подготовке докладов по заданной преподавателем теме. На коллоквиумах в первую очередь обращают внимание на полноту раскрытия вопроса и логичность и грамотность ответа.

Студенты, пропустившие и не отработавшие занятия по соответствующим темам, не допускаются ни к контрольной работе, ни к коллоквиуму.

Отработка студентами пропущенных занятий проводится по расписанию в специально установленные преподавателем часы. Преподаватель проводит беседу со студентами по теоретическому материалу занятия. По завершению работы студент представляет конспект, в зависимости от темы занятий выполненные рисунки в рабочей тетради, который подписывается преподавателем.

К сдаче зачета допускаются студенты, полностью выполнившие учебный план, получившие положительные оценки за контрольные работы и коллоквиумы.

ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ К РАБОТАМ, ПРОВОДИМЫМ В СТЕРИЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

Многочисленными исследованиями показана перспективность использования *in vitro* технологий для получения оздоровленного посадочного, создания новых генотипов растений, криосохранения, идентификации и решения ряда других экономически значимых проблем. Однако для осуществления подобных задач необходимо соблюдать определенные условия, в частности работы следует выполнять в специализированных лабораториях, в составе которых имеется:

- моечная комната;
- помещение для приготовления питательных сред;
- помещение для стерилизации;
- операционная комната с ламинарными боксами;
- световая комната;
- подсобное помещение для хранения реактивов и материалов.

Очень важно при этом соблюдать чистоту при хранении стеклянных сосудов для культур, а также следить за тем, чтобы в среды не попадали следовые количества химических реактивов, например, с чаш весов или электродов pH – метра.

Световую комнату следует оборудовать устройствами для кондиционирования воздуха. В этой комнате основным физическим требованием для выращивания и поддержания растительных культур является контролируемая температура и освещенность. Колбы с растительным материалом удобнее всего располагать на полках с люминесцентными лампами. Такая система пригодна для выращивания культур в любом световом режиме. Для опытов устанавливается режим: освещенность 4 – 5 тыс. люкс, температура +20...+23⁰С, фотопериод: 16 часов – день и 8 часов – ночь.

В настоящее время для соблюдения стерильных условий при выполнении манипуляций с культурами *in vitro* широко используются ламинарные боксы. Стерильность обеспечивается с помощью бактериальных фильтров, установленных в ламинарном боксе, через которые нагревается воздух. За 30 – 60 минут до начала работы в ламинарном боксе на 15 – 30 минут включают УФ - лампы. Предварительно в ламинарном боксе размещают спиртовую горелку, спички, стакан с 96 % - м раствором этанола и стерильной водой, инструменты. Внутреннюю поверхность ламинарного бокса, спиртовку, пробирки с питательной средой протирают раствором 70

% - го этанола. Непосредственно перед работой необходимо тщательно вымыть руки с мылом, надеть стерильный халат и шапочку, протереть руки этанолом.

Лабораторная работа № 1

Мытье и стерилизация посуды

- посуду следует замачивать в баке с 15% раствором моющего средства (синтетическое моющее средство типа Fairy) не менее чем на 2 – 3 часа;
- тщательно промыть посуду с помощью ершика и моющего средства;
- тщательно ополоснуть посуду в проточной воде (не менее 10 раз);
- ополоснуть дистиллированной водой (не менее 3 раз);
- высушить в сушильном шкафу при 150 – 160⁰С в течение 2 часов.

Лабораторная работа № 2

Создание стерильных условий в операционной комнате

Необходимым условием работы с культурой изолированных тканей является соблюдение строгой стерильности. Для соблюдения условий асептики при выполнении работ по культивированию растений *in vitro* стерилизации должны подвергаться операционная комната, в которой производят изоляцию и посадку культур, одежда и руки работающего персонала, посуда, используемая для культивирования объектов, все необходимые инструменты и материалы, питательные среды, объекты культивирования. Как показывает практика, небрежность, допущенная при проведении эксперимента, даже при хорошей оснащенности рабочего места, сводит к нулю все затраченные усилия. Поэтому чистота гораздо важнее изысканного специального оборудования.

Ламинарные боксы в настоящее время вполне доступны и широко используются для стерильных пересадок при работе с культурой тканей. В ламинарных боксах асептика достигается подачей стерильного воздуха в рабочий объем. Ламинарные боксы, как правило, оснащены УФ лампами, обеспечивающими стерилизацию внутренней поверхности. Однако даже после этого рабочую поверхность перед использованием желательно протереть 70 %-ным этанолом или 20 %-ным водным раствором фенола.

