

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК

ІНСТИТУТ САДІВНИЦТВА

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор Інституту садівництва НААН

І.В. Гриник

2020 р.



МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ДО ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ

**БІОТЕХНОЛОГІЧНІ МЕТОДИ ДЛЯ РОЗМНОЖЕННЯ ПЛОДОВИХ І
ЯГІДНИХ КУЛЬТУР**

(за освітньо-науковим рівнем «Доктор філософії»
для аспірантів спеціальності 203 «Садівництво
і виноградарство»)

Укладачі: Удовиченко Катерина Миколаївна, канд. біол. наук,
Медведєва Тамара Василівна, канд. біол. наук

Схвалено на засіданні вченої ради протокол № 4 від 30 вересня 2020 р.

КИЇВ – 2020

Передмова

Навчальна дисципліна спрямована на отримання здобувачами вищої освіти ступеня доктора філософії системи знань з актуальних питань застосування біотехнологічних методів для розмноження плодових і ягідних культур, зокрема з розробки та удосконалення технологій мікроклонального розмноження, оздоровлення господарсько-цінних клонів від патогенів, вміння керувати процесами проліферації, ризогенезу та адаптації цих культур, розробкою і реалізацією заходів щодо забезпечення високої економічної ефективності цих процесів.

В результаті освоєння дисципліни аспіранти будуть підготовлені до самостійної роботи у виборі сортоспецифічних технологій мікроклонального розмноження плодових і ягідних культур для забезпечення високої продуктивності та якості продукції.

1. Мета навчальної дисципліни

Мета навчальної дисципліни «Біотехнологічні методи для розмноження плодових і ягідних культур» полягає у підвищенні якості підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії із спеціальності 203 «Садівництво і виноградарство», що передбачає формування концептуальних знань та їх реалізацію в технології виробництва високоякісного садивного матеріалу плодово-ягідних культур для створення високоефективних типів насаджень.

2. Завдання навчальної дисципліни

Завданням дисципліни є формування у аспірантів професійних знань з високоефективного виробництва садивного матеріалу плодово-ягідних культур, основних елементів біотехнологічної ланки їх вирощування.

Внаслідок вивчення навчальної дисципліни «Біотехнологічні методи для розмноження плодових і ягідних культур» здобувач ступеня доктора філософії повинен –

знати:

- історію розвитку робіт та наукові здобутки з мікроклонального розмноження рослин;
- принципи мікроклонального розмноження рослин;
- фактори, що впливають на процес клонального мікророзмноження рослин;
- особливості мікроклонального розмноження ягідних, плодових, горіхоплідних та декоративних культур.

- сучасні тенденції розвитку біотехнологічних методів розмноження рослин.

уміти:

- проводити комплексний аналіз наукових розробок за напрямом наукової роботи на основі чого формувати актуальність, мету, завдання і напрямки наукових досліджень;
- планувати схему проведення експерименту, спостережень та обліку даних;
- оцінювати фізіологічний стан материнської рослини та проводити відбір матеріалу для отримання асептичної культури;
- здійснювати оцінку впливу складових поживного середовища на морфогенез плодових і ягідних культур в умовах *in vitro* та *in vivo*;
- критично сприймати та аналізувати результати досліджень для обґрунтування положень дисертаційної роботи;
- застосовувати методи аналізу даних, комп'ютерні програми для статистичної обробки результатів досліджень;
- правильно оформити текст дисертаційної роботи, презентацію та наукову доповідь.

3. Теми та запитання до практичних занять.

Змістовий модуль 1. Теоретичні основи та техніка мікроклонального розмноження рослин

Практичне заняття №1

Тема. Організація лабораторії для мікроклонального розмноження.

Мета: Ознайомитися з принципами організації лабораторії для мікроклонального розмноження.

Розглянути такі питання:

1. Принципи організації приміщень лабораторії мікроклонального розмноження.
2. Необхідне обладнання, принципи роботи та техніка безпеки.
3. Способи стерилізації робочих приміщень, посуду та інструментів

Практичне заняття №2

Тема. Приготування маточних розчинів речовин для поживних середовищ.

