

НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Агрономический факультет

Кафедра селекции, генетики и лесоводства

**Хромосомные инженерные технологии в селекции
растений**

Методические указания
по выполнению контрольной работы

Новосибирск 2015

Кафедра селекции, генетики и лесоводства

Составитель: к.б.н. О.Г. Силкова

Рецензент: *канд. биол. наук, доц.* В.Г. Маренков

Хромосомные инженерные технологии в селекции растений: метод. указания / Новосиб. гос. аграр. ун-т. Агроном. факт; сост. О.Г.Силкова – Новосибирск: ИЦ «Золотой колос», –2015 – 17 с.

В методических указаниях представлены вопросы и общие требования к оформлению и методике выполнения контрольной работы по дисциплине «Хромосомные инженерные технологии в селекции растений». Предназначены для магистрантов агрономического факультета.

Утверждены и рекомендованы к изданию методическим советом агрономического факультета (протокол № 9 от 14.10.15 г.).

© Новосибирский государственный аграрный университет, 2015

ВВЕДЕНИЕ

Дисциплина Хромосомные инженерные технологии в селекции растений предназначена для углубленного освоения студентами современных представлений о возникновении и получении новых форм плодовых, овощных, технических культур с измененным составом хромосом; пребридинговых форм пшеницы с помощью отдаленной гибридизации; знаний механизмов реорганизации гибридных геномов; ознакомления с современными методами идентификации хромосомного состава геномов растений с интрогрессией чужеродного генетического материала при создании новых форм селекционных с/х культур.

В соответствии с назначением основной целью дисциплины является формирование у магистрантов системы знаний и навыков о современных хромосомно-инженерных технологиях при создании новых форм селекционных с/х культур.

Исходя из цели, в процессе изучения дисциплины решаются следующие задачи:

- Получение углубленных знаний о структурно-функциональной организации хромосомы как носителя генетической информации.
- Формирование знаний о механизмах реорганизации гибридных геномов при отдаленной гибридизации растений, цитологической и генетической диплоидизации;
- Получение знаний о формах передачи чужеродного хроматина, о современных методах включения в геном пшеницы небольших фрагментов чужеродных хромосом;
- Знакомство с методами идентификации хромосомного состава геномов интрогрессивных форм растений.
- Овладение практическими навыками микроскопии проходящего света и флуоресцентной, приготовления препаратов и их цитогенетического анализа; методами изучения кариотипа, митоза, мейоза в норме и различных гибридных форм.
- Обучение работы с литературными источниками по тематике исследования (отечественными и зарубежными научными журналами, электронными базами данных).

Дисциплина «Хромосомные инженерные технологии в селекции растений»» включает следующие темы:

Раздел 1. Цитогенетика растений. Геном. Хромосома. Кариотип

Тема 1.1 Структурно-функциональная организация хромосомы. Хромосома как носитель генетической информации. Т.Морган, хромосомная теория наследственности. Упаковка хромосомы: нуклеосома, гистоновый кор. Хроматин, эухроматин и гетерохроматин. Белки сохранения структуры хромосом (SMC): конденсины и когезины.

Тема 1.2 Классификация хромосом. Структурно-функциональная организация центромеры. Кариотип, идиограмма. Роль Г.А. Левитского в развитии цитогенетики растений. Принципы цитологической и генетической классификации хромосом. Работы Э. Сирса.

Тема 1.3 Геном растений. Молекулярная структура генома. Повторяющиеся последовательности ДНК: тандемные повторы, мобильные элементы. Роль мобильных элементов в формировании геномов растений. Топография кодирующих и некодирующих последовательностей на хромосомах

Тема 1.4 Секвенирование геномов. Особенности подходов и методов. Сортинг хромосом. Я. Долезель. ВАС-библиотеки.

Раздел 2. Полиплоидия и видообразование у цветковых растений

Тема 2.1 Автополиплоиды и аллополиплоиды. Роль аллополиплоидии в эволюции растений.

Тема 2.2 Эволюция семейства злаковых и трибы Triticeae.

Тема 2.3 Особенности структуры генома у мягкой пшеницы. Субгеномы мягкой пшеницы. Диплоидная регуляция мейоза. *Ph*-гены. Структурный и функциональный анализ локуса *Ph1*.