Чистую посуду, предварительно завернутую в бумагу или фольгу, инструменты стерилизуют сухим жаром в сушильном шкафу при температуре 160⁰С в течение 2-х часов обработать спиртом и обжечь.

Лабораторная работа № 3

Приготовление питательных сред

В комнате для приготовления питательных сред необходимо иметь технические и аналитические весы, рН – метр, холодильник, электрическую плитку, электрическую мешалку, шкафы для чистой посуды и химических реактивов.

В качестве основных ингредиентов питательных сред используют макро- и микросоли, витамины, органические вещества, регуляторы роста. Минеральный состав питательных сред должен обеспечивать сбалансированное и достаточное снабжение меристем необходимыми элементами питания. Для роста картофельных эксплантатов оптимальным является рН 5,7. При отклонениях рН необходимо довести до оптимума путем добавления 0,1 н КОН или 0,1 н НСl. Среда должна быть достаточно буферной, поскольку при культивировании меристем картофеля она будет подкисляться. Лучшей для культивирования меристем картофеля является среда с минеральной основой Мурасиге-Скуга.

СОСТАВ ОСНОВНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

Компоненты среды	Концентрация. мг/л				
	MSm (Masuda et al, 1981)	MS (Murashige, Skoog, 1962)	B5m (Мезенцев, 1980)	Nitsch (1969)	№ 6 (Данвелл, 1989)
NH ₄ NO ₃	412,5	1650	-	720	-
(NH ₄) ₂ SO ₄	-	-	134	-	463
KNO ₃	2496,3	1900	2500	950	2830
KH ₂ PO ₄	170	170	-	68	400
CaCl ₂	332,2	332,2	113,2	166	125,3
MgSO ₄ x 7H ₂ O	370	370	250	185	185
Na H ₂ PO ₄	-	-	170	-	-
MnSO ₄ x 5H ₂ O	24,1	24,1	14,3	27	-
H ₃ BO ₃	6,2	6,2	3	10	-
ZnSO ₄ x 7H ₂ O	10,6	10,6	2	10	-
KJ	0,83	0,83	0,75	-	0,8
CuSO ₄ x 5 H ₂ O	0,025	0,025	0,025	0,025	-
Na ₂ MoO ₄ x 2 H ₂ O	0,25	0,25	0,25	0,25	-
CoCl ₂ x 6 H ₂ O	0,025	0,025	0,025	-	-
FeSO ₄ x 7 H ₂ O	27,8	27,8	27,8	27,8	13,9
Na ₂ ЭДТА x 2 H ₂ O	37,3	37,3	37,3	37,3	18,65
Инозитол	100	100	100	100	-
Са - пантотенат	-	-	-	-	-
Никотиновая кислота	5	0,5	1	5	0,5
Рибофлавин	-	-	-	-	-
Пиридоксин HCl	0,5	0,5	1	0,5	0,5
Тиамин HCl	3	0,1	10	0,5	1
Аспарагин	-	-	-	-	-
Глицин	-	2	-	2	2
Глутамин	-	-	-	25	12,5
L- серин	-	-	-	125	62,5
Биотин	-	-	-	0,05	-
Фолиевая кислота	-	-	-	0,5	-
Гидролизат казеина	500	-	-	-	-
6- бензиладенин	-	-	-	-	-
Нафтилукусная кислота	-	-	-	-	-
Индолилукусная кислота	-	-	-	-	-
Глюкоза	-	-	-	-	-
Сахароза	30000	30000	20000	20000	100000
Агар "Difco"	7000	7000	7000	7000	7000
pH	5,7 – 5,8	5,8	6,0	5,5	5,8

Примечание: pH устанавливали перед автоклавированием 1N раствором NaOH

Из группы витаминов в среду добавляют пиридоксин (В₆) и В₁, аскорбиновую кислоту, биотин, мезоинозит, пантотенат Са, никотиновую кислоту (PP).

Необходимый компонент среды – сахароза – источник углеводного питания при выращивании меристем.

Положительное влияние на рост меристем оказывает добавление в среду источника

аминокислот, например, гидролизата казеина.

Существенно улучшает рост меристем добавление в питательную среду регуляторов роста. Обычно в среды добавляют регулятора роста из группы ауксинов – веществ, продуцируемых растущими верхушками стеблей и корней (?-индолил-3-уксусная кислота – ИУК) или синтетические аналоги ауксина: индолил-масляная кислота (ИМК), ?-нафтилуксусная кислота (?-ИУК) и 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4 Д). Физиологическую активность в растениях ауксин, добавленный извне, проявляет в низких концентрациях (0,005-10,0 мг/л). Основное действие ИУК, как и других ауксинов, сказывается на ризогенезе и дальнейшем росте корней; обычно применяется концентрация 1-2 мг. Активный стимулятор корнеобразования – ИМК используется в концентрации 0,1-1,0 мг/л; ?-ИУК – в концентрации 0,5-1 мг/л является стимулятором каллусо- и корнеобразования.

