

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК
Державна установа Інститут зернових культур

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ
до практичних занять з дисципліни
Клітинно-інженерні та молекулярно-генетичні біотехнології
сільськогосподарських рослин
(за освітньо-науковим рівнем «Доктор філософії»
для аспірантів спеціальності 201 – Агронімія)

Дніпро
2019

Методичні вказівки до практичних занять з дисципліни «Клітинно-інженерні та молекулярно-генетичні біотехнології сільськогосподарських рослин» для аспірантів освітньо-наукового рівня «Доктор філософії» спеціальності 201 – Агрономія / Укл.: Т.М. Сатарова, Денисюк К.В. Дніпро: ДУ ІЗК НААН, 2019. 16 с.

Укладачі: Сатарова Т.М., доктор біологічних наук, професор, Денисюк К.В., кандидат біологічних наук

Затверджено на засіданні Науково-методичної ради з питань селекції і насінництва ДУ ІЗК НААН України, протокол № 3 від 14 серпня 2019 р.

Передмова

Курс «Клітинно-інженерні та молекулярно-генетичні біотехнології сільськогосподарських рослин» є вибірковою для аспірантів, які навчаються за спеціальністю 201 «Агрономія». При підготовці до практичних занять необхідно самостійно опрацювати теоретичний матеріал, що складає основу тематики практичної роботи. За допомогою конспекту лекцій, навчальних посібників, фахової літератури, розглянути основні теоретичні положення даної теми.

Практичне заняття №1

Тема: Організація наукового експерименту з клітинної інженерії сільськогосподарських рослин. Статистичний аналіз результатів експериментів в культурі *in vitro*

Мета: Ознайомитися з організацією наукового експерименту з клітинної інженерії сільськогосподарських рослин, зі статистичним аналізом результатів експериментів в культурі *in vitro*.

Розглянути завдання та запитання, які наводяться нижче.

Завдання та запитання до теми «Організація наукового експерименту з клітинної інженерії сільськогосподарських рослин. Статистичний аналіз результатів експериментів в культурі *in vitro*»:

1. В чому суть організації наукового експерименту з клітинної інженерії сільськогосподарських рослин?
2. Які напрямки існують в клітинній інженерії рослин?
3. Охарактеризуйте основні наукові принципи методу культури клітин, тканин та органів рослин *in vitro*.
4. Які способи та режими стерилізації застосовуються в біотехнології рослин до рослинних об'єктів, живильних середовищ, посуду, матеріалів?
5. Які основні компоненти входять до живильних середовищ для культивування рослинних клітин, тканин та органів *in vitro*?
6. Охарактеризуйте сутність явища соматонального варіювання в культурі *in vitro*. В яких випадках воно є недоліком? Для досягнення якої мети воно має позитивне значення?
7. Які існують біотехнологічні шляхи отримання гаплоїдів та подвоєних гаплоїдних ліній у рослин? З якою метою вони створюються?
8. Охарактеризуйте методичні принципи отримання у рослин суспензійних культур та культур протопластів.

9. Які частини рослини використовуються для мікроклонального розмноження в культурі *in vitro*?

10. Наведіть основні етапи технології отримання безвірусного садивного матеріалу рослин в культурі меристем. Для яких культур застосовується дана технологія? Чому отримати безвірусний садивний матеріал можливо лише в меристемній культурі?

11. Які об'єкти використовуються для виконання робіт з запилення та запліднення *in vitro*? Охарактеризуйте методичні підходи до штучного злиття яйцеклітин та спермій у рослин. Які перспективи для селекції, клітинної інженерії та клітинної біології відкриває технологія штучного запилення та запліднення *in vitro*?

12. Які задачі в селекції та рослинництві вирішуються завдяки ембріокультурі *in vitro*?

13. Охарактеризуйте особливості депонування *in vitro* та криозберігання як способів збереження рослинних ресурсів.

14. Які показники використовують в статистичному аналізі результатів експериментів в культурі *in vitro*?

Література:

1. От микроспоры к сорту / Т. Б. Батыгина и др. Москва: Наука, 2010. 174 с.

