

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор ІКБГІ НАН України,

Чл.-кор. НАН України



М.В.Кучук

5 червня 2019 р.

РОБОЧА ПРОГРАМА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

Культура клітин і тканин *in vitro*
як методологічна база біотехнології рослин

для здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії

галузь знань 09 «Біологія»

спеціальність 091 «Біологія

профілі підготовки «Біотехнологія», «Цитологія, клітинна біологія, гістологія»

Робоча програма навчальної дисципліни «Культура клітин і тканин *in vitro* як методологічна база біотехнології рослин» для здобувачів вищої освіти ступеня доктор філософії галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія» за профілями підготовки «Біотехнологія» та «Цитологія, клітинна біологія, гістологія».

4 червня 2019 року – 16 с.

Розробник:

Белокурова В.Б.,

вчений секретар ІКБГІ НАН України, к.б.н., с.н.с.


(підпис)

Робоча програма дисципліни «Культура клітин і тканин *in vitro* як методологічна база біотехнології рослин» схвалена на засіданні вченої ради ІКБГІ НАН України (протокол № 5 від 4 червня 2019 року) і являє собою модернізовану програму навчального курсу «Теоретичні основи та методи біотехнології рослин», затверджену вченою радою ІКБГІ НАН України (протокол № 5 від 23 травня 2016 року).

Робоча програма дисципліни «Культура клітин і тканин *in vitro* як методологічна база біотехнології рослин» розглянута та схвалена на засіданні відділу генетичної інженерії ІКБГІ НАН України.

Завідувач відділу чл.-кор. НАН України


(підпис)

М.В.Кучук

3 червня 2019 р.

ВСТУП

Навчальна дисципліна «Культура клітин і тканин *in vitro* як методологічна база біотехнології рослин» є складовою освітньо-наукової програми підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктор філософії галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія» за профілями підготовки «Біотехнологія» та «Цитологія, клітинна біологія, гістологія».

Дана дисципліна є обов'язковою навчальною дисципліною за **спеціальністю** 091 «Біологія».

Викладається на I курсі аспірантури **в обсязі – 60 годин (2 кредити ECTS)** зокрема: лекції – 30 годин, практичні заняття – 10 годин, семінари – 4 години, самостійна робота – 16 годин. У курсі передбачено 2 змістових модулів. Завершується дисципліна заліком.

Мета дисципліни – отримання базових знань щодо основних теоретичних та методологічних підходів культивування рослинних клітин, тканин та органів *in vitro* та їхнього застосування в сучасній біотехнології рослин.

Завдання –

1. познайомити з основними принципами і методами культивування рослинних клітин, тканин та органів в асептичних умовах;
2. дати уявлення про використання методів культури *in vitro* поряд з досягненнями в галузі фізіології рослин, загальної та молекулярної генетики як теоретичної та практичної основи розвитку основних напрямів сучасної біотехнології рослин;
3. сформулювати уявлення використання досягнень сучасної біотехнології рослин для збереження довкілля та рослинного біорізноманіття, покращення існуючих сільськогосподарських культур, отримання фармакологічно активних сполук тощо.

В результаті вивчення навчальної дисципліни аспірант повинен

знати:

- основні поняття, визначення, термінологію в галузі культури *in vitro* та біотехнології рослин;
- основні принципи роботи з культивованим *in vitro* рослинним матеріалом;
- основні типи асептичних культур; можливості їхнього використання для проведення фундаментальних досліджень та застосування у практичній діяльності;
- основні напрями сучасної біотехнології рослин та їх значення в практичній діяльності людини.

вміти:

- користуватись основним обладнанням, яке застосовується при роботі в лабораторії культури тканин;
- набути навичок самостійної роботи в асептичних умовах *in vitro*;

- проводити інформаційний пошук та самостійно вивчати наукову літературу в галузі культури *in vitro* та біотехнології рослин, аналізувати та інтерпретувати опубліковані результати;
- вести наукові дискусії з питань методології культури *in vitro*, її застосування в сучасній біотехнології рослин, значення та ролі біотехнології в господарській діяльності людини.

володіти: навичками самостійної роботи з рослинним матеріалом в асептичних умовах *in vitro*.

Місце дисципліни.

Навчальна дисципліна «Теоретичні основи та методи біотехнології рослин» є обов'язковою навчальною дисципліною програми підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктор філософії галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія» за профілями підготовки «Біотехнологія» та «Цитологія, клітинна біологія, гістологія».

Дисципліна є базовою; висвітлює загальні теоретичні принципи і практичні підходи використання методології культивування рослинного матеріалу *in vitro* на різних рівнях організації (клітини, тканини, цілісний організм); методологію культивування різних типів асептичних культур та адекватного їх обрання стосовно вирішення конкретних загальнонаукових та практичних завдань; основні завдання, напрями та досягнення сучасної біотехнології рослин.

