

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
по выполнению лабораторных работ по дисциплине
«Селекция растений, животных и микроорганизмов»

Направление подготовки	06.03.01 Биология
Направленность (профиль)	Генетика, селекция и биоинформатика

Лабораторная работа № 1

Селекция как наука, ее содержание и задачи.

Основные разделы селекции, связь селекции с другими науками. Генетика - теоретическая основа селекции. Проблемы генетики и селекции культурных растений. Достижения и перспективы селекции культурных растений. Зарождение и развитие селекции культурных растений. История селекции, работы первых селекционеров. Современное состояние селекции. Задачи частной генетики и селекции растений.

Селекция как наука, ее содержание и задачи.

Селекция -- это наука о путях создания новых и улучшения уже существующих сортов культурных растений, пород домашних животных и штаммов микроорганизмов с ценными для практики признаками и свойствами. Возникновение селекции как науки связано с необходимостью решения такой глобальной, жизненно важной проблемы всего человечества, как продовольственная проблема. Для ее решения нужно не только постоянно совершенствовать традиционные методы ведения сельского хозяйства (интенсивная обработка почвы, внесение оптимальных доз минеральных и органических удобрений, осуществление комплекса мер по сохранению и повышению плодородия почв и др.), но и использовать новые научные методы производства продуктов питания в условиях интенсивного земледелия.

Задачи современной селекции вытекают из ее определения -- это выведение новых и совершенствование уже существующих сортов растений, пород животных и штаммов микроорганизмов.

Сортом, породой и штаммом называют устойчивую группу (популяцию) живых организмов, искусственно созданную человеком и имеющую определенные наследственные особенности. Все особи внутри породы, сорта и штамма имеют идентичные, наследственно закрепленные морфологические, физиолого-био-химические и хозяйственные признаки и свойства, а также однотипную реакцию на действие факторов внешней среды.

Основные разделы селекции, связь селекции с другими науками.

Разделы селекции:

- учение об основных направлениях селекционной работы;
- учение об исходном материале;
- учение о наследственной изменчивости;
- учение о роли среды в выявлении сортовых признаков и свойств;
- теория гибридизации;
- теория селекционного процесса;
- частная селекция отдельных культур

Генетика - теоретическая основа селекции.

Генетика – наука, изучающая наследственность и изменчивость организмов. Важный вклад в выяснение сущности наследственности внес Грегор Мендель (1822–1884), опыты которого по скрещиванию растений лежат в основе большинства современных исследований по наследственности. Он изучил характер наследования отдельных признаков и открыл законы, по которым отдельные

наследственные признаки передаются от родителей к детям и их более далеким потомкам.

Достижения и перспективы селекции культурных растений.

Академику Н.И. Цицину в 50-х годах XX века удалось создать межродовой гибрид пшеницы и пырея, что легло в основу формирования нового сорта пшеницы зерно-кормового свойства с большим урожаем зерна и огромной укосной массой кормовой соломы. Сходным образом получен гибрид пшеницы с рожью, названный тритикале (от латинского названия родителей: пшеницы – *Triticum* и ржи – *Secale*). С получением тритикале была решена одна из важнейших проблем селекции пшеницы – создание новых сортов с высокой морозостойкостью. Методом ступенчатой гибридизации, при которой повторно скрещиваются ранние поколения гибрида с другими гибридами и сортами, был получен ценнейший сорт яровой пшеницы Саратовская-29. Таким же способом П.П. Лукьяненко, используя для гибридизации географически и экологически отдаленные формы, получил один из лучших по продуктивности сорт озимой мягкой пшеницы Безостая-1.

Замечательные сорта озимой пшеницы создал академик В.Н. Ремесло (Мироновская-808, Юбилейная-50 и др.), а В.П. Пустовойт методами скрещивания и отбора создал на Кубани ценный сорт подсолнечника, семена которого содержат более 50 % масла. До этого семена самых высокомасличных сортов подсолнечника содержали не более 30–32 % масла.

Методами внутривидовой и отдаленной гибридизации и отбора отечественные селекционеры создали много морозостойких сортов плодовых и ягодных культур, чем обеспечили продвижение садоводства далеко на север нашей страны в районы рискованного земледелия.

История селекции, работы первых селекционеров.

Первоначально в основе селекции лежал искусственный отбор, когда человек отбирает растения или животных с интересующими его признаками. До XVI--XVII вв. отбор происходил бессознательно, то есть человек, например, отбирал для посева лучшие, самые крупные семена пшеницы, не задумываясь о том, что он изменяет растения в нужном ему направлении.

Только в последнее столетие человек, еще не зная законов генетики, стал использовать отбор сознательно или целенаправленно, скрещивая те растения, которые удовлетворяли его в наибольшей степени.

