

Східноєвропейський національний університет
імені Лесі Українки
Біологічний факультет
Кафедра ботаніки

Т. П. Лісовська, І. І. Кузьмішина, Л. О. Коцун

ГЕНЕТИКА І СЕЛЕКЦІЯ РОСЛИН

Методичні рекомендації до проведення практичних занять для
студентів V-го курсу біологічного факультету денної і заочної
форми навчання

Луцьк
2015

УДК 575+631.527 (075.5)

ББК 28.54+41.31я73

Л 63

Рекомендовано до друку науково-методичною радою Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки (протокол № 5 від 18 березня 2015р.)

Рецензент: Шевчук М.Й. – професор кафедри садово-паркового господарства, д.с.-г.н.

Лісовська Т.П., Кузьмішина І.І., Коцун Л.О.

Л 63 Генетика і селекція рослин: методичні рекомендації до виконання практичних занять для студентів V-го курсу біологічного факультету денної і заочної форми навчання / Тетяна Павлівна Лісовська, Ірина Іванівна Кузьмішина, Лариса Олександрівна Коцун. – Луцьк: Друк ПП Іванюк В.П., 2015. – 75 с.

Наведені методичні рекомендації до виконання практичних занять з курсу “Генетика і селекція рослин” для студентів V-го курсу біологічного факультету, які охоплюють основні розділи навчальної програми. Рекомендовано для студентів, викладачів, спеціалістів та магістрів.

УДК 575+631.527 (075.5)

ББК 28.54+41.31я73

© Лісовська Т.П., Кузьмішина І.І.,
Коцун Л.О., 2015

© Східноєвропейський національний
університет імені Лесі Українки

ЗМІСТ

ВСТУП	4
1. Визначення фертильності і життєздатності пилку томату.....	11
2. Системи несумісності у рослин на прикладі первоцвіту.....	17
3. Цитогенетичний аналіз каріотипу цибулі <i>Allium cepa</i>	24
4. Анафазний метод дослідження хромосомних перебудов у <i>Allium cepa</i>	30
5. Техніка схрещування в селекції рослин.....	36
6. Схеми схрещування, які застосовують в селекції.....	41
7. Аналіз мінливості кількісних ознак у пшениці.....	47
8. Гетерозис.....	51
9. Мікроклональний метод розмноження картоплі.....	58
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ	64
ДОДАТКИ	67

ВСТУП

Програма навчальної дисципліни «Генетика і селекція рослин» складена відповідно до освітньо-професійної програми підготовки спеціалістів, які спеціалізуються на кафедрі ботаніки за спеціальністю – 7. 04010201 Біологія

Предметом вивчення навчальної дисципліни є методи створення нових сортів рослин, що ґрунтуються на законах спадковості та мінливості ознак у організмів.

Міждисциплінарні зв'язки: дисципліна «Генетика і селекція рослин» має тісні зв'язки з такими дисциплінами як молекулярна біологія, цитологія, біохімія, анатомія рослин, фізіологія людини і тварин, фізіологія рослин, популяційна біологія, мікробіологія, репродуктивна біологія рослин, механізми онтогенезу та ін.

Програма навчальної дисципліни складається з таких **змістових модулів:**

1. Цитологічні і генетичні основи селекції.
2. Рекомбінація і мутагенез в селекції рослин.

1. Мета та завдання навчальної дисципліни

1.1. Мета курсу – засвоєння студентами знань сучасних досягнень селекційних досліджень, основними завданнями і напрямками селекції рослин. Вивчення основних методів пошуку і створення вихідного матеріалу для селекції на основі індукованого мутагенезу і рекомбіногенезу, із основними методами добору із врахуванням генетичної структури популяцій є основою для

формування наукового світогляду майбутнього викладача або науковця.

1.2. Основними завданнями вивчення дисципліни «Генетика і селекція рослин» є надання студентам базових знань генетичних основ селекції рослин, селекційного значення типу розмноження і способу запилення рослин. Студенти знайомляться з методами пошуку і створення вихідного матеріалу для селекції, використанням індукованого мутагенезу в селекції рослин, із основними методами селекції на основі генетичної рекомбінації, методами гібридизації. Студенти вивчають основні методи селекції на основі явища гетерозису, використання цитоплазматичної чоловічої стерильності (ЦЧС) у насінництві гетерозисних гібридів. Студенти знайомляться з сучасними методами прискорення селекції на всіх етапах роботи, у тому числі за допомогою молекулярно-біотехнологічних методів.

1.3. Згідно з вимогами освітньо-професійної програми студенти повинні:

знати: завдання і напрями селекції рослин; генетичні основи селекції; значення способу розмноження і способу запилення рослин на вибір схеми селекційного процесу; джерела вихідного матеріалу для селекції; використання індукованого мутагенезу; методи селекції на основі генетичної рекомбінації і гетерозису; методи добору сільськогосподарсько-цінних рослин.

вміти: провести генетичний аналіз досліджуваної ознаки; оцінити фертильність і життєздатність пилку рослин; провести

цитогенетичний аналіз каріотипу рослин; оцінити частоту хромосомних аберацій; застосувати методи індукованого мутагенезу; оцінити якість спорофітного покоління за якістю гаметофіту; розмножувати рослини вегетативно, у тому числі мікроклонально у живильному середовищі; провести гібридизацію основних культивованих рослин; вибрати схему схрещування в залежності від мети селекції.

На вивчення навчальної дисципліни відводиться 108 години / 3 кредита ECTS.

2. Інформаційний обсяг навчальної дисципліни

Змістовий модуль 1. Цитологічні і генетичні основи селекції.

Тема 1. Предмет генетики і селекції рослин

Виникнення і розвиток селекції. Селекція – наука про методи створення нових сортів рослин, порід тварин і штамів мікроорганізмів. Розвиток селекції в Росії і на Україні. Досягнення вітчизняної селекції.

Поняття породи, сорту, штаму. Завдання і напрями селекції рослин.

Тема 2. Цитологічні основи селекції рослин

Мітотичний цикл клітин. Мітоз. Біологічне значення мітозу. Компактизація хроматину під час мітотичного циклу. Морфологія метафазних хромосом. Каріотип та ідіограма.

Мейоз як етап спорогенезу рослин. Два поділи мейозу: редукційний і екваційний. Фази мейозу. Біологічне значення мейозу.

Споро- і гаметогенез у рослин. Подвійне запліднення.

Тема 3. Закономірності успадкування при статевому розмноженні рослин

Способи розмноження рослин. Статеве розмноження. Успадкування ознак при моногібридному і полігібридному схрещуванні. Типи взаємодії алельних генів. Аналізуюче схрещування. Множинний алелізм. Закон незалежного успадкування ознак. Типи взаємодії неалельних генів. Гени – модифікатори. Генотип як система.

Нерегулярні типи статевого розмноження рослин. Позаядерне успадкування.

Тема 4. Біологічні основи селекції рослин

Селекційне значення типу будови квітки і способу запилення рослин. Основні господарсько-цінні самозапильні і перехреснозапильні види. Пристосування рослин до само- і перехресного запилення.

Системи несумісності у рослин. Вегетативне розмноження рослин.

Тема 5. Пошук і створення вихідного матеріалу для селекції

Вихідний матеріал для селекції. Генофонди рослин і їх використання. Класифікація вихідного матеріалу. Створення, дослідження і використання світового генофонду рослин. Значення робіт М.І.Вавілова по створенню вчення про центри походження

рослин і створенню генетичних фондів культурних рослин у ВІРі.

Змістовий модуль 2. Рекомбінація і мутагенез в селекції рослин .

Тема 6. Використання мутаційної мінливості в селекції рослин

Типи мутаційної мінливості. Геномні мутації. Хромосомні аберації: дуплікації, делеції, транслокації, інверсії. Генні мутації: Індукований мутагенез і його використання в селекції рослин. Мутагенні фактори. Селекційне використання індукованих мутацій у різних культур. Досягнення селекції на основі індукованого мутагенезу.

Геномні мутації і їх використання в селекції. Значення поліплоїдії в еволюції і селекції. Методи штучного одержання авто- і алополіплоїдів. Створення нових видів культурних рослин – алополіплоїдів. Використання анеуплоїдних ліній рослин в селекційно-генетичних дослідженнях. Методи одержання гаплоїдів і їх використання в селекції.

Тема 7. Селекція на основі генетичної рекомбінації

Генетичні наслідки схрещування. Принципи добору вихідних батьківських форм. Типи схрещувань при внутривидовій гібридизації.

Віддалена гібридизація. Типи віддалених схрещувань. Методи подолання несхрещуваності видів. Використання віддаленої гібридизації в селекції.

Генетично модифіковані (трансгенні) рослини. Принципи створення генетично модифікованих організмів. Поняття про

методи молекулярної біотехнології. Досягнення молекулярної біотехнології.

Тема 8. Гетерозис і його використання в селекції

Явище гетерозису. Завдання селекціонера в селекції рослин на гетерозис. Загальна схема селекції гетерозисних гібридів. Вихідний матеріал. Підбір батьківських пар для схрещування. Загальна і специфічна комбінаційна здатність. Явище ЦЧС – цитоплазматичної чоловічої стерильності. Використання ЦЧС для одержання гібридного насіння на прикладі кукурудзи.

Тема 9. Оцінювання селекційного матеріалу

Методи оцінювання селекційного матеріалу. Оцінка на різних етапах селекційного процесу. Оцінка за окремими ознаками. Оцінювання тривалості вегетаційного періоду, стійкості до несприятливих факторів середовища, збудників хвороб та шкідників. Оцінка якості продукції. Оцінка продуктивності і врожайності. Оцінка за агротехнічними показниками.

Тема 10. Методи добору в селекції рослин

Масовий та індивідуальний добір. Генетична структура аутогамних і алогамних популяцій. Особливості добору у самозапильних культур. Особливості добору у перехреснозапильних культур. Клоновий добір у рослин, які розмножуються вегетативно.

Тема 11. Методи прискорення селекції на етапі добору.

Одержання декількох поколінь в рік. Проведення добору на етапі гаметофітної стадії розвитку рослин. Оцінка якості рослин (спорофіту) за якістю гаметофіту. Клітинна селекція в культурі *in*

vitro. Використання соматклональної мінливості та індукованого мутагенезу в культурі клітин. Мікроклональне розмноження цінних генотипів. Молекулярно-генетична “паспортизація” сортів.

Методичні рекомендації до лабораторних занять надають студентам допомогу у засвоєнні практичної частини курсу. У рекомендаціях наведені методики цитогенетичних досліджень в селекції рослин, методики оцінювання якості мікрогаметофіту, гібридизації певних господарсько-цінних культур, визначення величини гетерозису, методики мікроклонального розмноження цінних генотипів та інші.

Практичне заняття № 1

Тема: Визначення фертильності і життєздатності пилку томату.

Мета: Навчитися визначати фертильність і життєздатність пилку, придатність пилку до запилення.

Матеріали і реактиви: 20% розчин сахарози, борна кислота, ацетокармін, чашки Петрі, накривні і предметні скельця, мікроскопи, піпетки, препарувальні голки, термостат, пилок різних сортів томату.

Завдання:

1. Визначити фертильність пилку ацетокарміновим методом.
2. Визначити життєздатність пилку за проростанням на розчині сахарози.

Теоретична частина

Пилок і пилкові трубки являють собою мікрогаметофітну стадію життєвого циклу вищих рослин. Під час формування і проростання пилку відбувається процес мікрогаметогенезу – утворення чоловічих статевих гамет – сперміїв (рис.1). На процес мікрогаметогенезу впливають спадкові фактори і середовище, знижуючи запліднюючу здатність пилку. Від фертильності пилку залежить успіх селекційної роботи, яка починається із схрещування вихідних форм і, звичайно, врожайність переважної більшості сільськогосподарських культур. При підборі сортів–запилювачів, вивченні гібридного покоління, нових сортів і взагалі при використанні пилку рекомендується перевіряти його життєздатність. Наприклад, більшість виробничих сортів картоплі

мають стерильний пилок (80-90%), що ускладнює підбір компонентів для схрещування. Тому сорти-запилувачі картоплі підбирають за ознакою фертильності пилку із врахуванням, звичайно, господарсько-цінних ознак.