В ауксиновом обмене в растениях участвуют фенольные соединения, стимулирующие рост, а также способствующие лигнификации: феруловая кислота, конифиловый спирт, кофейная кислота.

Рост стеблей индуцируют гиббереллины. При опрыскивании проростка гиббереллином происходит вытягивание стеблей, но не увеличение числа междоузлий. Для гиббереллина характерно действие на клеточное деление в меристематических зонах, а не в дифференцированной ткани. Обычно применяется концентрация в питательных средах – 0,2 мг/л. Важным компонентом питательных сред являются цитокинины – фитогормоны, стимулирующие клеточное деление, способствующие дифференциации почек, вызывающие пожелтение пожелтевших листьев, ингибирующие корнеобразование; применяемые концентрации – 0,02-0,1 мг/л.

Цель работы: освоить приемы и получить навыки по приготовлению многокомпонентных питательных сред для культуры клеток и тканей растений.

Оборудование и материалы: весы технические, весы аналитические, рН-метр, химические реактивы.

Ход работы

На основе маточных растворов готовят питательную среду МС.

В химический стакан емкостью 250 мл помещают 3 г сахарозы, доливают дистиллированную воду примерно до 30 мл и после растворения сахарозы добавляют 10 мл маточного раствора макросолей, 1 мл микросолей, 1 мл витаминов, 0,5 хелата железа, регуляторов роста. Добавляют в мерном цилиндре объем раствора до 100 мл. Необходимо обязательно измерить рН раствора, который устанавливают на уровне 5,6 используя 0,1н. КОН или 0,1%-ный раствор HCl. В предварительно нагретую среду (60 – 70°C) добавляют 0,7 грамма агара и доводят до кипения периодически помешивая.

Горячую питательную среду разливают в пробирки примерно до 1/3 объема, закрывают ватно-марлевыми пробками или алюминиевой фольгой и стерилизуют в автоклаве при давлении 0,8—1 атм (температура 115—120 °C) в течение 20—25 мин в зависимости от объема.

Лабораторная работа № 4

Стерилизация растительного материала

Начальное получение стерильного растительного материала является трудной задачей и часто, несмотря на все страдания экспериментатора, 75% или даже больше культур отказываются инфицированными. По данным Готре, в случае культуры тканей сахарной свеклы трудно получить более 50% асептических культур. В опытах Зелинского со стеблевыми сегментами дуба через две-три недели культивирования инфекция постоянно наблюдалась в отдельных пробирках, несмотря на тщательную стерилизацию. То же самое наблюдали мы для корневой ткани женьшеня и раувольфии и стеблевой ткани пилокарпуса. В этих случаях неинфицированными

оставались ткани в 3-4 пробирках из 10-15. Однако, если в результате изоляции из растения получена растущая стерильно ткань, то в дальнейшем легко поддерживать ее стерильность при пассировании, т.е. пересадках ткани маленькими кусочками на свежую питательную среду для продолжения культуры. При соблюдении всех правил асептической работы процент случайной инфекции при пассировании тканей редко превышает 1-3%.

Для стерилизации органов и тканей растений, из которых будет изолироваться ткань для культуры, применяют обычно большой набор различных стерилизующих веществ.

Правило, по которому следует выбирать наиболее пригодный стерилизующий раствор, просто. Это вещество должно обеспечить наибольший процент неповрежденных тканей, способных к росту и новообразованиям, при наименьшем проценте инфекции. Этому правилу следует придерживаться и при выборе длительности стерилизации (экспозиции).

Наиболее распространенными стерилизующими растворами являются растворы, содержащие активный хлор: гипохлориты кальция и натрия, хлорамины, хлорная известь. Растворы эти готовят следующим образом: определенное количество стерилизатора перед употреблением взбалтывают в 1 л воды в течение 10 мин., затем отфильтровывают и используют для стерилизации растительного материала.

Хлорная известь рекомендуется для стерилизации различного растительного материала в концентрации 90 г/л. продолжительность стерилизации для тканей мясистых корней –20 –25 мин., для побегов древесных и лиан –15 –30 мин., для молодых побегов и стеблей травянистых растений –5 –10 мин. Для точек роста стебля рекомендуется использовать более низкую концентрацию: 50 г/л при 15-минутной стерилизации. Для семян концентрация хлорной извести может быть снижена до 35 г/л.