Однако методом отбора человек не может получить принципиально новых свойств у разводимых организмов, так как при отборе можно выделить только те генотипы, которые уже существуют в популяции. Поэтому для получения новых пород и сортов животных и растений применяют гибридизацию (скрещивание), скрещивая растения с желательными признаками и, в дальнейшем, отбирая из потомства те особи, у которых полезные свойства выражены наиболее сильно.

Учёные, которые внесли вклад в развитие селекции и генетики

1) Г. Мендель

Этот немецкий учёный заложил основы современной генетики, установив в 1865 году принцип дискретности (прерывности), наследования признаков и свойств организмов. Также он доказал метод скрещивания (на примере гороха) и обосновал три закона, названных позже его именем.

2) Т. Х. Морган

В начале двадцатого века этот американский биолог обосновал хромосомную теорию наследственности, согласно которой наследственные признаки определяются хромосомами -

органоидами ядра всех клеток организма. Ученый доказал, что гены расположены среди хромосом линейно и что гены одной хромосомы сцеплены между собой.

3) Ч. Дарвин

Этот учёный, основатель теории происхождения человека от обезьяны, провёл большое количество опытов по гибридизации, в ряде которых и была установлена теория о происхождении человека.

4) Т. Фэрчайлд

Впервые в 1717 году получил искусственные гибриды. Это были гибриды гвоздик, получившиеся в результате скрещивания двух различных родительских форм

5) И. И. Герасимов

В 1892 году русский ботаник Герасимов исследовал влияние температуры на клетки зеленой водоросли спирогиры и обнаружил удивительное явление - изменение числа ядер в клетке. После воздействия низкой температурой или снотворным, он наблюдал появление клеток без ядер, а также с двумя ядрами. Первые вскоре погибали, а клетки с двумя ядрами успешно делились. При подсчете хромосом оказалось, что их вдвое больше, чем в обычных клетках. Так было открыто наследственное изменение, связанное с мутацией генотипа, т.е. всего набора хромосом в клетке. Оно получило название полиплоидии, а организмы с увеличенным числом хромосом - полиплоидов.

5) М. Ф. Иванов

Выдающуюся роль в селекции животных сыграли достижения известного советского селекционера Иванова, разработавшего современные принципы отбора и скрещивания пород. Он сам широко вводил генетические принципы в практику племенного дела, сочетая их с подбором условий воспитания и кормления, благоприятных для развития породных свойств. На этой основе им были созданы такие выдающиеся породы животных, как белая украинская степная свинья и асканийский рамбуль.

6) Я. Вильмут

В последнее десятилетие активно изучается возможность искусственного массового клонирования уникальных животных, ценных для сельского хозяйства. Основной подход заключается в переносе ядра из диплоидной соматической клетки в яйцеклетку, из которой предварительно удалено собственное ядро. Яйцеклетку с подмененным ядром стимулируют к дроблению (часто электрошоком) и помещают животным для вынашивания. Таким путем в 1997 г. в Шотландии от ядра диплоидной клетки из молочной железы овцы-донора появилась овечка Долли. Она стала первым клоном, искусственно полученным у млекопитающих. Именно этот случай был достижением Вильмута и его сотрудников.

7) С. С. Четвериков

В двадцатых годах возникли и стали развиваться мутационная и популяционная генетики. Популяционная генетика это область генетики, которая изучает основные факторы эволюции - наследственность, изменчивость и отбор - в конкретных условиях внешней среды, популяции. Основателем этого направления и был советский ученый Четвериков.

8) Н. К. Кольцов

В 30-е годы генетик этот учёный предположил, что хромосомы - это гигантские молекулы, предвосхитив тем самым появление нового направления в науке - молекулярной генетики.

9) Н. И. Вавилов

Советский ученый Вавилов установил, что у родственных растений возникают сходные мутационные изменения, например у пшеницы в окраске колоса, остистости. Эта закономерность объясняется сходным составом генов в хромосомах родственных видов. Открытие Вавилова получило название закона гомологических рядов. На основании его можно предвидеть появление тех или иных изменений у культурных растений.

10) И. В. Мичурин

Занимался гибридизацией яблонь. Благодаря этому, он вывел новый сорт Антоновка шестиграммовая. А его гибриды яблок нередко называют "Мичуринскими яблоками". В основе работ И. В. Мичурина лежит сочетание трех основных методов: гибридизации, отбора и воздействия условиями среды на развивающиеся гибриды

Лабораторная работа №2

Учение о сорте. Понятие об аналитической и синтетической селекции. Основные принципы создания новых сортов. Виды и способы получения исходного материала. Современное представление о сорте. Классификация сортов по происхождению и способам выведения. Сорт как элемент интенсивной технологии возделывания зерновых культур. Признаки и свойства растений

Учение о сорте.

