

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет агротехнологій

Кафедра землеробства, геодезії та землеустрою

ОСНОВИ БІОТЕХНОЛОГІЇ В РОСЛИННИЦТВІ

Методичні рекомендації

для виконання контрольної роботи здобувачами першого
(бакалаврського) рівня вищої освіти ОПП «Агрономія» спеціальності
201 «Агрономія» заочної форми здобуття вищої освіти



МИКОЛАЇВ
2025

УДК 633/635:606
О-75

Друкується за рішенням науково-методичної комісії факультету агротехнологій Миколаївського національного аграрного університету від 15.05.2025 р., протокол № 10.

Укладач:

Т. М. Манушкіна – канд. с.-г. наук, доцентка, доцентка кафедри землеробства, геодезії та землеустрою, Миколаївський національний аграрний університет.

Рецензенти:

Є. О. Домарацький – д-р с.-г. наук, професор, заступник директора з інноваційно-інвестиційної роботи, Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннезнавства та сортовивчення;

В. Г. Миколайчук – канд. біол. наук, доцентка, доцентка кафедри рослинництва та садово-паркового господарства, Миколаївський національний аграрний університет.

ЗМІСТ

Вступ.....	4
Загальні положення.....	5
Тематика до самостійного опрацювання.....	5
Основні терміни.....	7
Матеріали до самостійного вивчення.....	8
Контрольні питання до іспиту.....	20
Вимоги до виконання контрольної роботи.....	23
Питання до виконання контрольної роботи.....	24
Список основної рекомендованої літератури.....	28
Номери питань контрольної роботи.....	31

ВСТУП

Біотехнологія – один із пріоритетних напрямів розвитку сучасної біологічної науки, головним завданням якого є використання біологічних процесів, систем і органів у різних галузях, таких як клітинна та генетична інженерія рослин, тварин і людини, використання іммобілізованих ферментів, виробництво антибіотиків, біогазу та ін. Із сучасних методів біотехнології в рослинництві інтенсивно використовуються методи культури клітин, тканин та органів, емріокультури, гаплоїдії і дигаплоїдії, соматональної варіабельності, а також клітинної та генетичної інженерії.

Завдання дисципліни – розкрити теоретичні й практичні питання методів біотехнології рослин: культури калусних тканин та суспензійної культури, клітинної селекції, клонального мікророзмноження, культури протопластів та соматичної гібридизації, трансгенезу рослин та ДНК-технологій.

Основною **метою** вивчення біотехнології рослин є засвоєння студентами її теоретичних основ і формування практичних навичок, що необхідно для формування висококваліфікованих сучасних фахівців сільського господарства.

В результаті вивчення дисципліни «Біотехнологія в рослинництві» студент повинен **знати**:

- суть біотехнології як однієї з основних галузей сучасної біології;
- основні методи біотехнології;
- закономірності росту і розвитку ізолюваних клітин, тканин рослин в умовах *in vitro*;
- принципово нові біотехнології в сільському господарстві;
- методи отримання трансгенних рослин.

Студент повинен **уміти**:

- користуватися навчальною, методичною та науковою літературою з біотехнології;
- підготувати посуд, інструменти та прилади для біотехнологічних досліджень;
- приготувати живильне середовище;
- працювати в біотехнологічній лабораторії та використовувати основні методи біотехнології.

ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

Основним методом вивчення дисципліни «Основи біотехнології у рослинництві» здобувачами першого (бакалаврського) рівня вищої освіти ОПП «Агрономія» спеціальності 201 «Агрономія» заочної форми здобуття вищої освіти є самостійне опрацювання визначеної тематики та виконання контрольної роботи.

Протягом навчального року для здобувачів вищої освіти заочної форми навчання організовуються індивідуальні і групові консультації з дисципліни. У період лабораторно-екзаменаційної сесії проводяться лекції та практичні заняття з найбільш актуальних і складних розділів програми. Після повного вивчення курсу студенти здають залік. До заліку допускаються здобувачі, які відпрацювали усі практичні роботи і здали контрольну роботу, що повністю відповідає вимогам до неї.

ТЕМАТИКА ДО САМОСТІЙНОГО ОПРАЦЮВАННЯ

МОДУЛЬ I. Біотехнологія рослин як наука

Предмет, завдання і методологія біотехнології рослин

Предмет і завдання біотехнології рослин. Основні терміни біотехнології рослин. Історія розвитку біотехнології. Зв'язок біотехнології з іншими біологічними та сільськогосподарськими дисциплінами. Значення біотехнології для рослинництва.

Культура ізольованих клітин та тканин

Клітинні технології для одержання генетичного різноманіття для селекції: культура калусної тканини, клітинна селекція, мутагенез *in vitro*. Клітинні технології для полегшення та прискорення селекційного процесу: клональне мікророзмноження, культура ізольованих зародків, ембріокультура, експериментальна гаплоїдія, кріозбереження рослинного матеріалу. Клітинні технології для одержання біологічно активних речовин.

МОДУЛЬ II. Клітинні технології для вирішення теоретичних питань і практичних завдань рослинництва та селекції

Культура калусної тканини

Калусогенез як основа створення клітинних культур. Дедиференціювання та калусоутворення *in vitro*. Методика одержання калусних культур. Соматоклональна варіабельність. Методи клітинної селекції. Особливості індукованого мутагенезу *in vitro*.

Морфогенез та регенерація рослин у культурі клітин та тканин

Тотипотентність рослинних клітин. Основні механізми регенерації рослин. Типи вторинної диференціації та морфогенезу. Індукція морфогенезу за допомогою фітогормонів. Отримання рослин-регенерантів.

Клональне мікророзмноження рослин. Кріозбереження живого рослинного матеріалу

Завдання та переваги клонального мікророзмноження. Типи та основні етапи клонального мікророзмноження. Одержання безвірусного садивного матеріалу. Методи кріозберігання. Банки генетичних ресурсів.

Культура ізольованих протопластів

Одержання протопластів. Культивування протопластів. Регенерація рослин з протопластів. Соматична гібридизація. Типи соматичних гібридів та їх характеристика. Аналіз соматичних гібридів. Практичне застосування соматичної гібридизації.

МОДУЛЬ III. Молекулярна біотехнологія: принципи та застосування

Молекулярна біологія і генетична інженерія.

Молекулярні основи спадковості. Транскрипція генів еукаріотів. Гени рослин. Плазмідні. Способи перенесення генів у реципієнтні клітини. Ідентифікація рекомбінантних клонів. Експресія трансформованих генів і способи її оптимізації. Стан та перспективи генно-інженерних досліджень у рослинництві.

Молекулярно-генетичні методи аналізу рослин.

Методи імунодіагностики. Молекулярно-генетичні маркери.

ОСНОВНІ ТЕРМІНИ

Клітинна інженерія – метод отримання нових рослин шляхом маніпуляцій з клітинами.

Генетична (генна) інженерія – метод отримання нових рослин шляхом маніпуляцій з генами.

Клональне мікророзмноження – одержання в культурі *in vitro* нестатевим шляхом рослин (найчастіше з апікальної меристеми), генетично ідентичних вихідній рослині.

In vitro – вирощування живого матеріалу в склі, на штучних живильних середовищах в асептичних умовах.