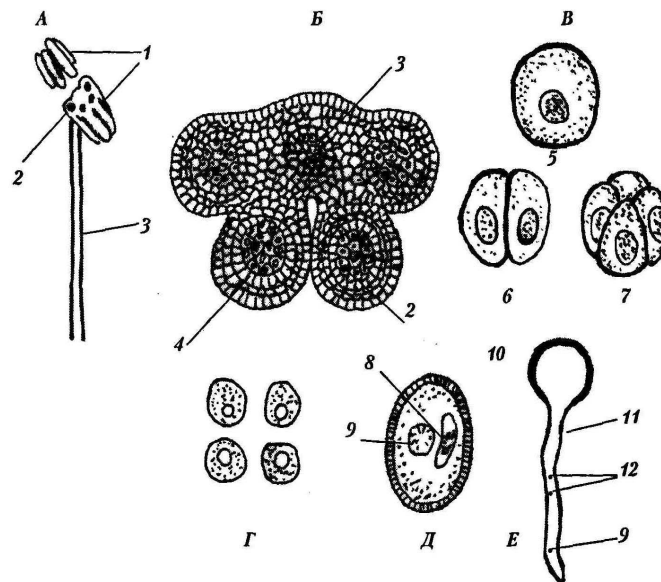


Рис.1. Розвиток пилку (від материнської клітини до пилкової трубки):

А – пиляк; Б – поперечний розріз пиляка; В – стадії утворення тетради з материнської клітини пилку шляхом мейозу; Г – чотири мікроспори; Д – пилкове зерно; Е – проростання пилкового зерна у пилкову трубку; 1 – пиляк; 2 – пилковий мішок; 3 – тичинкова нитка; 4 – тапетум; 5 – материнська клітина пилку; 6 – діада; 7 – тетрада; 8 – генеративна клітина; 9 – вегетативне ядро (ядро трубки); 10 – старе пилкове зерно; 11 – пилкова трубка; 12 – генеративні ядра (спермії); (за Брігс, Ноулз, 1983)

Прийнято розрізняти терміни життєздатність пилку і запліднююча здатність пилку (фертильність). Життєздатність пилку визначають як здатність чоловічого гаметофіту до росту в тканинах маточки, а фертильність пилку – як здатність пилку до повного

запліднення. Найбільш надійне визначення життєздатності і фертильності пилку дають методи *in vivo*. Для порівняльного оцінювання фертильності пилку використовують методи фарбування ацетокарміном або йодом, а життєздатності – пророщування пилку на штучних середовищах. У багатьох рослин пилок здатний проростати у вологій камері на водному розчині глюкози або сахарози.

За методом Транковського, вологою камерою є чашка Петрі, в яку на дно кладуть кружечки фільтрувального паперу, змоченого у воді. В чашку поміщають предметні скельця із висіяним пилком. Для прискорення проростання пилку чашки поміщають в термостат з температурою 25-30°C.

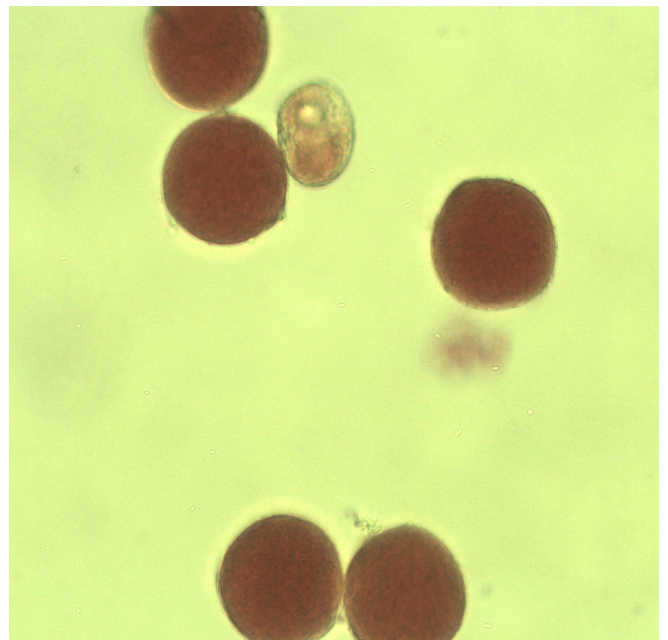
В якості середовища для проростання пилкових зерен звичайно використовують 1%-ий розчин агару на дистильованій воді із додаванням сахарози. Концентрація сахарози міняється від 5 до 40% в залежності від виду рослин: для пилку плодових культур – 5-15%-ий розчин, пилку кукурудзи – 10-15%-ий, пилку картоплі – 20%-ий, пилку жита – 30-40%-ий тощо. Щоб наблизити штучне середовище до природних умов, в розчин іноді додають слідові кількості борної кислоти, тому що бор відіграє значну роль у розвитку і життєдіяльності репродуктивних органів (рис. 2). Пилок картоплі, наприклад, не проростає на розчині сахарози без додавання борної кислоти.

У селекційній роботі фертильність пилку визначають, як правило, за зафарбуванням ацетокарміном. Досліджуваний пилок висівають на предметне скло і наносять краплю ацетокарміну,

накривають накривним скельцем і через 3-5 хвилин розглядають в мікроскоп. Ядра фертильних пилкових зерен зафарбовуються ацетокарміном в темно-червоний колір, а цитоплазма – у рожевий. Стерильний пилочок переважно не зафарбовується, а також відрізняється за формою і розміром (рис.3).



а



б

Рис. 2. а – Проростання пилку томату на 20%-му розчині сахарози у 0,006%-му розчині борної кислоти. Б –Фертильний і стерильний пилочок конюшини лучної *Trifolium pratense*, зафарбування ацетокарміном.

Для деяких культур, пилочок яких має товсту екзину (4,5 мкм) і зернисту структуру, ацетокарміновий метод зафарбування є неефективним. При визначенні фертильності такого пилку використовують розчин йоду у йодиді калію. Цей метод полягає у визначенні крохмалю: фертильний пилочок відрізняється від стерильного вмістом значної кількості крохмалю.

Хід роботи

1. Приготувати 20%-ий розчин сахарози у 0,006%-му розчині борної кислоти на дистильованій воді. Нанести на предметні скельця по три краплі розчину сахарози. За допомогою препарувальної голки розсіяти по поверхні крапель пилок від квітучих рослин різних сортів томату. Пиляки попередньо підсушити протягом трьох годин. Помістити предметні скельця у вологу камеру: на дно чашки Петрі із зволженим фільтрувальним папером.

2. Перенести чашки Петрі із пилом у термостат з температурою 25°C на дві години.

3. Дістати чашки Петрі, підрахувати життєздатність пилку як відсоток пилку, що проріс, до загальної кількості пилку (обрахувати 300 пилкових зерен) у трьох повторностях (краплях). Пророслим вважати пилок з довжиною пилкової трубки, що перевищує діаметр пилкового зерна. Обрахувати середнє значення життєздатності пилку і похибку середнього значення за формулами:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} x_i}{n} \cdot 100\%; \quad s_x = \sqrt{\frac{\bar{x} \cdot (100 - \bar{x})}{n}};$$

де \bar{x}_i – життєздатність пилку у кожній повторності, \bar{x} – середня життєздатність цього зразку пилку, s_x – похибка середнього значення, n – загальна кількість пилкових зерен

4. Порівняти життєздатність різних сортів томату за t -критерієм Стьюдента за формулою:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{s_{x_1} + s_{x_2}}}$$

5. Нанести на предметне скло три краплі ацетокарміну і за допомогою препарувальної голки розсіяти по поверхні краплі пилок. Через 2 хвилини накрити препарат накривним скельцем, підрахувати під мікроскопом загальну кількість пилкових зерен у випадково вибраних полях зору (обрахувати 300 зерен) і кількість зафарбованих (фертильних) пилкових зерен у трьох повторностях (краплях). Підрахувати середню фертильність пилку у відсотках.

6. Оформити результати в зошиті. Порівняти життєздатність і фертильність пилку однакових зразків пилку.

Контрольні питання:

1. Наведіть визначення життєздатності пилку.
2. Наведіть визначення фертильності пилку.
3. Опишіть процес мікроспоро- і мікрогаметогенезу у квіткових рослин.
4. Опишіть процес мегаспоро- і мегагаметогенезу у квіткових рослин.
5. Яким чином відбувається подвійне запліднення у покритонасінних?
6. За допомогою яких методів визначають життєздатність і фертильність пилку?

Практичне заняття № 2

Тема: Системи несумісності у рослин на прикладі первоцвіту.

Мета: Навчитися визначати само- і перехресну несумісність рослин.

Матеріали і обладнання: квітучі рослини первоцвіту з гетероморфною будовою квіток, ізолятори з пергаменту або марлі, пильники, етикетки і нитки, олівці.

Завдання:

1. Ознайомитися з особливостями будови квіток первоцвіту.
2. Визначити здатність зав'язування насіння у первоцвіту під час схрещування різних генотипів.

Теоретична частина

Значна частина сільськогосподарських рослин – редис, капуста та інші види роду *Brassica*, конюшина, люцерна, жито, цукровий буряк; багато плодових рослин (яблуня, груша, вишня, черешня та ін.), хоча і мають гермафродитну (двостатеву) квітку, але володіють системою несумісності, яка запобігає запиленню.

Під **несумісністю** розуміють нездатність пилкових трубок життєздатних пилкових зерен проростати через стовпчик і зав'язь у зародковий мішок і забезпечувати подвійне запліднення, при самозаплідненні (самонесумісність) або при запиленні пилком рослин інших видів і родів (перехресна несумісність). Як самонесумісність, так і перехресна несумісність генетично детерміновані.

Основна функція самонесумісності – попередження самозапилення (інбридінгу) і забезпечення перезапилення між неспорідненими особинами одного виду (аутбридінгу).

Відомі три основні типи генетичної самонесумісності: гаметофітний, спорофітний і гетероморфний.

Гаметофітна самонесумісність вперше була встановлена у тютюну виду *Nicotiana sanderae*, тому її називають несумісністю типу *Nicotiana*. При цьому типі несумісності пригнічується проростання пилку і ріст пилкових трубок на приймочці маточки і в стовпчику. Вона зумовлена серією алелей гена S. При цьому жоден із алелей не виявляє домінування або іншого типу взаємодії. Диплоїдні тканини маточки містять два алелі гена несумісності S_1 S_2 . Гаплоїдне пилкове зерно містить алель S_1 або S_2 . Ріст таких пилкових трубок буде пригнічуватися алелями, наявними у маточці. Це виявляється в тому, що пилкові зерна або не утворюють трубок, або пилкові трубки ростуть повільно і припиняють свій ріст, не досягнувши мікропіле. При перехресному запиленні частина пилкових зерен, які несуть алелі S_3 , S_4 , S_5 , будуть нормально проростати на приймочці маточки і забезпечать запилення (рис. 3). Гаметофітна несумісність контролює перехресне запилення у видів конюшини (*Tr. pratense*, *Tr. repens* та інших), у донника лікарського (*Melilotus officinalis*), у жита (*Secale cereale*), у буряка (*Beta vulgaris*) та ін.

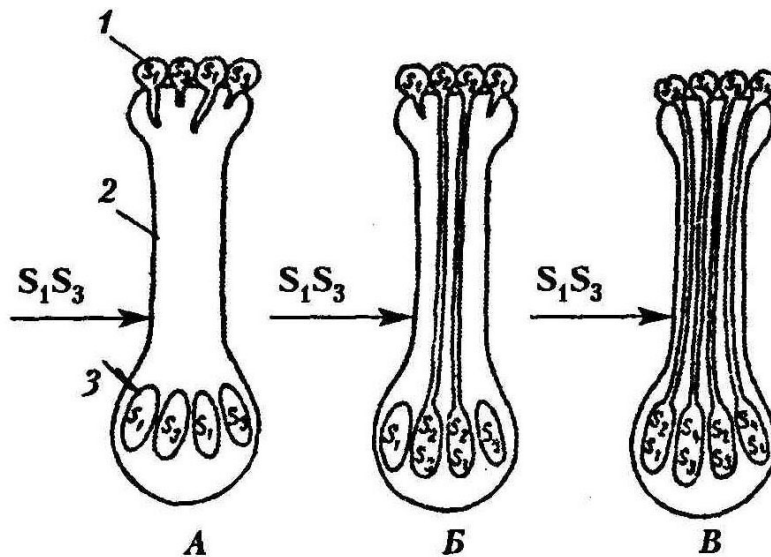


Рис. 3. Гаметофітна несумісність (обумовлена алелями несумісності):

А – схрещування ♀ S_1S_3 x ♂ S_1S_3 (стерильна комбінація); **Б** – схрещування ♀ S_1S_3 x ♂ S_1S_2 (частково фертильна комбінація); **В** – схрещування ♀ S_1S_3 x ♂ S_2S_4 (фертильна комбінація); **1** – пилкок, **2** – стовпчик, **3** – яйцеклітина (за Шмальц, 1973)

Спорофітна несумісність також контролюється системою множинних алелей, але визначається генотипом рослин, яка запилюється. У цьому випадку виявляється домінування одного алеля над іншим. Наприклад, якщо алель S_1 домінує над алелем S_2 , то пилкок рослини $S_1 S_2$ матиме несумісність з маточками рослин, які мають алель S_1 . Якщо материнська рослина має генотип $S_2 S_3$, то на його приймочках будуть проростати пилкові зернята рослин з генотипом S_1S_1 і S_1S_2 . Спорофітний тип несумісності властивий рослинам, які мають пилкові зерна з трьома ядрами (представники родин складноцвітих, хрестоцвітих).

Гетероморфна несумісність з'являється у гетеростильних рослин – гречки, первоцвіту, деяких видів льону. У гетеростильних рослин із генотипом ss або aa , квіти містять маточку із довгим стовпчиком (довгостовпчасті), а рослини Ss або Aa – з коротким. За такого типу несумісності зав'язування насіння відбувається лише у випадку, якщо пилок довгостовпчикових квітів (ss) запилить приймочки маточок короткостовпчикових квітів (Ss). Половина нащадків від такого схрещування будуть складати рослини з довгостовпчастими квітками, і половина – із короткостовпчастими.

Разом із тим зустрічаються рослини із стовпчиками трьох типів – довгим, середнім і коротким. Довжина стовпчика в цьому випадку визначається більш складно: довгі – $mmss$, середні – $MMss$ або $Mmss$, і з коротким $MMSS$, $MMSs$, $MmSs$, або $mmSs$, $mmSS$.