Зв'язок з іншими дисциплінами.

Навчальна дисципліна «Теоретичні основи та методи біотехнології рослин» є базовою для засвоєння знань та вмінь у системі професійної підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія за профілями підготовки «Біотехнологія» та «Цитологія, клітинна біологія, гістологія», зокрема таких як «Клітинна та генетична інженерія рослин», «Лікарські рослини в біотехнологічних дослідженнях», «Біотехнологічні засади добору та використання живих організмів».

ПРОГРАМА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

Змістовий модуль 1. Основні теоретичні та методологічні принципи культивування рослинних клітин і тканин *in vitro*.

Тема 1. Поняття, історія розвитку методології культури *in vitro* та основні напрями сучасної біотехнології рослин на її основі. (3 години)

Розвиток методів культури *in vitro* в історичному аспекті. Основні типи рослинних асептичних культур. Поняття про культури дедиференційованих клітин та культури органів рослин; їхні основні характеристики. Поняття біотехнології рослин, її ролі та місця в сфері наукових досліджень та в господарській діяльності людини. Основні напрями біотехнології рослин із застосуванням методології культивування *in vitro*.

Тема 2. Техніка культивування *in vitro*. Живильні середовища та їхні компоненти. Фітогормони та регулятори росту рослин. **(8 годин)**

Основні вимоги до обладнання лабораторії для роботи з культурами *in vitro*. Матеріали, реактиви, інвентар. Способи стерилізації лабораторного посуду, інструментів, живильних середовищ. Основні компоненти живильних середовищ для вирощування рослинного матеріалу. Функції мінеральних елементів, що входять до складу середовищ. Роль вітамінів, цукрів, біологічних екстрактів. Основні типи фітогормонів. Поняття регуляторів росту рослин. Ауксини, цитокініни, гібереліни, абсцизова кислота, етилен. Жасмонати, брасиностероїди, поліаміни, саліцилова кислота. Принципи підбору складу живильних середовищ. Фізичні умови культивування *in vitro*.

Тема 3. Тотипотентність рослинних клітин. Системи культивування рослинного матеріалу *in vitro*. **(7 годин)**

Поняття тотипотентності рослинних клітин, її експериментальні докази. Введення рослинного матеріалу в асептичну культуру. Калюсні та суспензійні культури. Особливості росту популяції дедиференційованих клітин. Методи оцінки життєздатності та темпів росту культивованих клітин. Методи синхронізації клітинних культур. Способи культивування рослинного матеріалу в рідкому середовищі. Біореактори. Культура ізольованих меристем. Культура генеративних тканин рослин. Культура ізольованих коренів. Імобілізовані клітини.

Тема 4. Диференціація та дедиференціація *in vitro*. Методи регенерації рослин. **(3 години)**

Дедиференціація клітин *in vitro*, її основні ознаки. Васкулярна диференціація. Способи детекції диференціації. Експериментальні системи для вивчення диференціації *in vitro* та їхні особливості. Органогенез і соматичний ембріогенез; їхні спільні та відмінні риси та можливості застосування. Пряма і непряма регенерація. Основні стадії соматичного ембріогенезу.

Тема 5. Стабільність і мінливість генотипів культивованих клітин. Сомаклональна мінливість. Індукований *in vitro* мутагенез. **(8 годин)**

Поняття генетичної та епігенетичної мінливості. Сомаклональна мінливість, її прояв на різних рівнях організації культивованого рослинного матеріалу. Фактори, що впливають на виникнення сомаклональної мінливості. Можливості керування рівнем мінливості культивованих клітин. Практичне використання сомаклональних варіантів. Клітинна селекція. Використання індукованого мутагенезу *in vitro*, його обмеження та переваги.

Змістовий модуль 2. Застосування методів культури *in vitro* в дослідженнях в галузі біотехнології рослин.

Тема 6. Мікроклональне розмноження рослин. **(5 годин)**

Поняття мікроклонального розмноження рослин. Основні стадії процесу мікроклонального розмноження та їхня характеристика. Методи індукції

множинних пагонів *in vitro*. Використання "штучного насіння". Переваги і обмеження мікроклонального розмноження рослин порівняно з традиційними методами вегетативного розмноження. Елімінація вірусів при мікроклональному розмноженні рослин. Термотерапія.