Тема 2.4 Неополплоиды и палеополплоиды. Роль в эволюции растений.

Раздел 3. Отдаленная гибридизация.

Тема 3.1 Межвидовая и межродовая гибридизация. Типы гибридов.

Сравнительная генетика. Работы отечественных и зарубежных исследователей.

Тема 3.2 Видовое разнообразие трибе Triticeae как источник генетической изменчивости для мягкой пшеницы. Классификация генофондов трибе Triticeae. Состав геномов у видов, особенности гибридизации с пшеницей.

Раздел 4. Реорганизация гибридного генома

Тема 4.1. Геномный шок. Причины несовместимости при отдаленной гибридизации. Ядерно-цитоплазматический антагонизм.

Тема 4.2 Генетическая диплоидизация. Реорганизация ДНК (элиминация последовательностей ДНК, активация транспозонов, замолкание и активация генов). Цитологическая диплоидизация. Восстановление мейотической

стабильности.

Тема 4.3. Мейотические мутации у растений. Роль в понимании механизмов реорганизации гибридных геномов.

Тема 4.4 Мейотические механизмы восстановления фертильности у гибридов F_1 , разрывов хромосом, формирования модификаций. Мейотическая реституция. Работы Карпеченко Г.Д.

Раздел 5. Технологии получения пшенично-чужеродных транслокаций, плюсы и минусы.

Тема 6.1. Гомеологичная рекомбинация. Мутации генов *Ph*. Система гаметоцидных генов. Создание коллекций делеционных линий.

Тема 6.2. Радиационное излучение. Методы и подходы. Создание моделей с двойной и тетрамоносомией.

Раздел 6. Идентификация хромосомного состава геномов интрогрессивных форм пшеницы

Тема 7.1. Цитогенетический анализ. Дифференциальное окрашивание хромосом. Идиограммы кариотипов.

Тема 7.2 Флуоресцентная *in situ* гибридизация. Фрагментарная *in situ* гибридизация (FISH). Хромосомоспецифичная локализация зондов, идентификация хромосом. Геномная *in situ* гибридизация. Выявление чужеродного генетического материала.

Раздел 7. Оценка интрогрессивной гибридизации в селекции пшеницы.

Тема 8.1. Формы передачи чужеродной информации (геномы, замещения хромосом, транслокации). Значение и эффективность каждой из них.

Тема 8.2. Сорта пшеницы с чужеродной генетической информацией. Передача кластера генов устойчивости к вредителям и заболеваниям. Создание озимых сортов пшеницы, адаптированных к условиям выращивания в Сибири.

Контрольная работа является логически завершённым и оформленным изложением понимания и освоения студентами отдельных разделов и тем, путей использования хромосомных технологий в практической селекции и в сельскохозяйственном производстве. Работа имеет характер аналитико-синтетического обзора научной литературы и научно-технической информации по выбранной теме.

В ходе выполнения студентом контрольной работы решаются следующие конкретные задачи:

1. Расширение теоретических и практических знаний по дисциплине «Хромосомные инженерные технологии в селекции растений» в соответствии с выбранной темой.

2. Изучение специальной литературы и научно-технической информации, достижений отечественной и зарубежной науки в рассматриваемой области знаний.

3. Развитие аналитических способностей, умения анализировать, структурировать и логично излагать освоенный материал, и самостоятельно делать обоснованные выводы по рассматриваемым вопросам.

4. Развитие навыков самостоятельной деятельности студента.

1. ВЫПОЛНЕНИЕ КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЫ

Процесс выполнения контрольной работы начинается с выбора информации и освоения контрольных вопросов по всем изучаемым темам дисциплины и подбора соответствующей литературы.

Работа выполняется в течение двух семестров учебного года. В процессе выполнения контрольной работы студент консультируется с преподавателем по всем возникающим в процессе усвоения учебного материала вопросам.

При выполнении контрольной работы следует дать максимально полные ответы на поставленные вопросы, составить схемы с пояснениями. При ответе на вопрос необходимо обратить особое внимание на суть изложения рассматриваемых вопросов, постаравшись показать при этом практическое значение использования хромосомных технологий в генетических исследованиях и практической селекции и в сельскохозяйственном производстве, сделать вывод.