Хід роботи

1. Ознайомитися з особливостями будови квіток первоцвіту. Квітки правильної форми, зібрані парасолькою на стрілці (стебліні без листя); вони мають жовтий, рожевий, малиновий та інші відтінки (залежно від виду рослини). Віночок має вигляд довгої трубки з відгином, п'ятипелюстковий. Пелюстки злегка виїмчасті на верхівці. Біля основи відгину кожної квітки оранжева пляма. Біля входу до трубочки віночка 5 лусок. Чашечка п'яти-надрізна. Тичинок – 5. Маточка – 1. Зав'язь верхня.

Квітки первоцвіту подвійного роду. Деякі з них мають довгу маточку і короткі тичинки, а інші, навпаки, високі тичинки і коротку маточку (явище гетеростилії) (рис. 4).

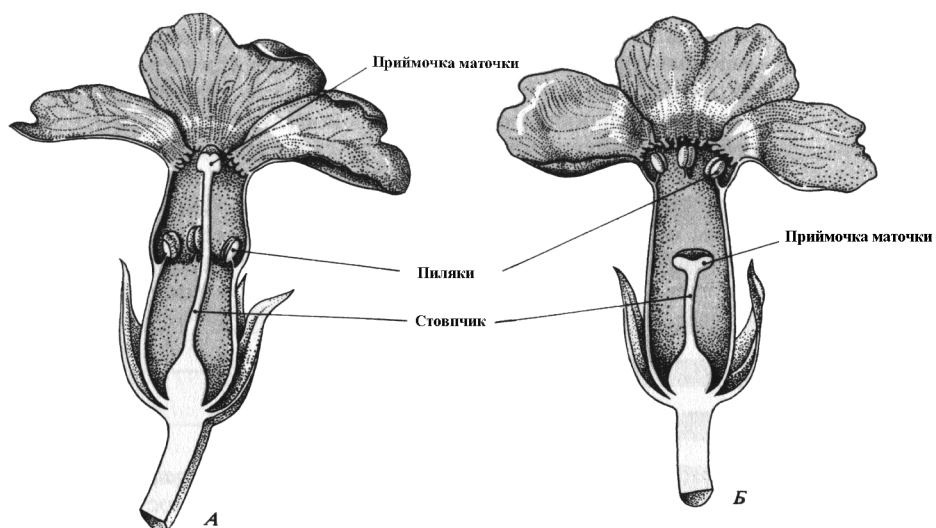


Рис. 4. Два фенотипи первоцвіту *Primula officinalis*.

А. Довго стовпчиковий фенотип характеризується довгим стовпчиком маточки і низько розміщеними пиляками. Б. Короткостовпчиковий фенотип відповідає короткому стовпчику маточки і високо прикріпленими пиляками. Таке розміщення маточки і тичинок покращує перехресне запилення рослин, які мають ці 2 типи.

У природі квітки первоцвіту запилюються джмелями і метеликами, які мають довгий хоботок, що дозволяє їм дотягтися до нектарників, які містяться біля основи трубки віночка. Завдяки різній довжині стовпчиків, приймочки одних квіток можуть бути запилені тільки пилком інших рослин. Якщо джміль сяде на квітку з низькою маточкою, то своєю головою він торкнеться високих тичинок. Перелетівши на іншу рослину з високою маточкою, він обов'язково торкнеться головою приймочки і здійснить перехресне запилення.

2. Провести самозапилення і перехресне запилення рослин первоцвіту з короткими і довгими стовпчиками. Після ознайомлення з будовою квітки первоцвіту слід переходити до

запилення. Для контрольного варіанта (без запилення) відбирають суцвіття, на яких немає квіток, що розкрилися. Недостиглі бруньки і розкриті квітки усувають за допомогою пінцета. У варіантах № 1 і 1а здійснюють примусове самозапилення без кастрації квіток.

Суцвіття відбирають без квіток, що вже розкрилися, після чого на суцвіття надівають мішечок-ізолятор з марлі або з пергаменту і зав'язують знизу на стебліні для запобігання проникненню комах. Через 2 – 3 доби, коли приймочка і пиляк достигнуть, проводять самозапилення. На рослині з генотипом *ss* збирають пилок з коротких тичинок, і наносять його на приймочки довгих маточок згідно з описаною методикою. На іншій рослині з генотипом *Ss*, навпаки, пилок збирають з довгих тичинок і наносять на короткі маточки тієї ж рослини.

У другому і третьому варіантах проводять кастрацію квіток. Другий варіант відрізняється від першого тим, що ілєгітимне запилення проводять не в межах однієї рослини, а на різних рослинах з однаковим типом будови квіток. Наприклад, беруть пилок з рослини, яка має короткі тичинки, і запилюють маточки з довгими стовпчиками, і навпаки. Після запилення на суцвіття надівають ізолятори. У цьому варіанті можливий незначний відсоток насіння, яке вже зав'язалося.

Третій варіант – примусове легітимне запилення. При цьому запиленні одержують максимальний відсоток насіння, яке зав'язалося.

3. Провести облік зав'язей. Після запилення знову надівають ізолятори, і через 2 – 3 тижні проводять облік зав'язей.

Кожний ізолятор повинен мати номер, написаний простим олівцем. На ізоляторі (можна на етикетці, яка прикріплена поруч) позначають кількість запилених квіток, дату схрещування і прізвище студента, який проводить схрещування. Облік насіння, яке зав'язується, у всіх варіантах досліду проводять за 2 – 3 тижні. Дані досліду записують у таблицю 1.

Таблиця 1

Зав'язування насіння у первоцвіту при різних способах запилення

Варіант досліду	№ ізолятора	Кількість запилених квіток	Генотипи схрещуваних форм	Зав'язування насіння	
				Абсолютна кількість	%

Контрольні питання:

1. Перерахуйте типи несумісності у рослин.
2. Чим визначається гаметофітна несумісність у рослин?
3. Чим визначається спорофітна несумісність у рослин?
4. Чим визначається гетероморфна несумісність у рослин?
5. Який тип несумісності характерний для первоцвіту?

Практичне заняття № 3

Тема: Цитогенетичний аналіз каріотипу цибулі *Allium cepa*.

Мета: Навчитися визначати каріотип рослин на прикладі цибулі.

Матеріали і реактиви: мікроскоп, предметні та накривні скельця, препарувальні голки, пінцети, скальпелі, зафіксовані корінці цибулі, ацетокармін, 45%-а оцтова кислота, розчин для обкантивання скелець, фільтрувальний папір.

Завдання:

1. Виготовити тимчасові давлені препарати апікальної меристеми цибулі.

2. В клітинах на стадії метафази порахувати кількість хромосом і встановити їх морфологічні особливості.

Теоретична частина

В селекційно-генетичних дослідженнях часто виникає потреба визначити каріотип і встановити плоїдність сорту або лінії, які включають в селекційний процес. Найбільш спіралізовані – потовщені і вкорочені – хромосоми на стадії метафази мітозу, тому саме на цій стадії вивчають каріотиби різних організмів.

У мітотичних хромосомах розрізняють потоншену частину – первинну хромосомну перетяжку або центромеру. Центромера розділяє хромосому на плечі. В залежності від розташування центромери розрізняють:

- метацентричні, або рівноплечі хромосоми;
- нерівноплечі, або субметацентричні хромосоми, з довгим і коротким плечами;

- акроцентричні хромосоми з дуже маленьким коротким плечем;

- телоцентричні хромосоми, в яких коротке плече відсутнє.

У хромосомах також зустрічаються вторинні перетяжки – потоншення хромосом, а також супутники – фрагменти хроматину, з'єднані із хромосомою хроматиновим містком.

Крім основного набору хромосом, які позначають літерою А, у деяких видів рослин і тварин трапляються додаткові – В-хромосоми.

Найважливіші показники, якими користуються при ідентифікації хромосом, наступні:

1. Абсолютна довжина хромосом, L_a , в мкм.

2. Відносна довжина хромосоми:

$$LR = \frac{\text{довжина_хромосоми}}{\text{довжина_всіх_хромосом_ядра}}, \%$$

Плечовий індекс:

$$IB = \frac{\text{довжина_довгого_плеча_хромосоми}}{\text{довжина_короткого_плеча_хромосоми}}, \%$$

Центромерний індекс:

$$IC = \frac{\text{довжина_короткого_плеча_хромосоми}}{\text{довжина_всієї_хромосоми}}, \%$$

5. Індекс спіралізації:

$$IS = \frac{\text{сумарна_довжина_двох_коротких_хромосом}}{\text{сумарна_довжина_двох_довгих_хромосом}}, \%$$

Показник IS застосовується для оцінки ступеня конденсації хромосом при відборі метафазних пластинок. Ступені конденсації хромосом у різних клітинах оцінюють і по загальній довжині

хромосом набору. Зарисовані метафазні платівки хромосом або фотографії використовують для побудови ідіограми. Для цього хромосоми вирізають і розкладають парами. При цьому враховують розмір хромосом і положення центромерної перетяжки. Вирізані хромосоми наклеюють на папір, розміщуючи центромерні райони на одній горизонтальній лінії. Слід звернути увагу на супутники хромосом.

Характеристику хромосоми записують у вигляді великої літери, яка позначає її розмір і малої літери, розташованої нижче рядка, яка відмічає положення центромери.

Наявність вторинної перетяжки (c) і супутника (t) вказується у вигляді індексу великої літери вище рядка. Цифри перед великою літерою указують на число пар схожих хромосом у гаплоїдному наборі хромосом. Для прикладу наведемо формулу каріотипу *Poligonatum humile* (купена), $2n = 20$:

$$1Lm + 1 Mmc + 3Ms + 1 Mac + 1 Sm + 2Ss + 1 Sa .$$

Довгі хромосоми позначаються буквою L, середні - M, короткі - S. Морфологічна характеристика хромосом заснована на положенні центромери. При серединному положенні центромери у метацентричної хромосоми говорять про медіанну центромеру (m); у субметацентричних хромосом центромера субмедіанна (s); положення центромери у акроцентричних хромосом зміщено до одного з коротких плечей і позначається вона літерою a.

Об'єктами можуть бути корінці цибулі-батунна, цибулі ріпчастої, кінських бобів, скереди. Можна замість корінців використовувати інші частини рослин з інтенсивним мітотичним

поділом клітин, наприклад основи молодих листочків.

Зрізаючи з проростаючого насіння корінці, слід ураховувати, що перші мітози починаються у корінцях лише після досягнення ними певних розмірів. Те ж стосується й інтенсивності мітотичної активності, максимум якої настає лише на певній стадії. Тому зрізати слід корінці, що досягли 1 – 2 см у довжину.

Якщо перед фіксацією зрізані з рослин корінці витримати у холодильнику протягом ночі або дня, якість препаратів поліпшується; збільшиться кількість мітотичних клітин, хромосоми буде видно чіткіше.

Насіння цибулі поміщають в чашки Петрі на змочений дистильованою водою папір і пророщують в термостаті при температурі 22° С. Через 24 години фіксують корінці довжиною 1,5 – 2,0 см у фіксаторі Кларка (суміш етилового спирту і льодяної оцтової кислоти у співвідношенні 3:1). Після фіксації впродовж 18 годин у холодильнику при температурі 8° С переносять корінці у 70% етиловий спирт і зберігають до виготовлення препаратів.

Каріотип цибулі і плоїдність клітин вивчають на давлених препаратах кореневої меристеми.

Для зафарбування готують розчин ацетокарміну. У колбу наливають 55 мл дистильованої води, додають 45 мл льодяної оцтової кислоти. Розчиняють у цій суміші 4-5 г карміну. Потім цю суміш кип'ятять протягом однієї години на водяній бані у колбі. Насичений розчин охолоджують і фільтрують у посудину, яку закривають пробкою.

Хід роботи

1. Помістити корінці в фарфоровий тигель із ацетокарміном.
2. Нагріти на електричній плитці до кипіння (працювати під тягою).
3. Вийняти корінці з барвника, перенести у 45%-у оцтову кислоту.
4. Помістити корінці на предметне скло в краплю 45% оцтової кислоти тонким пінцетом.
5. Скальпелем або лезом бритви відокремити конус наростання, прибрати непотрібні залишки корінця.
6. Накрити препарат накривним скельцем, а потім фільтрувальним папером видалити надлишок оцтової кислоти.
7. Легким постукуванням тупим кінцем препарувальної голки по накривному скельцю досягти того, щоб клітини розташувалися в один шар.
8. Для подальшого аналізу і фотографування тимчасового препарату накривне скельце обкантиувати розчином желатини у 45% оцтовій кислоті (придатні також лак для нігтів та інші речовини).
9. Налаштувати освітлення мікроскопа за Келером. На малому збільшенні знайти потрібну ділянку, перевести мікроскоп на більше збільшення.
10. На препаратах знайти метафазні пластинки і сфотографувати їх.
11. Використовуючи фотографії метафазних пластинок досліджуваних зразків, надати їх каріотипічну характеристику.
Замалювати і підрахувати хромосоми; записати у вигляді

таблиці результати підрахунку числа хромосом у метафазі мітозу. З фотографій метафазної платівки вирізати окремі хромосоми і розкласти їх по парах. Виміряти плечі хромосом, обчислити L^a , L^R , I^C , I^S , плечовий індекс I^B . Результати занести в таблицю 2.