2. Божков А. И. Биотехнология. Фундаментальные и промышленные аспекты. Харьков: Федорко, 2008. 364 с.

3. Бутенко Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнология на их основе. Москва: ФБК-Пресс, 1999. 160 с.

4. Игнатова С. А. Клеточные технологии в растениеводстве, генетике и селекции возделываемых растений: задачи, возможности, разработки систем *in vitro*: монография. Одесса: Астропринт, 2011. 224 с.

5. Калинин Ф. Л., Кушнир Г. П., Сарнацкая В. В. Технология микроклонального размножения растений. Киев: Наукова думка, 1992. 230 с.

6. Кунах В. А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. Київ: Логос, 2005. 730 с.

7. Мельничук М. Д., Новак Т. В., Кунах В. А. Біотехнологія рослин. Київ: Поліграф консалтинг, 2003. 520 с.

8. Сатарова Т. Н., Черчель В. Ю., Черенков А. В. Кукуруза: биотехнологические и селекционные аспектыг аploидии: монография. Днепропетровск: Новая идеология, 2013. 552 с.

9. Сатарова Т. М., Абраїмова О. Є., Вінніков А. І., Черенков А. В. Біотехнологія рослин: навчальний посібник. Дніпропетровськ: Адверта, 2016. 136 с.

10. Тимофеева О. А., Румянцева Н. И. Культура клеток и тканей растений: учебное пособие. Казань, 2012. 92 с.

11. Черевченко Т. М., Лаврентьева А. Н., Иванников Р. В. Биотехнология тропических и субтропических растений *in vitro*. Киев: Наукова думка, 2008. 560 с.

12. Клітинні технології створення вихідного селекційного матеріалу основних овочевих рослин в культурі in vitro: методичні рекомендації. Івченко Т. В., Корнієнко С. І., Віцень Т. І. та ін. Харків: Плеяда, 2013. 48 с.
13. Карпов О. В. Біоінженерія. Конспекти лекцій. Київ: НУХТ, 2005. 110 с.
14. Abdin U. K. M. Z., Kamaluddin A. A. Plant Biotechnology: Principles and Applications. Springer Nature Singapore Pte Ltd., 2017. 394 p.
15. Gahlawat S., Salar R., Siwach P., Duhan J., Kumar S., Kaur P. Plant Biotechnology: Recent Advancements and Developments. Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2017. P. 390.
16. Hong J. K., Park K. J., Lee G. S., Kim D. Y., Kim J. K., Lee S. B., Suh E. J., Lee Y. H. Callus induction and plant regeneration from immature zygotic embryos of various maize genotypes (*Zea mays* L.). *J Plant Biotechnol.* 2017. Vol. 44. P. 49–55.
17. Kuchuk N. V. Cell genetic engineering: Transmission genetics of plants. *Cytol. Genet.* 2017. Vol. 51. P. 103–107.
18. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plantarum.* 1962. Vol. 15. P. 473–497.
19. Nosov A. M. Application of cell technologies for production of planta derived bioactive substances of plant origion. *Applied biochemistry and microbiology.* 2012. Vol. 48, No 7. P. 609–624.
20. Touraev A., Forster B., Mohan J. S. Advances in haploid production in higher plants. Vienna : Springer, 2008. 348 p.
21. <http://www.plantgdb.org>

Практичне заняття № 2

Тема: Досягнення та перспективи генетичної інженерії рослин. Біозахист і біобезпека при виконанні генетично-інженерних досліджень

Мета: Ознайомитися з досягненнями та перспективами генетичної інженерії рослин, необхідністю дотримання вимог біозахисту та біобезпеки при виконанні генетично-інженерних досліджень.

Розглянути завдання та запитання, які наводяться нижче.

Завдання та запитання до теми «Досягнення та перспективи генетичної інженерії рослин. Біозахист і біобезпека при виконанні генетично-інженерних досліджень»:

1. За якими основними напрямками відбувається сучасне удосконалення сільськогосподарських рослин методами генетичної інженерії?
2. В які роки починається розвиток генетичної інженерії сільськогосподарських рослин у різних країнах світу?
3. Наведіть основні досягнення генетичної інженерії рослин.