Диференціювання – комплекс процесів, що призводять до відмінностей між материнськими та дочірніми клітинами, стан спеціалізації клітин, що відрізняє їх від інших. Проявляється морфологічними, фізіологічними і біохімічними змінами клітин.

Дедиференціювання – перехід спеціалізованих клітин, що не діляться, до проліферації, яка призводить до втрати більшості ознак спеціалізації.

Експлант – фрагмент тканини або органа, що використовується для вирощування *in vitro* самостійно або для одержання первинного калуса.

Калус – тканина, що виникла внаслідок дедиференціації та неорганізованої проліферації клітин на поверхні рани.

Морфогенез – виникнення та розвиток спеціалізованих клітин, органів і частин організму.

Органогенез – процес виникнення *de novo* у масі калусних клітин, що ростуть неорганізовано, зачатків органів (коренів і пагонів).

Гемогенез – утворення (диференціація) бруньок калусними клітинами.

Гіногенез – процес формування рослин із клітин зародкового мішка.

Ризогенез – утворення коренів.

Субкультивування (пасажування) експланта – перенесення експланта, калусу, рослини-регенеранта на свіже живильне середовище.

Цикл вирощування (пасаж) – період між двома субкультивуваннями.

Трансгенна рослина – рослина, що містить у своєму геномі чужорідний рекомбінантний ген (гени).

МАТЕРІАЛ ДО САМОСТІЙНОГО ВИВЧЕННЯ

Сучасна біотехнологія – це сукупність технологій, що передбачають використання біологічних процесів живих клітин, макро- і мікромолекул з метою одержання заданих продуктів.

Використання в практиці сільського господарства біотехнологій обумовлене необхідністю підвищити врожаї і поліпшити якість основних сільськогосподарських культур, пошуком економічно вигідних та екологічно безпечних технологій.

У сучасній біотехнології рослин виділяють **три напрями**:

1) **технології, що ґрунтуються на використанні культури клітин, тканин та органів рослин.** Використовуються для одержання з біомаси культивованих *in vitro* клітин біологічно активних речовин, що застосовуються в медицині, харчовій, косметичній промисловості тощо. Клітинні технології використовують також для отримання віддалених гібридів, створення гомозиготних диплоїдів (подвоєних гаплоїдів), розмноження та оздоровлення цінних генотипів;

2) **ДНК-технології** – молекулярно-генетичні методи аналізу рослин, пов'язані з аналізом молекулярно-генетичного поліморфізму рослин, детекцією патогенів, добором рослин з потрібними для селекціонера генами;

3) **отримання трансгенних рослин** методами генної інженерії, які дають змогу виділяти ділянки ДНК, що містять потрібні гени і вводити їх у геном рослин. У рослини вводяться гени стійкості проти гербіцидів і шкідників, а також гени, що контролюють білки тварин, людини, лікарські речовини тваринного походження. У 2010 році світові площі під трансгенними культурами становили понад 130 млн. га. Найбільші посівні площі під трансгенними рослинами зайняті у США, Канаді, Аргентині, Китаї.

Основна мета біотехнології – це створення нових сортів рослин, порід тварин, штамів мікроорганзмів, використання організмів і біологічних процесів у виробництві, зокрема, для синтезу в промислових масштабах кормових білків, амінокислот, біологічно

активних речовин інтерферону, гормону росту, інсуліну, алкалоїду, глікозиду (табл. 1).

Біотехнологія як самостійна галузь знань і сукупність технологій у промисловому виробництві сформувалася за останні 30 років на основі фундаментальних досліджень у галузі фізіології, генетики, біохімії та молекулярної біології рослин.

Таблиця 1

Значення біотехнології для рослинництва

Метод біотехнології	Завдання, що вирішуються	Практичні результати
1	2	3
Клональне мікророзмноження та одержання оздоровленого садивного матеріалу	1) створення системи первинного насінництва сільськогосподарських культур	картопля, виноград, суниця, плолові, овочеві, декоративні, ефіроолійні культури
	2) прискорене розмноження цінного селекційного матеріалу	те саме
	3) розмноження рідкісних і зникаючих видів рослин	орхідні, глід Пояркової, еспарцет Паласа
	4) розмноження рослин, що погано розмножуюся вегетативним способом	хвойні породи, пальми
Кріозбереження генофонду	створення кріобанків генів рослин	
Клітинна селекція	одержання соматоклональних варіантів та мутантних форм	пшениця, стійка до фузаріозу; еспарцет, стійкий до грибкових хвороб
Запліднення <i>in vitro</i> (ембріокультура)	подолання прогамної і постгамної несумісності, одержання міжродових і міжвидових гібридів	нектарин
Соматична гібридизація	створення нових генотипів, які неможливо одержати статевим	

	шляхом внаслідок несумісності	
Культура пиляків, мікроспор та макроспор (експериментальна гаплоїдія)	одержання гаплоїдів і створення гомозиготних ліній	ячмінь
Культура ендосперму	одержання триплоїдних і поліплоїдних рослин	кукурудза, рис
Генна інженерія	створення нових генотипів шляхом генетичної трансформації	соя, картопля, кукурудза, томат
Клітинна гібридизація та імунологічні дослідження	створення методів діагностики вірусних хвороб рослин із застосуванням моноклональних антитіл	
Культивування рослинних клітин у біореакторах	одержання рослинної біомаси в необмеженій кількості	женьшень, радіола рожева, раувольфія зміїна

Клональне мікророзмноження – масове нестатеве розмноження рослин, генетично ідентичних вихідному екземпляру, з використанням техніки *in vitro*.

Ця біотехнологія існує на **двох рівнях**:

-**мінірівень**, як допоміжна в селекційному процесі для здійснення швидкого розмноження унікальних рослин – донорів цінних генів, стерильних ліній, гібридів, мутантів, соматоклональних варіантів;

-**макрорівень** клонального мікророзмноження пов'язаний з необхідністю одержання значних кількостей посадкового матеріалу вегетативно розмножуваних рослин.

Перевагами цієї біотехнології, що дозволили досягти їй високого ступеня комерціалізації в світі, є:

- 1) високі коефіцієнти розмноження (до 10^5 - 10^6 мериклонів за рік);
- 2) скорочення площ у закритому ґрунті, зайнятих під маточними і розмножуваними рослинами;
- 3) можливість цілорічної роботи в лабораторних умовах і планування випуску рослин у необхідні терміни;
- 4) можливість одержувати вегетативне потомство видів рослин, що важко розмножуються в звичайних умовах;

- 5) можливість одержувати посадковий матеріал, оздоровлений від патогенів;
- б) можливість депонування рослин за низьких позитивних температурах або криозбереження.

Клональне мікророзмноження базується на регенераційній здатності тотіпотентних клітин рослин. Генотипом соматичних клітин рослин містить повну інформацію про розвиток усього організму. Під дією комплексу факторів відбувається індукція морфогенетичної програми. В межах організму функціональна диференціація клітин зумовлюється вибірковою експресією генів під впливом сукупності регуляторних систем тканин – позиційної інформації (клітинного оточення, полярності та ін.). При експлантації клітин, тканин чи органів зв'язок між регуляторними факторами організму порушується і їх організований розвиток, що веде до регенерації рослин, контролюється як внутрішніми, так і зовнішніми чинниками.