Таблиця 2

Параметричні критерії хромосомного набору досліджуваних зразків

№ хромо- соми	Довжина короткого плеча, мкм	Довжина довгого плеча, мкм	Плечовий індекс I^B	Відносна довжина хромо- соми L^R	Центро- мерний індекс I^C
1					
2					
3					
4...n					

Контрольні питання:

1. Чому хромосоми вивчають на стадії метафазі мітозу?
2. Дайте визначення каріотипу.
3. За якими морфологічними ознаками розрізняють хромосоми?
4. Як визначити центромерний індекс хромосом?
5. Які типи геномних мутацій можна визначити на препаратах мітотичних хромосом?
6. Як визначити плоїдність рослин?

Практичне заняття № 4

Тема: Анафазний метод дослідження хромосомних перебудов у *Allium cepa*.

Мета: Навчитися визначати частоту хромосомних аберацій в анафазі мітозу.

Матеріали і реактиви: мікроскоп, предметні та накривні скельця, препарувальні голки, пінцети, скальпелі, зафіксовані корінці цибулі, ацетокармін, 45%-а оцтова кислота, розчин для обконтуровування скелець, фільтрувальний папір.

Завдання:

1. Виготовити тимчасові давлені препарати апікальної меристеми цибулі.

2. В клітинах на стадії анафази порахувати кількість клітин із хромосомними абераціями і обрахувати їх частоту.

Теоретична частина

Значна кількість хімічних сполук, які в міру їхнього синтезу і використання необхідно перевіряти на генетичну активність, зумовила розробку простих, надійних і недорогих методів і тест-систем для скринінгу, тобто просіювання великої кількості сполук. Для вияву мутагенів, у цих тест-системах використовують різні об'єкти і різноманітні критерії. В наш час генетична активність речовин визначається за наступними основними критеріями: 1) генними мутаціями: замінами, вставками і випаданнями пар нуклеотидів; 2) конверсією генів; 3) реципрокною, переважно мітотичною, рекомбінацією; 4) нерозходженням хромосом в мітозі;

5) хромосомними абераціями; 6) обмінами між сестринськими хроматидами.

В якості об'єктів при масовому визначенні генетичної активності тих чи інших факторів використовують культури клітин людини і тварин, вищі рослини, гриби, мікроорганізми, плодону мушку дрозофілу.

До числа швидких тестів з використанням вищих рослин відноситься облік хромосомних аберацій у корінцях традесканції, скереди, цибулі, гороху, облік рецесивних мутацій у тичинкових нитках традесканції (клон 02), підрахунок частоти реципрокної соматичної рекомбінації у рослинах сої (лінія T219).

При вивченні еколого-генетичних наслідків забруднення навколишнього середовища мутагенними і токсичними речовинами та для оцінки ефективності мутагенного чинника в індукованому мутагенезі успішно застосовують цитогенетичний метод дослідження на рослинних тест-об'єктах. Частоту хромосомних аберацій обраховують метафазним або анафазним методом на тимчасових препаратах клітин кореневої меристеми рослинних тест-об'єктів: традесканції, скереди, цибулі, гороху та інших.

Інтерес представляють вивчення частоти перебудов хромосом і аналіз їхніх типів: хромосомні, хроматидні мости, одинарні, подвійні фрагменти тощо.

Класичним методом для дослідження токсичної дії забруднювачів довкілля на живі об'єкти є тест на клітинах корінців цибулі (*Allium*-тест), який дозволяє здійснити відносно швидкий скринінг хімічних сполук із визначенням їхнього потенціального

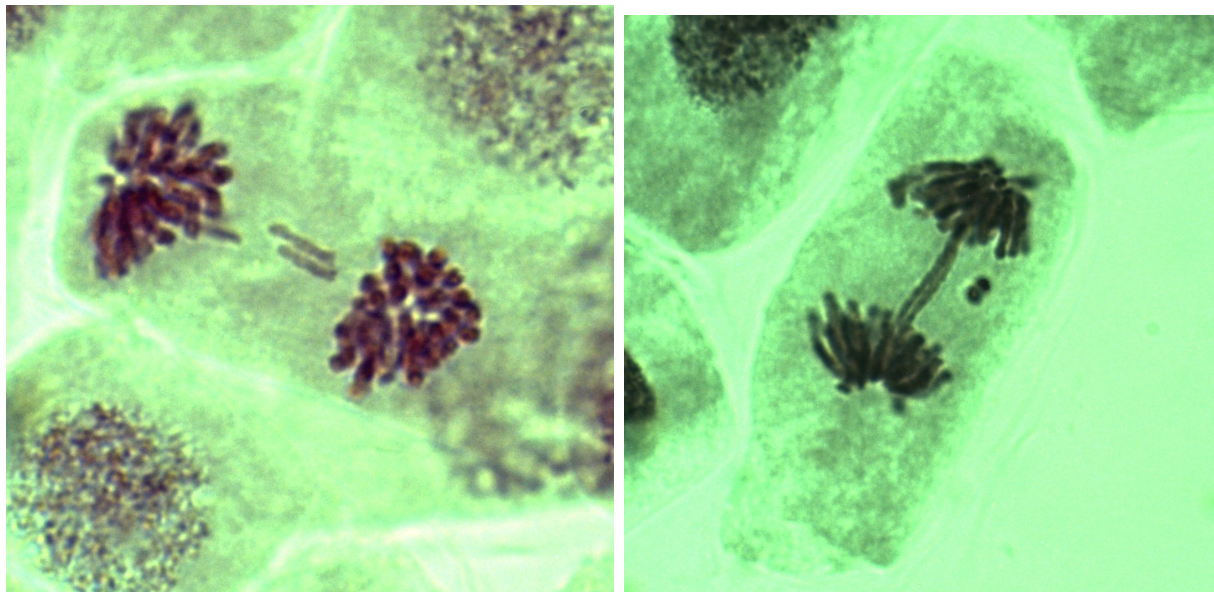
ризик. Важливою перевагою цього методу є хороша кореляція результатів цього тесту із даними, отриманими на інших тест-системах. *Allium*-тест дає можливість вивчити два аспекти токсичності: а) загальну токсичність (або фітотоксичність) на основі пригнічення росту коренів цибулі, б) генотоксичність, яка визначається мікроскопічним вивченням хромосомних аберацій і ядерних аномалій у клітинах кореневої меристеми.

Хромосомні перебудови вивчають в анафазі мітозу. Метафазний метод вважають більш точним, але він зручний лише для тих об'єктів, хромосоми яких чітко відрізняються між собою за морфологією, наприклад у скереди (*Crepis capillaris*). У більшості рослин розпізнати хромосоми за формою і величиною важко, тому частіше застосовують більш простий анафазний метод.

Один з методів вивчення мутагенної дії штучних чинників — аналіз мінливості в перших мітозах у корінцях пророслого насіння. Перші мітози спостерігаються в корінцях до 1–3 см завдовжки. Другі мітози відрізняються від перших наявністю мікроядер у клітинах.

Давлені препарати корінців дивляться спочатку при малому збільшенні, а потім при об'єктиві х 40, окулярі х 15. При ізохроматидних делеціях в анафазі можна бачити пару хроматидних фрагментів, тоді як при одинарній делеції – одинарні фрагменти. Практично відрізнити хромосомну делецію, що є парою близько розташованих фрагментів, від ізохроматидної делеції у вигляді двох фрагментів досить важко. Тому ведуть облік поодиноких і парних фрагментів, не вказуючи їх походження. Фрагменти

розташовуються між полюсами веретена поділу анафази мітозу (рис.5а).



а

б

Рис.5. Подвійний фрагмент (а) і подвійний місток з фрагментами (б) в анафазі мітозу клітин апікальної меристеми цибулі.

Асиметричні транслокації виявляються у вигляді мостів і фрагментів. Залежно від того, на якому етапі клітинного циклу виникло пошкодження, мости будуть парні або одинарні. При пошкодженні хромосом на стадії G_1 виникають хромосомні парні мости (частіше паралельні) (рис. 5б), на стадії G_2 - хроматидні одинарні мости. Результати спостережень заносять у таблицю 3.

Встановивши загальну кількість клітин з перебудовами, визначають відсоток аберантних клітин (р, %) за формулою

$$p = \frac{A \cdot 100 \%}{n},$$

де А — кількість клітин з порушеннями; n — загальна кількість переглянутих анафаз.

Частота хромосомних порушень в анафазі мітозу

№ корі нця і поля зору	Кількість клітин					
	Без поруш ень	З фрагментами		З мостами		З іншими порушенн ями
		одинарн ими	парни ми	хроматид -ними	хромосом -ними	

Якщо в одній клітині виявлено кілька типів порушень, кількість клітин з порушеннями буде менша загального числа аберацій. Число аберацій на клітину (або 100 клітин) встановлюють, поділивши загальну кількість аберацій (С) на число переглянутих клітин (n).

Після підрахунку відсотка перебудов визначають помилку репрезентативності (s_p , %) за формулою

$$s_p, \% = \sqrt{\frac{p(100-p)}{n}};$$

де p - відсоток хромосомних перебудов; n - загальне число переглянутих анафаз.

Істотність різниці за частотою хромосомних перебудов між варіантами досліду і контролем визначають за t - критерієм Стьюдента.

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{s^2_{p_1} + s^2_{p_2}}}$$

Табличне значення t - критерія Стьюдента при числі ступенів вільності $d.f. \geq 98$ дорівнює 1,98 для рівня значущості $P \leq 0,05$ і 2,58 для рівня значущості $P \leq 0,01$ (дод. А).

Хід роботи

1. Виготовити давлені препарати апікальної меристеми корінців цибулі згідно пропису, наведеному в практичній роботі № 3.

2. Настроїти освітлення мікроскопа за Келером. На малому збільшенні знайти потрібну ділянку, перевести мікроскоп на більше збільшення.

3. Підрахувати загальну кількість клітин на стадії анафази (об'єднати дані одного варіанту досліджень, одержані різними студентами) і кількість клітин із хромосомними абераціями, занести дані в таблицю.

4. Обрахувати відсоток клітин із перебудовами, визначити помилку репрезентативності та визначити істотність різниці між частотою хромосомних перебудов у варіантах досліду і контролем за t - критерієм Стьюдента.

Контрольні питання:

1. Перерахуйте типи хромосомних перебудов.
2. Які тести мутагенної активності ви знаєте?
3. В чому полягають переваги *Allium*-тесту?
4. Опишіть методику виконання *Allium*-тесту.

Практичне заняття № 5

Тема: Техніка схрещування в селекції рослин.

Мета: Оволодіти методикою схрещування основних сільськогосподарських рослин.

Матеріали і обладнання: лінії або сорти пшениці, кукурудзи, томату в фазі бутонізації; ножиці, пінцети, скальпелі, пензлі, пакетики для збору пилку, ізолятори, вата, нитки, спирт.

Завдання:

1. Ознайомитися з виготовленням основних типів ізоляторів.
2. Каструвати і запилювати по 5-10 суцвіть або квітів рослин, потрібних для гібридологічного аналізу.

Теоретична частина

Проведення контрольованих схрещувань потребує знань біології цвітіння і запліднення певного виду рослин. Техніка схрещувань полягає у підготовці суцвіття до схрещування, кастрації пиляків у квітах або суцвіттях, ізоляції і штучного запилення.

Схрещування (гібридизація) у рослин відбувається шляхом нанесення пилку батьківських рослин на приймочку материнських квіток. Процес схрещування складається з чотирьох операцій: підготовки, кастрації, ізоляції, запилення.

1. Підготовка суцвіття або груп поодиноких квіток для схрещування полягає у відборі суцвіття або пагона з поодинокими квітками. Квітки, які розкрилися, та недозрілі бруньки усувають. Деяким рослинам (наприклад, пшениці, рису) обрізують ості і кінчики квіткових лусок для кращого вилучення пиляків.

2. Кастрація – видалення пиляків з квітки для запобігання самозапилюванню. Техніка кастрації залежить від особливості будови квітів у певної культури. Кастрацію проводять у той час, коли пиляки ще не дозріли, але достатньо сформувались і їх можна видалити, не пошкоджуючи маточку. В сонячну суху погоду це краще робити вранці до 12 години або ввечері – після 18 години, щоб приймочка маточки не піддавалась впливу сонячних променів. За допомогою пінцета квітку розкривають і всі пиляки ретельно усувають. У деяких рослин, наприклад, у смородини чорної, віночок зривають повністю.

3. Ізоляція. Протогінічні рослини (наприклад, абрикос) можна запилювати одразу після кастрації; протерандричні, наприклад, кукурудзу, слід на 1–2 дні залишити під ізолятором для визрівання приймочки. Ізолятор найкраще виготовляти з пергаментного паперу, краї якого склеювати кістковим клеєм або прошивати нитками з метою запобігання розклеюванню ізоляторів під час дощу. Перш ніж накладати ізолятор, потрібно ще раз оглянути суцвіття і пересвідчитися, що не залишилося жодного пиляка. У тому місці, де потрібно зав'язувати ізолятор, між пергаментом і стеблиною треба покласти шар вати, щоб запобігти проникненню всередину ізолятора дрібних комах, які можуть спричинити неконтрольоване запилення. На ізоляторі або спеціальній етикетці олівцем записують дату кастрації, схему схрещування і кількість квіток, які було кастровано. Дрібні квіти ізолюють, обгортаючи їх шаром вати.