4. Який промотор найчастіше використовують в сучасній генетичній інженерії рослин? Чому?

5. Чому виробництво фармацевтичних продуктів в трансгенних рослинах вважається перспективним?

6. Охарактеризуйте основні способи перенесення сторонньої ДНК в рослинну клітину.

7. Які особливості окремих груп організмів-реципієнтів необхідно враховувати для ефективного перенесення та експресії трансгенів?

8. Для якої систематичної групи рослин найчастіше використовують *Agrobacterium*-опосередковану трансформацію?

9. Охарактеризуйте основні етапи генно-інженерних маніпуляції для отримання трансгенних організмів та вимоги біобезпеки для кожного з них.

10. В чому полягає суть біозахисту при виконанні генетично-інженерних досліджень?

11. Яким чином в Україні на законодавчому рівні регулюється генетично-інженерна діяльність?

12. Яке ставлення суспільства до генетичної інженерії сільськогосподарських рослин у різних країнах світу?

13. Назвіть видатних вчених, які ввійшли до світової історії генетичної інженерії сільськогосподарських рослин у різних країнах світу.

Література:

1. Беззадіна С. О. Генна інженерія в сільському господарстві. *Вісник СНТ ННІ бізнесу і менеджменту ХНТУСГ*. 2019. № 1. С. 87-90.

2. Кучук Н. В. Генетическая инженерия высших растений. Киев: Наукова думка, 1997. 152 с.

3. Мельничук М. Д., Новак Т. В., Кунах В. А. Біотехнологія рослин. Київ: Поліграф консалтинг, 2003. 520 с.

4. Притульська Н. В., Пономарьов П. Х., Донцова І. В. Стан і перспективи виробництва генетично модифікованих сільськогосподарських культур. *Вісник Львівської комерційної академії. Серія товаровознавча*. 2013. Вип. 13. С. 28-31.

5. Про державну систему біобезпеки при створенні, випробуванні, транспортуванні та використанні генетично модифікованих організмів: Закон України від 04.10.2018 р. № 1103-V. *Відомості Верховної Ради України*. 2007. № 35. С. 484.

6. Сатарова Т. Н., Черчель В. Ю., Черенков А. В. Кукуруза: биотехнологические и селекционные аспекты аплоидии: монография. Днепропетровск: Новая идеология, 2013. 552 с.

7. Сатарова Т. М., Абраїмова О. Є., Вінніков А. І., Черенков А. В. Біотехнологія рослин: навчальний посібник. Дніпропетровськ: Адверта, 2016. 136 с.

8. Лутова Л. А. Генетическая инженерия растений: свершения и надежды. *Соросовский образовательный журнал*. 2000. № 10. С. 10–17.

9. Agricultural biotechnology: A Catholic Rural Life Perspective, June 2002.
10. Paine J.A., Shipton C.A., Chaggar S., Howells R.M., Kennedy M.J., Vernon G., Wright S.Y., Hinchliffe E., Adams J.L., Silverstone A.L., Drake R. A new version of Golden Rice with increased pro-vitamin A content. *Nature Biotechnology*. 2005. №и 23. P. 482-487.
11. <http://www.biotechnology.com>
12. <http://www.ncbi.proteome>
13. <http://www.ncbi.blast>
14. <http://www.ncbi.pubmed>
15. <https://www.maizegdb.org>

Практичне заняття № 3

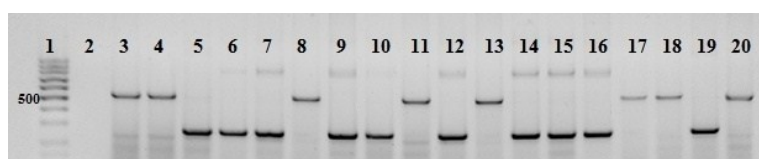
Тема: Методи виділення ДНК. Принципи ампліфікації. Електрофоретичне розділення продуктів ампліфікації

Мета: Ознайомитися з методами виділення ДНК, принципами ампліфікації та електрофоретичним розділенням продуктів ампліфікації.

Розглянути завдання та запитання, які наводяться нижче.