Селекция растений является наукой о создании новых сортов и гибридов сельскохозяйственных культур. В ее задачу входит сбор, создание и изучение исходного материала, оценка полученных новых форм и образцов, испытание, районирование и внедрение в производство выведенных сортов.

Главная цель селекционной работы заключается в создании новых сортов, способных формировать более высокие урожаи, увеличивать валовые сборы продукции растениеводства и улучшать её качество. Вся деятельность селекционеров и селекционных учреждений направлена на выполнение тех неотложных задач, которые стоят перед сельскохозяйственным производством по созданию достаточного количества продуктов питания для населения, кормов для животных и сырья для легкой и пищевой промышленности.

Сортом называется совокупность сходных по хозяйственно-биологическим свойствам и морфологическим признакам культурных растений, созданных и размноженных для возделывания в соответствующих природных и производственных условиях с целью повышения урожайности, качества продукции и экономической эффективности производства.

Создаваемые сорта предназначаются для получения высоких и стабильных урожаев определенного вида продукции нужного качества. Растения, составляющие сорт, характеризуются общностью происхождения, имеют схожую генетическую основу и размножены из одного или нескольких исходных индивидуумов. Степень сходства растений, составляющих сорт, определяется как исходным селекционным материалом (гибриды, мутанты, гибридо-мутанты, полиплоиды и др.), так и методами используемого отбора (индивидуальный, массовый, клоновый и др.). Сорт создается для определенных почвенно-

климатических зон, где для него имеется возможность наиболее полной реализации потенциальной возможности генотипа.

Сорта сельскохозяйственных культур по своему происхождению подразделяются на местные (созданные в результате действия естественного и искусственного отборов в определенной местности) и селекционные (созданные на основе научных методов селекции).

В зависимости от способов выведения получают сорта-популяции, создаваемые путем массового отбора перекрестноопыляющихся (рожь, гречиха, кукуруза, свекла, клевер и др.) или самоопыляющихся растений; сорта-линии, получаемые путем индивидуального отбора растений самоопыляющихся культур (пшеница, ячмень, овес, горох, лен, люпин узколистый и др.), представляющие потомство, размноженное от одного растения. Сорта гибридного происхождения создаются путем скрещивания родительских форм с последующим отбором ценных растений для дальнейшего их размножения. Сорта-клоны получают методом индивидуального клонового отбора у вегетативно размножаемых культур (картофель, топинамбур, лук, чеснок, земляника).

Гибриды в зависимости от способа получения подразделяются на простые, двойные, трехлинейные, межлинейные, сорто-линейные, линейно-сортовые. Для получения гибридов используют стерильные аналоги, фертильные аналоги закрепители стерильности и фертильные аналоги восстановители фертильности.

Сорта и гибриды могут быть перспективными, районированными, дефицитными и стандартными. Перспективными признаются сорта и гибриды, которые успешно проходят государственное испытание, подтверждают свои преимущества, но требуют перед включением в Государственный реестр прохождения производственного испытания и размножения в системе оригинального семеноводства. Районированные сорта и гибриды заносятся в Государственный реестр охраняемых сортов и разрешаются для использования в производстве. Дефицитными являются сорта и гибриды, включенные в Госреестр по которым после включения в Госреестр не полностью развернуто семеноводство и ощущается недостаток семян.

Стандартом являются лучшие районированные сорта и гибриды, с которыми в государственном испытании осуществляется сравнение всех испытываемых новых сортов на государственных сортоучастках (ГСУ) и сортоиспытательных станциях (СС).

К сорту, как средству сельскохозяйственного производства, предъявляются большие требования. В нем должна быть удачно совмещена высокая стабильная продуктивность с устойчивостью к неблагоприятным условиям окружающей среды, к болезням и вредителям. Он должен быть пластичным, т.е. обладать широким диапазоном нормы реакции, быть отзывчивым на вносимые удобрения и другие агротехнические приемы, иметь совершенную архитектуру. Пластичные сорта за счет особенностей генотипа и широты нормы реакции в государственном и производственном сортоиспытаниях формируют более стабильные и высокие урожаи по годам на различных сортоучастках и сортоиспытательных станциях. На основании полученных данных такие сорта районировываются на больших территориях и занимают обширные ареалы распространения. Примерами широкораспространенных высокопластичных сортов озимой ржи могут служить сорта Вятка, Восход 1, Харьковская 60, Белта, Верасень, озимой пшеницы Безостая 1, Мироновская 808, Капылянка, Каравай, яровой пшеницы Лютесценс 62, Саратовская 29, Иволга, ярового ячменя Винер, Московский 121, Зазерский 85, Гонар, Гастинец, люпина Вайко, Быстрорастущий 4, Академический 1, Миртан, Першацвет, картофеля Ранняя роза, Лорх, Темп, Лошицкий, Скарб, Журавинка и другие.