Гипохлорит кальция применялся Лиоре для стерилизации корневой ткани скорцонеры в концентрации 90 г/л в течение 15 мин. Лингаппа стерилизовал кусочки побегов картофеля в течении 5 мин. 75°-ным спиртом и затем 15 мин. 1%-ным гипохлоритом натрия.

Стерилизующие растворы, содержащие ртуть (сулема и диацид). Сулема (HgCl_2) не смотря на ее токсичность для тканей, часто применяется для стерилизации растительного материала и при правильном выборе ее дозировки и времени стерилизации дает удовлетворительные результаты. Мы применяли сулему для стерилизации самых разнообразных растительных объектов, начиная от пластинок ряски и растущих вертушек разных растений и кончая двух — трехлетними побегами древесных растений с удовлетворительными и хорошими результатами для большинства объектов. Обычно сулема применяется для всех этих объектов, кроме древесных, в концентрации 0,1%. Время стерилизации различных растительных объектов в 0,1%-ном растворе сулемы, по наших данным, варьирует существенно.

Эффективность стерилизации значительно повышается при добавлении к раствору сулемы детергентов типа Твин-80, Твин-20 (5–6 капель на 1 л) или ОП-7; ОП-10, - 300 мг/л .

После стерилизации ткани в сулеме необходимо тщательно промыть ее в 4-5 порциях стерильной воды, по 5-15 мин. в каждой порции. Начиная работу с новым растительным объектом необходимо предварительно найти удовлетворительные условия для его стерилизации, для чего рекомендуется испробовать несколько вариантов, значительно различающихся между собой по времени стерилизации, а затем, сужая эти интервалы, найти условия, оптимальные для данного объекта.

Кроме сулемы, для стерилизации может быть рекомендован другой ртутный препарат диацид (этанолмеркурихлорид и борная кислота с цетилпиридинбромидом в

качестве детергента), но он действует слабее сулемы, и никакими преимуществами по сравнению с ней не обладают.

Перекись водорода. Концентрация 10-12%, время стерилизации сухих семян – 10–12 мин., набухших семян 6 –8 мин., сегментов стебля травянистых растений –8 –10 мин.

Преимуществом перекиси водорода в качестве стерилизующего агента является то, что после нее не нужно так долго и тщательно отмывать ткань, как после сулемы: достаточно только один раз промыть стерильной водой. Оставшаяся в тканях перекись быстро разрушается.

Стерилизация спиртом и обжиганием пламенем. Часто применяется при стерилизации крупных семян, завязей, плодов. Материал опускается в спирт и затем обжигается в пламени; эта операция повторяется несколько раз.

Применение антибиотиков. Антибиотики редко применяются для поверхностной стерилизации растительного материала, но они необходимы в тех случаях, когда инфицирование культуры связано с наличием спор грибов или бактерий во внутренних полостях ткани. Несмотря на все усилия, простерилизовать ткань обычными способами не удастся, и споры, попадая при выращивании тканей в благоприятные условия, прорастают и начинают быстро размножаться на питательных средах. Чтобы подавить этот процесс часто в питательную среду вводят антибиотики: пенициллин, биомицин, тетрациклин, стрептомицин, гризеофульвин и др. (после фильтрования через фильтр по способу, описанному выше).

Так, по данным Монтана (1957) добавление пенициллина в количестве 1 мг на 1 л питательной среды помогло получить стерильную культуру стебля молочая. По данным Штихеля (1959) ауреомицин или его аналог ахромицин, добавленные к среде в концентрации 50 мг/л, оказались очень эффективными при культивировании тканей клубнелуковицы цикламена. Морель (1950) применял для получения стерильных культур тканей ауреомицин в концентрации 1/10000.

Используя антибиотики для получения стерильных культур, необходимо помнить, что они также оказывают влияние на рост растительной ткани. Как показали Де Ропп и Никель, в слабых концентрациях пенициллин, тетрациклин, стрептомицин, бацитрацин значительно стимулируют рост ткани вирусной опухоли щавеля и нормальной ткани подсолнечника, а при повышении концентрации вызывают его угнетения. Наш опыт работы с антибиотиками (пенициллином, стрептомицином, тетрациклином, биомицином и гризеофульвином) показал, что часто концентрации угнетающие рост ткани или вызывающие нарушение ее обмена, еще бывают недостаточными для подавления развития инфекционных микроорганизмов. Так, при выращивании верхушечных почек сорта Мерлендский мамонт путем добавления в среду стрептомицина в концентрации в 5 мг/л удалось получить культуры, которые были лишены инфекции. Однако растения, полученные из этих почек, имели явные признаки хлороза. Образование хлорофилла под влиянием стрептомицина в этих растениях было подавлено. Для почек вообще не были найдены условия, позволяющие получить асептическую культуру. При применении стрептомицина рост почки полностью ингибировался, но стерильность не была достигнута. Трудность применения антибиотиков для культуры растительных тканей заключается еще и в том, что спектр бактерицидного действия каждого из них довольно узок, а среди облигатных паразитов растительных тканей встречаются микроорганизмы, весьма разнообразные по систематическому положению. Можно было бы рекомендовать использовать смеси разных антибиотиков или применять один, но с наиболее широким спектром действия. По нашим данным, перспективным антибиотиком в этом отношении является гризеофульвин. Он сильно угнетает прорастание семян рудбекии в концентрации 1/1000 и 1/500 и может применяться только в очень низких концентрациях –1/50 000. однако его действие на другие растительные ткани необходимо