Здатність до регенерації є складною ознакою, що пов'язана з експресією інших кількісних ознак організму. Регенераційні та проліферативні процеси в експлантах детерміновані генотипом рослини-донора, тому морфогенетичні реакції рослин специфічні в межах виду, сорту і типу експланта.

Залежно від характеру морфогенетичних процесів в культурі тканин виділяють **типи** клонального мікророзмноження:

- 1) активація розвитку вже існуючих в інтактній рослині меристем (апекс стебла, пазушні й сплячі бруньки стебла);
- 2) індукція виникнення бруньок або ембріодів *de novo*.

Останній тип ділиться на **три методи**:

- а) виникнення організованих структур безпосередньо із спеціалізованих тканин експланта (тканин репродуктивних органів, епідермісу, субепідермальних тканин, мезофілу листка);
- б) з первинного калуса, утвореного клітинами експланта;
- в) із субкультивованої калусної тканини або клітин суспензійної культури.

Обов'язковою умовою клонального мікророзмноження є збереження генетичної стабільності на всіх етапах процесу від експланта до рослини-регенеранта. Диференціація соматичних клітин в онтогенезі рослин призводить до втрати геномом стабільності (ендополіплоїдії, ампліфікації деяких генів, змін на рівні повторів ДНК). Тому при розмноженні в культурі *in vitro* шляхом індукції адвентивних пагонів безпосередньо з тканин експланта не виключена

можливість одержання неоднорідного потомства. Однак, цей метод є досить ефективним для розмноження деяких видів рослин (цибулинних, пальм, деяких декоративних рослин).

Геномна мінливість характерна для соматичних клітин при індукції процесів дедиференціації і калусогенезу. Показано також, що тривале субкультивування калуса супроводжується накопиченням генних мутацій. З гетерогенних калусних тканин регенерують рослини з широкою генетичною варіабельністю – соматональні варіанти, що використовуються для розширення різноманіття вихідного селекційного матеріалу. Регенерація рослин з калусів, що культивуються під дією селективних факторів (складу живильного середовища, температури та ін.) покладена в основу методу клітинної селекції.

Найбільш надійним з точки зору одержання генетично ідентичного вихідним формам потомства є **метод активації вже існуючих у рослині меристем**. Меристемні тканини рослин містять диплоїдний набір хромосом і підтримуються в ембріонально активному стані. Можливими **механізмами підтримання генетичної стабільності апікальних меристем** є:

- 1) організація їх у вигляді дискретних зон;
- 2) висока активність систем репарації ДНК;
- 3) негативна селекція змінених клітин.

Апікальна меристема - це верхівкова твірна тканина стебла і кореня. Апікальна меристема стебла утворює клітини первинних тканин, що диференціюються (вже в меристематичній зоні) і формують примордії листків і пазушних бруньок, стебло і метамери суцвіть. Більша частина вищих рослин має проміжний тип росту, за якого в пазухах листків знаходяться додаткові меристематичні тканини, здатні сформуватися в пагін після зняття апікального домінування.

Культура меристем – це асептичне вирощування на живильних середовищах ізольованої з апексу або пазушної бруньки пагона апікальної меристеми з одним або двома листовими примордіями.

Культура апікальних меристем **використовується** для:

- 1) одержання рослин, генетично ідентичних вихідному генотипу;
- 2) одержання рослин, вільних від патогенів;
- 3) зберігання зародкової плазми (кріозбереження).

Морфогенез ізольованих меристем у культурі *in vitro* і подальше мікророзмноження може бути реалізоване **двома шляхами**:

1) регенерацією пагонів нормальних пропорцій з наступним їх поділом на "однобрунькові" мікроживці, які використовуються як вторинні експланти для повторного циклу розмноження;

2) стимуляцією розвитку всіх пазушних бруньок і меристематичних бугорків у результаті пригнічення апікального домінування первинного пагона. Регенеранти мають вигляд пучків пагонів, кожен з яких може бути рекультивований з аналогічним результатом.

Процес клонального мікророзмноження складається з **чотирьох основних етапів:**

1-й етап – ізолювання експланта, введення й ініціація його розвитку в умовах *in vitro*;

2-й етап – власне мікророзмноження;

3-й етап – укорінення мікропагонів;

4-й етап – адаптація мікророслин до умов *in vivo*.

У культурі *in vitro* морфогенез є наслідком контрольованої індукції. Клональне мікророзмноження передбачає індукцію гомогенезу в ізолюваних меристем з подальшим утворенням пагонів і укорінених рослин. Формування пагонів, коренів й інтегрованого рослинного організму є комплексним процесом і контролюється численними **факторами:** генетичними, фізіологічними, гормональними і фізичними.

Генетичні фактори, що регулюють морфогенетичні реакції, діють на рівні класу, родини, роду, виду, різновидності, сорту рослини. Експериментальними роботами багатьох дослідників доказано, що дводольні трав'янисті рослини володіють більшими морфогенетичними потенціями, ніж тканини і органи дерев'янистих та однодольних трав'янистих рослин. Значною регенераційною здатністю характеризуються види рослин з родин *Solanaceae*, *Asteraceae*, *Umbeliferae*, *Cruciferae*; низькою – з родин *Poaceae* та *Fabaceae*.

До **фізіологічних факторів**, що впливають на регенераційні процеси *in vitro*, відносяться фізіологічний вік донорної рослини, сезонність ізоляції експланта, розмір експланта, розміщення бруньок на пагоні (для меристематичних тканин).

Гормональні фактори. Ініціація розвитку експланта та утворення пагонів і коренів значною мірою залежить від складу живильного середовища: вмісту і співвідношення макро- і мікроелементів, вітамінів, сахарози, гормонів. Ізолювані меристеми

культивують на середовищах Мурасиге і Скуга, Лінсмаєра і Скуга, Ніча, Уайта, Гамборга В5, Шенка і Хільдебрандта.

F. Skoog і С. Miller показали, що характером росту і морфогенезу в культурі тканин можна управляти, маніпулюючи вмістом і співвідношенням ауксинів і цитокінінів у живильному середовищі. При високому співвідношенні гормонів цитокінін – ауксин відбувається розвиток пазушних меристем або утворення адвентивних бруньок, при низькому – індукується коренеутворення, а при середньому спостерігається утворення і проліферація калуса.

Ауксини регулюють процеси поділу і розтягування клітин, сприяють формуванню коренів і провідних пучків. **Цитокініни** поліфункціональні у своїй дії на різних етапах росту і розвитку: вони стимулюють мітози, диференціацію клітин, знімають апікальне домінування. В культурі *in vitro* до складу живильних середовищ включають цитокініни: кінетин, БАП, зеатин, 2-ізопентиладенін (2-іР), ізопентиладенозін (ША), тидіазурон.

Аналіз робіт багатьох дослідників дозволяє зробити висновок, що реакція експлантів на рівень екзогенних гормонів **специфічна** в межах виду, сорту, органу-донора експланта, розміру експланта, тканини. Така **специфічність** обумовлена **рядом факторів**: морфогенним потенціалом експланта, здатністю клітин експланта синтезувати ендогенні гормони, наявністю клітин, компетентних до обробки екзогенними гормонами, наявністю набору регульованих генів.