Текст работы должен удовлетворять следующим основным требованиям:

1) отражать умение работать с научной литературой и научно-технической

информацией, 2) формулировать рассматриваемую проблему и определять подходы и методы её решения, 3) последовательно и логично излагать освоенный материал, 4) демонстрировать владение соответствующим понятийным и терминологическим аппаратом и методическими подходами изучения рассматриваемых вопросов. При описании данных анализируемой научной и научно-популярной литературы следует приводить ссылки на автора (или коллектив авторов) с указанием года издания или номера источника литературы. Например,: «По гипотезе и данным Н.И. Вавилова (1926) следует, что...» или «Рядом авторов [1-5] установлено влияние на ...».

В работе обязательно приводится библиографический список: научные публикации, научно-популярные работы, а также другие научно-технические источники, в том числе электронные.

Контрольная работа выполняется рукописно, объемом 15-20 страниц или в печатном виде. Выполненная контрольная работа представляется на кафедру для проверки за 2 недели до окончания лекционного курса. Защита выполненной контрольной работы проводится путем устного собеседования после предварительной ее оценки преподавателем, ведущим дисциплину. После защиты контрольной работы студент допускается к итоговой аттестации.

Контрольная работа, не отвечающая установленным требованиям, возвращается студенту для доработки с учётом сделанных замечаний.

1.1. Вопросы для индивидуальных заданий по выполнению контрольной работы

2. Хромосома как носитель генетической информации. Т.Морган, хромосомная теория наследственности.
3. Упаковка хромосомы: нуклеосома, гистоновый кор.
4. Хроматин, эухроматин и гетерохроматин.
5. Белки сохранения структуры хромосом (SMC): конденсины и когезины. АТФ-зависимая функция белков.
6. Классификация хромосом. Моноцентрические и голоцентрические хромосомы. Спутничные хромосомы, ядрышко-образующие районы –

- ЯОР. Добавочные или В-хромосомы. Аутосомы и половые хромосомы.
7. Структурно-функциональная организация центромеры. Центромерная ДНК и кинетохор. Белки кинетохора.
 8. Кариотип, идиограмма. А.Г. Левитский. Цитологическая и генетическая классификации хромосом. Работы Э. Сирса.
 9. Изменчивость по числу хромосом у геномов растений. Базовое число хромосом у злаковых.
 10. Геном растений. Размеры геномов и соотношение с числом хромосом.
 11. Молекулярная структура генома. Повторяющиеся последовательности ДНК: tandemные повторы, мобильные элементы.
 12. Tandemные повторы (микросателлиты, минисателлиты, сателлитная ДНК)
 13. Мобильные элементы: ретротранспозоны (LTR-транспозоны), ДНК-транспозоны. Ген-обогащенные районы хромосом.
 14. Роль мобильных элементов в формировании геномов растений.
 15. Топография кодирующих и не кодирующих последовательностей на хромосомах
 16. Субгеномы мягкой пшеницы, цитологическая и морфологическая идентификация.
 17. Эволюция семейства злаковых. Эволюция трибы Triticeae.
 18. Происхождение мягкой пшеницы. Аллополиплоидная природа генома мягкой пшеницы.
 19. Проточная цитометрия. Прямое светорассеяние, боковое светорассеяние, детекция флуоресценции. Принцип сортировки клеток.
 20. Подходы к секвенированию генома мягкой пшеницы. Я. Дозель. Метод сортировки хромосом. Пробоподготовка для сортировки хромосом.
 21. Межвидовая и межродовая гибридизация. Дивергенция видов и плодовитость гибридов, несовместимость при скрещивании.
 22. Классификация генофондов трибы Triticeae, используемых в гибридизации мягкой пшеницы.
 23. Интрогрессивная гибридизация в естественных условиях. Гибридогенные зоны и гибридогенные виды.
 24. Типы гибридов (гомоплоиды, автополиплоиды, аллополиплоиды).
 25. Роль полиплоидии в эволюции покрытосеменных и видообразовании. Палеополплоиды.
 26. Неополплоиды, реорганизация геномов.
 27. Реконструкция генома мягкой пшеницы. Генетическая диплоидизация, цитологическая диплоидизация.

