

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ
АЛТАЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
ИЦ «ПРОМБИОТЕХ»

Л.П. Хлебова, Е.С. Яценко, Н.Ю. Сперанская

**ПРАКТИКУМ ПО БИОТЕХНОЛОГИИ.
КУЛЬТУРА КЛЕТОК, ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ**

Учебное пособие



Барнаул

Издательство
Алтайского государственного
университета
2016

УДК 62:57 (076.5)

ББК 30.16я73-5

X 554

Рецензенты:

доктор биологических наук **Д.А. Дурникин**

доктор сельскохозяйственных наук, профессор **Н.А. Чернышева**

X 554 Хлебова, Л.П.

Практикум по биотехнологии. Культура клеток, тканей и органов [Текст] : учебное пособие / Л.П. Хлебова, Е.С. Яценко, Н.Ю. Сперанская. – Барнаул : Изд-во Алт. ун-та, 2016. – 137 с.

ISBN 978-5-7904-2138-9

Пособие подготовлено сотрудниками ИЦ «Промбиотех» и Биологического факультета АлтГУ в рамках Стратегической программы развития инжинирингового центра для выполнения задач по оказанию образовательных услуг.

Предназначено для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлениям подготовки Биология, профиль Биотехнология; магистрантов и аспирантов, специализирующихся в области фитохимии и биотехнологии, сельскохозяйственной, медицинской и экологической биотехнологии. Может представлять интерес при проведении научно-исследовательской работы по различным направлениям использования методов культуры растительных клеток и тканей, а также при разработке новых специализированных образовательных программ (для разных уровней образования) в области микробиологии, промышленной и сельскохозяйственной биотехнологии.

УДК 62:57 (076.5)

ББК 30.16я73-5

ISBN 978-5-7904-2138-9

© Хлебова Л.П., Яценко Е.С.,
Сперанская Н.Ю., 2016

© Оформление. Издательство
Алтайского государственного
университета, 2016

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	6
ВВЕДЕНИЕ	7
МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПОДГОТОВКЕ К ЛАБОРАТОРНЫМ ЗАНЯТИЯМ И ИХ ВЫПОЛНЕНИЮ	10
Тема 1. ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ ПО БИОТЕХНОЛОГИИ РАСТЕНИЙ	13
Работа 1. Оборудование биотехнологической лаборатории и правила работы с ним	13
Работа 2. Подготовка биотехнологической лаборатории, оборудования и инструментов к работе с культурами	15
Работа 3. Организация работы в ламинарном боксе	18
Тема 2. ПОДГОТОВКА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ <i>IN VITRO</i> РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК И ТКАНЕЙ	22
Работа 4. Приготовление маточных растворов компонентов питательных сред для культивирования растительных эксплантов	25
Работа 5. Приготовление и стерилизация питательной среды Мурасиге-Скуга для культивирования изолированных клеток и тканей	29
Тема 3. СТЕРИЛИЗАЦИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО МАТЕРИАЛА	34
Работа 6. Подбор стерилизующего агента для растительных эксплантов	35
Работа 7. Получение стерильных проростков в культуре изолированных зародышей	38
Тема 4. КУЛЬТУРА КАЛЛУСНОЙ ТКАНИ	42
Работа 8. Получение первичного каллуса из узлов кущения асептических проростков пшеницы	46
Работа 9. Получение первичного каллуса из листьев асептических растений картофеля	47
Работа 10. Получение первичного каллуса из стебля асептических растений картофеля	49
Работа 11. Получение первичного каллуса из корней асептических проростков фасоли	50
Работа 12. Получение первичного каллуса из корнеплода моркови	53
Работа 13. Получение первичного каллуса из зрелых зародышей пшеницы	55

Работа 14. Пассирование каллусной ткани на свежую питательную среду	57
Работа 15. Субкультивирование каллуса и снятие ростовых характеристик каллусной ткани картофеля	59
Тема 5. ВТОРИЧНАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ И МОРФОГЕНЕЗ В КУЛЬТУРЕ КАЛЛУСНЫХ ТКАНЕЙ	63
Работа 16. Индукция стеблевого органогенеза в культуре каллусной ткани картофеля	63
Работа 17. Получение регенерантов в культуре каллусной ткани картофеля	65
Тема 6. СУСПЕНЗИОННАЯ КУЛЬТУРА	68
Работа 18. Получение и культивирование суспензии клеток на питательных средах различного гормонального состава	68
Работа 19. Подсчет плотности клеток в суспензионной культуре	71
Работа 20. Определение степени агрегированности и жизнеспособности клеток суспензионной культуры	73
Работа 21. Определение динамики роста суспензионной культуры	77
Работа 22. Субкультивирование суспензии	79
Работа 23. Получение индивидуальных клонов методом высева суспензии в твердую питательную среду	80
Тема 7. КУЛЬТУРА ИЗОЛИРОВАННЫХ ПРОТОПЛАСТОВ	85
Работа 24. Приготовление питательных сред, ферментных растворов и ферментация тканей	89
Работа 25. Выделение и очистка изолированных протопластов высших растений	25
Работа 26. Культивирование изолированных протопластов и регенерация растений	26
Тема 8. КУЛЬТУРА ГАПЛОИДНЫХ КЛЕТОК	95
Работа 27. Получение андрогенных гаплоидов в культуре изолированных пыльников пшеницы	96
Работа 28. Получение каллусов из пыльников плодовых культур	98
Работа 29. Получение растений-регенерантов из пыльцевых каллусов яблони и вишни	100
Тема 9. КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ РАСТЕНИЙ	103
Работа 30. Выделение и культивирование апикальных меристем земляники	105

Работа 31. Индукция корнеобразования при клональном микроразмножении земляники	108
Работа 32. Выделение и культивирование апикальных меристем картофеля	111
Работа 33. Клональное микроразмножение картофеля черенкованием побегов	114
Работа 34. Клональное микроразмножение огурца черенкованием побегов	116
Работа 35. Индукция адвентивных почек тканями листового экспланта фиалки	119
Работа 36. Микроразмножение бегонии путем прямой регенерации в культуре листовых эксплантов	122
Работа 37. Влияние размера листовой пластинки и происхождения фрагментов листа на микроразмножение бегонии путем прямой регенерации	125
СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ	129
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК	134
ПРИЛОЖЕНИЕ	136

Учебное издание

Хлебова Л.П., Яценко Е.С., Сперанская Н.Ю.

**ПРАКТИКУМ ПО БИОТЕХНОЛОГИИ.
КУЛЬТУРА КЛЕТОК, ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ**

Учебное пособие

Издается в авторской редакции

Оформление обложки: *Ю.В. Плетнева*

ЛР 020261 от 14.01.1997.

Подписано в печать 21.11.2016. Формат 60x84 / 16.

Бумага офсетная. Усл.-печ. л. 8,14.

Тираж 70 экз. Заказ № 266

Издательство Алтайского государственного университета

Типография Алтайского государственного университета:
656099 Барнаул, ул. Димитрова, 66