Регенерація, ріст і розвиток експлантів в ізольованій культурі значною мірою залежить від **фізичних факторів**: консистенції живильного середовища, кислотності середовища, температури, світла, відносної вологості повітря. Консистенція живильного середовища впливає на постачання експлантів і мікророслин поживними речовинами, видалення продуктів метаболізму і, як наслідок, розвиток рослин з нормальною або зміненою морфологією. Для культивування тканин та органів більшості видів рослин оптимальним є живильне середовище з рН 5,5 - 6,0. Для більшості рослинних тканин температурний оптимум становить 23–26 °С. Звичайно ізольовані тканини рослин культивують при освітленні люмінесцентними лампами з інтенсивністю 1–6 клк і 14-16-годинному фотоперіоді, але іноді ці параметри потребують коригування відповідно з вимогами до них материнської рослини. Під

час клонального мікророзмноження експланти культивують при відносній вологості повітря 60–70 %.

Уперше метод культури меристем було розроблено в 1952 році G. Morel і С. Martin. У Росії дослідження з культури меристем розпочато в 1960 році Р.Г. Бутенко. Відтоді створено біотехнології клонального мікророзмноження майже для 2400 видів рослин.

На сьогодні в світі найбільш широко використовується клональне мікророзмноження на основі культури меристем у ланках первинного насінництва картоплі, суниці, винограду в зв'язку із можливістю елімінації вірусів; комерційними є технології розмноження *in vitro* декоративних квіткових рослин, що пов'язано з високими коефіцієнтами розмноження, технологічністю і можливістю одержувати рослини в період найбільшого на них попиту.

Розроблено технології клонального мікророзмноження плодових і ягідних, субтропічних культур. Перспективними напрямками біотехнології є розробка способів клонального мікророзмноження важкорозмножуваних рослин і цінних деревних порід, а також рідкісних та зникаючих видів флори з метою їх збереження і репатріації в природне середовище для відновлення популяцій.

На сьогодні головними *способами одержання безвірусних рослин* є:

1) відбір і розмноження здорових маточних рослин на основі ранньої і точної діагностики;

2) біотехнологічні прийоми оздоровлення посадкового матеріалу.

Окремі безвірусні рослини слід виділяти шляхом позитивного відбору з використанням методів діагностики: за зовнішніми симптомами, біотесту на рослинах-індикаторах, серологічних методів, електронної та імуноелектронної мікроскопії. Виділені безвірусні рослини використовуються як маточні для одержання здорового посадкового матеріалу.

У разі, коли всі рослини цінного сорту або селекційної форми заражені вірусами, для їх оздоровлення залучають *біотехнологічні методи*:

- культуру апікальних меристем;
- термотерапію;
- хемотерапію.

Метод культури апікальних меристем ґрунтується на тому факті, що концентрація вірусу в інфікованих клітинах зменшується в напрямку до верхівки пагона, і апікальні меристеми можуть бути

вільними від нього. Перші теоретичні дослідження, в яких було виявлено градієнт концентрації вірусів у рослині, були проведені Т.Н. Thung, Р.Р. White, Р. Limasset і Р. Cornuet. Згодом G. Morel і С. Martin одержали методом культури меристематичних верхівок безвірусні рослини жоржин, картоплі, цимбідіуму.

Зараз накопичено фактичний матеріал, що свідчить про здатність вірусів проникати в зону апікальних меристем. З огляду на цей факт, звільнення певної кількості меристемних рослин від вірусів у культурі *in vitro* може відбуватися з декількох **причин**:

1) наявності вільної від вірусів зони верхівкової меристеми на певній відстані від термінальних клітин, що утворюється внаслідок: меншої швидкості руху вірусів порівняно зі швидкістю поділу клітин точок росту; блокування швидкого транспорту вірусних часточок по меристемі через відсутність у ній провідної системи; відсутності міжклітинників серед клітин верхівкових меристем і недостатньої налагодженості системи плазмодесм, що ускладнює апопластичний і симпластичний шлях переміщення вірусів; більшої конкуренції вірусів з меристематичними клітинами, що активно діляться, за АТФ та інші макроергічні молекули, переважання синтезу нормальних нуклеопротейдів над синтезом вірусних;

2) вірусінгібуючої дії компонентів живильного середовища;

3) видалення вірусних часточок, що містяться в клітинах меристеми, в ході диференціації.

Техніка оздоровлення рослин на основі культури меристем розроблена для багатьох видів сільськогосподарських і декоративних рослин. Високої ефективності оздоровлення вдалося досягти у суниці, картоплі, квітково-декоративних культур. Однак, у ряду культур вихід безвірусних рослин незначний – у цимбідіуму – 1 %, хризантеми – 3,8 %, гвоздики – 19,8 %, троянди – 30,0 %.

Підвищення ефективності звільнення рослин від вірусів досягається поєднанням методу культури меристем з термотерапією або хемотерапією.

Термотерапія – це обеззаражування рослин від вірусів під дією підвищених температур (найчастіше 36–42 °С). Ефективність терапії залежить від термостійкості вірусів і термотолерантності уражених рослин. При термотерапії рослин, уражених термолабільними вірусами, іноді вдається вилікувати повністю всю рослину. Однак, більшість вірусів є термостабільними і точка їх термічної інактивації знаходиться в межах 50–70 °С. Під час термотерапії рослин від

термостабільних вірусів звільняються тільки органи, що відросли під час термообробки.

Механізм терапевтичного ефекту вивчений недостатньо і може бути пояснений декількома гіпотезами:

1) висока температура призводить до втрати інфекційності вірусних часточок, викликаючи деструкцію їх нуклеїнової кислоти або білкової оболонки (у термолабільних вірусів);

2) висока температура діє на віруси через метаболізм рослини, викликаючи дисбаланс між синтезом і деградацією вірусних часточок в сторону деградації;

3) під дією високих температур зростає інгібуєча активність клітин рослини-господаря;

4) під дією підвищених температур відбувається денатурація білкових вірусних рецепторів клітини, які беруть участь в початкових етапах інфекційного процесу, і клітини втрачають сприйнятливність до вірусу.

Термотерапія ділиться на два способи – водяна і повітряна обробка.

При *водяній* термотерапії інфікований матеріал у стані спокою занурюють у гарячу воду (температура від 35 до 80 °С, експозиція обробки – від 3 - 90 хвилин до 30 годин), або у термокамери типу водяного бака. Однак, за температури вище 50 °С навіть при короткочасній дії можуть виникати незворотні пошкодження твірних тканин, зокрема, камбію. Крім того, іноді така обробка не дає позитивних результатів щодо звільнення рослин від вірусів.

Повітряній термотерапії піддають рослини, що вегетують, витримуючи їх у термокамерах за температури 36–38 °С. Такий спосіб має два варіанти: термообробка рослин *in vivo* та *in vitro*.

У першому варіанті попередньо укорінені рослини культивують у термокамерах за температури 37±1 °С, освітленості 5-10 клк/м², фотоперіоду 14-16 годин, відносної вологості повітря 50-80 %, експозиції 7-100 днів. Верхівки пагонів, що відросли в таких умовах, укорінюють у кліматичних камерах або прищеплюють на індикаторні сорти чи безвірусні підщепи, чи експлантують меристеми з відрослих пагонів і вводять їх у культуру *in vitro*. Виявлено позитивний вплив високих температур на точку росту і процеси морфогенезу рослин в умовах *in vitro*, помічено стимулюючий вплив на адаптацію мікророслин до умов *in vivo*. Таким методом високої ефективності

оздоровлення вдалося досягти у квітково-декоративних, плодкових культур, винограду.

