



МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ -
МСХА имени К.А. ТИМИРЯЗЕВА»
(ФГБОУ ВО РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева)

ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР КОМПЕТЕНЦИЙ

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе



Е.В. Хохлова

«07» мая 2024 г.

ПРОГРАММА
ПОВЫШЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ

«In vitro-технологии ускорения селекции: эмбриокультура,
производство удвоенных гаплоидов»

Москва, 2024

РАЗДЕЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОГРАММЫ

1.1. Цель реализации программы

Совершенствование и/или приобретение новых профессиональных компетенций слушателями в области биотехнологических методов исследований в селекции растений.

Совершенствуемые и/или приобретаемые компетенции и планируемые результаты обучения

№	Приобретаемые и/или совершенствуемые компетенции	Код компетенции	Знать/Уметь:
1.	<p>Компетенция 1 (приобретаемая в результате обучения) Способен проводить научные исследования, анализировать результаты и готовить отчетные документы</p> <p>ИД-1опк Анализирует методы и способы решения исследовательских задач ИД-2опк Использует информационные ресурсы, научную, опытно-экспериментальную и приборную базу для проведения исследований в садоводстве ИД-3опк Формулирует результаты, полученные в ходе решения исследовательских задач</p>	ОПК	<p>- знает классические, современные биотехнологические методы и клеточные технологии селекции растений для решения частных задач в рамках селекционных программ самоопыляющихся и перекрестноопыляющихся растений, вегетативно размножаемых растений;</p> <p>- умеет анализировать исходные данные, полученные из информационных ресурсов, и составлять перечень оборудования для организации приборной базы необходимой для реализации биотехнологических протоколов;</p> <p>- знает методы представления результатов исследования.</p>
2.	<p>Компетенция 2 (приобретаемая в результате обучения) Способен проводить полевые и лабораторные опыты с использованием традиционных и современных методов</p> <p>ИД-1ПКос Проводит поиск и анализ данных, научной литературы для достижения поставленной цели научного исследования. ИД-4ПКос Определяет комплекс традиционных и современных (полевых и лабораторных) методов исследования для решения научных задач.</p>	ПКос	<p>-умеет анализировать данные, научной литературы для достижения поставленной цели научного исследования;</p> <p>- умеет использовать методы эмбриокультуры, культуры изолированных микроспор в научных проектах и селекционных программах;</p>

**2.2. Учебно-тематический план программы повышения квалификации
«In vitro-технологии ускорения селекции: эмбриокультура, производство
удвоенных гаплоидов»**

№ п/п	№ раздела	Виды учебных занятий, кол-во ак. часов	Содержание	Планируемый результат
1	2	3	4	5
1	Раздел 1. Технологии и in vitro, культура клеток и тканей в селекции растений	Лекция 1, 2 ак.ч.	Концепция «Speed Breeding» в селекции растений Технологии in vitro, культура клеток и тканей в селекции растений (эмбриокультура, соматическая гибридизация, микроклональное размножение)	Знает концепцию «Speed Breeding» в селекции растений, технологии in vitro, культуру клеток и тканей в селекции растений (эмбриокультура, соматическая гибридизация, микроклональное размножение)
		Лекция 2, 2 ак.ч.	Технология спасения зародышей (embryo rescue): эмбриокультура, культура семязачатков, культура завязей	Знает технологию спасения зародышей (embryo rescue): эмбриокультура, культура семязачатков, культура завязей
		Лекция 3, 2 ак.ч.	Базовые принципы культуры клеток и тканей in vitro Состав, приготовление, хранение питательных сред	Знает базовые принципы культуры клеток и тканей in vitro, состав, приготовление, хранение питательных сред
		Лекция 4, 2 ак.ч.	Факторы роста и развития растительных эксплантов в культуре in vitro	Знает факторы роста и развития растительных эксплантов в культуре in vitro
		Практическая работа № 1, 10 ак.ч.	Организация Лаборатории культуры клеток и тканей Общелабораторное и специальное оборудование, приборы Химические реактивы. Посуда. Инструменты и принадлежности Правила безопасной работы в биотехнологической лаборатории Методы контроля контаминации Приготовление жидкой	Знает организацию Лаборатории культуры клеток и тканей, общелабораторное и специальное оборудование, приборы, химические реактивы, посуду, инструменты и принадлежности, правила безопасной работы в биотехнологической лаборатории, методы контроля контаминации Умеет готовить жидкой питательные среды из