Мета: Ознайомитися з принципами приготування розчинів речовин для поживних середовищ.

Розглянути такі питання:

1. Принципи приготування розчинів макро- і мікроелементів.
2. Принципи приготування розчинів вітамінів, амінокислот, регуляторів росту рослин.
3. Види розчинників для приготування розчинів складових поживних середовищ.

Практичне заняття №3

Тема. Приготування та стерилізація поживних середовищ

Мета: Ознайомитися з принципами приготування та стерилізації поживних середовищ.

Розглянути такі питання:

1. Приготування та зберігання маточних розчинів, поняття про концентрації.
2. Основні вимоги до кислотно-лужного балансу поживних середовищ.
3. Принципи стерилізації середовищ та їх складових.

Рекомендована література

Базова література

1. Калинин Ф.Л., Кушнир Г.П., Сарнацкая В.В. Технология микрклонального размножения растений. - К.: Наук. думка, 1992.- 232 с.
2. Бутенко Р. Г. Биология культивируемых клеток и биотехнологии растений. Москва: Наука, 1991. 236 с.
3. Бутенко Р.Г. Культура клеток растений и биотехнология. - М.: Наука, 1986.- 285 с.
4. Кушнір Г.П., Сарнацька В.В. Мікроклональне розмноження рослин К: Наук. думка, 2005. — 271 с.

Додаткова література

1. Мельничук М.Д., Новак Т.В., Кунах В.А. Біотехнологія рослин. – К.: ПоліграфКонсалтинг, 2003. – 520 с.
2. Мельничук М.Д., Новак Т.В., Левенко Б.О. Основи біотехнології рослин. – К.: ЗАТ “Ей-Бі-Сі”, 2000. –248 с.

3. Фізіологія рослин: підруч. для студ. вищ. навч. закл., що вивч. дисципліну "Фізіологія рослин" / М.М. Мусієнко. - 2-ге вид., випр. та допов. - К. : Фітосоціоцентр, 2001. - 391 с.
4. Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Метод культуры тканей в физиологии и биохимии растений. - К.: Наук. думка, 1980. - 488 с.
5. Рудишин С. Д. Основи біотехнології рослин. Вінниця, 1998. 272с.
6. Мусієнко М.М., Панюта О.О. Біотехнологія рослин. Навчальний посібник. – К.: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2005. – 114 с..
7. Веселов Д.С., Веселов С.Ю., Высоцкая Л.Б., Кудоярова Г.Р. Фархутдинов Р.Г. Гормоны растений: регуляция концентрации, связь с ростом и водным обменом. М.: Наука, 2007, 158 с.

Змістовий модуль 2. Принципи мікроклонального розмноження рослин

Практичне заняття №1

Тема. Методи детекції та ідентифікації патогенів плодових і ягідних культур. Імуноферментний аналіз. Полімеразна ланцюгова реакція.

Мета: Ознайомитися з принципами методів детекції та ідентифікації патогенів плодових і ягідних культур.

Розглянути такі питання:

1. Метод рослин-індикаторів та його значення.
2. Шляхи передачі вірусів рослин.
3. Базові засади лабораторної діагностики патогенів рослин.
4. Види імуноферментного аналізу для діагностики патогенів рослин.
5. Використання методу полімеразної ланцюгової реакції у діагностиці патогенів рослин.
6. Види ПЛР для ідентифікації різних типів патогенів.

Практичне заняття №2

Тема. Комбінування методу культури тканин з хемо- та термотерапією з метою оздоровлення рослин від внутрішньоклітинних патогенів

Мета: Ознайомити з основами застосування методу культури тканин в комбінуванні з хемо- та термотерапією для оздоровлення рослин від внутрішньоклітинних патогенів

Розглянути такі питання:

1. Види термотерапії для оздоровлення рослин від внутрішньоклітинних патогенів.
2. Типі віроцидів для оздоровлення рослин від внутрішньоклітинних патогенів.
3. Типові схеми застосування хемо- та термотерапії для оздоровлення рослин від внутрішньоклітинних патогенів.