Завдання та запитання до теми «Методи виділення ДНК. Принципи ампліфікації. Електрофоретичне розділення продуктів ампліфікації»:

1. В чому сутність та які основні принципи методів виділення ДНК?
2. Опишіть основні стадії полімеразної ланцюгової реакції.
3. Які складники необхідні для проведення полімеразної ланцюгової реакції?
4. Що таке ампліфікація ДНК? Чим цей процес відрізняється від реплікації ДНК?
5. Які умови проведення полімеразної ланцюгової реакції найчастіше використовуються для кукурудзи?
6. Як називається прилад для проведення ПЛР?
7. Ким і коли були розроблені принципи проведення ПЛР?
8. Що таке ПЛР в режимі реального часу?
9. Який метод розділення і візуалізації продуктів ПЛР є найбільш поширеним за використання SSR-маркерів?
10. Наведено електрофореограму продуктів ампліфікації 18 зерен сортозразка С за мікросателітними маркерами:



Чи можна визначити сортозразок С як лінію?

11. Ви отримали завдання дослідити партію насіння кукурудзи вагою 1000 кг, яке зберігається у мішках на складі, на відповідність зазначеним у супроводжувальних документах відомостям про назву та тип гібрида. Визначте стратегію, за якою ви доведете чи спростуєте відповідність насіння даної партії до відомостей в документах. Складіть план послідовних дій та зазначте умови проведення аналізів.

12. Нижче наведено генотипові формули двох ліній, складені за результатами SSR-аналізу:

Лінія ДК347
A ₁₁₈ B ₁₀₅ C ₁₂₁ D ₁₃₂ E ₁₅₀ F ₁₉₀ G ₁₇₀ H ₁₈₀ I ₂₉₀ J ₁₆₂ K ₇₈ L ₁₂₂ M ₁₂₈ N ₁₆₂ O ₉₇ P ₉₈ Q ₃₇₂ R ₁₄₂ S ₁₆₇ T ₁₅₆
Лінія P101
A ₁₁₈ B ₁₀₁ C ₁₂₁ D ₁₂₈ E ₁₄₆ F ₂₀₂ G ₁₆₆ H ₁₇₅ I ₂₉₀ J ₁₅₉ K ₇₈ L ₁₂₂ M ₁₃₁ N ₁₆₂ O ₁₀₁ P ₉₄ Q ₃₇₂ R ₁₄₂ S ₁₆₇ T ₁₅₆

Визначте генотипову формулу гібрида F₁ ДК347×P101.

Література:

1. Волкова Н. Е. Молекулярно-генетичні дослідження ядерного геному кукурудзи: монографія. Одеса : Астропринт, 2015. – 120 с.
2. Сатарова Т. М. Молекулярно-генетичні та біохімічні методи контролю за сортовими якостями насіння кукурудзи. Насінництво кукурудзи: навчальний посібник. Київ: Аграрна наука, 2019. С. 150–175.
3. Allelic genome structural variations in maize detected by array comparative genome hybridization. Belo A., Beatty M.K., Hondred D.S. et al. *Theor. Appl. Genet.* 2010. Vol. 120, No 2. P. 355–367.
4. Bennetzen J.L., Hake S.C. Handbook of maize: genetics and genomics. Springer, 2009. 800 p.
5. A large maize (*Zea mays* L.) SNP genotyping array: development and germplasm genotyping, and genetic mapping to compare with the B73 reference genome. Ganai M.W., Durstewitz G., Polley A. et al. *PLoS ONE*. 2011. Vol. 6, No 12: e28334.
6. Structure and architecture of the maize genome. Haberer G., Young S., Bharti A.K. al. *Plant Physiol.* 2005. Vol. 139, No 4. P. 1612–1624.
7. Genome-wide genetic changes during modern breeding of maize. Jiao Y., Zhao H., Ren L. et al. *Nat. Genet.* 2012. Vol. 44, No 7. P. 812–815. 23.
8. Saxena R.K., Edwards D., Varshney R.V. Structural variations in plant genomes. *Brief. Funct. Genomics.* 2014. Vol. 13, No 4. P. 296–307.
9. Сиволап Ю. М., Кожухова Н. Э., Календар Р. Н. Вариабельность и специфичность геномов сельскохозяйственных растений. Одесса: Астропринт, 2011. 336 с.
10. <http://www.ncbi.proteome>
11. <http://www.ncbi.blast>
12. <http://www.ncbi.pubmed>
13. <https://www.maizegdb.org>