Термотерапія *in vitro* застосовується для рослин, що характеризуються низькою термотолерантністю. Рослини-регенеранти в культурі *in vitro*, вирощені до певної стадії, поміщають у термокамери з температурою 37 ± 1 °C. Після закінчення обробки теплом апікальні частини мікророслин укорінюють на живильному середовищі, а потім дорощують у культурі *in vivo*. Ефективність такого способу звільнення від вірусів показана для троянди, цимбідіуму – 80 %, винограду, вишні, сливи – 100 % та інших культур.

Відомі випадки, коли терапевтичний ефект наставав при пониженій температурі. Так, при культивуванні меристем *Trifolium repens* за температури 10 °C протягом 13–15 тижнів було одержано рослини, вільні від чотирьох вірусів.

У теперішній час одним з методів боротьби з фітовірусними інфекціями є **хемотерапія**. Відомо декілька класів речовин з прямою антивірусною активністю, що, пригнічують репродукцію вірусу в рослині (рибавірин, азацитидин та похідні олігоаденілатів). Вплив обробки такими речовинами на інфекційність може бути результатом дії як на вірус, так і на сприйнятливість клітини-господаря. Досліджуються сполуки, здатні активувати захисні механізми рослини та індукувати системну набуту резистентність (бензотіадизол, стробілуридин-похідні, саліцилова кислота, 2,6-дихлорізонікотинова кислота та ін). Проте жодна з антифітовірусних сполук не набула застосування проти широкого кола вірусів.

На сьогодні найбільш відомий метод хемотерапії полягає у внесенні сполук-інгібіторів вірусів у живильне середовище для культивування на ньому апікальних меристем.

Технології одержання вільного від вірусної інфекції посадкового матеріалу передбачають застосування **вірусологічного контролю** на всіх етапах розмноження рослин. Найбільш ефективним тестом на наявність мінімальної кількості вірусу в рослині є імуноферментний аналіз (ІФА, ELISA – enzyme-linked-immuno-sorbent assay). В основі ІФА лежить реакція між антигеном, що міститься в досліджуваному зразку, і антитілами до нього, міченими ферментом. Антитіла виступають як специфічний детектор антигену, а фермент – як маркер імунохімічної реакції, з допомогою якого візуалізується утворення комплексів посередництвом кольорової реакції між ферментом і

субстратом до нього. Існує чотири основні модифікації ІФА: прямий, непрямий, “сендвіч” та ПАП-(пероксидаза-антипероксидазний) метод.

ІФА характеризується високою чутливістю (концентрація антигена в соці 1 нг/мл) та вірусоспецифічністю (з допомогою моноклональних антитіл “сендвіч”-методом можна розрізнити штами вірусів, що мають відмінності хоча б за одним амінокислотним залишком). Такі переваги методу, а також мінімальна кількість рослинного матеріалу, необхідного для проведення аналізу, і швидке одержання результатів зробили ІФА зручним для відбору безвірусних маточних рослин і аналізу одержаних після терапії рослин при виробництві оздоровленого посадкового матеріалу.

Безвірусні рослини відносять до категорії **оригінальний посадковий матеріал**, який використовується для створення оздоровлених маточників. У цих маточниках здійснюється комплекс профілактичних і захисних заходів проти повторної інфекції: знищення бур'янів-резерваторів вірусів, боротьба з хворобами і шкідниками (можливими переносниками вірусів). Паралельно проводиться робота з клонової селекції. Потомство оригінальних рослин – елітний посадковий матеріал служить для закладки маточників супереліти та еліти в розсадницьких господарствах, які передають матеріал першої репродукції в господарства, що спеціалізуються на вирощуванні сільськогосподарської культури з метою одержання товарної продукції

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ ДО ЗАЛІКУ

1. Предмет і завдання біотехнології рослин.
 2. Історія розвитку біотехнології. Зв'язок біотехнології з іншими біологічними та сільськогосподарськими дисциплінами.
 3. Значення біотехнології для рослинництва.
 4. Коротка характеристика клітинних технологій для одержання генетичного різноманіття для селекції.
 5. Коротка характеристика клітинних технологій для полегшення та прискорення селекційного процесу.
 6. Коротка характеристика клітинних технологій для одержання біологічно активних речовин.
 7. Калюсогенез як основа створення клітинних культур.
 8. Дедиференціювання та калюсоутворення *in vitro*.
 9. Методика одержання калюсних культур.
 10. Сомаклональна варіабельність.
 11. Методи клітинної селекції.
 12. Особливості індукованого мутагенезу *in vitro*.
 13. Тотипотентність рослинних клітин.
 14. Основні механізми регенерації рослин.
 15. Типи вторинної диференціації та морфогенезу.
 16. Індукція морфогенезу за допомогою фітогормонів.
- Отримання рослин-регенерантів.
17. Завдання та переваги клонального мікророзмноження.
 18. Типи та основні етапи клонального мікророзмноження.
 19. Одержання безвірусного садивного матеріалу.
 20. Методи кріозберігання. Банки генетичних ресурсів.
 21. Культура ізольованих зародків *in vitro*, її значення для віддаленої гібридизації рослин. Методика ізолювання і культивування зародків.
 22. Методика запліднення *in vitro* у рослин.
 23. Експериментальна гаплоїдія. Поняття, методика, значення для селекції.
 24. Андрогенез як спосіб отримання гаплоїдів у культурі *in vitro*.
 25. Гіногенез як спосіб отримання гаплоїдів у культурі *in vitro*.
 26. Регенерація та особливості гаплоїдних рослин у культурі *in vitro*. Диплоїдизація гаплоїдів.
 27. Культура клітинних суспензій. Способи одержання і культивування клітинних суспензій.

28. Культура клітин як продуцент вторинних сполук.
29. Основні процеси культивування клітин як біопродуцентів.
30. Виробництво рекомбінантних фармацевтичних білків трансгенними рослинами – «молекулярне фермерство».
31. Одноклітинне клонування і напрями його застосування. Методи культури няньок і плейтинга. Селекція одноклітинних клонів.
32. Одержання протопластів. Культивування протопластів.
33. Регенерація рослин з протопластів.
34. Соматична гібридизація.
35. Типи соматичних гібридів та їх характеристика.
36. Аналіз соматичних гібридів.
37. Практичне застосування соматичної гібридизації.
38. Молекулярні основи спадковості. Транскрипція генів еукаріотів. Гени рослин.
39. Плазмиди. Способи перенесення генів у реципієнтні клітини.
40. Ідентифікація рекомбінантних клонів.
41. Експресія трансформованих генів і способи її оптимізації.
42. Стан та перспективи генно-інженерних досліджень у рослинництві.
43. Методи імунодіагностики. Молекулярно-генетичні маркери.
44. Значення та масштаби поширення в світі генетично модифікованих рослин.
45. Основні напрями сучасних генно-інженерних досліджень.
46. Назвати основні види сільськогосподарських культур у яких одержані позитивні результати (вказати які) з використанням методів генетичної інженерії.
47. Проблеми біобезпеки при використанні генетично модифікованих рослин.
48. Приміщення та обладнання біотехнологічної лабораторії.
49. Посуд, інструменти, матеріали, що використовуються для робіт з біотехнології рослин. Особливості їх стерилізації.
50. Умови стерильності операційної кімнати (боксу) біотехнологічної лабораторії. Підготовка персоналу до роботи в операційній кімнаті.
51. Основні компоненти живильних середовищ для культивування рослинних експлантів.
52. Макро- та мікросолі, що входять до складу живильних середовищ для культивування тканин рослин, їх значення в мінеральному живленні рослинного організму.