Тема 7. Використання методів культури *in vitro* для продукції біологічно активних речовин. (4 години)

Поняття вторинних метаболітів рослин, їх практичне застосування. Порівняльне значення використання культури *in vitro* як методу отримання біологічно активних речовин. Біосинтетична здатність клітинних культур; фактори, що впливають на продуктивність культури. Поняття біотрансформації. Селекція високопродуктивних клітинних ліній. Культури ізольованих та трансгенних коренів як біореактори. Приклади комерційного синтезу вторинних метаболітів з використанням біотехнологічних методів.

Тема 8. Культура ізольованих протопластів та соматична гібридизація рослин. (8 годин)

Поняття рослинного протопласту. Методи ізолювання протопластів (механічний та ферментативний; їхні обмеження та переваги). Основні стадії процесу виділення протопластів. Принципи формування живильних середовищ для культивування протопластів. Основні методи культивування протопластів рослин. Основні стадії розвитку протопластів та регенерації з них рослин. Поняття соматичної гібридизації рослин. Методи індукованого злиття протопластів. Клітинні продукти гібридизації. Симетричні та асиметричні гібриди, цибриди. Сегрегація генів після злиття протопластів. Успадкування цитоплазматичних генів при соматичній гібридизації. Методи селекції та аналізу соматичних гібридів. Практичні можливості застосування технології соматичної гібридизації.

Тема 9. Генетична трансформація рослин. (8 годин)

Поняття генетичної трансформації рослин та її ролі для фундаментальної науки і практичного використання. *Agrobacterium*-опосередкована та пряма генетична трансформація; їхні особливості та основні методи. Трансформація *in planta*. Будова Ti- та Ri-плазмід. Селективні маркерні гени у складі векторів для генетичної трансформації. Репортерні гени. Способи аналізу трансгенної природи трансформованих рослин. Створення культур трансформованих коренів «hairy roots». Досягнення та перспективи практичного використання генетично модифікованих рослин.

Тема 10. Використання методів культури *in vitro* та інших біотехнологічних підходів для збереження рослинного генофонду. (6 годин)

Основні способи збереження біорізноманіття рослин. Роль біотехнологічних підходів в цій системі. Переваги та обмеження використання банків рослинного матеріалу *in vitro*; фактори, що впливають на ефективність технології. Використання методів «повільного росту» для тривалого зберігання культивованого матеріалу. Кріоконсервація як метод збереження генофонду рослин. Масштабні генетичні банки *in vitro*, особливості їх створення, підтримання та використання.

**СТРУКТУРА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ
ТЕМАТИЧНИЙ ПЛАН ЛЕКЦІЙ, СЕМІНАРІВ,
ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ, САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ**

№ з/п	Назва	Кількість годин			
		лекції	семінари	практичні	самостійна робота
	Змістовий модуль 1 Основні теоретичні та методологічні принципи культивування рослинних клітин і тканин <i>in vitro</i> .				
1	Тема 1. Поняття, історія розвитку методології культури <i>in vitro</i> та основні напрямки сучасної біотехнології рослин на її основі.	2	-	-	1
2	Тема 2. Техніка культивування <i>in vitro</i> . Живильні середовища та їхні компоненти. Регулятори росту рослин.	4	-	2	2
3	Тема 3. Тотипотентність рослинних клітин. Системи культивування рослинного матеріалу <i>in vitro</i> .	4	-	2	1
4	Тема 4. Дедиференціація та диференціація <i>in vitro</i> . Методи регенерації рослин.	2	-	-	2
5	Тема 5. Стабільність і мінливість генотипів культивованих клітин. Соматональна мінливість. Індукований <i>in vitro</i> мутагенез.	4	2	-	2
Разом за змістовим модулем 1		16	2	4	7
	Змістовий модуль 2 Застосування методів культури <i>in vitro</i> в дослідженнях в галузі біотехнології рослин.				
6	Тема 6. Мікроклональне розмноження рослин.	2	-	2	1
7	Тема 7. Використання методів культури <i>in vitro</i> для продукції біологічно активних речовин.	2	-	-	2
8	Тема 8. Культура ізольованих протопластів та соматична гібридизація рослин.	4	-	2	2
9	Тема 9. Генетична трансформація рослин.	4	-	2	2
10	Тема 10. Використання методів культури <i>in vitro</i> та інших біотехнологічних підходів для збереження рослинного генофонду.	2	2	-	2
Разом за змістовим модулем 2		14	2	6	9
ВСЬОГО		30	4	10	16

ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 1

КУЛЬТУРА РОСЛИННИХ КЛІТИН І ТКАНИН *IN VITRO*

ТЕМА 1. Поняття, історія розвитку методології культури *in vitro* та основні напрямки сучасної біотехнології рослин на її основі. (3 години)

Лекція 1. Поняття, історія розвитку методології культури *in vitro* та основні напрямки сучасної біотехнології рослин. (2 години)

Завдання для самостійної роботи (1 година) Історія розвитку методів культивування рослинного матеріалу *in vitro*. Основні напрямки і досягнення сучасної біотехнології рослин.