Практичне заняття № 4

Тема: Електронні бази даних MaizeGDB (www.maizegdb.org), NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov). Програми статистичного аналізу даних Structure, Tassel для опрацювання експериментальних даних з молекулярно-генетичних досліджень сільськогосподарських культур

Мета: ознайомитися з електронними базами даних MaizeGDB (www.maizegdb.org), NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov), програмами статистичного аналізу даних Structure, Tassel для опрацювання експериментальних даних з молекулярно-генетичних досліджень сільськогосподарських культур.

Розглянути завдання та запитання, які наводяться нижче.

Завдання та запитання до теми «Електронні бази даних MaizeGDB (www.maizegdb.org), NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov). Програми статистичного аналізу даних Structure, Tassel для опрацювання експериментальних даних з молекулярно-генетичних досліджень сільськогосподарських культур»:

1. Що можна дізнатися з електронних баз даних про геном рослин?
2. Охарактеризуйте геном деяких сільськогосподарських рослин (кукурудзи, пшениці, рису тощо) за допомогою відомих Вам електронних баз даних.
3. Які програми статистичного аналізу даних використовують для опрацювання експериментальних даних з молекулярно-генетичних досліджень сільськогосподарських культур?
4. Який вид опрацювання експериментальних даних з молекулярно-генетичних досліджень сільськогосподарських культур можна виконати за допомогою програми Structure?
5. Який вид опрацювання експериментальних даних з молекулярно-генетичних досліджень сільськогосподарських культур можна виконати за допомогою програми Tassel?
6. Як в селекційній практиці можна застосовувати результати статистичного аналізу?
7. Якими є особливості прояву аельного стану молекулярно-генетичних маркерів для ліній, простих гібридів (гібридів F_1), трилінійних та подвійних міжлінійних гібридів і як це позначається на результатах визначення типовості, генетичної чистоти та гібридності?
8. Що таке референсний зразок лінії чи гібриду кукурудзи?
9. За якими мікросателітними маркерами виконується ДНК-профілювання референсного зразка лінії чи гібрида кукурудзи?
10. За якими формулами розраховуються типовість, генетична чистота та гібридність насіння кукурудзи?

Література:

1. Волкова Н. Е. Молекулярно-генетичні дослідження ядерного геному кукурудзи: монографія. Одеса : Астропринт, 2015. – 120 с.
2. Сатарова Т. М. Молекулярно-генетичні та біохімічні методи контролю за сортовими якостями насіння кукурудзи. Насінництво кукурудзи: навчальний посібник. Київ: Аграрна наука, 2019. С. 150–175.
3. Allelic genome structural variations in maize detected by array comparative genome hybridization. Belo A., Beatty M.K., Hondred D.S. et al. *Theor. Appl. Genet.* 2010. Vol. 120, No 2. P. 355–367.
4. Bennetzen J.L., Hake S.C. Handbook of maize: genetics and genomics. Springer, 2009. 800 p.
5. A large maize (*Zea mays* L.) SNP genotyping array: development and germplasm genotyping, and genetic mapping to compare with the B73 reference genome. Ganai M.W., Durstewitz G., Polley A. et al. *PLoS ONE*. 2011. Vol. 6, No 12: e28334.
6. Bennetzen J.L., Hake S.C. Handbook of maize: genetics and genomics. Springer, 2009. 800 p.
7. Structure and architecture of the maize genome. Haberer G., Young S., Bharti A.K. al. *Plant Physiol.* 2005. Vol. 139, No 4. P. 1612–1624.
8. Genome-wide genetic changes during modern breeding of maize. Jiao Y., Zhao H., Ren L. et al. *Nat. Genet.* 2012. Vol. 44, No 7. P. 812–815. 23.
9. Saxena R.K., Edwards D., Varshney R.V. Structural variations in plant genomes. *Brief. Funct. Genomics.* 2014. Vol. 13, No 4. P. 296–307.
10. Сиволап Ю. М., Кожухова Н. Э., Календар Р. Н. Вариабельность и специфичность геномов сельскохозяйственных растений. Одесса: Астропринт, 2011. 336 с.
11. <http://www.ncbi.proteome>
12. <http://www.ncbi.blast>
13. <http://www.ncbi.pubmed>
14. <https://www.maizegdb.org>