4. Запилення – нанесення пилку батьківської рослини на приймочку материнської. Пилок наносять тонким пензликом або пильником – шматочком гумки для олівця, прикріпленого до основи – шматку дроту або препарувальної голки. Працюючи з різними сортами (генотипами), пензлик потрібно після роботи з кожним сортом занурювати у флакончик зі спиртом для нейтралізації пилкових зерен, що залишились на пензлику. Пилок заготовляють у той день, коли планується провести запилення або за день до цього. Якщо пиляки ще не розкрилися, то їх рівним шаром кладуть на чистий папір і переносять у термостат при температурі +25 °С. За кілька годин вони репаються і пилок висипається. Пилок зсипають до пробірки 4 – 5 см заввишки і затикають шматочком вати. Після запилення на суцвіття знову надівають ізолятор. Через 10—15 днів після цвітіння ізолятори знімають, підраховують кількість зав'язей і визначають відсоток зав'язування насіння.

Хід роботи

1. Виготовити пергаментні ізолятори для пшениці розміром 4 × 10 см і пергаментні ізолятори для кукурудзи розміром 10 × 30 см. Для більшості рослин, які запилюються вітром, застосовують пергаментні ізолятори. Їх виготовляють, зшиваючи на швейній машинці вдвічі загнуті краї або склеюючи водостійким клеєм.
2. Каструвати і запилити 5-10 суцвіть або квітів пшениці, кукурудзи або томату.

Схрещування пшениці. Суцвіття пшениці – складний колос. Квіти двостатеві, містять маточку і 3 тичинки. Пшениця –

самозапильник. Пиляки в квітках дозрівають дещо пізніше, ніж маточка, тому запилення можна проводити одночасно з кастрацією.

Для підготовки колоса до схрещування, якщо материнський сорт остистий, ості біля основи обрізають ножицями, пінцетом видаляють 3-4 недорозвинутих колоска у верхній і нижній частині колоса. У кожному із колосків залишають тільки дві нижніх добре розвинених квітки, всі інші в кожному колоску видаляють пінцетом. В колосі після цього залишається 16-20 добре розвинених квітки. Із квіток обережно, щоб не пошкодити маточку, видаляють усі три тичинки. Після кастрації на колос одягають ізолятор. Запилюють в той самий день або через 1-3 доби після кастрації.

Із квітів батьківської форми попередньо збирають в баночку або пакет зрілі, але не тріснуті пиляки. Запилення проводять, вкладаючи в кожен квітку 1-2 пиляки; нанесенням пилку пензликом на приймочку маточки або вкладають в ізолятор, зрізаний зверху, колос із зрілими пиляками і прокручують його. Після запилення колосся ізолюють.

Схрещування кукурудзи. Кукурудза – роздільностатева однодомна рослина. Жіночі квітки мають одну маточку, вони зібрані в суцвіття – початок. Чоловічі квітки містять по три тичинки, вони зібрані у суцвіття – волоть на верхівці стебла. Жіночі суцвіття за кілька діб до появи приймочок ізолюють пергаментними ізоляторами.

Пилок збирають струшуванням волотей над посудиною або пакетом. Для запилення ізолятор зверху зрізають, висипають на приймочки зібраний пилок і знову зав'язують.

Схрещування томатів. Томат – самозапильна рослина з двостатевими квітами, зібраними у суцвіття – завиток. На суцвітті залишають квіти у стадії бутонізації, які ще не розкрилися, але вже мають жовтий віночок. Тичинки томата зрослі в одну тичинкову колонку, яку обережно видаляють. На квітку одягають ватний ізолятор і етикетку з варіантом запилення і датою. Запилюють через декілька діб нанесенням пилку на приймочку маточки. Можна запилення проводити одночасно з кастрацією, обережно надіваючи на маточку кастрованої квітки зрілу пилкову колонку з квітки батьківської форми. Після запилення квіти ізолюють.

Контрольні питання:

1. Перерахуйте основні етапи техніки схрещування.
2. Як виготовляють пергаментні ізолятори?
3. Опишіть техніку схрещування пшениці.
4. Опишіть техніку схрещування кукурудзи.
5. Опишіть техніку схрещування томату.

Практичне заняття № 6

Тема: Схеми схрещування, які застосовують в селекції.

Мета: Навчитися вибирати схему схрещування відповідно до мети селекції.

Матеріали: таблиці різних схем схрещувань, картки із завданнями для студентів (додаток Б).

Завдання:

1. Ознайомитися із основними типами схрещувань, які застосовують в селекції.
2. Підібрати схему схрещування відповідно до виду рослин і мети селекції, які вказані на картці із завданням.

Теоретична частина

Типи схрещувань, які застосовують в селекції, поділяють на дві групи: одноразові і багаторазові (табл. 4). У першому випадку відбір проводять в потомствах від однієї комбінації схрещування; в другому гібриди повторно схрещують з одним із батьків, із третім сортом або іншим гібридом, тобто здійснюють певну систему схрещувань.

Таблиця 4

Типи схрещувань

Одноразові:	Багаторазові:
прості парні	зворотні (беккросні)
реципрокні	конвергентні
множинні	східчасті
топкроси	міжгібридні
диалельні	

Вибір певного типу схрещування визначається біологічними особливостями культур, характером вихідного матеріалу, який є у розпорядженні селекціонера, вимогами до майбутнього сорту та іншим.

Простими схрещуваннями називаються схрещування між двома батьківськими формами, проведеними одночасно (одноразово). Формоутворюючий процес у гібридних популяціях, одержаних від простих схрещувань, відбувається на основі перерозподілу спадкового матеріалу в рівній мірі від кожного з батьків. Різновидом простих схрещувань є реципрокні схрещування, коли материнську і батьківську форму міняють місцями (рис. 6). Їх застосовують, коли успадкування залежить від сорту, на якому дозріває гібридне насіння (наприклад, маса насіння).

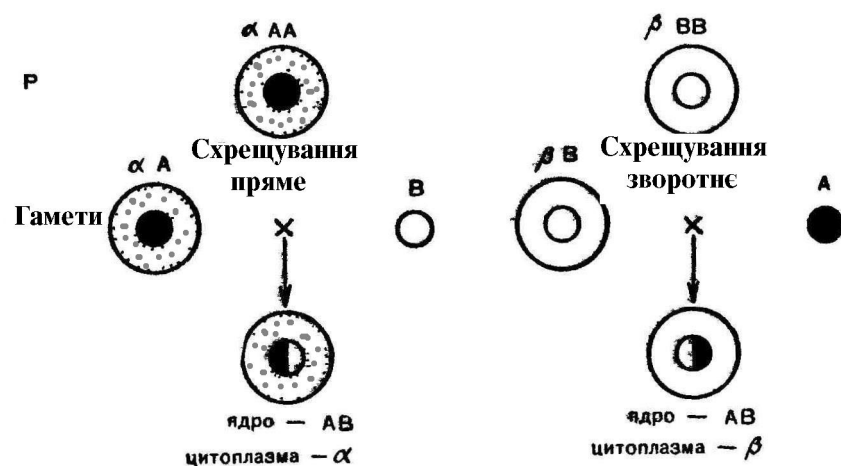


Рис. 6. Схема реципрокного схрещування.: α і β – цитоплазма батьківських сортів, AA і BB – їх геноми (За Гужов, 1984)

Множинні прості схрещування здійснюються запиленням материнських рослин сумішшю пилку декількох батьківських форм. На множинних схрещуваннях ґрунтується селекційний метод полікросів.



Топкроси частіше всього використовують при визначенні загальної комбінаційної здатності ліній в селекції на гетерозис. Для цього досліджувані лінії схрещують із сортом або лінією-аналізатором або тестером.

Диалельні схрещування передбачають отримання гібридів між усіма досліджуваними сортами або лініями. Їх застосовують для визначення специфічної комбінаційної здатності в селекції на гетерозис. Кількість всіх можливих комбінацій визначається, як $x = \frac{n(n-1)}{2}$ тільки для прямих комбінацій, де n – кількість ліній, які використовуються в гібридизації.

Складні схрещування. Схрещування, в яких беруть участь більш ніж дві батьківські форми, або коли гібридне потомство схрещують з одним із батьків, називають складним.

При використанні методу зворотних (беккросних) схрещувань отриманий гібрид повторно схрещують з одним із батьків. Цей метод використовують у випадках, коли певному сорту А хочуть передати одну або декілька ознак сорту В без порушення цілісної структури генотипа сорту А. В цьому випадку сорт А носить назву рекурентного батька, сорт В – донора, а схрещування – насичувального, яке найчастіше застосовують для виведення сортів, стійких до певних хвороб (рис. 7).

Їх також застосовують для переборення безплідності гібридів першого покоління при віддаленій гібридизації.

Східчасті схрещування застосовують за необхідності поєднати в одному генотипі спадковість кількох батьківських форм (рис.11). Їх можна зобразити у вигляді схеми схрещування:

$$P \quad \text{♀} \quad [(A + B) \times C] \times \text{♂} \quad \Gamma$$

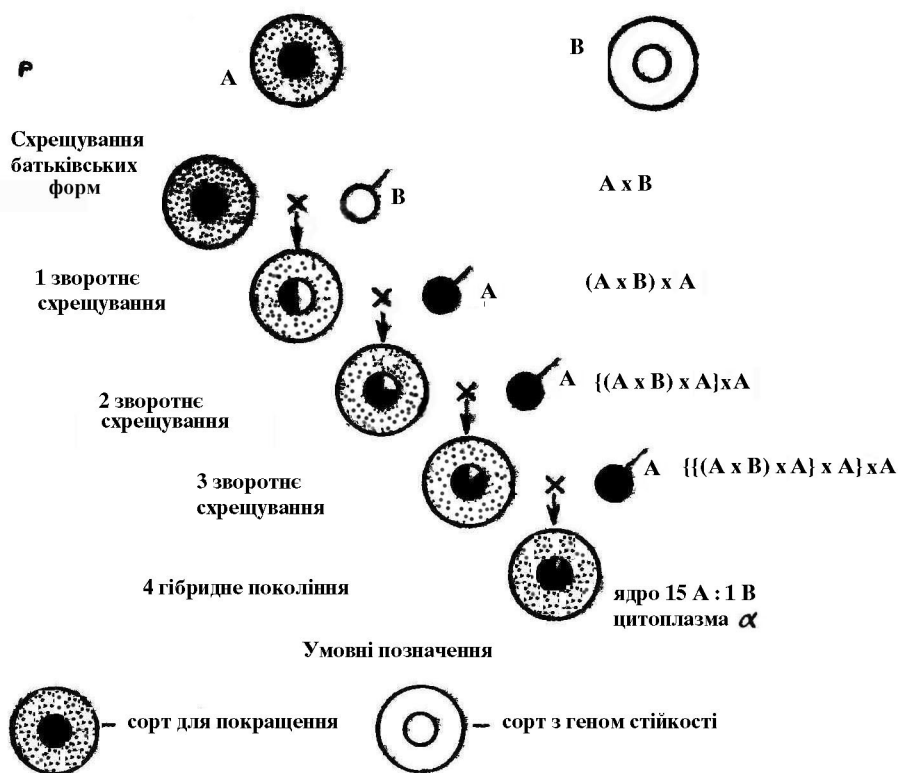


Рис. 7. Схема зворотніх схрещувань (бекросів): α і β – цитоплазма батьківських сортів, AA, BB – їх геноми. (За Гужов, 1984)

Метод складного східчастого схрещування був успішно розроблений і вперше застосований А. П. Шехурдіним для виведення саратовських сортів пшениці. Пізніше його удосконалив і

застосував П. П. Лук'яненко для створення сорту озимої пшениці Безоста-1. Цей метод відомий як метод міжгібридних схрещувань. При міжгібридних схрещуваннях об'єднання спадкових задатків декількох батьків здійснюється не послідовно, як при східчастій гібридизації, а паралельно, шляхом отримання простих гібридів із наступним їх схрещуванням (рис. 8):

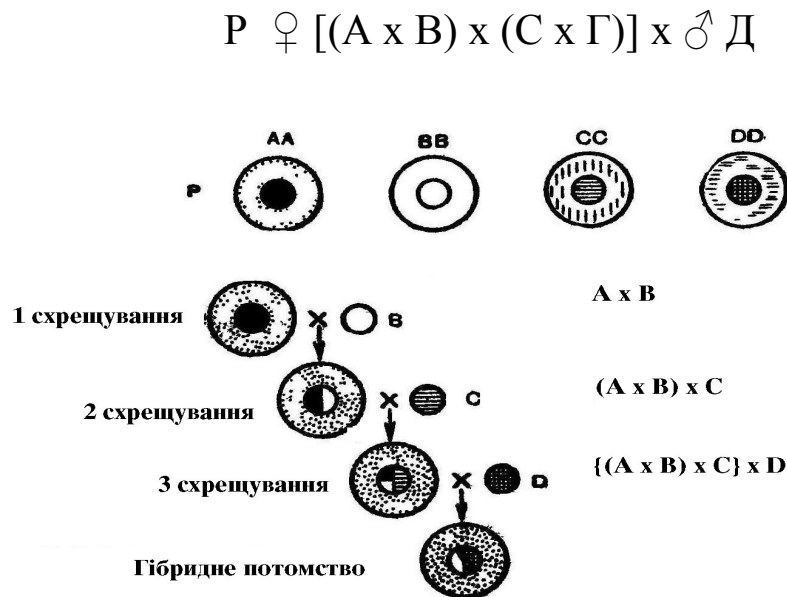


Рис. 8. Схема східчастих схрещувань. AA, BB, CC, DD – геноми сортів, кращі ознаки яких селекціонер прагне поєднати (За Гужов, 1984).