	факторы	ограничивающие факторы
Лекция 7, 2 ак.ч.	<ul style="list-style-type: none"> - Культура изолированных пыльников, процедура и ограничивающие факторы - Культура изолированных микроспор, преимущества и недостатки 	<p>Знает:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Культура изолированных пыльников, процедура и ограничивающие факторы - Культура изолированных микроспор, преимущества и недостатки
Лекция 8, 2 ак.ч.	<ul style="list-style-type: none"> - Методы определения уровня плоидности, проточная цитометрия - Удвоение числа хромосом 	<p>Знает:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Методы определения уровня плоидности, проточная цитометрия - Удвоение числа хромосом
Практическая работа № 3, 10 ак.ч.	<ul style="list-style-type: none"> - Производство удвоенных гаплоидов в культуре изолированных семязачатков - Изучение особенностей выращивания/подготовки растений-доноров семязачатков, оценка их состояния - Техника сбора соцветий и их доставки в лабораторию - Оценка морфологических и метрических характеристик соцветий, содержащих необходимые семязачатки - Поверхностная стерилизация соцветий - Изоляция семязачатков и их инокуляция на питательную среду - Упаковка, маркировка культуральных сосудов - Инкубирование 	<p>Знает и умеет:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Производство удвоенных гаплоидов в культуре изолированных семязачатков - Изучение особенностей выращивания/подготовки и растений-доноров семязачатков, оценка их состояния - Техника сбора соцветий и их доставки в лабораторию - Оценка морфологических и метрических характеристик соцветий, содержащих необходимые семязачатки - Поверхностная стерилизация соцветий - Изоляция семязачатков и их инокуляция на питательную среду - Упаковка, маркировка культуральных сосудов - Инкубирование

			<p>реакционной смеси для ПЦР</p> <ul style="list-style-type: none"> - Программирование ДНК-амплификатора, - Проведение ПЦР - Приготовление агарозного геля для электрофоретического разделения продуктов амплификации - Проведение гель-электрофореза ПЦР-продуктов в агарозном геле Окрашивание разделенных фрагментов ДНК GelRed, визуализация и документирование электрофореграммы в проходящем УФ-свете - RT-ПЦР - Анализ результатов молекулярного генотипирования 	<p>реакционной смеси для ПЦР</p> <ul style="list-style-type: none"> - Программирование ДНК-амплификатора, - Проведение ПЦР - Приготовление агарозного геля для электрофоретического разделения продуктов амплификации - Проведение гель-электрофореза ПЦР-продуктов в агарозном геле Окрашивание разделенных фрагментов ДНК GelRed, визуализация и документирование электрофореграммы в проходящем УФ-свете - RT-ПЦР - Анализ результатов молекулярного генотипирования
--	--	--	--	--

Раздел 3. ФОРМЫ АТТЕСТАЦИИ И ОЦЕНОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Входное тестирование

Форма проведения	Заочно
Виды оценочных материалов	Тест из 10 заданий в электронной форме (Приложение 1)
Критерии оценивания	Не предусмотрено (тестирование проводится с целью определения уровня владения материалом)
Оценка	Не предусмотрено (тестирование проводится с целью определения уровня владения материалом)

Выходное тестирование

Форма проведения	Очно
Виды оценочных материалов	Тест из 30 заданий в электронной форме (Приложение 2)
Критерии оценивания	1 – правильный ответ; 0 – неправильный ответ. «Зачтено» выставляется слушателям, если они набрали 15 и более

	<ul style="list-style-type: none"> - Проточный цитометр, правила эксплуатации - Пробоподготовка растительного материала - Проточная цитометрия - Интерпретация результатов
Критерии оценивания	<p>Зачтено – студент освоил знания, умения, компетенции и теоретический материал без пробелов; выполнил все задания, предусмотренные программой; практические навыки профессионального применения освоенных знаний сформированы.</p> <p>Не зачтено - студент не освоил знания, умения, компетенции и теоретический материал, учебные задания не выполнил, практические навыки не сформированы.</p>
Оценка	Зачтено/не зачтено

Практическая работа №5 по разделу 3

Название	Молекулярное генотипирование
Структура и содержание	<ul style="list-style-type: none"> - Пробоподготовка, выделение из растительной ткани тотальной ДНК для ПЦР-анализа - Приготовление реакционной смеси для ПЦР - Программирование ДНК-амплификатора, - Проведение ПЦР - Приготовление агарозного геля для электрофоретического разделения продуктов амплификации - Проведение гель-электрофореза ПЦР-продуктов в агарозном геле Окрашивание разделенных фрагментов ДНК GelRed, визуализация и документирование электрофореграммы в проходящем УФ-свете - RT-ПЦР - Анализ результатов молекулярного генотипирования
Критерии оценивания	<p>Зачтено – студент освоил знания, умения, компетенции и теоретический материал без пробелов; выполнил все задания, предусмотренные программой; практические навыки профессионального применения освоенных знаний сформированы.</p> <p>Не зачтено - студент не освоил знания, умения, компетенции и теоретический материал, учебные задания не выполнил, практические навыки не сформированы.</p>
Оценка	Зачтено/не зачтено