Рекомендована література: [6, 22, 64, 67, 68]

ТЕМА 2. Техніка культивування *in vitro*. Живильні середовища та їхні компоненти. Регулятори росту рослин. (8 годин)

Лекція 2. Техніка культивування *in vitro*. Основні компоненти живильних середовищ (2 години)

Лекція 3. Регулятори росту рослин (2 години)

Практичне заняття 1 (2 години). Приготування базових розчинів компонентів живильних середовищ. Приготування стерильних живильних середовищ. Основні прийоми роботи в ламінарному боксі. Основні прийоми введення рослинного матеріалу в асептичну культуру.

Завдання для самостійної роботи (2 години) Основні компоненти живильних середовищ. Основні класи регуляторів росту рослин та їх використання в культурі *in vitro*.

Рекомендована література: [2, 3, 6, 9, 10-12, 45-47, 62, 65, 66]

ТЕМА 3. Тотипотентність рослинних клітин. Системи культивування рослинного матеріалу *in vitro*. (7 годин)

Лекція 4. Тотипотентність рослинних клітин. Калюсні та суспензійні культури. Культури генеративних тканин рослин. (2 години).

Лекція 5. Культури ізольованих органів рослин. Культури імобілізованих клітин. (2 години).

Практичне заняття 2. (2 години) Особливості культивування *in vitro* та оцінки параметрів культур дедиференційованих клітин. Започаткування та вирощування культур ізольованих органів рослин. Методи імобілізації рослинних клітин.

Завдання для самостійної роботи (1 година) Поняття тотипотентності рослинних клітин та її експериментальні докази. Порівняльна характеристика комерційних систем культивування калюсних та суспензійних культур. Культури ізольованих органів та імобілізованих клітин рослин як біореактори.

Рекомендована література: [6, 10-12, 30, 35, 72]

Тема 4. Дедиференціація та диференціація *in vitro*. Методи регенерації рослин (3 години)

Лекція 6. Дедиференціація та диференціація *in vitro*. Методи регенерації рослин (2 години).

Завдання для самостійної роботи (1 година) Васкулярна диференціація та способи її кількісної та якісної оцінки. Порівняльна характеристика основних шляхів морфогенезу *in vitro*.

Рекомендована література: [6, 10-12, 13, 14, 25, 29, 32, 34, 36, 38, 58]

Тема 5. Стабільність і мінливість генотипів культивованих клітин. Сомаклональна мінливість. Індукований *in vitro* мутагенез. (6 годин)

Лекція 7. Стабільність і мінливість генотипів культивованих клітин. Сомаклональна мінливість. (2 години).

Лекція 8. Індукований *in vitro* мутагенез. Клітинна селекція. (2 години).

Завдання для самостійної роботи (2 години) Сомаклональні варіанти для практичного застосування. Порівняльна характеристика систем класичного мутагенезу та мутагенезу *in vitro*. Порівняльна характеристика використання соматоклональної мінливості, індукованого мутагенезу та системи зворотних схрещувань при створенні генетичних варіантів за однією ознакою.

Рекомендована література: [3, 6, 7]

Семінар 1. Теми 1 – 5 (2 години)

ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 2

ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДІВ КУЛЬТУРИ *IN VITRO* В ДОСЛІДЖЕННЯХ В ГАЛУЗІ БІОТЕХНОЛОГІЇ РОСЛИН

Тема 6. Мікроклональне розмноження рослин. (5 годин)

Лекція 9. Мікроклональне розмноження рослин (2 години).

Практичне заняття 3 (2 години) Особливості підбору експлантів при мікроклональному розмноженні. Технологічні процедури роботи з рослинним матеріалом. Особливості роботи з ізольованими меристемами для оздоровлення рослинного матеріалу.

Завдання для самостійної роботи (1 година) Контроль якості рослинного матеріалу при культивуванні *in vitro*. Оздоровлення рослинного матеріалу. Методи елімінації фітовірусів.

Рекомендована література: [5, 6, 9, 10-12, 15, 16, 21, 37, 41, 43, 44, 52, 53, 56, 57, 69, 70, 73]

Тема 7. Використання методів культури *in vitro* для продукції біологічно активних речовин. (4 години)

Лекція 10. Використання методів культури *in vitro* для продукції біологічно активних речовин. (2 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години) Основні етапи технології комерційного синтезу вторинних метаболітів з використанням клітинних

культур. Порівняльна характеристика систем масового культивування рослинних і мікробних клітин.