Метод конвергентної селекції ґрунтується на застосуванні паралельних поворотних схрещувань різних сортів-донорів з одним і тим же рекурентним батьком для передачі йому одночасно декількох цінних ознак. Об'єднання ознак в одному сорті здійснюється на завершальному етапі селекції шляхом схрещування між собою отриманих ліній аналогів і пере комбінацією генотипів цих ліній (рис.9).

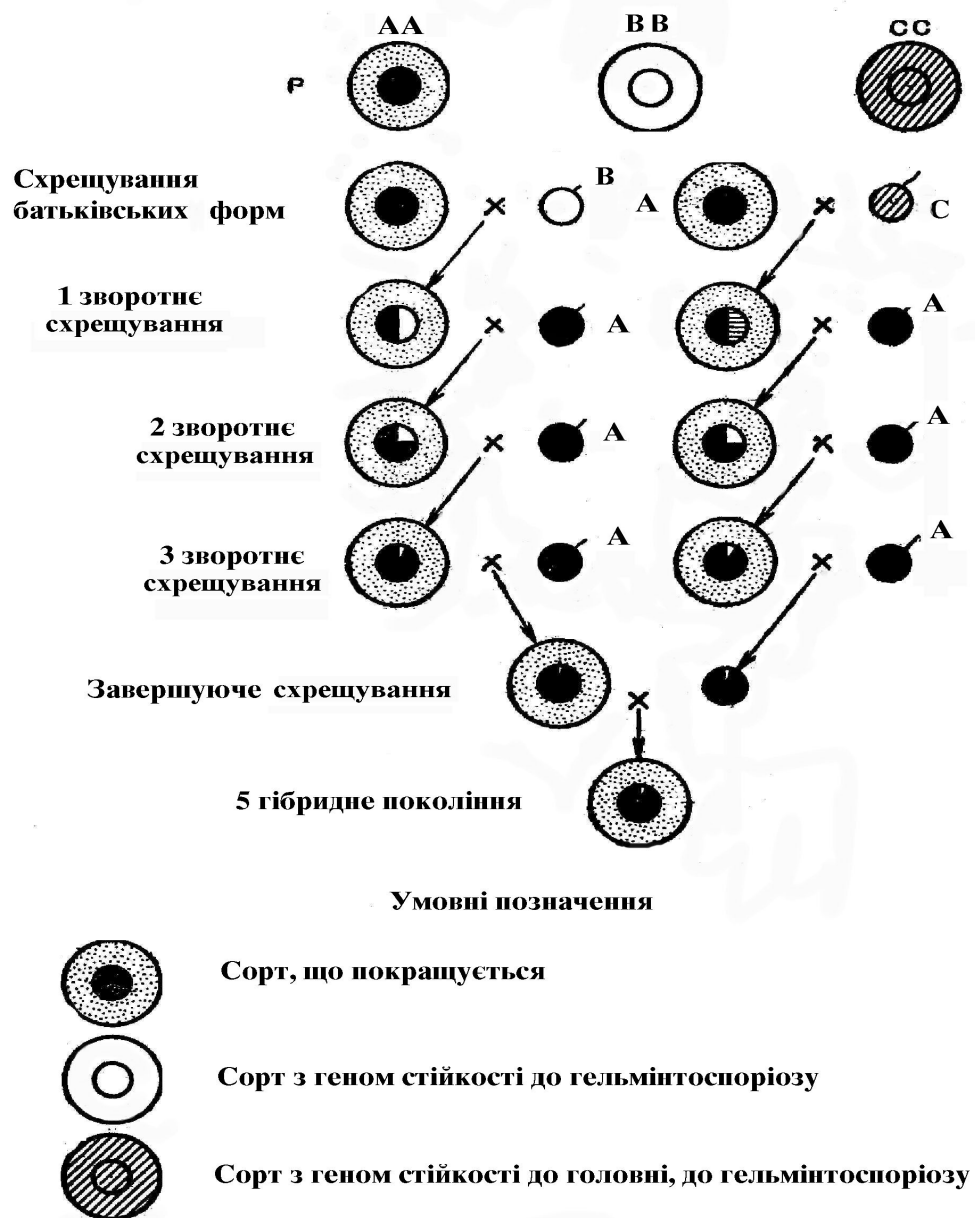


Рис. 9. Схема селекції на основі конвергентних схрещувань (За Гужов, 1984).

Хід роботи

1. Ознайомитися із основними типами схрещувань, які застосовують в селекції.
2. Підібрати схему схрещування відповідно до виду рослин і мети селекції, які вказані на картці із завданням.

Контрольні питання:

1. Опишіть типи простих схрещувань.
2. Опишіть типи складних схрещувань.
3. Який тип схрещування використовують для визначення загальної комбінаційної здатності?
4. Який тип схрещування використовують для визначення специфічної комбінаційної здатності?

Практичне заняття № 7

Тема: Аналіз мінливості кількісних ознак у пшениці

Мета: Навчитись статистично оцінювати модифікаційну мінливість, варіабельність ознак.

Матеріали і обладнання: снопи пшениці двох сортів, лінійка, калькулятор.

Завдання:

1. Виміряти ознаки, скласти варіаційний ряд, побудувати гістограму, провести статистичну обробку даних: визначити середнє арифметичне значення, середнє квадратичне відхилення, коефіцієнт варіації.
2. Порівняти варіабельність різних ознак кожного сорту, порівняти значення однакових ознак у різних сортів за t-критерієм Стьюдента.

Теоретична частина

Мінливість – явище, протилежне спадковості. Вона полягає у зміні спадкових задатків, а також у варіабельності їх проявів у процесі розвитку організмів під час взаємодії з навколишнім середовищем. Розрізняють мінливість спадкову (генотипову) і неспадкову (фенотипову або модифікаційну).

Модифікаціями називають фенотипові зміни, які виникають під впливом умов середовища і не зачіпають спадкової інформації. Розмір (спектр) модифікаційної мінливості обмежений нормою реакції. Норма реакції – це діапазон мінливості, в межах якої залежно від умов середовища один і той же генотип здатний давати різні фенотипи. Модифікаційні зміни не успадковуються, але успадковується норма реакції певного генотипу.

Модифікаційна мінливість більш характерна для кількісних ознак, хоча спостерігається і для якісних.

Хід роботи

1. Студентам поділитися в групи по двоє. Виміряти в залежності від отриманого завдання у 50 рослин довжину стебла пшениці, довжину колоса, кількість зерен у колосі, масу зерен у колосі різних сортів пшениці.

2. Скласти варіаційний ряд. Для дискретних ознак (кількість зерен у колосі) із незначним розмахом мінливості середнє класове значення буде дорівнювати значенню варіант (15, 16, 17...21). Для ознак, які представлені неперервними змінними, необхідно визначити класові інтервали. Для цього необхідно вибрати

найменше і найбільше значення і визначити розмах мінливості цієї ознаки. Приблизне число класів за Старджесом $k=7$. Знайти класовий інтервал $\lambda = \frac{X_{\max} - X_{\min}}{k}$. Встановити класові границі таким чином, щоб нижня границя першого класу була менша за мінімальне значення ознаки, а верхня границя останнього класу була більша за максимальне значення ознаки.

3. За методом конвертів рознести окремі значення за класами. Знайти частоти варіант f_i кожного класу.

4. Знайти середні класові значення x_{ci} . Побудувати гістограму варіаційного ряду.

5. Провести статистичну обробку даних. Варіаційний ряд і необхідні розрахунки записати у вигляді таблиці 5.

6. Визначити середнє арифметичне значення, середнє квадратичне відхилення, коефіцієнт варіації досліджуваної ознаки.

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^k f_i \cdot x_{ci}; \quad s = \sqrt{\frac{\sum f_i \cdot (x_{ci} - \bar{x})^2}{n-1}}; \quad C_v = \frac{s_x}{\bar{x}} \cdot 100\%$$

Таблиця 5

Варіаційний ряд і статистична обробка даних

Границі класів	x_{ci}	f_i	$f_i \cdot x_{ci}$	$x_{ci} - \bar{x}$	$(x_{ci} - \bar{x})^2$	$f_i (x_{ci} - \bar{x})^2$
			$\sum f_i \cdot x_{ci}$			$\sum f_i (x_{ci} - \bar{x})^2$

7. Порівняти варіабельність різних ознак всередині сорту за коефіцієнтом варіації, визначити істотність різниці між значеннями однакових ознак у різних сортів за t - критерієм Стюдента.

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{s_1^2 + s_2^2}} \cdot \sqrt{n}$$

Табличне значення t - критерія Стюдента при числі ступенів волі d.f. ≥ 98 дорівнює 1,98 для рівня значимості $P \leq 0,05$ і 2,58 за рівня значимості $P \leq 0,01$ (дод. А). Число ступенів вільності розраховують за формулою d.f. = $n_1 + n_2 - 2$.

Контрольні питання:

1. Яку мінливість називають модифікаційною?
2. Чим модифікаційна мінливість відрізняється від генотипової?
3. Які типи модифікаційної мінливості ви знаєте?
4. Що таке норма реакції?
5. Чи відрізняються досліджувані сорти за нормою реакції окремих ознак?
6. Які з досліджених ознак є більш і менш варіабельними?

Практичне заняття № 8

Тема: Гетерозис

Мета: Навчитись оцінювати величину гетерозису.

Матеріали і обладнання: таблиці, зошити, калькулятор.

Завдання:

1. Ознайомитися з методами оцінювання гетерозису.
2. Дати відповіді на завдання щодо визначення гетерозису.

Теоретична частина

Явище збільшення потужності, продуктивності гібридів першого покоління в порівнянні з батьківськими формами отримало назву гетерозису. Вперше гетерозисні гібриди були отримані німецьким ботаніком Кельрейтером в другій половині XVIII століття. Однак, поняття гетерозис було запропоновано в 1914р. Шеллом. Вивчення причин гетерозису дозволило встановити, що ефект гетерозису в основному обумовлений гетерозиготним генотипом потомства F_1 .

Розрізняють (Густавсон, 1951) три типи гетерозису: репродуктивний – збільшення кількості генеративних органів, числа, величини плодів, насіння; соматичний – пов'язаний з потужністю розвитку вегетативних органів рослин; адаптивний гетерозис або пристосувальний – тобто підвищена посухостійкість, зимостійкість, краща пристосованість до несприятливих факторів середовища. Однак, одночасно всі типи гетерозису не проявляються, можна спостерігати високий гетерозис у розвитку однієї ознаки і відсутність гетерозису іншої. В даний час гетерозис знайшов широке застосування у виробництві. Гетерозисні гібриди

широко використовуються у томату, огірка, капусти, соняшнику, цукрових буряків і т.д.

В залежності від вихідних форм розрізняють міжсортовий гетерозис, коли схрещуються два різних сорти (А х В), сортолінійний (А х І), міжлінійні гібриди, коли схрещуються лінії (І₁ х І₂); подвійні міжлінійні (І₁ х І₂) х (І₃ х І₄). Можливості застосування гетерозису визначаються щорічним виробництвом гібридного насіння.

При виробництві гібридного насіння велике значення має застосування ліній або сортів з ЦЧС, що дозволяє значно знизити витрати на виробництво гібридного насіння, тому виключається необхідність ручного видалення чоловічих елементів квітки (кастрації квіток).

Гетерозис проявляється тільки в першому поколінні, у другому поколінні відбувається розщеплення гібридів F₁, що призводить до зниження гетерозисного ефекту.

Зниження врожайності гетерозисних гібридів у другому поколінні можна розрахувати за формулою:

$$F_2 = F_1 - (F_1 - P_c) / n,$$

де P_c – середня врожайність батьківських форм, ліній,

F₁ – фактична врожайність гібридів першого покоління,

n – число ліній, об'єднаних у гібриді.

У генетичних дослідженнях велику увагу приділяють оцінці ступеня і характеру прояву гетерозису у гібридів F₁. За елементами продуктивності встановлюються ступінь прояву гетерозису.

Розрізняють істинний гетерозис $\Gamma_{іст}$ - здатність рослин F_1 перевершувати за конкретною ознакою або комплексом ознак кращу з батьківських форм. Його визначають у відсотках за формулою (Омаров Д. С., 1975 р.):

$$\Gamma_{іст} = \frac{F_1 - K_B}{K_B} \cdot 100\% ;$$

де K_B – показник кращої батьківської форми,

F_1 – показник гібриду першого покоління.

Гіпотетичний (середній) гетерозис $\Gamma_{гіп}$ визначається у відсотках по відношенню до середнього значення даної ознаки у батьківських форм (C_B) і обчислюється за формулою (Дж.Леслі, 1982 р.):

$$\Gamma_{гіп} = \frac{F_1 - C_B}{C_B} \cdot 100\% ;$$

де C_B – середній показник обох батьківських форм.

F_1 – показник гібриду першого покоління.

Конкурсний гетерозис ($\Gamma_{кон}$) дозволяє говорити про практичну цінність даної гібридної комбінації і показує, наскільки відсотків гібриди F_1 перевершують кращий районований сорт або гібрид.

$$\Gamma_{кон} = \frac{F_1 - K_{PC}}{K_{PC}} \cdot 100\% ;$$

де K_{PC} - показник досліджуваної ознаки в кращому районованому сорті або гібриді.

Під час оцінки ступеня прояву гетерозису велике значення має вивчення ступеня успадкування досліджуваного кількісної ознаки.