Итоговая аттестация

Форма итоговой аттестации	Зачет как совокупность выполненного итогового теста и практических работ
Требования к итоговой аттестации	Выполнение итогового теста и практических работ в соответствии с требованиями к каждой из работ
Критерии оценивания	Слушатель считается аттестованным при положительном оценивании практических работ и итогового тестирования
Оценка	Зачтено/не зачтено

Раздел 5. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ПРОГРАММЫ

Основная литература:

1. Создание удвоенных гаплоидов моркови столовой (*D. carota* L.) в культуре изолированных микроспор: учебно-методическое пособие / Монахос С.Г., Чистова А.В. М.: Грифон, 2017. – 32 с.
2. Создание чистых линий – удвоенных гаплоидов капусты в культуре изолированных микроспор и селекция F1-гибридов на основе современных методов биотехнологии: (Методические рекомендации)/ Монахос С.Г. М.: Изд-во РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева, 2014 г., 44 с.
3. Монахос С.Г, В.Д. Богданова. Отдаленная гибридизация капустных растений (*Brassica*). Технология «спасения зародышей» (Методические рекомендации): Изд-во РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева, 2014 г., 87 с.

Дополнительная литература:

1. Создание чистых линий – удвоенных гаплоидов лука репчатого (*Allium* сера L.) и селекция F1-гибридов на основе современных методов биотехнологии (Методические рекомендации)/ Монахос С.Г., Богданова В.Д., Ветчинкина Е.М. М.: Изд-во РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева, 2014 г., 45 с.

Раздел 6. ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ОСВОЕНИЯ ПРОГРАММЫ

Оценка качества освоения программы осуществляется на основе результатов итоговой аттестации. Слушатель считается аттестованным, если имеет положительные оценки (от «15» до «30» баллов) выходного тестирования по всем разделам программы.

Раздел 7. ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПРОЦЕССЕ РЕАЛИЗАЦИИ ПРОГРАММЫ

В программе используются: информационно-коммуникативные технологии (ИКТ), обеспечивающие активную информатизацию образовательного процесса, использование современных инструментов управления и организации обучения (открытый доступ к информации в Интернете, электронные гаджеты для учебы и т. д.); проектная технология, направленная на стимулирование интереса у учащихся через практическую реализацию теории, принятие самостоятельных решений и самостоятельного получения необходимых знаний; технология проблемного обучения с моделированием проблемных вопросов из профессиональной жизни, требующие для их решения командной работы; здоровьесберегающая технология, обеспечивающая безопасность образовательного процесса и условия для укрепления здоровья учащихся (положительный психологический климат, санитарные нормы и т. д.); кейс-технология основанная на методе обсуждения отдельных вопросов.

Приложение 1 Образцы тестовых заданий входного тестирования

Биологические/генетические факторы воспроизведения растений

1. Я знаком с данной темой и относящимися к ней методами, использую эти знания в практической работе
2. Я изучал данную тему, но не использую в своей работе. Думаю, данная тема не имеет отношения к практике
3. Я изучал данную тему, но не использую в своей работе. Хочу освежить эту тему в памяти
4. Никогда не сталкивался с данной темой ни в теории, ни на практике

Методы ускорения селекции: биотехнология, культура тканей и клеток

1. Я знаком с данной темой и относящимися к ней методами, использую эти знания в практической работе
2. Я изучал данную тему, но не использую в своей работе. Думаю, данная тема не имеет отношения к практике
3. Я изучал данную тему, но не использую в своей работе. Хочу освежить эту тему в памяти
4. Никогда не сталкивался с данной темой ни в теории, ни на практике

Методы ускорения селекции: производство удвоенных гаплоидов

1. Я знаком с данной темой и относящимися к ней методами, использую эти знания в практической работе
2. Я изучал данную тему, но не использую в своей работе. Думаю, данная тема не имеет отношения к практике
3. Я изучал данную тему, но не использую в своей работе. Хочу освежить эту тему в памяти
4. Никогда не сталкивался с данной темой ни в теории, ни на практике

Современные биотехнологические методы и клеточные технологии селекции растений для решения частных задач в рамках селекционных программ самоопыляющихся и перекрестноопыляющихся растений, вегетативно размножаемых растений