Продуктивность сорта любой сельскохозяйственной культуры зависит от его генотипа и условий окружающей среды. Особое значение имеют такие признаки, как зимостойкость, засухоустойчивость, устойчивость к болезням, вредителям и полеганию, дружность созревания, продолжительность вегетационного периода. Чем полнее соответствуют условия произрастания сорта его генотипу, тем продолжительнее сохраняются и стойко поддерживаются его типичность, сортовая чистота, высокие посевные качества и другие хозяйственно-биологические признаки и свойства. Вместе с тем известно, что условия произрастания культурных растений изменяются по годам, поэтому наблюдаются отклонения в реализации потенциальных возможностей сортов.

Качество продукции определяется такими показателями как стекловидность, выполненность зерна, содержание белка и клейковины, выход муки или крупы у зерновых и крупяных культур, выход волокна у льна, крахмала у картофеля, сахара у сахарной свеклы, кормопротеиновых единиц у трав и др.

В любом научно-исследовательском учреждении селекция по созданию нового сорта начинается с разработки его модели (проекта), в основу которой берутся результаты тщательного изучения исходного материала и достижений селекции.

Модель сорта включает перечень основных морфологических и хозяйственно-полезных признаков. В качестве эталона берется соответствующий лучший районированный сорт-стандарт с его параметрами. Во второй колонке модели указывается уровень показателей, который должен быть обеспечен в проектируемом сорте по урожайности и элементам ее структуры, устойчивости к болезням, вредителям, полеганию, осыпанию, неблагоприятным условиям погоды, качеству продукции, длине вегетационного периода и другим признакам.

На протяжении всей истории селекции и особенно на ее современном научном этапе создано большое количество ценных сортов различных культур, изменивших во многих случаях облик и свойства своих предков до неузнаваемости. Яркими примерами этому могут служить достижения в селекции не только таких сравнительно новых культур, как сахарная свекла, подсолнечник, люпин, но и древних злаков – пшеницы, ржи, ячменя и других сельскохозяйственных растений.

Понятие об аналитической и синтетической селекции.

Аналитическая селекция — метод, связанный с анализом линий из которых состоит популяция, и отбором лучших из них. Создаваемые этим методом сорта называются линейными сортами.

Синтетическая селекция, в результате которой в одном гибридном организме достигается сочетание свойств и признаков, двух и большего-числа родительских, форм.

Виды и способы получения исходного материала.

Исходным материалом называется все разнообразие возделываемых дикорастущих форм растений, которое селекционер может использовать в своей работе. Правильный выбор исходного материала в значительной степени определяет успех селекции. Если исходные формы растений подобраны для скрещивания неудачно и не отвечают поставленным задачам или почвенно-климатическим условиям зоны, то вся селекционная работа, может быть, оказаться бесплодной.

В настоящее время по подавляющему большинству сельскохозяйственных культур наработан обширный исходный материал. Разнообразие его постоянно из года в год увеличивается как за счет выявления новых форм так и за счет создания новых сортов. Исходный материал может состоять из набора сортов или образцов (коллекции), он может быть искусственно создан путем применения гибридизации, искусственного мутагенеза, полиплоидии

других методов. В селекционной практике используются следующие основные виды исходного материала:

Естественные популяции. К данному виду исходного материала относятся дикорастущие формы и местные сорта.

Дикорастущие формы растений являются важным источником исходного материала для селекции различных сельскохозяйственных культур. Ценность этого вида исходного материала состоит в большой его приспособленности к неблагоприятным условиям произрастания к засухе, морозу, засолению почв, болезням и вредителям. Например, в Северном Казахстане встречается более 70 видов дикорастущих трав, среди которых имеются формы, обладающие исключительной морозостойкостью, жаростойкостью, засухоустойчивостью, способностью расти на засоленных почвах. Они представляют очень большую ценность как исходный материал для селекции, так же как и дикорастущие виды трав, обнаруженные в других почвенноклиматических регионах республики, странах ближнего и дальнего зарубежья.

Гибридные популяции и селекционные сорта. В селекционной практике обычно используется два вида гибридных популяций - внутривидовые, созданные в результате скрещивания сортов и форм растений в пределах одного вида и популяции, полученные в результате скрещивания разных видов и родов растений (межвидовые и межродовые).