проверить.

Цель работы: освоить приемы и получить навыки выращивания стерильных проростков.

Оборудование и материалы: ламинарный бокс, 20-50 биологических пробирок с агаризованной питательной МС средой, содержащей 1% сахарозы, pH 6,0-6,5, три 200-250 мл колбы со стерильной водой, 500 мл пустая колба, спирт 70%-ный, спиртовка, марганцовокислый калий, 1%-ный раствор гипохлорита натрия, препаровальные иглы, пинцеты, зажигалка, воздушные луковички

Предмет исследования: стерильные проростки

Ход работы

Воздушные луковички чеснока промывают проточной водой в течение 30-60 минут, выдерживают в 1% растворе марганцовокислого калия - 15-20 минут, затем в условиях ламинарного бокса обрабатывают в 70%-ом растворе этанола в течение 30 секунд, в 1,0%-ом растворе гипохлорита натрия - 20 минут. Промывают стерильной водой трехкратно в течение 20 минут.

Воздушные луковички поместить в пробирки на поверхность агаризованной среды и слегка вдавить их в агар для обеспечения хорошего контакта с питательной средой. Первую неделю культивируют в темноте, а в последующие 3-4, при 25°C на свету.

Использование таких режимов позволяет получать в зависимости от сорта от 92,6% до 100,0% стерильных эксплантов. Наличие инфекции обычно проявляется уже в течение 3 – 7 суток после помещения эксплантов на питательную среду.

Задание. По истечении семи суток проанализировать материал на наличие инфекций. Пробирки с инфицированными воздушными луковичками удалить, промыть, простерилизовать, а неинфицированный материал поместить в условия световой комнаты и культивировать при 25°C в течение 3-х недель при освещенности около 5000 лк и фотопериоде 16 часов день 8 часов ночь. Провести учеты, определить визуально виды микроорганизмов, растущих в пробирках.

Лабораторная работа № 5

Стерилизация растительного материала (продолжение)

Для выполнения работы использовать полученный в ходе выполнения лабораторной работы №1 материал.

Оборудование и материалы: полученные в ходе выполнения лабораторной работы №1 пробирки с проростками, бинокулярная лупа, определитель микроорганизмов.

Предмет исследования: проростки

Задание

Не открывая пробирки проанализировать визуально воздушные луковички на наличие инфекций и корешков, определить долю инфицированных луковичек, определить виды микроорганизмов. Пробирки с неинфицированными луковичками разделить на две группы и определить долю луковичек, у которых образовались корешки. Полученные данные представить в виде таблицы и зарисовать.

Лабораторная работа № 6

Получение каллусной ткани из корешков чеснока

Каллусы можно получать из разных частей растения, в том числе из кончиков корней. Образование каллуса происходит в области первичных и вторичных меристем. Процесс каллусообразования зависит от размера экспланта. Оптимальная величина экспланта 5-10 мм³, масса 20-100 мг. Многие ткани имеют физиологическую полярность, поэтому каллус лучше образуется на той стороне экспланта, которая ближе к апикальным меристемам корня. Кончики корней легко образуют каллус, если они помещены на среду горизонтально, тогда как сегменты стебля лучше формируют каллус, если их поместить

вертикально. Для культивирования на питательных средах лучше использовать стерильные корешки, полученные при проращивании семян в стерильных условиях.

Цель работы: освоить приемы и получить навыки выращивания каллуса из корешков чеснока.

Оборудование и материалы: ламинарный бокс, чашки Петри или колбы с питательными средами для индукции каллусогенеза, стерильные чашки Петри, 1%-ный раствор гипохлорита натрия, препаровальные иглы, пинцеты, скальпели, флаконы со спиртом и стерильной дистиллированной водой.