53. Вітаміни, що входять до складу живильних середовищ для культивування тканин рослин, їх значення в життєдіяльності рослинного організму.

54. Вуглеводи та джерела амінокислот, що входять до складу живильних середовищ для культивування тканин рослин, їх значення для росту рослинних експлантів.

55. Класифікація регуляторів росту рослин, їх роль у рослинному організмі.

56. Роль гормонів у регулюванні морфогенезу в культурі *in vitro*.

57. Основні прописи живильних середовищ для культивування тканин рослин.

58. Послідовність приготування живильного середовища.

59. Стерилізація рослинного матеріалу: хімічні речовини, що застосовуються для стерилізації, їх концентрації, методика стерилізації.

60. Методичні прийоми введення тканин рослин у культуру *in vitro*.

61. Умови культивування рослинних тканин в умовах *in vitro*.

62. Вплив складу живильного середовища і його кислотності на ріст культур клітин, тканин та органів рослин *in vitro*.

63. Вплив температури, відносної вологості повітря, інтенсивності освітлення та фотоперіоду на ріст культур клітин, тканин та органів рослин *in vitro*.

64. Перенесення калусу на свіже живильне середовище. Клонування калусної тканини.

65. Візуальний аналіз калусних культур. Цитологічний аналіз калуса.

ВИМОГИ ДО ВИКОНАННЯ КОНТРОЛЬНОЇ РОБОТИ

1. Контрольна робота передбачає виконання п'яти завдань з різних розділів курсу. Здобувачі у контрольній роботі висвітлюють ті питання, що відповідають номеру залікової книжки (двом останнім цифрам). Номери питань контрольної роботи визначають за місцем перетину передостанньої й останньої цифр шифру в таблиці.

2. Перед написанням контрольної роботи необхідно вивчити тему за основним підручником та додатковою літературою, скласти план відповіді на питання.

3. Перед відповіддю на кожне питання слід вказати номер та точне формулювання питання.

4. Відповіді мають бути конкретними, по суті поставленого питання. Основні терміни та поняття слід виділити.

5. Відповіді на запитання бажано ілюструвати таблицями, схемами, діаграмами, рисунками.

6. Не слід обтяжувати контрольну роботу інформацією, що не має прямого відношення до поставленого питання.

7. Наприкінці роботи подається використана література (автор, назва, видавництво, рік видання, кількість сторінок).

8. Робота підписується і ставиться дата виконання.

9. Виконана робота надсилається до університету для перевірки за місяць до початку сесії. Контрольну роботу рецензує викладач. Остаточно робота оцінюється після співбесіди в період сесії. Контрольна робота, оцінена "незадовільно", повертається на повторне виконання. Здобувач, який не виконав контрольної роботи, до складання заліку не допускається.

ПИТАННЯ ДО ВИКОНАННЯ КОНТРОЛЬНОЇ РОБОТИ

1. Предмет і завдання біотехнології рослин.
2. Історія розвитку біотехнології.
3. Зв'язок біотехнології з іншими біологічними та сільськогосподарськими дисциплінами.
4. Основні напрями досліджень з біотехнології рослин: теоретичні і прикладні аспекти.
5. Методи біотехнології та основні результати в підвищенні продуктивності рослин.
6. Значення біотехнології для рослинництва.
7. Методологічні основи організації роботи біотехнологічної лабораторії.
8. Коротка характеристика клітинних технологій для одержання генетичного різноманіття для селекції: культура калусної тканини, клітинна селекція, мутагенез *in vitro*.
9. Коротка характеристика клітинних технологій для полегшення та прискорення селекційного процесу: клональне мікророзмноження, культура ізольованих зародків, запліднення *in vitro*, експериментальна гаплоїдія, криозбереження рослинного матеріалу.
10. Коротка характеристика клітинних технологій для одержання біологічно активних речовин.
11. Мінливість генома в онтогенезі.
12. Мінливість генома в процесі дедиференціювання та калюсоутворення *in vitro*.
13. Мінливість росту та мітотичного режиму в умовах *in vitro*.
14. Калюсогенез як основа створення клітинних культур.
15. Дедиференціювання та калюсоутворення *in vitro*.
16. Методика одержання калюсних культур.
17. Сомаклональна варіабельність.
18. Методи клітинної селекції.
19. Особливості індукованого мутагенезу *in vitro*.
20. Тотипотентність рослинних клітин.
21. Регулятори росту і розвитку рослин, їх використання у біотехнологіях та інтенсивних технологіях вирощування сільськогосподарських рослин.
22. Основні механізми регенерації рослин.
23. Типи вторинної диференціації та морфогенезу.

24. Індукція морфогенезу за допомогою фітогормонів.
25. Отримання рослин-регенерантів з калюсної культури.
26. Завдання та переваги клонального мікророзмноження.
27. Типи та основні етапи клонального мікророзмноження.
28. Метод культури ізольованих меристем для клонального мікророзмноження рослин. Метод активації пазушних меристем. Значення методів і досягнення.
29. Метод утворення адвентивних пагонів з тканин експланту для клонального мікророзмноження рослин. Особливості методу і напрями використання.
30. Способи одержання безвірусного садивного матеріалу.
31. Практичні результати з одержання безвірусного садивного матеріалу.
32. Методи кріозберігання.
33. Колекції та кріобанки генетичних ресурсів рослин.
34. Культура ізольованих зародків *in vitro*, її значення для віддаленої гібридизації рослин. Методика ізолювання і культивування зародків.
35. Методика запліднення *in vitro* у рослин.
36. Експериментальна гаплоїдія. Поняття, методика, значення для селекції.
37. Андрогагенез як спосіб отримання гаплоїдів у культурі *in vitro*.
38. Гіногагенез як спосіб отримання гаплоїдів у культурі *in vitro*.
39. Регенерація та особливості гаплоїдних рослин у культурі *in vitro*. Диплоїдизація гаплоїдів.
40. Культура клітинних суспензій. Способи одержання і культивування клітинних суспензій.
41. Культура клітин як продуцент вторинних сполук.
42. Основні процеси культивування клітин як біопродуцентів.
43. Виробництво рекомбінантних фармацевтичних білків трансгенними рослинами – «молекулярне фермерство».
44. Одноклітинне клонування і напрями його застосування. Методи культури няньок й плейтинга. Селекція одноклітинних клонів.
45. Цитологічні і цитогенетичні дослідження культури клітин і тканин.
46. Типи соматичних гібридів, їх характеристика, аналіз та практичне застосування.