Практичне заняття № 5

Тема: Основні показники репрезентативності та інформативності SSR- та SNP-маркерів. Параметри для характеристики генотипів за SSR- та SNP-маркерами

Мета: Ознайомитися з основними показниками репрезентативності та інформативності SSR- та SNP-маркерів, параметрами для характеристики генотипів за SSR- та SNP-маркерами.

Розглянути завдання та запитання, які наводяться нижче.

Завдання та запитання до теми «Основні показники репрезентативності та інформативності SSR- та SNP-маркерів. Параметри для характеристики генотипів за SSR- та SNP-маркерами»:

1. Що таке «генетичний поліморфізм»? Які причини і механізми призводять до появи генетичного поліморфізму?

2. Дайте визначення поняття «молекулярний маркер генетичного поліморфізму».

3. Які вимоги висуваються до молекулярних маркерів генетичного поліморфізму? Які типи молекулярних маркерів генетичного поліморфізму найчастіше використовуються у контролі сортової якості насіння кукурудзи?

4. Що таке мікросателіти? Як виникають мікросателіти?

5. Якими якостями характеризуються мікросателітні (SSR-) маркери?

6. Що таке одонуклеотидний поліморфізм ДНК? Які причини виникнення саме одонуклеотидного поліморфізму ДНК?

7. Які показники використовують для оцінки репрезентативності та інформативності SSR- та SNP-маркерів?

8. Які показниками SSR- та SNP-маркерів характеризують генотипи сільськогосподарських культур?

9. За якими мікросателітними маркерами виконується ДНК-профілювання референсного зразка лінії чи гібрида кукурудзи?

10. За якими формулами розраховуються типовість, генетична чистота та гібридність насіння кукурудзи?

11. В яких одиницях вимірюються типовість, генетична чистота та гібридність насіння кукурудзи? В яких межах варіюють значення цих показників?

12. Скільки окремих рослин одного сортозразка треба проаналізувати для встановлення його типовості, генетичної чистоти, гібридності?

13. Якщо визначення типовості, генетичної чистоти та гібридності проводиться за використання SSR-маркерів, алельний стан скількох окремих маркерів треба проаналізувати для одного сортозразка?

14. Нижче наведено генотипову формулу простого гібрида, складену за результатами SSR-аналізу:

$A_{109}B_{101,105}C_{121,125}D_{128,132}E_{146,150}F_{202,205}G_{142,170}H_{175}I_{286,290}J_{162}$ $K_{78,83}L_{122,126}M_{131}N_{162}O_{94,101}P_{94,98}Q_{372}R_{142,147}S_{167,170}T_{156,159}$

За якою кількістю проаналізованих маркерів розрізнялися батьківські лінії цього гібрида? Чи можна за наведеною формулою простого гібрида визначити формули двох ліній, що були його батьківськими формами?

15. Нижче наведено спектр референсного зразка Q та результати аналізу сортозразка Q-1 за 90 SNP-маркерами. Розрахуйте типовість, генетичну чистоту та гібридність сортозразка Q-1. Чи є референсний зразок лінією чи гібридом?