Практичне заняття №3

Тема. Відбір та стерилізація експлантів різного типу для отримання асептичної культури плодових і ягідних культур

Мета: Ознайомити з основами відбору та стерилізації експлантів різного типу для отримання асептичної культури плодових і ягідних культур

Розглянути такі питання:

1. Типи експлантів для ініціації культури *in vitro*.
2. Основні види стерилізуючих агентів для отримання асептичної культури.
3. Типові схеми стерилізації експлантів рослин для ініціації культури *in vitro*.

Практичне заняття №4

Тема. Аналіз впливу генотипу, умов культивування та складових середовища на етапі проліферації на ріст і розвиток мікропагонів

Мета: Ознайомити з умовами культивування рослин в культурі *in vitro* на етапі проліферації.

Розглянути такі питання:

1. Вплив генотипу рослини на процес проліферації в культурі *in vitro*.
2. Вплив мінеральних складових поживного середовища на ріст і розвиток мікропагонів.
3. Вплив регуляторів росту в складі поживного середовища на ріст і розвиток мікропагонів.

Практичне заняття №5

Тема. Дослідження впливу концентрації мінерального складу середовища, вуглеводів та інших факторів на процес коренеутворення

Мета: Ознайомити з умовами культивування рослин в культурі *in vitro* на етапі ризогенезу.

Розглянути такі питання:

1. Вплив мінеральних складових поживного середовища на процес коренеутворення.
2. Вплив регуляторів росту в складі поживного середовища на процес коренеутворення.
3. Вплив фізичних факторів на процес коренеутворення.

Практичне заняття №6

Тема. Адаптація та акліматизація рослин до умов *in vivo*

Мета: Ознайомити з умовами адаптації та акліматизації рослин до умов *in vivo*.

Розглянути такі питання:

1. Вимоги до стану рослин при перенесенні в умови навколишнього середовища.
2. Фізичні фактори, що впливають на ефективність адаптації.
3. Організація приміщень для адаптації та дорощування рослин-регенерантів.

Рекомендована література

Базова література

1. Вірусологія. Навчальний посібник для лабораторних занять / В.П. Поліщук, І.Г. Будзанівська, Т.П. Шевченко, О.М. Андрійчук, Т.А. Компанець, О.А. Кондратюк, Г.В. Коротеєва, О.В. Молчанець, А.В. Харіна, О.В. Шевченко. – К.: ЦП «Компринт», 2017. – 242 с.
2. Вірусологія: підручник / С. М.Шамрай, Д.В. Леонт'єв. – Х.: Харківський національний педагогічний університет імені Г.С. Сковороди, 2019. – 244 с.
3. Бойко А.Л. Экология вирусов растений. – К.: Вища школа, 1990. – 167 с.
4. Гиббс А., Харрисон Б. Основы вирусологии растений. – М.: Мир, 1978. – С.429.
5. Гнутова Р.В. Серология и иммунохимия вирусов растений. – М.: Наука, 1993. – 301с.
6. Гнутова Р.В. Иммунологические исследования в фитовирусологии. – М.: Наука, 1985. – 183с. 5. Гнутова Р.В. Серология и иммунохимия вирусов

- Вирусология с основами иммунохимии. – Владивосток: Дальнаука, 1999. – 163с. 7.
7. Molecular methods for virus detection/ Ed. By Danny L. Wiedbrauk. – Academic Press. – 1995. – 350p. 5. Molecular biology of plant viruses/ Ed. by C.L.Mandahar. – Kluwer Academic Rublisher, USA. – 281p.
 8. Запольський Я.С. Застосування різних методів оздоровлення цінних сільськогосподарських культур від вірусних захворювань / Я.С. Запольський // Садівництво. – 2017. – Вип.72. – С.155-166.
 9. Медведєва Т.В. Проблеми акліматизації культивованих in vitro рослин // Фізіологія і біохімія культурних рослин.- 2008.- т.40.-№4.- С. 299-309.
 10. Panattoni A. Elimination of viruses in plants: twenty years of progress. Review / A. Panattoni, A. Luvisi, E. Triolo // Spanish Journal of Agricultural Research. – 2013. – № 11. – P. 173-188.