47. Методи одержання протопластів.
48. Методика культивування протопластів.
49. Регенерація рослин з протопластів.
50. Соматична гібридизація. Методи злиття протопластів.
51. Типи соматичних гібридів та їх характеристика.
52. Аналіз соматичних гібридів.
53. Практичні досягнення в області соматичної гібридизації.
54. Молекулярні основи спадковості. Транскрипція генів еукаріотів. Гени рослин.
55. Структура і організація функціонування геному. Структура ДНК і РНК та їх функції.
56. Предмет і основні завдання генетичної інженерії рослин. Практичне використання генетичної інженерії.
57. Проблеми, досягнення і перспективи генетичної інженерії сільськогосподарських рослин.
58. Основні етапи робіт з генної інженерії.
59. Поняття і принцип дії рестриктаз, лігаз та векторів.
60. Методи одержання і способи перенесення чужорідних генів у реципієнтні клітини.
61. Принцип роботи векторних систем, за допомогою яких вводяться гени в рослинні клітини.
62. Уведення чужорідних генів у рослину з допомогою Ті-плазмід *Agrobacterium tumefaciens*.
63. Природні вектори для генетичної трансформації клітин вищих рослин. Механізм їх дії.
64. Методи прямого перенесення генів у геном рослин. Принцип роботи методів.
65. Ідентифікація трансформованих клітин.
66. Експресія трансформованих генів і способи її оптимізації.
67. Стан та перспективи генно-інженерних досліджень у рослинництві.
68. ДНК-технології в генетичній інженерії.
69. Методи імунодіагностики. Молекулярно-генетичні маркери.
70. Значення та масштаби поширення в світі генетично модифікованих рослин.
71. Основні напрями сучасних генно-інженерних досліджень.
72. Назвати основні види сільськогосподарських культур у яких одержані позитивні результати (вказати які) з використанням методів генетичної інженерії.

73. Проблеми біобезпеки при використанні генетично модифікованих рослин.

74. Приміщення та обладнання біотехнологічної лабораторії.

75. Посуд, інструменти, матеріали, що використовуються для робіт з біотехнології рослин. Особливості стерилізації.

76. Умови стерильності операційної кімнати (боксу) біотехнологічної лабораторії. Підготовка персоналу до роботи в операційній кімнаті.

77. Основні компоненти живильних середовищ для культивування рослинних експлантів.

78. Макро- та мікросолі, що входять до складу живильних середовищ для культивування тканин рослин, їх значення в мінеральному живленні рослинного організму.

79. Вітаміни, що входять до складу живильних середовищ для культивування тканин рослин, їх значення в життєдіяльності рослинного організму.

80. Вуглеводи та джерела амінокислот, що входять до складу живильних середовищ для культивування тканин рослин, їх значення для росту рослинних експлантів.

81. Класифікація регуляторів росту рослин, їх роль у рослинному організмі.

82. Роль гормонів у регулюванні морфогенезу в культурі *in vitro*.

83. Основні прописи живильних середовищ для культивування тканин рослин.

84. Послідовність приготування живильного середовища.

85. Стерилізація рослинного матеріалу: хімічні речовини, що застосовуються для стерилізації, їх концентрації, методика стерилізації.

86. Методичні прийоми введення тканин рослин у культуру *in vitro*.

87. Умови культивування рослинних тканин в умовах *in vitro*.

88. Вплив складу живильного середовища і його кислотності на ріст культур клітин, тканин та органів рослин *in vitro*.

89. Вплив температури, відносної вологості повітря, інтенсивності освітлення та фотоперіоду на ріст культур клітин, тканин та органів рослин *in vitro*.

90. Перенесення калуса на свіже живильне середовище. Клонування калусної тканини. Візуальний аналіз калусних культур. Цитологічний аналіз калюса.

СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

Базова література

1. Базалій В. В., Зінченко О. І., Лавриненко Ю. О. Рослинництво : підручник. Херсон : Олді+, 2025. 520 с.
2. Бирта Г., Бургу Ю. Генно-модифіковані організми. За і проти. Київ : Центр навчальної літератури, 2019. 128 с.
3. Біотехнологія та біоінженерія. Частина 1. Основи біотехнології рекомендації до виконання лабораторних робіт : навчальний посібник / уклад. В. В. Мотроненко, Т. М. Луценко, Л. М. Дронько. Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2022. 82 с. URL: <https://ela.kpi.ua/server/api/core/bitstreams/b000bb79-fcd3-4dc3-b4c3-be8f0f9d9b83/content>
4. Каленська С. М., Мокрієнко В. А., Антал Т. В. Рослинництво : навчальний посібник. Київ : Прінтеко, 2024. 562 с. URL: <https://dglip.nubip.edu.ua/bitstreams/dceefb79-169e-4205-b6e2-3157fd9bc4be/download>
5. Кляченко О. Л., Коломієць Ю. В., Янсе Л. А., Постоєнко В. О. Екологічна біотехнологія та біоінженерія: підручник. Частина 1: Біоінженерія. Київ: Аграрна наука, 2020. 136 с. URL: https://drive.google.com/file/d/1Unfw7LjRKegIyy1c_55MJ22nORus7pz/view
6. Кляченко О.Л., Коломієць Ю.В., Янсе Л.А., Постоєнко В.О. Екологічна біотехнологія та біоінженерія. Ч.2. Клітинні технології : підручник. Київ : Аграрна наука, 2021. 300 с.
7. Мацкевич В. В., Подгаєцький А. А., Філіпова Л. М. Мікроклональне розмноження окремих видів рослин (протоколи технологій) : науково-практичний посібник. Біла Церква: БНАУ, 2019. 84 с.
8. Основи біотехнології у рослинництві : метод. реком. для виконання практич. робіт здобувачами першого (бакалаврського) рівня вищої освіти ОПІ "Агрономія" спеціальності 201 "Агрономія" денної форми здобуття вищої освіти / уклад. Т. М. Манушкіна. Миколаїв : МНАУ, 2023. 43 с.
9. Основи біотехнології у рослинництві : метод. реком. для виконання практич. робіт здобувачами першого (бакалаврського) рівня вищої освіти ОПІ "Агрономія" спеціальності 201 "Агрономія" денної

форми здобуття вищої освіти / уклад. Т. М. Манушкіна. Миколаїв : МНАУ, 2023. 37 с. URL: <https://dspace.mnau.edu.ua/jspui/handle/123456789/14076>

10.Петриченко В. Ф., Лихочвор В. В. Рослинництво. Нові технології вирощування польових культур : підручник. 5-те вид., виправ., допов. Львів : НВФ "Українські технології", 2020. 806 с.

11.Розмноження та оздоровлення насіннєвого матеріалу картоплі : навчальний посібник / Подгаєцький А. А. та ін. Суми : ПВКФ Видавництво «МакДен», 2019. 164 с.

12.Словник термінів із селекції, біотехнології та насінництва польових культур / Б. В. Дзюбецький та ін. Київ : Агрона наука, 2021. 160 с.

13.Трохимчук І. М., Плюта Н. В., Логвиненко І. П. Біотехнологія з основами екології : навчальний посібник. Київ : Кондор, 2024. 304 с.

14.An Introduction to Molecular Biotechnology: Fundamentals, Methods and Applications 2nd Edition. Michael Wink (Editor). Wiley-Blackwell. 2013. 636 с.

15.Glick B.R., Pasternak J.J., Patten Ch.L. Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA. ASM Press, 2010. 1000 с.