½	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Q	A	G	T	G	A	G	C	G	A	A	G	C	C	A	T
Q-1	A	A	T	G	A	G/C	C	G	A	A	G	G	C	A	T
½	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Q	G	G	C	C	C	G	G	G	G	C	C	A	G	G	C
Q-1	G	G/A	C	C	G	G	G	A	G	C	A	A	G	T	C
½	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
Q	T	A	C	C	A	A	A	G	T	G	A	A	G	G	G
Q-1	T	A/G	C	G	A	A/C	A	G	T	C	A	A	C	G	G
½	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
Q	G	T	G	A	A	A	A	A	C	G	A	A	G	G	A
Q-1	G	T	G/A	A	A	A	C	A	C	G	A	A	G/A	G	A
½	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
Q	A	C	C	A	G	T	G	T	A	G	C	G	A	A	A
Q-1	A	C/A	C/G	A	C	T	G	A	A	G	G	G	A/G	A	A
½	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
Q	C	A	G	G	C	G	A	G	T	G	A	G	G	A	C
Q-1	C	A	G	A	C	G	A	G	T	G	A	G	G	G	C

Примітка. 1 – генотип, 2 – номер SNP-маркера

16. Нижче наведено значення PIC десяти мікросателітних маркерів:

Номер маркера	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
PIC	0	0,84	0,12	0,56	0,95	0,23	0,72	0,48	0,02	0,26

Розташуйте маркери залежно від рівня генетичного поліморфізму, що виявляється за їхньою допомогою. Які маркери з наведеного списку можна обрати для визначення типовості, генетичної чистоти та гібридності насіння кукурудзи?

17. Нижче наведено результати визначення послідовності нуклеотидів на певній ділянці ДНК у шести ліній кукурудзи.

№	Послідовність нуклеотидів на ділянці ДНК з 1 по 19 нуклеотид																		
1	C	G	A	T	C	G	A	G	A	G	A	G	A	T	T	C	G	A	C
2	A	G	A	T	A	G	A	G	A	T	T	T	T	T	T	C	G	A	C
3	C	G	C	T	A	G	A	T	T	T	T	C	G	A	C	C	G	A	C
4	C	G	C	T	C	G	A	T	T	T	T	T	C	G	A	C	T	C	C
5	C	G	A	T	G	G	A	G	A	G	A	T	T	C	G	A	C	A	C
6	C	G	A	T	C	G	A	G	A	T	T	C	G	A	C	C	G	A	C

Примітка. № – номер лінії.

Визначте поліморфні ділянки ДНК та поясніть, який тип генетичного поліморфізму має місце на кожній з них. Які процеси призвели до появи відмінностей на кожній з поліморфних ділянок?

18. Наведено результати генотипування партій насіння двох сортозразків та референсного зразка кукурудзи за мікросателітними маркерами:

Код SSR-маркера	Сортозразок Д-1		Сортозразок Д-2		Референсний зразок Д
	Довжина алеля, п.н.	Кількість насінин, шт.	Довжина алеля, п.н.	Кількість насінин, шт.	Довжина алеля, п.н.
A	106	100	106	100	106
B	90	20	97	100	97
	97	60			
	107	20			
C	125	100	125	100	125
D	132	100	132	100	132
E	146	46	146	100	146
	138	54			
F	190	100	190	100	190
G	142	100	142	100	142
H	180	100	180	100	180
I	281	100	290	100	290
J	159	100	159	100	159
K	83	100	83	100	83
L	130	41	122	100	122
	122	59			
M	128	100	128	100	128
N	157	100	157	100	157
O	101	100	101	100	101
P	105	100	94	100	94
Q	376	100	376	100	376
R	152	100	152	100	152
S	170	100	170	100	170
T	156	100	156	100	156

Вкажіть, чи є референсний зразок лінією, чи гібридом? Розрахуйте типовість, генетичну чистоту та гібридність кожної з партій насіння?

Література:

1. Волкова Н. Е. Молекулярно-генетичні дослідження ядерного геному кукурудзи: монографія. Одеса : Астропринт, 2015. – 120 с.
2. Сатарова Т. М. Молекулярно-генетичні та біохімічні методи контролю за сортовими якостями насіння кукурудзи. Насінництво кукурудзи: навчальний посібник. Київ: Аграрна наука, 2019. С. 150–175.