1. Я знаком с данной темой и относящимися к ней методами, использую эти знания в практической работе
2. Я изучал данную тему, но не использую в своей работе. Думаю, данная тема не имеет отношения к практике
3. Я изучал данную тему, но не использую в своей работе. Хочу освежить эту тему в памяти
4. Никогда не сталкивался с данной темой ни в теории, ни на практике

Методы молекулярной селекции растений:

1. Я знаком с данной темой и относящимися к ней методами, использую эти знания в практической работе
2. Я изучал данную тему, но не использую в своей работе. Думаю, данная тема не имеет отношения к практике
3. Я изучал данную тему, но не использую в своей работе. Хочу освежить эту тему в памяти
4. Никогда не сталкивался с данной темой ни в теории, ни на практике

Методы/технологии молекулярной селекции растений, в том числе биоинформатические;

1. Я знаком с данной темой и относящимися к ней методами, использую эти знания в практической работе
2. Я изучал данную тему, но не использую в своей работе. Думаю, данная тема не имеет отношения к практике
3. Я изучал данную тему, но не использую в своей работе. Хочу освежить эту тему в памяти
4. Никогда не сталкивался с данной темой ни в теории, ни на практике

Конструирование праймер-комбинаций амплифицируемых фрагментов ДНК

1. Я знаком с данной темой и относящимися к ней методами, использую эти знания в практической работе
2. Я изучал данную тему, но не использую в своей работе. Думаю, данная тема не имеет отношения к практике
3. Я изучал данную тему, но не использую в своей работе. Хочу освежить эту тему в памяти
4. Никогда не сталкивался с данной темой ни в теории, ни на практике

Анализ результатов ДНК-амплификации с использованием электрофоретического разделения продуктов амплификации и данных ПЦР в реальном времени;

1. Я знаком с данной темой и относящимися к ней методами, использую эти знания в практической работе
2. Я изучал данную тему, но не использую в своей работе. Думаю, данная тема не имеет отношения к практике
3. Я изучал данную тему, но не использую в своей работе. Хочу освежить эту тему в памяти
4. Никогда не сталкивался с данной темой ни в теории, ни на практике

Методы производства линий удвоенных гаплоидов в научных проектах и селекционных программах;

1. Я знаком с данной темой и относящимися к ней методами, использую эти знания в практической работе
2. Я изучал данную тему, но не использую в своей работе. Думаю, данная тема не имеет отношения к практике

18. В лаборатории запрещается (возможны несколько вариантов ответа)

- Употреблять пищу
- Дышать
- Разговаривать
- Вести записи
- Пить воду
- Пробовать реактивы на вкус

19. К ингибиторам роста растений относятся (возможны несколько вариантов ответа)

- Ауксины
- Цитокинины
- Абсцизовая кислота
- Гиббереллины
- Этилен

20. Спасение зародышей применяют:

- При самоопылении аллотетраплоидного вида
- При соматической гибридизации
- При постгамной несовместимости (*правильно*)

21. Для спасения зародышей применяют два метода:

- Культура микроспор
- Эмбриокультура (*правильно*)
- Культура завязей (*правильно*)
- Культура пыльников
- Культура неоплодотворенных семязачатков
- Культура меристем
- Соматическая гибридизация

22. Эмбриокультура – метод спасения зародышей, при котором в культуру *in vitro* вводят

- Семязачатки
- Завязи
- Зародыши (*правильно*)
- Пыльники

23. Культура завязей – метод спасения зародышей, при котором в культуру *in vitro* вводят

- Семязачатки
- Завязи (*правильно*)
- Зародыши
- Пыльники

24. Определить жизнеспособность пыльцы возможно методом

- Окрашивания ацетокармином
- Проращивания пыльцы на питательной среде
- Окрашивания раствором FDA
- Все перечисленное (*правильно*)

25. Определить плоидность растений возможно методом

- Прямого подсчета числа хромосом меристем корней и пыльников бутонов
- Проточной цитометрии
- Подсчетом числа хлоропластов в замыкающих клетках устьиц
- Все перечисленное (*правильно*)