Допоміжна література

1. Пузік В. К. , Попов В. М., Сергєєв В. В. Атлас з біотехнології рослин : навч. посіб. Харків : Харк. нац. аграр. унів. ім. В. В. Докучаєва, 2009. 28 с.

2. Дубровна О. В., Чугункова Т. В., Бавол А. В., Лялько І. І. Біотехнологічні та цитогенетичні основи створення рослин, стійких до стресів. Київ : Логос, 2012. 428 с.

3. Дубровна О. В., Моргун Б. В., Бавол А. В. Біотехнології пшениці: клітинна селекція та генетична інженерія. Київ : Логос, 2014. 375 с.

4. Манушкіна Т. М. Біотехнології клонального мікророзмноження ефіроолійних рослин родини Lamiaceae Lindl. in vitro. *Вісник аграрної науки Причорномор'я*. 2017. Вип. 3 (95). С. 121-128.

5. Манушкіна Т. М., Задорожній Ю. В. Біотехнології клонального мікророзмноження ефіроолійних рослин. *Хімія, біотехнологія, екологія та освіта* : матеріали VII міжнародної

науково-практичної інтернет-конференції, (м. Полтава, 17-18 травня 2023 року). Полтава, 2023. С. 97-99.

6. Пат. 136225 Україна, МПК А01В 79/00 (2019.01). Спосіб клонального мікророзмноження лаванди вузьколистої в культурі *in vitro* / Т. М. Манушкіна ; Миколаївський національний аграрний університет. № u2019 01855 ; заявл. 25.02.2019 ; опубл. 12.08.2019, Бюл. № 15.

7. Kang M. Quantitative Genetics, Genomics and Plant Breeding. Cab Intl. 2020. 416 с.

8. Srivastava D. K., Thakur A.K., Kumar P. Agricultural Biotechnology: Latest Research and Trends. Springer. 2022. 741 с.

9. Harvey L., Berk A., Kaiser C. Molecular Cell Biology, Ninth Edition. Macmillan Learning. 2021. 3700 с.

10. Yadav A.N., Singh J., Singh C., Yadav N.. Current Trends in Microbial Biotechnology for Sustainable Agriculture. Springer. 2020. 572 с.

11. Chandran S., George K.W. DNA Cloning and Assembly: Methods and Protocols. Springer US; Humana. 2020. 334 с.

12. Manushkina, T., Kachanova, T., Samoilenko, M., & Petrova, O. (2022). Clonal micropropagation *in vitro* of essential oil plants of the family Lamiaceae Lindl.. Ukrainian Black Sea Region Agrarian Science, 26(4), 51-61. [https://doi.org/10.56407/2313-092X/2022-26\(4\)-5](https://doi.org/10.56407/2313-092X/2022-26(4)-5).

13. Manushkina T.M., Kovalenko O.A., Khomut V.P., Kolomiets N.P. Clonal micropropagation of paulownia *in vitro*. Аграрні інновації. 2023. № 17. 173-177.

Інформаційні ресурси

1. Genebank Standards for Plant Genetic Resources for Food and Agriculture = Стандарти генних банків для генетичних ресурсів рослин для виробництва продовольства і ведення сільського господарства. URL: <https://www.fao.org/4/i3704e/i3704e.pdf>

Законодавчо-нормативні акти

1. Про біологічну безпеку України : Рішення Ради національної безпеки і оборони України від 27.02.2009 ; станом на 15 квітня 2009 р. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/n0003525-09#Text>

2. Про державну систему біобезпеки при створенні, випробуванні, транспортуванні та використанні генетично модифікованих організмів : Закон України від 31.05.2007 № 1103-V ; станом на 16 травня 2024 р. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1103-16#Text>

3. Про охорону навколишнього природного середовища : Закон України від 25.06.1991 № 1264-XII ; станом на 15 листопада 2024 р. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1264-12#Text>.

Номери питань контрольної роботи

Передостан- ня цифра шифру	Остання цифра шифру									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	1, 27, 49,54,90	8, 20, 46, 65, 82	3,28,45, 60,82	4,14,37, 57,89	16,52,67, 79,83	5,23,38, 77,86	1,12,49, 59,87	9,22,30, 72, 80	17,36,48, 54, 82	22,43,49, 64,83
1	2,44,50, 55,74	9,25,47, 66,83	16,29,36, 58,73	8,15,38, 58,80	17,53,68, 80,87	6,20,39, 78,87	2,15,50, 60,88	10,19,31, 73,82	5,18,37, 55,83	4,23,44, 65,84
2	3,45,51, 56,75	12,22,48, 67,84	8,30,47, 52,84	1,16,39, 59,81	18,27,35, 69,90	10,40,59, 78,82	3,13,51, 61,90	11,24,32, 74,88	19,38,43, 56,84	2,24,45, 66,85
3	4,28,52, 57,76	6,23,49, 68,86	3,31,48, 63,85	2,14,40, 60,82	19,28,39, 70,81	11,41,60, 79,83	4,14,52, 62,86	12,33,45, 75,81	3,20,39, 65,83	1,25,46, 67,86
4	5,29,53, 59,77	4,24,50, 69,85	12,32,69, 74,86	3,18,41, 61,83	20,29,40, 71,80	23,31,42, 64,81	7,21,53, 63,85	13,34,40, 67, 72	2,21,40, 58,86	5,26,68, 77,83
5	6,30,34, 60,78	13,25,51, 75,90	2,33,59, 70,87	4,13,42, 62,76	21,30,41, 72,88	2,18,43, 54, 82	8,11,29, 64,84	14,35,38, 77,83	15,24,41, 59,87	16,48,50, 69,88
6	7,31,35, 61,79	4,26,52, 71,87	15,34,49, 60, 89	5,26,43, 63,84	22,31,42, 73,83	12,19, 44,55,79,	23,45,55, 69,87	15,39,46, 62,70	42,47,60, 68,79	4,8,49, 70, 90
7	8,32,38, 62,80	2,17,53, 72,88	1,35,54, 76,90	6,8,44, 64, 85	23,32,40, 74,84	24,33,50, 56,84	4,25,34, 66, 82	8,26,35, 79,81	1,27,35, 61,90	9,37,41, 63,81
8	9,33,39, 63,81	8,27,43, 69,81	16,36,55, 67,75	7,11,45, 65,86	2,8,46, 75,85	9,21,47, 57,88	10,20,48, 70, 86	2,14,29, 59,76	12,49,50, 62,81	2,13,51, 72,84
9	10,34,40, 49,64	11,35,41, 74,88	12,36,42, 56,88	13,37,48, 66,87	14,38,49, 76,89	15,39,50, 58,86	16,21,40, 51, 71	17,41,52, 63,75	18,42,53, 63,82	19,27,43, 73,87

Навчальне видання

ОСНОВИ БІОТЕХНОЛОГІЇ В РОСЛИННИЦТВІ

Методичні рекомендації

Укладач: **Манушкіна** Тетяна Миколаївна

Формат 60x84 1/16. Ум. друк. арк. 2,0.

Тираж 20 прим. Зам. № ____

Надруковано у видавничому відділі
Миколаївського національного аграрного університету
54020, м. Миколаїв, вул. Георгія Гонгадзе, 9

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4490 від 20.02.2013 р.