28. Лocus *Ph* пшеницы. Генетический контроль мейоза у пшеницы.
29. Методы идентификации хромосом. С-окрашивание. Флуоресцентная *in situ* гибридизация.
30. Методика флуоресцентной *in situ* гибридизации. Мечение зондов.
31. Иммуноцитохимия. Цель использования.
32. Формы передачи чужеродной информации. Значение и эффективность каждой из них.
33. Сорта пшеницы с чужеродной генетической информацией. Передача кластера генов устойчивости к вредителям и заболеваниям.
34. Создание озимых сортов пшеницы, адаптированных к условиям выращивания в Сибири.

2. РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

2.1. Основная литература

1. Гончаров Н.П., Гончаров П.Л. Методические основы селекции растений. Новосибирск. Акад. Изд-во «Гео». 2009.

2.2. Дополнительная

1. Гончаров Н.П. Сравнительная генетика пшениц и их сородичей. Изд. 2-е испр. и доп. Новосибирск: Акад. изд-во «Гео», 2012. 523 с.
2. Дубовец Н.И., Сычева Е.А., Соловей Л.А. и др., Рекомбинантный геном злаков – закономерности формирования и роль в эволюции полиплоидных видов // Генетика. 2008. Т. 44. № 1. С. 54–61.
3. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика: учебное пособие / Жимулев И.Ф. – Сибирское университетское издательство, 2007. 480 с.

Приложение 1

Номера вопросов контрольной работы

Пред- послед- няя цифра шифра	Последняя цифра шифра									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	1,11,29	2,12,30	9, 19, 33	12, 22, 32	15, 28, 33	7, 14, 31	10, 23, 32	16, 28,31	7, 26, 33	8, 22, 30
1	13, 24, 31	6, 27, 30	1, 18, 31	2, 17,30	3, 13, 31,	1, 13, 30	4, 23, 31	6, 26, 33	9, 21, 32	15, 27, 32
2	7, 17, 32	14, 23, 30	3, 1 9, 32	4, 20,33	9, 16, 32,	4, 14, 32,	9, 21, 34,	2, 23, 34,	4, 25, 30	6, 16, 33
3	11, 21, 31	8,18,2	6, 24, 30	7, 23, 30	8, 28, 31	9, 26, 32,	5, 15, 33,	4, 14, 34,	5, 22, 32	18, 25,31
4	2, 18, 33	16, 26, 32	10, 20, 30	6, 12, 32	10, 24, 30	7, 20, 33	10, 19, 28	8, 13, 31	1, 23, 33	4, 26, 32
5	8, 15, 33	5, 25, 33	2, 14, 33	4, 25, 30	9, 26, 31,	8, 27, 33,	6, 24, 31,	1, 18, 32	3, 13, 32	9, 13, 33,
6	23, 30, 31	8, 20, 33	7, 24, 32	2, 19, 30	6, 17, 31	14, 23, 31,	10, 26, 30	9, 28, 32	6, 18, 30	5, 20, 33
7	4, 26, 31	1, 14, 32	4, 17, 31	9, 21, 30	5, 15, 27	2, 16,30	3, 25, 30	18, 27, 31	8, 21, 33	12, 28,32
8	14, 24, 33	5, 23, 30	10, 20, 30	7, 11, 32,	4, 13, 31	6, 21, 28,	1, 12, 27,	3, 19, 31,	2, 27, 33	3, 14, 30
9	13, 28, 30	9, 22, 33	8, 18, 29,	13, 24, 33	3, 21, 30,	11, 37, 33,	7, 22, 31	5, 20, 33	9, 17, 32,	10, 28, 30

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.	3
1. Выполнение контрольной работы.....	5
1.1. Вопросы для индивидуальных заданий по выполнению контрольной работы	6
2. Рекомендуемая литература	10
Приложение 1 Номера вопросов контрольной работы.....	15

Составитель

Силкова Ольга Геннадьевна

Хромосомные инженерные технологии в селекции растений

Методические указания
по выполнению контрольной работы

Редактор: Н.К. Крупина
Компьютерная верстка

Подписано к печати 2015 г.
Формат 60х84 1/16. объем уч.-изд. л.
Тираж экз. изд. № Заказ №

Отпечатано в издательстве НГАУ
630009, РФ, г. Новосибирск, ул. Добролюбова 160, офис 106.
Тел.факс (383) 267-09-10.