Рекомендована література: [3, 20, 21, 33, 48, 49, 60]

ТЕМА 8. Культура ізольованих протопластів та соматична гібридизація рослин. (8 годин)

Лекція 11. Культура ізольованих протопластів рослин. (2 години)

Лекція 12. Соматична гібридизація рослин; її можливості та обмеження. (2 години)

Практичне заняття 4 (2 години) Основне обладнання та реактиви для проведення робіт з ізолювання та злиття рослинних протопластів. Етапи методів виділення та культивування ізольованих протопластів. Методи індукції злиття протопластів.

Завдання для самостійної роботи (2 години) Генетична та фізіологічна комплементация при відборі соматичних гібридів. Соматичні гібриди різних видів рослин для цілей фундаментальних досліджень та практичного використання.

Рекомендована література: [1, 7, 8, 17, 23, 24, 39, 40]

ТЕМА 9. Генетична трансформація рослин (8 годин)

Лекція 13. Поняття генетичної трансформації рослин та її основні методи. Практичне значення та основні досягнення технології генетичної трансформації. (2 години).

Лекція 14. *Agrobacterium*-опосередкована генетична трансформація рослин. Будова Ti- та Ri-плазмід. Системи селекції при відборі трансгенних клітин та рослин. (2 години).

Практичне заняття 5 (2 години) Основне обладнання та реактиви для проведення робіт з *Agrobacterium*-опосередкованої та прямої генетичної трансформації. Генетична трансформація за допомогою методу листових дисків. Особливості технологій прямої генетичної трансформації. Трансформація *in planta*; особливості методології.

Завдання для самостійної роботи (2 години) Транз'єнтна експресія перенесених генів; її особливості, переваги та обмеження. Застосування транз'єнтної експресії в сучасних біотехнологічних дослідженнях та виробництві.

Рекомендована література: [4, 18, 19, 26-28, 42, 50, 51, 54, 55, 61, 63]

ТЕМА 10. Використання методів культури *in vitro* та інших біотехнологічних підходів для збереження рослинного генофонду. (6 годин)

Лекція 15. Використання методів культури *in vitro* та інших біотехнологічних підходів для збереження рослинного генофонду. (2 години)

Рекомендована література: [9, 31, 44, 59, 71]

Семінар 2. Теми 6-10 (2 години)

КОНТРОЛЬ ЗНАНЬ І РОЗПОДІЛ БАЛІВ, ЯКІ ОТРИМУЮТЬ ЗДОБУВАЧІ

Контроль здійснюється за модульно-рейтинговою системою. У змістовий модуль 1 входять теми 1-5, у змістовий модуль 2 – теми 6-10. Види контролю - поточний і підсумковий. Поточний контроль здійснюється під час проведення навчальних занять і має на меті регулярну перевірку засвоєння слухачами навчального матеріалу. Форми проведення поточного контролю під час навчальних занять: усне опитування, тестовий контроль, самооцінювання, перевірка практичних навичок.

Оцінювання за формами поточного контролю:

Максимальна кількість балів	Змістовий модуль 1		Змістовий модуль 2		Залік	Підсумкова оцінка
	Поточний контроль	Тест 1	Поточний контроль	Тест 2		
	10	20	10	20		
Сума	30		30		40	100

Для аспірантів, які набрали за результатами поточного контролю у двох змістових модулях сумарно меншу кількість балів, ніж критичний мінімум **20** балів, проходження додаткового тестування є обов'язковим для допуску до заліку. Підсумковий контроль проводиться на останньому практичному занятті і складається із суми балів усіх змістових модулів. Загальна оцінка за вивчення курсу складається із суми оцінок, отриманих при підсумковому контролі, та оцінки, отриманої на заліку.

Шкала оцінювання академічної успішності аспіранта

Рівень досягнень (бали за освітню діяльність)	Оцінка ЄKTC/ECTS	Оцінка за національною шкалою (National grade)
90 – 100	A	відмінно (Excellent)
75 – 89	B	добре (Good)
60 – 74	C	задовільно (Satisfactory)
1 – 59	D	незадовільно (Fail)

Методи навчання

Пояснювально-ілюстративні, частково-пошукові, проблемного викладання матеріалу, дослідницькі.

Технічні засоби навчання

Проектор мультимедійний; ноутбук.