Селекционные сорта как исходный материал имеют большое значение в селекционной практике. Чаще всего селекционные сорта используются в синтетической селекции как партнеры, растения которых служат для проведения скрещиваний между ними. Данные сорта могут служить исходным материалом для селекции новых сортов и без применения гибридизации. Например, из гибридного сорта озимой пшеницы Безостая 4 путем внутрисортного отбора П.П. Лукьяненко получил выдающийся сорт озимой пшеницы Безостая 1. С помощью внутрисортного отбора из сорта озимой пшеницы Альбидум 11 был получен очень морозостойкий сорт Альбидум 114, а из сорта овса Мильтон сорт Победа. Широко известный в свое время в Северном Казахстане сорт яровой мягкой пшеницы Пиротрикс 28 был получен академиком В.П. Кузьминым методом внутрисортного отбора из сорта яровой мягкой пшеницы Шортандинка.

Самоопыленные линии (инцухт-линии). У перекрестноопыляющихся культур важным новым источником исходного материала являются са-моопыленные линии, или инцухт-линии. Их получают путем многократного принудительного самоопыления перекрестноопыляющихся растений. Лучшие линии скрещивают между собой или с сортами для создания гетерозисных гибридов. В результате такого скрещивания образуются гибридные семена, которые используют в течение одного года. Гибриды, полученные на основе самоопыленных линий, в отличие от обычных гибридных сортов, необходимо ежегодно воспроизводить.

Искусственные мутации и полиплоидные формы. Этот вид исходного материала создается путем воздействия на растения различными видами радиации, химическими веществами, температурой, прививками и другими мутагенными средствами. Мутации и полиплоидные формы - новые источники получения исходного материала, работа с ними с каждым годом расширяется. По некоторым культурам в селекции на основе мутагенеза уже получены практически ценные результаты.

Для создания коллекции исходного материала из дикорастущих форм растений научными учреждениями различных стран организуются экспедиции. В ряде стран созданы специальные научно-исследовательские учреждения, которые занимаются сбором и изучением как культурных, так и диких форм растений различных культур. В США, Канаде, Российской

Федерации, Мексике и других странах построены национальные хранилища, которые рассчитаны на хранение семян различных видов растений. Семена данных растений хранятся в герметизированной таре при температуре 4,5 °С с 60%-ной относительной влажностью воздуха. Такой режим обеспечивает длительное (до 30 лет) хранение семян без потери их всхожести, что очень важно, поскольку при частых пересевах обычно теряется идентичность семян. Учреждения по сбору и хранению генетического разнообразия семян различных диких и культурных растений периодически издаются каталоги с описанием наиболее интересных в селекционном плане образцов. Данные предприятия по заявкам селекционеров высылают пакетные образцы семян растений различных культур, которые в дальнейшем используются в селекционном процессе. Селекционные учреждения - научно-исследовательские институты, селекционные центры, опытные станции могут также комплектовать коллекции исходного материала на основе своих генетических ресурсов, а также путем обмена с другими селекционными учреждениями. Следует отметить, что вовлечению исходного материала в селекционный процесс предшествует, как правило, детальное изучение его в конкретных почвенно-климатических условиях, для которых создаются сорта той или иной сельскохозяйственной культуры.

Изучение исходного материала проводится в специальных питомниках - питомниках изучения исходного материала. Изучение исходного материала обычно проводится на небольших делянках, часто с использованием провокационного фона.

Гибрид – потомство, полученное в результате скрещивания форм, отличающихся друг от друга по своей наследственности.

В растениеводстве гибрид – называют потомство от скрещивания и отдаленных по происхождению организмов (разных видов, родов и т.д.), и различных форм одного и того же вида.

Гибридизация – скрещивание разнородных в наследственном отношении растительных форм в природе, в результате возникают новые формы растений. Гибридизация – один из важнейших факторов эволюции форм в природе, она широко применяется в селекции растений, а так же в семеноводстве.

Признаки и свойства растений.

В результате постоянной изменчивости растений между ними создаются морфологические, физиологические и биохимические различия, которые используются и усиливаются в процессе отбора при создании новых сортов.

Сорта качественно, то есть в существенных чертах, различаются между собой по признакам и свойствам.

Любая форма или сорт растений характеризуется совокупностью многих признаков и свойств. Признаками называются морфологические особенности и черты строения растений. К ним относятся: высота растений; число и величина листьев; толщина стебля; число междоузлий и побегов кущения (у злаков); величина колоса, метелки, початка, клубня, корнеплода, плода; крупность зерна; наличие или отсутствие остей и опушенности; плотность колоса или метелки (у злаков); окраска семян и плодов и т. д. Хозяйственная значимость различных признаков неодинакова: одни имеют большее, другие меньшее значение.