3. Allelic genome structural variations in maize detected by array comparative genome hybridization. Belo A., Beatty M.K., Hondred D.S. et al. *Theor. Appl. Genet.* 2010. Vol. 120, No 2. P. 355–367.
4. Bennetzen J.L., Hake S.C. Handbook of maize: genetics and genomics. Springer, 2009. 800 p.
5. A large maize (*Zea mays* L.) SNP genotyping array: development and germplasm genotyping, and genetic mapping to compare with the B73 reference genome. Ganai M.W., Durstewitz G., Polley A. et al. *PLoS ONE*. 2011. Vol. 6, No 12: e28334.
6. Structure and architecture of the maize genome. Haberer G., Young S., Bharti A.K. et al. *Plant Physiol.* 2005. Vol. 139, No 4. P. 1612–1624.
7. Genome-wide genetic changes during modern breeding of maize. Jiao Y., Zhao H., Ren L. et al. *Nat. Genet.* 2012. Vol. 44, No 7. P. 812–815. 23.
8. Saxena R.K., Edwards D., Varshney R.V. Structural variations in plant genomes. *Brief. Funct. Genomics.* 2014. Vol. 13, No 4. P. 296–307.
9. Сиволап Ю. М., Кожухова Н. Э., Календар Р. Н. Вариабельность и специфичность геномов сільськогосподарських рослин. Одеса: Астропринт, 2011. 336 с.
10. <http://www.ncbi.proteome>
11. <http://www.ncbi.blast>
12. <http://www.ncbi.pubmed>
13. <https://www.maizegdb.org>

Список використаної літератури

1. Волкова Н. Е. Молекулярно-генетичні дослідження ядерного геному кукурудзи: монографія. Одеса : Астропринт, 2015. 120 с.
2. Калинин Ф. Л., Кушнир Г. П., Сарнацкая В. В. Технология микрклонального размножения растений. Киев: Наукова думка, 1992. 230 с.
3. Кунах В. А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. Київ: Логос, 2005. 730 с.
4. Кучук Н. В. Генетическая инженерия высших растений. Киев: Наукова думка, 1997. 152 с.
5. Мельничук М. Д., Новак Т. В., Кунах В. А. Біотехнологія рослин. Київ: Поліграф консалтинг, 2003. 520 с.
6. Сатарова Т. М. Молекулярно-генетичні та біохімічні методи контролю за сортовими якостями насіння кукурудзи. Насінництво кукурудзи: навчальний посібник. Київ: Аграрна наука, 2019. С. 150–175.
7. Сатарова Т. М., Абраїмова О. Є., Вінніков А. І., Черенков А. В. Біотехнологія рослин: навчальний посібник. Дніпропетровськ: Адверта, 2016. 136 с.
8. Сатарова Т. Н., Черчель В. Ю., Черенков А. В. Кукуруза: биотехнологические и селекционные аспектыг аploидии: монографія. Днепропетровск: Новая идеология, 2013. 552 с.

9. Сиволап Ю. М., Кожухова Н. Э., Календар Р. Н. Вариабельность и специфичность геномов сельскохозяйственных растений. Одесса: Астропринт, 2011. 336 с.

10. Черевченко Т. М., Лаврентьева А. Н., Иванников Р. В. Биотехнология тропических и субтропических растений *in vitro*. Киев: Наукова думка, 2008. 560 с.

11. Bennetzen J.L., Hake S.C. Handbook of maize: genetics and genomics. Springer, 2009. 800 p.

ЗМІСТ

	стор.
Передмова	3
Практичне заняття №1. Організація наукового експерименту з клітинної інженерії сільськогосподарських рослин. Статистичний аналіз результатів експериментів в культурі <i>in vitro</i>	3
Практичне заняття № 2. Досягнення та перспективи генетичної інженерії рослин. Біозахист і біобезпека при виконанні генетично-інженерних досліджень	5
Практичне заняття № 3. Методи виділення ДНК. Принципи ампліфікації. Електрофоретичне розділення продуктів ампліфікації...	7
Практичне заняття № 4. Електронні бази даних MaizeGDB (www.maizegdb.org), NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov). Програми статистичного аналізу даних Structure, Tassel для опрацювання експериментальних даних з молекулярно-генетичних досліджень сільськогосподарських культур	9
Практичне заняття № 5. Основні показники репрезентативності та інформативності SSR- та SNP-маркерів. Параметри для характеристики генотипів за SSR- та SNP-маркерами	10
Список використаної літератури	14