Матеріальне забезпечення дисципліни

Аудиторії, лабораторні приміщення відділу генетичної інженерії.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

Основна література

1. Глеба Ю.Ю., Сытник К.М. «Клеточная инженерия растений». - Киев: Наукова думка, 1984. – 160 с.
2. Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. «Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений» — Киев: Наукова думка, 1980. – 489 с.
3. Кунах В.А. «Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи». – К.: Логос, 2005. – 730 с.
4. Кучук Н.В. «Генетическая инженерия высших растений». - Киев: Наукова думка, 1997. – 150 с.
5. Кушнір Г.П., Сарнацька В.В. «Мікроклональне розмноження рослин». - Київ, "Наукова думка", 2005. – 270 с.
6. Мельничук М.Д., Новак Т.В., Кунах В.А. «Біотехнологія рослин». - Київ: ПоліграфКонсалтинг, 2003. - 520 с.
7. Сидоров В.А. «Биотехнология растений. Клеточная селекция». — Киев: Наукова думка, 1990. – 280 с.
8. Сидоров В.А., Пивень Н.М., Глеба Ю.Ю., Сытник К.М. «Соматическая гибридизация пасленовых». — Киев: Наукова думка, 1985. - 129 с.
9. Черевченко Т.М., Лаврентьева А.Н., Иванников Р.В. «Биотехнология тропических и субтропических растений in vitro». - Киев: Наукова думка, 2008. - 559 с.
10. Dodds J.H. & Roberts L.W. «Experiments in Plant Tissue Culture» (3rd edition) — Cambridge University Press, 1995. – 276 p.
11. “Plant Cell Culture: A practical approach”. Ed. R.A.Dixon, Oxford, IRL Press, 1985. (2nd edition - 1994). – 236 p.
12. “Plant propagation by tissue culture”, 3rd edition, vol. 1. “The Background” (Eds. George E.F., Hall M.A., De Klerk G.-J.), Springer, 2008, 501 p.

Додаткова література

13. Ackermann C., van Staden J. Xylogenesis and hormones in soybean callus. I: A histological and ultrastructural study. - S. Afr. J. Bot., 1988, v.54, N 6, p. 611-616.
14. Ackermann C., van Staden J. Xylogenesis and hormones in soybean callus. II. The effect of carbohydrates and various plant growth regulators. - S.-Afr. Tydskr. Plantk., 1989, v. 55, v.3, p. 358-364.
15. Ali M.A., Nasiruddin K M., Haque M.S., Faisal S.M. Virus elimination in potato through meristem culture followed by thermotherapy. - SAARC J. Agri., 2013, v. 11, N 1, p. 71-80.
16. Ara H., Jaiswal U., Jaiswal V.S. Synthetic seed: Prospects and limitations. – Current Science, 2000, v. 78, N 12, p. 1438-1444
17. Bates G.W., Gaynor J.J., Shekhawat N.S. Fusion of Plant Protoplasts by Electric Fields. - Plant Physiol., 1983, v. 72, p.1110-1113

18. Bent A.F. *Arabidopsis in planta* transformation. Uses, mechanisms, and prospects for transformation of other species. - *Plant Physiology*, 2000, v. 124, p. 1540–1547
19. Birch R.G. Plant transformation: problems and strategies for practical application. - *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1997, v. 48, p.297–326
20. Brodelius P., Deus B., Mosbach K., Zenk M.H. Immobilized plant cells for the production and transformation of natural products. *FEBS Letters*, 1979, v. 103, 1, p. 93-97
21. *Biotechnology for Medicinal Plants. Micropropagation and Improvement.* - Chandra S., Lata H., Varma A. (Eds), Springer-Verlag , 2013, 460 p.
22. Clark N., Stokes K., Mugabe J. Biotechnology and development: threats and promises for the 21st century. – *Futures*, 2002, v.34, p.785–806
23. Cocking E.C. Plant cell protoplasts – isolation and development. - *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 1972, v. 23, p. 29-50
24. Cocking E.C. Plant protoplasts. - *In Vitro Cell. Dev. Biol.—Plant*, 2000, v. 36, p. 77-82
25. Comer A.E. Pattern of cell division and wound vessel member differentiation in *Coleus* pith explants. - *Plant Physiol.*, 1978, v. 62, 354-359
26. Dandekar A.M., Fisk H.J. Plant transformation. *Agrobacterium*-mediated gene transfer. In: *Methods in Molecular Biology*, vol. 286: *Transgenic Plants: Methods and Protocols* (Ed. L. Peca), Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2004, p. 35-46
27. De Block M., Herrera-Estrella L., Van Montagu M., Schell J., Zambryski P. Expression of foreign genes in regenerated plants and in their progeny. - *The EMBO Journal*, 1984, v. 3, N. 8, p. 1681-1689
28. De la Riva G.A., González-Cabrera J., Vázquez-Padrón R., Ayra-Pardo C. *Agrobacterium tumefaciens*: a natural tool for plant transformation. - *EJB Electronic Journal of Biotechnology*, 1998, v.1, N 3, p. 1-16
29. Dodeman V.L., Ducreux G., Kreis M. Zygotic embryogenesis *versus* somatic embryogenesis. - *Journal of Experimental Botany*, 1997, v. 48, No. 313, p. 1493-1509.
30. Elakkiya M., Prabhakaran D., Thirumarimurugan M. Methods of cell immobilization and its applications. - *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*, 2016, v. 5, Issue 4, p.5429-5433.
31. Fay M.F. Conservation of rare and endangered plants using in vitro methods. In *In Vitro Cell. Dev. Biol.*, 1992, v. 28P, p. 1-4
32. Fehér A. The initiation phase of somatic embryogenesis: what we know and what we don't. – *Acta Biologica Szegediensis*, 2008, v. 52(1), p. 53-56
33. Filova A. Production of secondary metabolites in plant tissue cultures. - *Research Journal of Agricultural Science*, 2014, v.46 (1), p. 236-245
34. Iakimova E.T., Woltering E.J. Xylogenesis in zinnia (*Zinnia elegans*) cell cultures: unravelling the regulatory steps in a complex developmental programmed cell death event. – *Planta*, 2017
35. Ikeuchi M., Sugimoto K., , Iwase A. Plant callus: Mechanisms of induction and repression. - *The Plant Cell*, 2013, v. 25, p. 3159–3173