Признаки растений условно делят на две группы: качественные, легко определяемые глазомерно (окраска, форма, наличие или отсутствие остей, опушенности и т. д.), и количественные,

устанавливаемые путем измерения, взвешивания и подсчета (число зерен в колосе и початке, масса клубней и корней, крупность семян, длина и толщина стебля и т. д.). Любому качественному признаку можно дать количественную характеристику, но этого в большинстве случаев не делают, так как достаточная определенность в оценке достигается глазомерно. Нередко глазомерных наблюдений вполне достаточно и для установления количественных признаков. Так, при оценке некоторых сортов по высоте стебля ограничиваются характеристикой: высокий, средний, низкий. Определяя величину зерна, нередко оценивают его как крупное, среднее, мелкое и т. д.

Физиологические, биохимические и технологические особенности растений называются свойствами. Физиологические свойства растений — это степень их засухоустойчивости, холодостойкости, зимостойкости, устойчивости к болезням и вредителям, реакция на условия освещения, отзывчивость на высокий агрофон, в том числе применение удобрений, орошение и т. д. Биохимические свойства растений определяются количественным и качественным составом различных веществ: белка, крахмала, сахара, жира, эфирных масел, витаминов, алкалоидов. Технологические свойства растений связаны с их промышленной переработкой: выход муки из зерна при помоле; объем и пористость выпекаемого из муки хлеба; количество экстрактивных веществ в зерне ячменя, перерабатываемого на пиво; пригодность для консервирования плодов и ягод; технические данные волокон у прядильных культур и т. д.

Основной показатель ценности сорта — его урожайность. Урожайность — это сложное сочетание многих хозяйственно-биологических признаков и свойств растения,

Любой признак или свойство организма в каждом поколении развивается заново на основе одного или нескольких генов при взаимодействии их с внешними условиями. Так как внешние условия, в которых развивается организм, никогда не бывают постоянными, один и тот же признак выражается в различных величинах (модификациях), причем качественные признаки более жестко контролируются генами и обладают большей устойчивостью. Вследствие этого развитие их относительно меньше зависит от колебания внешних условий и носит прерывный характер. Количественные же признаки определяются, как правило, большим числом генов и менее жестко контролируются ими. Вследствие меньшей устойчивости и сильной зависимости от колебания внешних условий развитие их носит непрерывный характер.

Лабораторная работа №3

Исходный материал и принципы создания. Исходный материал, его сохранение и использование в селекции. Современные методы создания исходного материала. Центры происхождения культурных растений. Мировые генцентры Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости. Создание национального генофонда (банка) растительных ресурсов. Формирование банка данных о генофонде исходного материала.

Центры происхождения культурных растений.

Центры происхождения культурных растений — географические центры генетического разнообразия культурных растений. Могут быть первичными (район изначального произрастания диких форм и доместикации) и вторичными (в результате дальнейшего распространения культурных и полукультурных растений и последующей селекции).

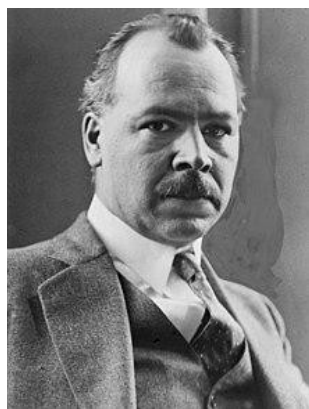
История

Растениеводство впервые возникло около 11-12 тысяч лет назад на Ближнем Востоке, на условной территории, которая сегодня называется Плодородным полумесяцем. Процесс одомашнивания

первоначально происходил независимо в географически обособленных областях земного шара на всех пяти континентах. Флористический состав одомашниваемых видов был эндемичным для больших географических территорий, таким образом, использовалась местная флора.

Глобализация материальных связей сопровождалась распространением семян и плодов эндемичных одомашненных растений, так что зачастую трудно определить родину культурного вида. В процессе становления и расширения ареалов высших растений определились ботанико-географические и генетические центры происхождения культурных растений. Одомашнивание растений в различных географических условиях сопровождалось такими естественными закономерностями эволюции, как мутации различного типа, полиплоидия и интрогрессия при естественной гибридизации.

Учение о центрах происхождения культурных растений



Н. И. Вавилов

Учение о центрах происхождения культурных растений сформировалось на основе идей Ч. Дарвина («Происхождение видов», гл. 12, 1859) — о существовании географических центров происхождения биологических видов. В 1883 году А. Декандоль опубликовал труд, в котором установил географические области начального происхождения главнейших культурных растений. Однако эти области были соотнесены к целым континентам или к другим достаточно обширным территориям. В течение полувека после выхода книги Декандоля познания в области происхождения культурных растений значительно расширились; вышли монографии, посвященные культурным растениям различных стран, а также отдельным растениям. Наиболее планомерно эту проблему разрабатывал в 1926—1939 годах Н. И. Вавилов. На основании материалов о мировых растительных ресурсах он выделял 7 основных географических центров происхождения культурных растений.