Предмет исследования: корешки чеснока

Ход работы

В стерильных условиях при помощи пинцета и скальпеля изолировать корешки, длина которых составляет 2-3 мм поместить на поверхность агаризованной среды и слегка вдавить их в агар для обеспечения хорошего контакта с питательной средой. В работе лучше использовать среду МС, содержащую 30 г/л сахарозы, 100 мг/л мезоинозита, 2 мг/л 2,4-Д и 0,2 мг/л кинетина. Культивируют в темноте при 25°C в течение 3-4-х недель.

Задание. По истечении указанного срока рассмотреть в микроскоп и зарисовать сформировавшийся каллус.

Лабораторная работа № 7

Субкультивирование каллусных тканей

В цикле культивирования при создании определенных условий каллусные клетки после ряда делений проходят обычный органоогенез: растут растяжением, дифференцируются и деградируют. Рост каллуса можно отразить S-образной кривой роста. Ростовой цикл начинается с посадки экспланта на среду (начало культивирования), а завершается в момент прекращения митозов (стационарная фаза). В лаг-фазе (латентной фазе) клетки не делятся, не увеличиваются в размере, имеют низкую метаболическую активность. В экспоненциальной фазе (фаза логарифмического роста) клетки активно делятся митозом. В ранней экспоненте увеличивается количество митохондрий (синтезируется АТФ), рибосом, всех видов РНК, синтезируются белки, активизируется метаболизм. Интенсивно поглощается кислород. Поздняя экспонента характеризуется снижением удельной скорости роста, замедлением клеточного деления, увеличением среднего размера клеток за счет растяжения. В стационарной фазе (фаза плато) размер клеток продолжает увеличиваться, а их деление прекращается. В поздней стационарной фазе (фаза деградации) за счет истощения среды клетки стареют и отмирают. Продолжительность ростового цикла каллусных клеток составляет 21-28 суток. В процессе культивирования каллус пассируют (пересаживают на свежую питательную среду) каждые четыре-шесть недель в зависимости от интенсивности роста. Масса транспланта (фрагмента ткани, который пассируют на свежую питательную среду) составляет 60-100 мг на 20-40 мл питательной среды.

Цель работы: освоить приемы и получить навыки исследования характера роста каллуса.

Оборудование и материалы: ламинарный бокс, пробирки с питательной средой для

культивирования каллусов, препаровальные иглы, пинцеты, скальпели, флаконы с 70%-ным этанол, спиртовка.

Предмет исследования: каллусная культура чеснока.

Ход работы

В стерильных условиях извлечь каллусы из культивационных сосудов и поместить на стерильную поверхность. Стерильной препаровальной иглой выделить зоны меристематической активности (белые, мелкие клетки). Транспланты величиной 2-3 мм поместить на агаризованной среде и слегка вдавить их в агар для обеспечения хорошего контакта с питательной средой. В работе лучше использовать среду МС, содержащую 30

г/л сахарозы, 1 мг/л НУК и 0,8 мг/л БАП. Культивировать в световой комнате в темноте при 25°C в течение 4-х недель. За это время для построения кривой роста каллус взвесить три раза, с равными промежутками времени.

Задание. По результатам взвешиваний через одну, две, три и четыре недели построить кривую роста каллуса. Кроме снятия ростовых показателей, отмечать цвет и консистенцию каллусной ткани. Результаты культивирования зарисовать через две-четыре недели. Рассчитать (в %) интенсивность роста каллусной ткани по формуле: $ИР = (m_2 - m_1) : m_1 \times 100$, где ИР – интенсивность роста; m_1 – масса каллусной ткани в начале пассажа; m_2 – масса каллусной ткани в конце пассажа.

Лабораторная работа № 8

Регенерация почек из каллусных тканей

Состав питательной среды является наиболее важным фактором, определяющим эффективность культивирования эксплантов. Состав питательных сред подбирается опытным путем и содержит минеральные соли, углеводы, аминокислоты, витамины, фитогормоны, агар и другие добавки.

Цель работы: освоить приемы и получить навыки индукции морфогенеза из каллуса.

Оборудование и материалы: ламинарный бокс, 50 мл колбы с питательной средой для культивирования каллусов, препаровальные иглы, пинцеты, скальпели, флаконы с 70%-ным этанол, спиртовка.

Предмет исследования: каллусная культура.

Ход работы

Для выполнения работы использовать полученный в ходе выполнения лабораторной работы № 4 материал. В стерильных условиях извлечь каллусы из культивационных сосудов и поместить на стерильную поверхность. Стерильной препаровальной иглой выделить белые, плотные образования. Транспланты величиной 2-3 мм поместить на агаризованные питательные среды, содержащие макро- и микроэлементы, витамины и органические соединения по прописи N6 (Chu С.С., 1975), а также кинетин в концентрации 1,0 мг/л и 2,0 мг/л, слегка вдавить их в агар для обеспечения хорошего контакта с питательной средой. Культивировать в световой комнате в темноте при 25°C в течение 4-х недель. За это время с интервалом в одну неделю провести наблюдение и фиксировать инфицированность, размер каллуса, число появившихся почек и корешков.