36. Ikeuchi M., Ogawa Y., Iwase Sugimoto K. Plant regeneration: cellular origins and molecular mechanisms. – Development, 2016, v. 143, p.1442-1451
37. Iliev I., Gajdosova A., Libiakova G., Shri Mohan Jain. Plant Micropropagation. In: “Plant Cell Culture” (Eds. Davey M.R., and Anthony P.), John Wiley & Sons Ltd., 2010, p. 1-23
38. Ji A., Geng X., Zhang Y., Yang H., Wu G. Advances in somatic embryogenesis research of horticultural plants. - American Journal of Plant Sciences, 2011, v. 2, p. 727-732
39. Kao K.N., Constabel F., Michayluk M.R., Gamborg O.L. Plant protoplast fusion and growth of intergeneric hybrid cells. - Planta, 1974, v. 120, p.215-227
40. Keller W. A., Melchers G. Effect of high pH and calcium on protoplast fusion. - Z.Naturforsch., 1973, v.28, p. 737-741
41. Kikowska M., Thiem B. Alginate-encapsulated shoot tips and nodal segments in micropropagation of medicinal plants. A review. - Herba Polonica, 2011, v. 57, No. 4, p.45-57
42. Korde V.V., Dhas S.S., Gurave N.A. Hairy root culture: a promising approach in biotransformation. - Asian Journal of Plant Science and Research, 2016, v. 6, N 4, p. 6-11
43. Kumar K., Rao I.U. Morphophysiologicals problems in acclimatization of micropropagated plants in *ex vitro* conditions - a review. - Journal of Ornamental and Horticultural Plants, 2012, v. 2, N 4, p. 271-283
44. Kumari P., Kumar V., Chandra S. Synthetic seeds: a boon for conservation and exchange of germplasm. - BMR Biotechnology, 2014, v. 1, p. 1-11
45. Media Components and Preparation. - In: “Plant Tissue Culture. Techniques and experiments” Third Edition. (Ed. Smith R.H.), Elsevier Inc., 2013, p. 31-43.
46. Molnár Z., Virág E., Ördög V. Natural substances in tissue culture media of higher plants. - Acta Biologica Szegediensis, 2011, v. 55, N 1, p. 123-127.
47. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. - Physiol. Plant., 1962, v. 15, p. 473-497.
48. Namdeo A. G. Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: a review. - Pharmacognosy Reviews, 2007, v. 1, Issue 1, p. 69-79
49. Ochoa-Villarreal M., Howat S., Hong S.M., Jang M.O., Jin Y.W., Eun-Kyong Lee E.K., Loake G.J. Plant cell culture strategies for the production of natural products. - BMB Rep. 2016; v. 49, N 3, p. 149-158
50. Özyiğit I.I. *Agrobacterium tumefaciens* and its use in plant biotechnology. – In: “Crop Production for Agricultural Improvement”, M. Ashraf et al. (eds.), Springer Science+Business Media B.V., 2012, p. 318-361
51. Özyiğit I.I., Dogan I., Tarhan E.A. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation and its biotechnological applications in crops. – In: “Crop Improvement”, K.R.Hakeem et al. (eds.), Springer Science+Business Media, LLC, 2013, p. 1-48
52. Panattoni A., Luvisi A., Triolo E. Review. Elimination of viruses in plants: twenty years of progress. - Spanish Journal of Agricultural Research, 2013, v. 11 (1), p. 173-188

