

ВВЕДЕНИЕ

Современная биотехнология – это наука и отрасль производства, развивающаяся в трех основных направлениях:

- молекулярная биология и генетическая инженерия;
- микробиология и микробиологическая промышленность;
- культура клеток и тканей *in vitro*.

Клеточные технологии, основанные на культивировании *in vitro* органов, тканей, клеток и изолированных протопластов высших растений, могут облегчить и ускорить традиционный процесс создания новых сортов и видов. Они предлагают принципиально новые пути, такие как соматическая изменчивость, мутагенез на клеточном уровне, клеточная селекция, соматическая гибридизация для создания генетического разнообразия и отбора форм с нужными признаками. Кроме того, клеточные технологии эффективны в создании безвирусного материала вегетативно размножаемых растений.

Под клональным микроразмножением растений понимают бесполое размножение на искусственных питательных средах в условиях *in vitro*. Этот метод имеет следующие преимущества перед традиционными способами размножения растений:

- ◆ получение генетически однородного посадочного материала;
- ◆ получение безвирусных растений за счет использования меристемной культуры;
- ◆ высокий коэффициент размножения (например, из одного растения земляники можно получить в год 1 млн растений);
- ◆ сокращение продолжительности селекционного процесса;
- ◆ ускорение перехода растений от ювенильной к репродуктивной фазе развития;
- ◆ возможность проведения работ в течение года и экономия площадей, необходимых для выращивания посадочного материала;
- ◆ возможность размножать трудноукореняемые растения (например, розы, орхидеи, орехоплодные и хвойные растения);
- ◆ пробирочные растения легко транспортировать на любые расстояния.

Процесс клонального микроразмножения включает в себя четыре этапа:

1. выбор растения-донора и получение хорошо растущей стерильной культуры;
2. собственно микроразмножение;
3. укоренение микропобегов и при необходимости их депонирование при пониженных температурах;
4. адаптацию пробирочных растений к почвенным условиям теплицы или открытого грунта.

Существует несколько методов клонального микроразмножения растений:

- ◆ активация развития уже существующих в растении меристем (апекс стебля, пазушные и спящие почки и интеркалярные зоны стебля);
- ◆ активация возникновения адвентивных почек непосредственно тканями экспланта;

- ♦ индукция соматического эмбриогенеза;
- ♦ дифференциация адвентивных почек в первичной и пересадочной каллусной ткани.

В данном пособии представлены наиболее простые для освоения студентами биологических специальностей способы культивирования растений *in vitro*: метод апикальной меристемы; получение каллусов, суспензий и растений – регенерантов как на диплоидном, так и гаплоидном уровне.

По каждой теме предусмотрены: минимум теоретического материала, методика выполнения работы, перечень необходимого оборудования и реактивов.

ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В ЛАБОРАТОРИИ:

При проведении работ нужно соблюдать общие правила техники безопасности, выполнение которых обязательно для каждого работающего в лаборатории независимо от характера эксперимента:

1. Во время работы в лаборатории необходимо соблюдать чистоту, тишину, порядок. Посторонним лицам запрещено посещать работающих в лаборатории в стерильных условиях, во время эксперимента, отвлекать их.
2. К выполнению каждой работы могут приступать только студенты (сотрудники), прошедшие инструктаж по технике безопасности, что фиксируется в специальном журнале.
3. Студенты (сотрудники) должны работать в лаборатории в белом халате, чтобы избежать порчи одежды химическими реактивами. При выполнении работ в ламинарном боксе следует соблюдать условия стерильности (чистый халат, бахилы, маска, дезинфекция рук).
4. Рабочее место следует держать в чистоте. Нельзя загромождать его ненужными вещами.
5. Категорически запрещено пробовать какие-либо вещества на вкус.
6. При взвешивании реактивов нельзя насыпать химические вещества непосредственно на чашку весов.
7. При обращении со стеклянной химической посудой и приборами необходимо соблюдать меры предосторожности. Стеклянную посуду следует держать осторожно, не сжимая ее сильно пальцами. Мыть посуду из стекла ершиками или стеклянными палочками надо аккуратно, так как ими легко пробить дно или стенки сосудов, что может привести к травмам.
8. Всю посуду после работы с минеральными кислотами, щелочами и ядовитыми веществами следует сразу же тщательно вымыть под проточной водой.
9. Запрещено выливать в раковины остатки стерилизующих веществ и отработанные питательные среды.
10. При попадании кислоты (хромпика) или щелочи на кожу, нужно немедленно ее смыть водой и обработать пораженные участки нейтрализующим буфером.
11. Необходимо соблюдать меры предосторожности при работе со спиртовой горелкой: содержать ее в чистоте, заправлять спиртом вдали от открытых источников огня, не допускать перегрева резервуара, не оставлять зажженную спиртовку без присмотра.
12. Нагревание растворов и питательных сред необходимо проводить в стеклянной посуде на асбестовой сетке или на водяной бане.
13. При нагревании жидкостей и твердых тел в пробирках либо в колбах отверстие сосуда направлять в сторону от себя и соседей.
14. Работать с дистиллятором, стерилизатором (автоклавом) и другими электроприборами следует только по инструкции.
15. Работать в ламинарном боксе при включенной ультрафиолетовой лампе строго запрещено.
16. По окончании работы необходимо привести рабочее место в порядок, выключить газ, электроприборы, воду в лаборатории.

17. При возникновении пожара следует немедленно выключить газ, отключить электричество, очаг возгорания засыпать песком, накрыть плотной тканью или затушить с помощью огнетушителя.

18. При возникновении сильного возгорания немедленно покинуть помещение, сообщить в службу спасения (пожарную охрану), сообщить охране университета о пожаре.