1. Южноазиатский тропический центр (около 33 % от общего числа видов культурных растений).
2. Восточноазиатский центр (19% культурных растений).
3. Юго-Западноазиатский центр (14 % культурных растений).
4. Средиземноморский центр (примерно 11 % видов культурных растений).
5. Эфиопский центр (около 4 % культурных растений).
6. Центральноамериканский центр (примерно 10 %).
7. Андийский (Южноамериканский) центр (около 9 %).

Многие исследователи, в том числе П. М. Жуковский, Е. Н. Синская, А. И. Купцов, продолжая работы Н. И. Вавилова, внесли в эти представления свои коррективы. Так,

тропическую Индию и Индокитай с Индонезией рассматривают как два самостоятельных центра, а Юго-Западноазиатский центр разделён на Среднеазиатский и Переднеазиатский, основой Восточно-азиатского центра считают бассейн Хуанхэ, а не Янцзы, куда китайцы как народ-земледелец проникли позднее. Установлены также центры древнего земледелия в Западном Судане и на Новой Гвинее. Плодовые культуры (в том числе ягодные и орехоплодные), имея более обширные ареалы, выходят далеко за пределы центров происхождения, более согласуясь с представлениями А. Декандоля. Причина этого заключается в преимущественно лесном происхождении (а не предгорном как для овощных и полевых культур), а также в особенностях селекции. Выделены новые центры: Австралийский, Североамериканский, Европейско-Сибирский.

Некоторые растения введены в прошлое в культуру и вне этих основных центров, но число таких растений невелико. Если ранее считалось, что основные очаги древних земледельческих культур — широкие долины Тигра, Евфрата, Ганга, Нила и других крупных рек, то Вавилов показал, что почти все культурные растения появились в горных районах тропиков, субтропиков и умеренного пояса. Основные географические центры начального введения в культуру большинства возделываемых растений связаны не только с флористическим богатством, но и с древнейшими цивилизациями.

Установлено, что условия, в которых происходила эволюция и селекция культуры, накладывают требования к условиям её произрастания. Прежде всего это влажность, длина дня, температура, продолжительность вегетации.

Мировые генцентры Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости.

Гомологические ряды в наследственной изменчивости — понятие, введенное Н. И. Вавиловым при исследовании параллелизмов в явлениях наследственной изменчивости по аналогии с гомологическими рядами органических соединений.

Генетически близкие виды и роды характеризуются сходными рядами наследственной изменчивости с такой правильностью, что, зная ряд форм в пределах одного вида, можно предвидеть нахождение параллельных форм у других видов и родов.

Закономерности в полиморфизме у растений, установленные путём детального изучения изменчивости различных родов и семейств, можно условно до некоторой степени сравнить с гомологическими рядами органической химии, например с углеводородами (CH_4 , C_2H_6 , C_3H_8 ...).

Суть явления состоит в том, что при изучении наследственной изменчивости у близких групп растений были обнаружены сходные аллельные формы, которые повторялись у разных видов (например, узлы соломины злаков с антоциановой окраской или без, колосья с остью или без и т. п.). Наличие такой повторяемости давало возможность предсказывать наличие ещё не обнаруженных аллелей, важных с точки зрения селекционной работы. Поиск растений с такими аллелями проводился в экспедициях в предполагаемые центры происхождения культурных растений. Следует помнить, что в те годы искусственная индукция мутагенеза химическими веществами или воздействием ионизирующих излучений ещё не была известна, и поиск необходимых аллелей приходилось производить в природных популяциях. Дело в том, что в процессе клеточного деления явления, отвечающие за наследственную изменчивость, например, кроссинговер, не происходят полностью случайным образом, а зависят от структуры хромосом, т.е. у гомологичных видов хромосомные перестройки могут совпадать, давая параллелизм форм. Мутагенез с помощью радиации тоже не полностью спонтанен, из-за наличия у организмов системы репарации повреждений генома, а происходит в так называемых горячих точках, которые у гомологичных видов соответствуют друг другу.

Н. И. Вавилов рассматривал сформулированный им закон как вклад в популярные в то время представления о закономерном характере изменчивости, лежащей в основе эволюционного процесса (например, теория номогенеза Л. С. Берга). Он полагал, что закономерно повторяющиеся в разных группах наследственные вариации лежат в основе эволюционных параллелизмов и явления мимикрии.

Лабораторная работа № 4

Рекомбинационная селекция как метод создания исходного материала. Программа дисциплины "Генетические основы селекции"; 020206.65 Генетика; Пономарева М.Л. , Пономарева М.Л. Регистрационный номер Страница 7 из 17. Принципы и методы селекции растений. Внутривидовая гибридизация. Генетические особенности селекции растений-самоопылителей, перекрестноопыляемых и вегетативно размножаемых растений. Принципы подбора родительских пар. Типы скрещиваний. Разновидности простых и сложных скрещиваний.