53. Reddy M.C., Murthy K. Sri Rama, Pullaiah T. Synthetic seeds: A review in agriculture and forestry. - African Journal of Biotechnology, 2012, v. 11, N 78, p. 14254-14275
54. Paszkowski J., Shillito R.D., Saul M., Mandak V., Hohn T., Hohn B., Potrykus I. Direct gene transfer to plants. - The EMBO Journal 1984, v.3, N 12, p.2717-2722
55. Pitzschke A., Hirt H. New insights into an old story: *Agrobacterium*-induced tumour formation in plants by plant transformation. - The EMBO Journal, 2010, v. 29, p.1021–1032
56. Pospíšilová J., Tichá I., Kadleček P., Haisel D., Plzáková Š. Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions. – Biologia Plantarum, 1999, v.42, N 4, p. 481-497
57. Pospíšilová J., Synková H., Haisel D., Semorádová Š. Acclimation of plantlets to *ex vitro* conditions: effects of air humidity, irradiance, CO₂ concentration and abscisic acid (a Review). - Acta Horticulturae, 2007, v. 748, p.29-38
58. Quiroz-Figueroa F.R., Rojas-Herrera R., Galaz-Avalos R. M., Loyola-Vargas V.M. Embryo production through somatic embryogenesis can be used to study cell differentiation in plants. - Plant Cell Tiss. Organ Cult., 2006, v. 86, p. 285–301
59. Sarasan W., Cripps R., Ramsay M.M., Atherton C., McMichen M., Prandergast G., Rowntree J.K. Conservation *in vitro* of threatened plants – progress in the past decade. In Vitro Cell. Dev. Biol. – Plant, 2006, v. 42, p. 206-214
60. Sasson A. Production of useful biochemicals by higher-plant cell cultures: biotechnological and economic aspects. – In: Demarly Y. (ed.). Place et rôle des biotechnologies dans les systèmes de recherche agronomique des pays méditerranéens. - Zaragoza: CIHEAM Options Méditerranéennes: Série A.Séminaires Méditerranéens, 1991, N. 14, p. 59-74
61. Schmulling T., Schell J., Spena A. Single genes from *Agrobacterium rhizogenes* influence plant development. - The EMBO Journal, 1988, v.7, N 9, p.2621 -2629
62. Singh V., Tyagi A., Chauchan P.K., Kumari P., Kaushal S. Identification and prevention of bacterial contamination on explants used in plant tissue culture labs. - International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2011, v. 3, N 4, p. 160-163
63. Stam M., Mol J.N.M., Kooter J.M. The silence of genes in transgenic plants. - Annals of Botany, 1997, v.79, p. 3-12
64. Sussex I.M. The scientific roots of modern plant biotechnology. - The Plant Cell, 2008, v. 20, p.1189–1198
65. The components of plant tissue culture media I: macro- and micro-nutrients. - In: E. F. George et al. (eds.), Plant Propagation by Tissue Culture, 3rd Edition, Springer, 2008, p. 65–113.
66. The components of plant tissue culture media II: organic additions, osmotic and pH effects, and support systems. - In: E. F. George et al. (eds.), Plant Propagation by Tissue Culture, 3rd Edition, Springer, 2008, 115–173.
67. Thorpe T.A. History of Plant Tissue Culture. – In: Methods in Molecular Biology, vol. 318: Plant Cell Culture Protocols, Second Edition. Edited by: V. M. Loyola-Vargas and F. Vázquez-Flota. Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2006, p. 9-32.

68. Thorpe T.A. History of Plant Tissue Culture. – In: “Plant Tissue Culture. Techniques and experiments” Third Edition. (Ed. Smith R.H.), Elsevier Inc., 2013, p. 1-22.
69. Wang Q., Cuellar W.J., Rajamaki M.-L., Hirata Y. Valkonen J.P.T. Combined thermotherapy and cryotherapy for efficient virus eradication: relation of virus distribution, subcellular changes, cell survival and viral RNA degradation in shoot tips. – Molecular plant pathology, 2008, v. 9, N 2, p. 237–250
70. Wang Q.C., Panis B., Engelmann F., Lambardi M., Valkonen J.P.T. Cryotherapy of shoot tips: a technique for pathogen eradication to produce healthy planting materials and prepare healthy plant genetic resources for cryopreservation. - Ann Appl Biol, 2009, v. 154, p. 351–363
71. Westwood M.N. Maintenance and storage: clonal germplasm. Plant Breeding Reviews (Ed. J.Janick, Timber press, Portland, OR), 1989, v.7, p. 111-128
72. White P.R. Potentially unlimited growth of excised tomato root tips in a liquid medium. – Plant Physiology, 1934, v. 9, N 3, p. 585-600.
73. Yildiz M. The prerequisite of the success in plant tissue culture: high frequency shoot regeneration. – In: Recent Advances in Plant in vitro Culture. Downloaded from: <http://www.intechopen.com/books/recent-advances-in-plant-invitro-Culture>