Ступінь успадкування визначають за коефіцієнтом домінування. Коефіцієнт домінування H характеризує ступінь фенотипового прояву одного або декількох домінантних генів, що детермінують розвиток даної кількісної ознаки і показує, у скільки разів величина ознаки в гібридів першого покоління перевищує середнє його значення у рослин батьківських форм та чим зумовлений прояв гетерозису. Коефіцієнт домінування розраховують за формулою Гріфінга, 1956 р.:

$$H = \frac{F_1 - C_B}{K_B - C_B} \cdot 100\% ;$$

де C_B – середній показник обох батьківських форм,

K_B – показник кращої батьківської форми

F_1 – показник гібриду першого покоління,

Розрізняють:

1. Наддомінування батьківської форми з меншою величиною ознаки: $H < -1$.
2. Повне домінування батьківської форми з меншою величиною ознаки: $H = -1$.
3. Неповне домінування батьківської форми з меншою величиною ознаки: $-1 < H < 0$.
4. Проміжний характер успадкування: $H = 0$.
5. Неповне домінування батьківської форми з більшою величиною ознаки: $0 < H < +1$.
6. Повне домінування батьківської форми з більшою величиною ознаки: $H = 1$.
7. Наддомінування - гетерозис: $H > +1$.

Для отримання гібридного насіння використовують, як зазначалося вище, чисті лінії, але попередньо визначають їх загальну та специфічну комбінаційну здатність. При визначенні ЗКЗ всі лінії схрещуються з однією кращою лінією - тестером. СКЗ виявляється за допомогою диаллельних схрещувань.

Кількість комбінацій диаллельних схрещувань (гібридів), які необхідно провести для визначення специфічної комбінаційної здатності (СКЗ), знаходять за формулою:

$$K = n(n-1): 2$$

де К - кількість одержуваних гібридів (без реципрокного схрещувань);

n - число аналізованих ліній.

Хід роботи

Завдання 1. Ознайомитися з методами оцінювання гетерозису.

Завдання 2. Дати відповіді на завдання щодо визначення гетерозису.

1. Визначити кількість комбінацій диаллельних схрещувань (гібридів), які необхідно провести для оцінки специфічної комбінаційної здатності: а) 50 самозапилених ліній; б) 36 самозапилених ліній; в) 15 самозапилених ліній з врахуванням материнського ефекту.

2. Врожайність самозапилених ліній, що входять до складу подвійного міжлінійного гібрида, становить 14, 13, 10 і 15 ц з 1 га, а урожай першого покоління цього гібрида дорівнює 53 ц з 1 га. Визначити, наскільки знизиться врожай у цього гібрида після першого пересіву насіння першого покоління.

3. Подвійний міжлінійний гібрид, який дав у першому поколінні урожай 60 ц з 1га, отриманий від схрещування чотирьох самозапиленних ліній, середня врожайність яких 16 ц з 1га. Визначити врожайність цього гібриду у другому поколінні.

При інбридингу відносну чисельність гетерозигот по одній парі алелей визначають за формулою $(1/2)^n$, а чисельність гомозигот дорівнює $1 - (1/2)^n$, де n - число інбредних поколінь.

4. У першому поколінні гібрида ячменю число гетерозиготних форм за певною парою алелей становить 100%. Визначити частку гомозиготних форм в потомстві цієї рослини після самозапилення в F_5 .

5. Визначити відсоток гетерозиготних форм за однією парою алелей гену після: а) чотирьох; б) шести; в) восьми послідовних поколінь інбридингу.

6. Одержані наступні показники ознаки маса 1000 насінин сої у батьківських форм і гібридів F_1 (табл. 6). Визначити коефіцієнт домінування, істинний, гіпотетичний та конкурсний гетерозис.

Контрольні питання

1. Наведіть визначення гетерозису?
2. Як оцінити зниження гетерозисного ефекту в другому поколінні?
3. Опишіть методи оцінювання гетерозису?
4. Як розраховують коефіцієнт домінування та про що він свідчить?

5. Скільки комбінацій схрещувань необхідно провести для визначення специфічної комбінаційної здатності?
6. Які типи схрещування застосовують для визначення загальної та специфічної комбінаційної здатності?

Таблиця 6

Сорт, гібрид	Маса 1000 насінин, г
Дон 21	165
КС 7/08	140
КС 9/08	150
Диво	190
Дельта	170
F ₁ ♀ КС 7/08 x ♂ КС 9/08	130
F ₁ ♀ Дон 21x ♂ Диво	165
F ₁ ♀ КС 7/08 x ♂ Диво	145
F ₁ ♀ Дон 21x ♂ Дельта	170
F ₁ ♀ КС 9/08 x ♂ Дельта	150
F ₁ ♀ Дельта x ♂ Дон 21	190

Практичне заняття № 9

Тема: Мікроклональний метод розмноження картоплі

Мета: Навчитись розмножувати стерильні рослини у культурі *in vitro*.

Матеріали і реактиви: пробірки із стерильним живильним середовищем Мурасіга-Скуга, підставки, стерильний бокс, спиртівки, голки для перенесення живців, чашки Петрі, скальпелі, пінцети, культуральний бокс із освітленням і терморегулюванням, пробірки із стерильними рослинами картоплі.

Завдання:

1. Поживцювати стерильні рослини картоплі.
2. Простежити за процесом органоутворення із меристеми рослини.
3. Порівняти здатність до вегетативного розмноження різних сортів картоплі.

Теоретична частина

Вегетативне розмноження рослин широко застосовується людством протягом багатьох сторіч. У зв'язку з інтенсифікацією сільського господарства розроблені принципово нові технології прискореного вегетативного розмноження майже для 2400 видів рослин, які одержали назву „мікроклонального розмноження рослин” (розмноження рослин *in vitro*).

Мікроклональне розмноження рослин ґрунтується на їх високій регенераційній здатності – здатності до відновлення організмом втрачених або пошкоджених тканин (органів).

Найбільш поширеним методом регенерації рослин у культурі *in vitro* є органогенез – утворення пагонів, коренів або рослин-регенерантів безпосередньо з експланту (апекса, бруньки, листка, калюсної тканини та ін.).

Регенерація рослин із експлантів дозволяє отримати велику кількість генетично однорідних рослин (клонів), при цьому генетична (сомаклональна) мінливість майже відсутня порівняно з регенерацією рослин через культуру тканин, клітин або протопластів.

Технологія мікроклонального розмноження рослин складається з таких основних етапів:

1. Відбір експлантів і введення їх в культуру.
2. Активація розвитку пагонів з експланту.
3. Укорінення пагонів.
4. Переведення одержаних рослин із стерильних умов у ґрунт, їх адаптація в умовах *in vivo*.

Мікроклональне розмноження рослин використовують для швидкого розмноження рослин із цінним генотипом та в цілях позбавлення рослин, зокрема картоплі, від вірусної інфекції, яка значно знижує врожайність.

З метою позбавлення рослин від інфекції виділяють верхівкову точку росту розміром 0,075-0,1 мм і переносять її у пробірки зі спеціальним культуральним середовищем, яке містить у збалансованому стані макро- і мікроелементи, вітаміни і фітогормони. При утворенні пагонів поживне середовище повинно містити цитокінінів більше, ніж ауксинів. Розвиток верхівкової

меристеми, яка є тотипотентною, у рослину відбувається протягом шести місяців.

Після цього рослини із пробірок живцюють, розрізаючи рослину посередині меживузля. Кожен живець повинен містити один листок із пазушною брунькою. Живці переносять у пробірки з 20 мл спеціального живильного середовища, оптимізованого за вмістом макро- і мікроелементів, вітамінів і фітогормонів. Середовище повинно містити ауксинів більше, ніж цитокінінів або зовсім не містити цитокінінів та ауксинів.

Для мікротонального розмноження картоплі використовують модифіковане середовище Мурасіге-Скуга (табл. 7).

Таблиця 7

Оптимальний склад середовища для мікротонального розмноження картоплі

№ п/п	Склад	Кількість на 1 л бідистиляту
Макросолі		
1.	NH_4NO_3	1,25 г
2.	KNO_3	1,25 г
3.	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,77 г
4.	KH_2PO_4	0,97 г
Мікросолі		
1.	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$250 \text{ мг} \times 10^{-3}$
2.	H_3BO_3	$6,2 \text{ г} \times 10^{-3}$

3.	MnSO ₄ · 7H ₂ O або	22,3 г x 10 ⁻³
4.	MnSO ₄ · 5H ₂ O	19,4 г x 10 ⁻³
5.	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	10,58 г x 10 ⁻³
6.	KI	830 мг x 10 ⁻³
7.	CuSO ₄ · 5H ₂ O	25 мг x 10 ⁻³
8.	CoCl ₂ · 6H ₂ O	25 мг x 10 ⁻³
9.	Fe – хелат: FeSO ₄ · 7H ₂ O	16,68 мг
10.	Трилон Б	22,68 мг
Вітаміни		
1.	B ₆ (піридоксин)	0,02 мг
2.	B ₁ (тіамін)	0,026 мг
3.	C (аскорбінова кислота)	3 мг на 1л середовища
4.	Сахароза	10 г на 1л середовища
5.	Агар	9 г на 1л середовища
6.	Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	0,44 г на 1л середовища
7.	Гіберелін	0,25 мг на 1л середовища

Спочатку готують маточні (концентровані) розчини макро- і мікросолей, хелату заліза, фітогормонів і вітамінів (кожний окремо).

Потрібну кількість маточних розчинів додають у дистильовану воду під час приготування середовища.

Живці в пробірках вирощують в культуральному боксі, в якому підтримують стерильні умови, температуру 20-24°C і відповідний світловий режим: 10 годин освітлення, 14 годин – темряви. В таких умовах дуже швидко відбувається регенерація переважної більшості сортів картоплі і за 2-3 тижні утворюється доросла рослина з кореневою системою та із 6-7 справжніми листками, яка знову розділяється на 5-6 живців.

Таким чином, за три місяці із однієї вихідної рослини можна отримати 15 тисяч рослин-клонів потрібного генотипу.

Метод мікроклонального розмноження вже майже півстоліття використовується у селекційній роботі як метод швидкого розмноження безвірусного цінного генетичного матеріалу.

Хід роботи

1. В стерильному боксі поживцювати рослини картоплі в пробірках. Для цього пробірку з рослиною відкривають поблизу спиртівки, яка горить, рослину виймають пінцетом, поміщають в стерильну чашку Петрі (протерту спиртом і прожарену над полум'ям спиртівки). Стерильним скальпелем рослину розрізають на 5-6 живців, кожний із яких переносять в нову пробірку із культуральним середовищем. Пробірки закривають ватно-марлевою пробкою, підписують в переносять у культуральний бокс.

2. Кожні 2-3 дні переглядати поживцьований матеріал, спостерігати за процесом регенерації коріння, розвитком стебла із пазушної бруньки.

3. Через два тижні продивитися поживцьований матеріал, відмітити кількість рослин, що регенерувало, швидкість росту рослин різних сортів картоплі, відібрати рослини для пересаджування у ґрунт.

4. Висадити рослини в ґрунт і виростити з них дорослі рослини.

Контрольні питання:

1. Яку роль відіграють макро- і мікросолі у поживному середовищі?

2. Яку роль відіграють фітогормони у середовищі?

3. Яким чином проводять оптимізацію культурального середовища для різних генотипів рослин?

4. Наведіть способи вегетативного розмноження рослин.

5. Наведіть методи позбавлення рослин від вірусної інфекції.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

Основна:

1. Воробйова Л. І. Генетичні основи селекції рослин і тварин: Навч. посібник / Л. І. Воробйова, О. В. Тагліна. – Х.: Ранок, 2007. – 224с.
2. Генетические основы селекции растений. В 4 т. Т. 2. Частная селекция растений / науч. ред. А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева. – Минск : Беларус. навука, 2010. – 579 с.
3. Генетические основы селекции растений. В 4 т. Т. 3. Биотехнология в селекции растений. Клеточная инженерия / науч. ред. А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева. – Минск : Беларус. навука, 2012. – 489 с.
4. Гужов Ю. Л. Селекция и семеноводство культивируемых растений / Ю. Л. Гужов, А. Фукс, П. Валичек. – М.: Изд-во РУДН, 1999. – 536 с.

Додаткова:

5. Генетика / [А.А. Жученко, Ю.Л. Гужов, В.А. Пухальский и др.]. – М: КолосС, 2003. – 480 с.
6. Гужов Ю. Л. Генетика и селекція – сільському господарству / Ю. Л. Гужов. – К.: Рад.школа, 1987. – 216 с.
7. Гуляев Г. В. Селекция и семеноводство полевых культур / Г. В. Гуляев, Ю. Л. Гужов. – М.: Агропромиздат, 1987. – 447 с.
8. Гуляев Г. В. Селекція і насінництво польових культур з основами генетики / Г. В. Гуляев, О. П. Дубінін. – К.: Вища школа, 1983. – 350 с.