Додаткова література

1. Біотехнологія рослин / Сатарова Т.М. та ін. Дніпропетровськ: Адверта, 2016. 136 с.
2. EPPO Standards. PM 4/27(1) (Electronic resource) Pathogen-tested material of *Malus*, *Pyrus* and *Cydonia*. – Mode of access: <http://archives.eppo.int/EPPOStandards/certification.htm>
3. EPPO Standards. PM 4/29(1) (Electronic resource) Certification scheme for cherry. – Mode of access: <http://archives.eppo.int/EPPOStandards/certification.htm>
4. EPPO Standards. PM 4/30(1) (Electronic resource) Certification scheme for almond, apricot, peach and plum. – Mode of access: <http://archives.eppo.int/EPPOStandards/certification.htm>
5. EPPO Standards. PM 4/35(1) (Electronic resource) Soil test for virus–vector nematodes in the framework of EPPO Standard PM 4 Schemes for the production of healthy plants for planting of fruit crops, grapevine, *Populus* and *Salix*. – Mode of access: <http://archives.eppo.int/EPPOStandards/certification.htm>
6. Clark M.F. Characteristics of the microplate method of the enzyme – linked immunosorbent assay for the detection of plant virus/ M.F.Clark, A.N.Adams // J.Gen.Virol. – 1977. –№34(3). – P.475 – 483.
7. Про карантин рослин. Закон України від 30.06.1993 № 3348-XII / Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3348-12>.
8. Про насіння і садивний матеріал. Закон України від 26.12.2002 № 411-IV / Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/411-15>.

9. Медведєва Т.В., Васильєв Р.О., Тряпїцина Н.В. Оздоровлення підщепи Гїзела 6 від вірусу скручування листя черешні.// «Фактори експериментальної еволюції організмів». Збірник наукових праць. Київ-Логос. – 2011. - №10. – С. 477-481.
10. Дорошенко Н. П. Оздоровление винограда от хронических болезней методом водной терапии / Н. П. Дорошенко // Виноделие и виноградарство. – 2004. – № 6. – С. 24-26.
11. Cieřlińska M. Application of thermo- and chemotherapy in vitro for eliminating some viruses infecting Prunus sp. fruit trees / M. Cieřlińska // Journal of Fruit and Ornamental Plant Research. – 2007. – № 15. – P. 117-124.
12. Упадышев М. Т. Вирусные болезни и современные методы оздоровления плодовых и ягодных культур: автореф. диссертации на соискание ученой степени доктора сельскохозяйственных наук: спец. 06.01.07 «Защита растений» / М. Т. Упадышев. – Москва, 2011. – 20 с.
13. Тряпїцина Н.В. Біотехнологїчні основи отримання садивного матеріалу кісточкови та ягідних культур в Україні: дис....д-ра с.-г.наук:03.00.20 / Тряпїцина Н.В.; НУБіП.-К., 2016.- 47с.
14. Тряпїцина Н.В., Медведєва Т.В., Шевчук Н.В. Методи експрес-діагностики та основного тестування кісточкових культур на наявність прихованої вірусної інфекції. Навчально-методичне видання // Методичні вказівки до вивчення курсу «Прогресивні технології в розсадництві» студентами, які навчаються за освітньо-кваліфікаційною програмою магістрів зі спеціальності «плодоовочівництво і виноградарство» – К.: Видавничий центр НУБіП, 2015. – 44 с.
15. Тряпїцина Н.В., Медведєва Т.В., Супрун К.І. Мінімізація фітовірусологічних ризиків у насадженнях малини (*Rubus idaeus* L.)//Методичні рекомендації.–К.: Видавничий центр НУБіП, 2015. – 23с.
Тряпїцина Н.В., Медведєва Т.В., Удовиченко К.М. Сертифікація садивного матеріалу малини, ожини та їх гібридів. // Методичні рекомендації. – К. : Видавничий центр НУБіП, 2015. – 21 с.