- d. 52 мл раствора гипохлорита натрия и 448 мл воды
6. Световая комната – это комната, где
- Производят введение эксплантов в культуру *in vitro*
 - Много света
 - Готовят питательную среду
 - Выращивают растения, с которых отбирают экспланты
 - Выращивают растения после введения в культуру *in vitro*
7. Выберите правила хранения питательных сред (возможно несколько вариантов ответа)
- Питательную среду хранят не больше месяца
 - Питательную среду хранят стерильной
 - Питательную среду хранят в морозильной камере
 - Питательную среду хранят в холодильнике
 - Питательную среду можно хранить 2-3 месяца
8. Правила хранения химических реактивов
- Химические реактивы следует хранить в холодильнике
 - Химические реактивы следует хранить в морозильной камере
 - Химические реактивы следует хранить в соответствии с инструкцией на упаковке
 - Химические реактивы следует хранить в шкафу
9. Ауксины вызывают:
- клеточную дифференцировку
 - клеточную дедифференцировку
 - деление клеток
 - растяжение клеток
10. Цитокинины индуцируют:
- клеточную дифференцировку
 - клеточную дедифференцировку
 - деление клеток
 - растяжение клеток
11. Абсцизовая кислота – фитогормон, который
- стимулирует формирование зародышей
 - прерывает покой почек
 - стимулирует синтез хлорофилла
 - стимулирует корнеобразование
 - стимулирует рост побегов в длину
12. Прямой органогенез – это

- Формирование каллуса из экспланта
 - Формирование из экспланта побегов
 - Формирование из экспланта вначале каллуса, а затем побегов
 - Формирование из экспланта эмбрионидов
 - Формирование из экспланта вначале каллуса, а затем эмбрионидов
13. Эмбриогенез – это
- Формирование из экспланта вначале каллуса, а затем побегов
 - Формирование из экспланта эмбрионидов
 - Формирование каллуса из экспланта
 - Формирование из экспланта побегов
14. Успех культивирования *in vitro* зависит от
- Генотипа растения-донора экспланта
 - Условий культивирования растения-донора экспланта
 - Условий культивирования экспланта на питательной среде
 - Состава питательной среды
 - Всех вышеперечисленных факторов
15. Стерилизация эксплантов включает следующие этапы (возможны несколько вариантов ответа)
- Предварительное промывание экспланта в проточной воде от частиц грязи и пыли факторов
 - Предварительное замачивание экспланта в растворе NaCl
 - Стерилизация в растворе гипохлорида натрия факторов
 - Стерилизация в растворе гидрокарбоната натрия
 - Отмывание экспланта от стерилизующего раствора порциями стерильной дистиллированной воды факторов
16. Стерилизация питательных сред осуществляется (возможны несколько вариантов ответа)
- В автоклаве
 - В сушильном шкафу при температуре 150-180 °С
 - В ламинарном боксе с использованием ультрафильтрации
 - Фильтрстерилизацией в условиях лаборатории
 - С помощью стерилизующих растворов
17. Стоковые растворы – это
- Растворы для приготовления стерилизующего раствора
 - Растворы для приготовления питательной среды
 - Растворы для стерилизации растительного материала
 - Растворы для обеззараживания поверхностей
 - Растворы для приготовления регуляторов роста

3. Я изучал данную тему, но не использую в своей работе. Хочу освежить эту тему в памяти

4. Никогда не сталкивался с данной темой ни в теории, ни на практике

Молекулярно-цитогенетические методы в сопровождении селекционного процесса.

1. Я знаком с данной темой и относящимися к ней методами, использую эти

знания в практической работе

2. Я изучал данную тему, но не использую в своей работе. Думаю, данная тема не имеет отношения к практике

3. Я изучал данную тему, но не использую в своей работе. Хочу освежить эту тему в памяти

4. Никогда не сталкивался с данной темой ни в теории, ни на практике

Образцы тестовых заданий выходного тестирования

1. В основе культивирования клеток растений лежит свойство ... (возможно несколько вариантов ответа)

- Тотипотентность
- Способность к формированию каллуса
- Способность клеток дифференцироваться
- Способность к регенерации
- Апоптоз

2. В состав питательной среды для культивирования растительных клеток входят (возможно несколько вариантов ответа)

- Вода
- Макроэлементы
- Микроэлементы
- Витамины
- Сахароза
- Регуляторы роста
- Агар
- Все вышеперечисленное

3. На питательную среду микроорганизмы могут попадать

- Из воздуха
- Из экспланта
- Из нестерильной воды
- С рук исследователя
- Нестерильные инструменты
- Не стерильная посуда
- Все ответы верны

4. Для избегания перекрестной контаминации проводить работы по введению в культуру *in vitro* необходимо

- в автоклаве
- в световой комнате
- в ламинарном боксе
- в моечной комнате
- в комнате для приготовления питательных сред

5. При приготовлении 500 мл 2% раствора гипохлорита натрия из 19% раствора необходимо взять

- 53 мл раствора гипохлорита натрия и 447 мл воды
- 56 мл раствора гипохлорита натрия и 444 мл воды
- 50 мл раствора гипохлорита натрия и 450 мл воды