9. Еремін Г. В. Селекція і сортоведення плодкових культур / [Г. В. Еремін, А. В. Исачкін, Е. Н. Седов і др.]. – М.: Колос, 1993. – 288 с.
10. Кильчевський А. В. Генотип і середовище в селекції рослин / А. В. Кильчевський, Л. В. Хотылева. – Минск: Наука і техніка, 1989. – 191 с.
11. Котов М. М. Генетика і селекція / М. М. Котов. – Йошкар-Ола: Марійський ГТУ, 1997. – Ч. 1. – 280 с.; Ч. 2. – 108 с.
12. Любавська А.Я. Лісна селекція і генетика / А.Я. Любавська. – М.: Лісна промисловість, 1982. – 288 с.
13. Мельничук М. Д. Біотехнологія рослин / М. Д. Мельничук, Т. В. Новак, В. А. Кунах. – К.: ПоліграфКонсалтинг, 2003. – 520 с.
14. Палилова А. Н. Нехромосомна спадковість / А. Н. Палилова. – Минск: Наука і техніка, 1981. – 184 с.
15. Селекція і семеноводство овочевих і плодкових культур. / [Г. Т. Гарматюк, І. А. Шварцов, В. А. Кравченко і др.]. – К: Вища школа, 1989. – 318 с.
16. Сільськогосподарська біотехнологія / [В. С. Шевелуха, Е. А. Калашнікова, Е. С. Воронин і др.]. – М: Вища школа, 2003. – 469 с.
17. Селекція і насінництво сільськогосподарських рослин: Підручник / [Молоцький М. Я., Васильківський С. В., Князюк В. І., Власенко В. А.]. – К.: Вища освіта, 2006. – 463 с.
18. Спеціальна селекція польових культур: Навчальний посібник / [В. Д. Бугайов, С. В. Васильківський, В. А. Власенко та ін.; за ред. М. Я. Молоцького]. – Біла Церква, 2010. – 368 с.

19. Уильямс У. Генетические основы и селекция растений / У. Уильямс. – М.: Колос, 1968. – 448 с.
20. Царев А. П. Селекция и репродукция лесных древесных пород / А. П. Царев, С. П. Погиба, В. В. Тренин. – М.: Логос, 2002. – 520 с.
21. Цицин Н. В. Отдаленная гибридизация растений / Н. В. Цицин. – М.: Сельхозгиз, 1978. – 70 с.
22. Частная селекция полевых культур./ [Под ред. Коновалова Ю.Б.]. - М.: Агропромиздат, 1990. - 543 с.
23. Шмальц Х. Селекция растений / Х. Шмальц. – М.: Колос, 1973. – 295 с.

Додаток А

Критичні значення t-розподілу для рівнів значущості 0,05 та 0,01

Число ступенів	Рівні значущості		Число ступенів	Рівні значущості	
	0,05	0,01		0,05	0,01
1	12,71	63,66	14	2,14	2,98
2	4,30	9,92	15	2,13	2,95
3	3,18	5,84	16	2,12	2,92
4	2,78	4,60	17	2,11	2,90
5	2,57	4,03	18	2,10	2,88
6	2,45	3,71	19	2,09	2,86
7	2,36	3,50	20	2,09	2,85
8	2,31	3,36	25	2,06	2,79
9	2,26	3,25	30	2,04	2,75
10	2,23	3,17	40	2,02	2,70
11	2,20	3,11	50	2,01	2,68
12	2,18	3,05	100	1,98	2,63
13	2,16	3,01	1000	1,96	2,58

Картки-завдання до лабораторної роботи № 6
„Схеми схрещування, які застосовуються в селекції.”

1. Культура – кукурудза, *Zea mays* (перехреснозапильна культура).

Який тип схрещування необхідно застосувати, щоб визначити загальну комбінаційну здатність 50 ліній кукурудзи? Скільки комбінацій схрещувань необхідно здійснити для цього?

2. Культура – кукурудза, *Zea mays* (перехреснозапильна культура).

За допомогою якого типу схрещування можна визначити специфічну комбінаційну здатність 20 ліній кукурудзи, відібраних за високою загальною комбінаційною здатністю? Скільки комбінацій схрещувань необхідно для цього провести з урахуванням материнського ефекту цитоплазми і без врахування?

3. Культура – кукурудза, *Zea mays* (перехреснозапильна культура).

Який тип схрещування застосовується для отримання ліній-аналогів із генами-закріплювачами цитоплазматичної чоловічої стерильності (ЦЧС) і відновлювачами фертильності?

4. Скільки поколінь необхідно отримати від насичувальних схрещувань, щоб в ядерному геномі залишилося 1/16 частка сорту-донора?

5. Культура – томат, *Lycopersicon esculentum* (самозапильна культура).

Сорт А володіє стійкістю до фітофторозу, але має низькі смакові якості і середній врожай. Сорт В – високоврожайний, із смачними плодами, але нестійкий до фітофторозу. Який тип схрещування необхідно застосувати, щоб об'єднати в одному сорті високу врожайність, смакові якості та стійкість до фітофторозу?

6. Культура – томат, *Lycopersicon esculentum* (самозапильна культура).

Споріднений до культурного томату вид *Solanum pennellii* володіє стійкістю до вірусу тютюнової мозаїки (ВТМ), яку бажано передати сортам культурного томату *Lycopersicon esculentum*. *S. pennellii* не схрещується із *L. esculentum*, але схрещується із напівкультурним різновидом томату *L. hirsutum* var. *glabratum*, з яким також легко схрещується *L. esculentum*. Який тип схрещувань необхідно застосувати, щоб об'єднати в одному сорті стійкість до ВТМ, властиву *S. pennellii* із смаковими якостями і врожайністю культурних томатів?

6. Який тип схрещування необхідно застосувати для вивчення внеску цитоплазми і ядра в успадкування певної ознаки, наприклад, форми плодів у томатів?

Орієнтовні питання модульних контрольних робіт

1. Вперше методи індивідуального добору були застосовані:
а) І.В.Мічуріним; б) Л. Вільмареном; в) Л. Бербанком;
г) О.П.Шехурдіним; д) Т.А.Найтом.
2. Взаємодія алельних генів, при якій у гетерозиготи мають вияв обидва алеля, називається: а) полімерія; б) неповне домінування;
в) комплементарна дія; г) плейотропія; д) кодомінування.
3. Які з перелічених прикладів належать до взаємодії неалельних генів: а) комплементарна дія; б) неповне домінування; в) повне домінування; г) епістаз; д) кодомінування, е) полімерія?
4. Скільки типів гамет утворяться у особини з генотипом АаВВсс в мейозі? а) один; б) два; в) три; г) чотири; д) п'ять; е) шість.
5. Яке співвідношення фенотипів спостерігається у другому поколінні при моногібридному схрещуванні за неповного домінування: а) 3:1; б) 2:1; в) 1:2:1; г) 1:1; д) 9:3:3:1.
6. На якому етапі мітотичного циклу сестринські хроматиди розходяться до протилежних полюсів? а) профаза; б) метафаза; в) телофаза; г) анафаза; д) інтерфаза.
7. Тип взаємодії генів, при якому для формування ознаки необхідна наявність кількох неалельних генів, носить назву: а) комплементарного; б) неповне домінування; в) повне домінування; г) епістаз; д) кодомінування, е) полімерія?

8. На якому етапі мейотичного поділу відбувається подвоєння кількості ДНК? а) профаза I; б) метафаза I; в) телофаза I; г) інтеркінез; д) інтерфаза I.
9. У чому полягає біологічне значення мейозу? а) у можливості статевого розмноження; б) в утворенні ідентичних дочірніх клітин; в) в індукції комбінаційної мінливості; г) у репарації мутаційних пошкоджень, д) в індукції мутаційної мінливості.
10. В профазі мітозу відбувається: а) подвоєння ДНК; б) спіралізація хромосом; в) кон'югація хромосом; г) зникає ядерце; д) розходження сестринських хроматид.
11. Які події відбуваються під час мікроспорогенезу: а) мейотичний поділ; б) мітотичний поділ з утворенням генеративного і вегетативного ядра; в) мітотичний поділ з утворенням 8-ми ядерного зародкового мішка; г) мітотичний поділ з утворенням двох сперміїв; д) злиття двох ядер з утворенням центрального ядра; е) утворення чотирьох гаплоїдних мікроспор.
12. Під час подвійного запліднення один спермії зливається з....., утворюючиплоїдний ендосперм.
13. Соматичні клітини рослини містять 24 хромосоми. Скільки хромосом містить вегетативне ядро пилку: а) 24; б) 12; в) 6; г) 36; д) 48.
14. Пристосування рослин до самозапилення а) клейстогамія; б) хазмогамія; в) дводомність; г) гетеростилія; д) гермафродитизм; е) зрощення пиляків у колонку; ж) гомостилія; з) самонесумісність.
15. Нерегулярний тип статевого розмноження, за якого зародок розвивається із незаплідненої яйцеклітини, носить назву: а)

амфіміксис; б) партеногенез генеративний; в) партеногенез соматичний; г) апогамія генеративна; д) адвентивна ембріонія.

16. За якого типу несумісності пилок із генотипом S_1 не проростає на приймочці маточки рослин із генотипом S_1S_2 : а) гетероморфна; б) гаметофітна; в) гетерозиготна; г) спорофітна; д) вегетативна.

17. Обробка яким мутагеном призведе до виникнення більшої кількості хромосомних перебудов? а) алкілуючі сполуки; б) гамма-опромінення; в) колхіцин; г) рентгенівські промені; д) етанол.

18. Створений селекціонерами на основі схрещування пшениці і жита вид злаків – тритікале – є: а) амфідиплоїдом; б) автополіплоїдом; в) анеуплоїдом; г) трисоміком; д) алополіплоїдом

19. Автополіплоїдними називають мутації: а) зміни послідовності нуклеотидів; б) зміни структури хромосом; в) незбалансованої кількості хромосом; г) помноження гаплоїдного набору хромосом одного виду; д) помноження гаплоїдного набору хромосом різних видів.

20. Американський вчений Сірс одержав сорт пшениці, стійкій до іржі, у якого до хромосоми пшениці була приєднана частина хромосоми егілопса. Який це тип мутації: а) дуплікація; б) конверсія; в) інверсія; г) транслокація; д) анеуплоїдія.

21. Для отримання поліплоїдних мутацій у селекції застосовують: а) алкілуючі сполуки; б) гамма-опромінення; в) колхіцин; г) рентгенівські промені; д) етанол.

22. Яка стадія розвитку рослин є найбільш чутливою до дії іонізуючої радіації: а) проростки; б) сухе насіння; в) вологе насіння; г) вегетуючі рослини; д) генеративні органи.

23. Які вчені відкрили мутагенний ефект хімічних речовин:
а) І.А. Рапопорт; б) Г. Меллер; в) Ш. Аеурбах; г) Г.А. Надсон; д) Л.Н. Делоне; е) Г.С Філіпов; ж) О.О. Сапегін.
24. Які дози опромінення сприяють одержанню більшої кількості мутацій: а) ЛД0; б) ЛД100; в) ЛД 30-40; г) ЛД 20-30; д) ЛД 60-70.
25. Що характеризує мутагенний ефект іонізуючого опромінювання: а) частота мутацій залежить від дози мутагенного фактора; б) не існує позитивна лінійна залежність між дозою мутагену і частотою мутацій; в) індукує більше генних мутацій; г) викликає більше хромосомних перебудов, д) руйнує веретено поділу.
26. Який тип схрещування використовують при визначенні специфічної комбінаційної здатності: а) прості парні; б) зворотні; в) міжгібридні; г) східчасті; д) топкроси; е) диалельні; ж) конвергентні.
27. Які типи гетерозисних гібридів зберігають гетерозис у другому поколінні: а) міжлінійні прості, б) сортолінійні; в) подвійні прості; г) міжсортіві гібриди; д) складні міжлінійні гібриди е) трьохлінійні; ж) гібридні (синтетичні) популяції.
28. Які типи схрещування належать до багаторазових: а) прості парні; б) зворотні; в) між гібридні; г) східчасті; д) топкроси; е) диалельні; ж) конвергентні.
29. В селекції самозапильних рослин застосовують методи добору: а) сімейно-груповий; б) педігрі; в) метод половинок; г) одноразовий індивідуальний; д) акарп-метод; е) індивідуально-сімейний.

30. Яка частка гетерозигот збережеться у F5 популяції самозапильних рослин, якщо в F1 всі рослини були гетерозиготні: а) 3,125%; б) 25%; в) 20%; г) 12,5%; д) 6,25%.
31. Вперше методи індивідуального добору були застосовані: а) І.В.Мічурінім; б) Л. Вільмареном; в) Л. Бербанком; г) О.П.Шехурдінім; д) Т.А.Найтом.
32. Скільки комбінацій схрещувань необхідно провести для визначення загальної комбінаційної здатності 30 ліній?
33. Які методи клітинної біотехнології можна застосувати для прискорення процесу гетерозисної селекції?
34. Наведіть етапи контрольованого схрещування.
35. Наведіть визначення гетерозису.
36. Явище чоловічої цитоплазматичної стерильності використовують з метою...
37. Відмінність озимих сортів від ярових полягає у...
38. Вегетативне розмноження рослин проводять за допомогою: ...
39. Надайте визначення акліматизації.
40. Наведіть визначення сорту.

Навчально-методичне видання

Лісовська Тетяна Павлівна
Кузьмішина Ірина Іванівна
Коцун Лариса Олександрівна

ГЕНЕТИКА І СЕЛЕКЦІЯ РОСЛИН

Методичні рекомендації до проведення практичних занять для студентів V-го курсу біологічного факультету денної і заочної форми навчання

Друкується в авторській редакції

Підписано до друку 25.03 2015 р. Формат 60x 84/16
Ум. друк. арк. 3,2. Зам.№205. Тираж 100.
Папір офсетний. Гарнітура Times. Друк офсетний.
Друк ПП Іванюк В.П. 43021, м. Луцьк, вул. Винниченка, 65
Свідоцтво Держкомінформу України
ВЛн №31 від 04. 02. 2004 р.