Задание. По результатам наблюдений, проведенных через одну, две, три и четыре недели построить кривую роста каллуса и образования органов. Результаты культивирования зарисовать через две-четыре недели.

Лабораторная работа № 9

Индукция и размножение побегов

Соотношение фитогормонов и их концентрация является определяющим для получения, размножения побегов и поддержания их высокой морфогенетической активности.

Цель работы: освоить приемы и получить навыки размножения побеги, полученных из почек в условиях *in vitro*.

Оборудование и материалы: ламинарный бокс, 50 мл колбы с питательной средой для культивирования тканей, препаровальные иглы, пинцеты, скальпели, флаконы с 70%-ным этанол, спиртовка.

Предмет исследования: морфогенные ткани, почки, побеги

Ход работы

Для выполнения работы использовать полученный в ходе выполнения лабораторной работы № 5 материал. В стерильных условиях извлечь почки из культивационных сосудов и поместить на стерильную поверхность. Стерильной препаровальной иглой и скальпелем выделить зеленые,

плотные образования и почки. Транспланты величиной 3-5 мм поместить на агаризованные питательные среды, содержащие макро- и микроэлементы, витамины и органические соединения по прописи №6 (Chu C.C., 1975), а также кинетин в концентрации 1,0 мг/л и 2,0 мг/л, слегка вдавить их в агар для обеспечения хорошего контакта с питательной средой. Культивировать в световой комнате в темноте при 25°C в течение 4-х недель. За это время с интервалом в одну неделю проводить наблюдение и фиксировать инфицированность, размер каллуса, число появившихся почек и корешков.

Задание. По результатам наблюдений, проведенных через одну, две, три и четыре недели построить кривую образования и роста побегов. Результаты культивирования зарисовать через две-четыре недели.

Лабораторная работа № 10

Укоренение побегов

Как правило, для подращивания и укоренения побегов часто используют безгормональные жидкие и агаризованные питательные среды, у которых содержание макро- и микроэлементов снижено в два раза, а концентрация сахарозы составляет 1% (Поляков А.В., 2005, 2013). Эти условия способствуют хорошей укореняемости побегов и интенсивному росту корней. Однако в случае слабого развития побегов в среду для укоренения следует добавлять один из ауксинов: ИМК, НУК в концентрации 0,1 мг/л.

Цель работы: освоить приемы и получить навыки укоренения побегов, полученных в условиях *in vitro*.

Оборудование и материалы: ламинарный бокс, 50-100 мл колбы или пробирки с питательной средой для укоренения побегов, препаровальные иглы, пинцеты, скальпели, флаконы с 70%-ным этанол, спиртовка.

Предмет исследования: побеги.

Ход работы

Для выполнения работы использовать полученный в ходе выполнения лабораторной работы № 6 материал. В стерильных условиях извлечь ткани с новообразованиями из культивационных сосудов и поместить их на стерильную поверхность. Стерильными скальпелем и пинцетом выделить побеги и поместить их на агаризованные питательные среды, содержащие половинную дозу макро- и микроэлементов, витаминов и органических соединений, указанных в прописи №6 (Chu C.C., 1975) или MS (Murashige T., Skoog F., 1962), а также сахарозу в концентрации 1% и НУК в концентрации 0,1 мг/л., слегка вдавить их в агар для обеспечения хорошего контакта с питательной средой. Культивировать в световой комнате в темноте при 25°C в течение 4-х недель. За это время с интервалом в одну неделю проводить наблюдение и фиксировать инфицированность, число и длину появившихся корней.

Задание. По результатам наблюдений, проведенных через одну, две, три и четыре недели построить кривую образования и роста корней. Результаты культивирования зарисовать.

Лабораторная работа № 11

Адаптация растений-регенерантов к условиям *ex vitro*

Важным моментом в биотехнологическом процессе является адаптация растений - регенерантов, полученных в условиях *in vitro*, к условиям *ex vitro*.

Процесс адаптации к новому газовому составу воздуха, к условиям с меньшей влажностью и большой инфекционной нагрузкой в зависимости от вида растения и состояния растения-регенеранта может составлять от одной до трех недель.

Цель работы: освоить приемы и получить навыки по адаптации растений-регенерантов, полученных в условиях *in vitro* к обычным условиям среды.

Оборудование и материалы: световая комната, 50-100 мл колбы или пробирки с

питательной средой и укорененными побегами, пинцеты.

Предмет исследования: растения-регенеранты.

Ход работы

Для выполнения работы использовать полученный в ходе выполнения лабораторной работы № 7 материал. В условиях световой комнаты для адаптации в крышках культивационных сосудов проделывают небольшие, диаметром 1-2 мм отверстия, которые расширяют по мере адаптации растений. Этот период часто длится 7 суток.

Задание. По результатам наблюдений, проведенных через одну неделю, подсчитать число растений, у которых отсутствуют признаки подвядания листьев. Результаты культивирования зарисовать.

Лабораторная работа № 12

Высадка растений-регенерантов в условиях *ex vitro*

Необходимо помнить, что обычные условия среды могут быть губительно даже для адаптированных к обычному воздуху растений-регенерантов. Необходимо такие растения адаптировать и к субстрату, который должен быть достаточно увлажнен и не содержать фито- патогенных микроорганизмов или вредителей.

Цель работы: освоить приемы и получить навыки по высадке растений-регенерантов, полученных в условиях *in vitro* к обычным условиям среды.

Оборудование и материалы: 50-100 мл колбы или пробирки с растениями-регенерантами, пинцеты.

Предмет исследования: растения-регенеранты.

Ход работы

Растения-регенеранты с хорошо сформированной корневой системой извлекают из культивационных сосудов, под проточной водой отмывают корни от питательной среды и высаживают в торфяные таблетки, обработанные кипятком. В течение 10 - 14 суток растения содержат в условиях влажной камеры при температуре +18...+20 °С, а для аэрации их ежедневно приоткрывают.

Такие приемы позволяют получать, в зависимости от сорта более 80% адаптированных к обычным условиям среды растений – регенерантов.

После адаптации растения переносят на постоянное место выращивания - в теплицу или открытый грунт, уход за ними осуществляют как за обычными растениями.

Задание. По результатам наблюдений, проведенных через одну, две, три недели, определить долю растений, адаптированных к обычным условиям среды. Измерить и записать высоту растений, определить число листьев и их оттенок.

Лабораторная работа 13

Обработка полученных результатов

Разноплановость и разнообразие растительного материала, вводимого в культуру, наличие нескольких этапов культивирования и длительность наблюдений диктуют необходимость строго учета параметров культивируемых объектов. Поскольку каждый эксплант вводится в отдельную пробирку (сосуд), то эта проба (пробирка) должна быть маркирована после введения экспланта в культуру, а его параметры зафиксированы в учетной записи. Затем при проведении наблюдений и при пассажах должны быть отражены все изменения объектов, произошедшие в период культивирования. Длительность наблюдений каждой пробы до следующей пересадки чаще всего составляет не более четырех недель. При проведении экспериментальных работ по введению тканей растений в культуру и следующих

этапов необходимо для каждого задания оформить и заполнить таблицу после окончания манипуляций в ламинарном боксе и после учета характеристик в процессе последующего их наблюдения. Указывать полученные результаты с указанием дат и вариантов по каждому этапу культивирования (указывать номер пассажа, количество отбракованного материала и причину выбраковки, высадку в грунт и т. п.).

Вопросы

1. Что показывает анализ полученных результатов?
2. Какие можно сделать выводы по влиянию гормонального состава среды на процессы каллусогенеза?
3. Какие сорта лучше использовать для проведения дальнейших экспериментов?
4. Какие условия лучше использовать для проведения дальнейших экспериментов?

8. ИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА ПО ДИСЦИПЛИНЕ

Лицензионное программное обеспечение:

Microsoft

t

Windows

Microsoft

t Office

Kaspersky Endpoint Security

Информационные справочные системы:

Система ГАРАНТ

Система «КонсультантПлюс»

Профессиональные базы данных

fgosvo.ru pravo.gov.ru

www.edu.ru

9. МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

Материально-техническое обеспечение дисциплины включает в себя:

- учебные аудитории для проведения занятий лекционного и семинарского типа, курсового проектирования (выполнения курсовых работ), групповых и индивидуальных консультаций, текущего контроля и промежуточной аттестации, укомплектованные учебной мебелью, доской, демонстрационным оборудованием
- помещения для самостоятельной работы, укомплектованные учебной мебелью, персональными компьютерами с подключением к сети Интернет и обеспечением доступа к электронным библиотекам и в электронную информационно-образовательную среду МГОУ;
- помещения для хранения и профилактического обслуживания учебного оборудования, укомплектованные мебелью (шкафы/стеллажи), наборами демонстрационного оборудования и учебно-наглядными пособиями.