Принципы и методы селекции растений.

Классическими методами селекции растений были и остаются гибридизация и отбор. Различают две основные формы искусственного отбора: *массовый* и *индивидуальный*.

1. *Массовый отбор* применяют при селекции *перекрестноопыляемых* растений, таких, как рожь, кукуруза, подсолнечник. При этом выделяют группу растений, обладающих ценными признаками. В этом случае сорт представляет собой популяцию, состоящую из гетерозиготных особей, и каждое семя даже от одного материнского растения обладает уникальным генотипом. С помощью массового отбора сохраняются и улучшаются сортовые качества, но результаты отбора неустойчивы в силу случайного перекрестного опыления.

2. *Индивидуальный отбор* эффективен для *самоопыляемых* растений (пшеницы, ячменя, гороха). В этом случае потомство сохраняет признаки родительской формы, является *гомозиготным* называется *чистой линией*. Чистая линия — потомство одной гомозиготной самоопыленной особи. У любой особи тысячи генов, и так как происходят мутационные процессы, то абсолютно гомозиготных особей в природе практически не бывает. Мутации чаще всего рецессивны. Под контроль естественного и искусственного отбора они попадают только тогда, когда переходят в гомозиготное состояние.

3. *Естественный отбор* в селекции играет определяющую роль. На любое растение в течение всей его жизни действует целый комплекс факторов окружающей среды, и оно должно быть устойчивым к вредителям и болезням, приспособлено к определенному температурному и водному режиму.

4. *Инбридинг* используют при *самоопылении перекрестноопыляемых растений*, например, для получения чистых линий кукурузы. При этом подбирают такие растения, гибриды которых дают максимальный *эффект гетерозиса* — жизненной силы, образуют початки более крупные, чем початки родительских форм. От них получают чистые линии — на протяжении ряда лет, производят принудительное самоопыление — срывают метелки с выбранных растений и, когда появляются рыльца пестиков, их опыляют пылью этого же растения. Изоляторами предохраняют соцветия от попадания чужой пыли. У гибридов многие рецессивные неблагоприятные гены при этом переходят в гомозиготное состояние, и это приводит к снижению их жизнеспособности, к депрессии. Затем скрещивают чистые линии между собой для получения гибридных семян, дающих эффект гетерозиса.

5. Перекрестное опыление самоопылителей дает возможность сочетать свойства различных сортов. Рассмотрим, как это практически выполняется при создании новых сортов пшеницы. У цветков растения одного сорта удаляются пыльники, рядом в банке с водой ставится растение другого сорта, и растения двух сортов накрываются общим изолятором. В результате получают гибридные семена, сочетающие нужные селекционеру признаки разных сортов.

6. Очень перспективен метод получения полиплоидов, у растений полиплоиды обладают большей массой вегетативных органов, имеют более крупные плоды и семена. Многие культуры представляют собой естественные полиплоиды: пшеница, картофель, выведены сорта полиплоидной гречихи, сахарной свеклы.

7. Отдаленная гибридизация — скрещивание растений, относящихся к разным видам. Но отдаленные гибриды обычно стерильны, так как у них нарушается мейоз (два гаплоидных набора хромосом разных видов не конъюгируют), и не образуются гаметы.

В 1924 году советский ученый Г.Д.Карпеченко получил плодовой межродовой гибрид. Он скрестил редьку ($2n = 18$ редечных хромосом) и капусту ($2n = 18$ капустных хромосом). У гибрида в диплоидном наборе было 18 хромосом: 9 редечных и 9 капустных, но при мейозе редечные и капустные хромосомы не конъюгировали, гибрид был стерильным.

8. Использование соматических мутаций применимо для селекции вегетативно размножающихся растений, что использовал в своей работе еще И.В.Мичурин. С помощью вегетативного размножения можно сохранить полезную соматическую мутацию. Кроме того, только с помощью вегетативного размножения сохраняются свойства многих сортов плодово-ягодных культур.

9. Экспериментальный мутагенез основан на открытии воздействия различных излучений для получения мутаций и на использовании химических мутагенов. Мутагены позволяют получить большой спектр разнообразных мутаций, сейчас в мире созданы более тысячи сортов, ведущих родословную от отдельных мутантных растений, полученных после воздействия мутагенами.

Многие методы селекции растений были предложены И.В.Мичуриным. С помощью метода ментора И.В.Мичурин добивался изменения свойств гибрида в нужную сторону. Например, если у гибрида нужно было улучшить вкусовые качества, в его крону прививались черенки с родительского организма, имеющего хорошие вкусовые качества; или гибридное растение прививали на подвой, в сторону которого нужно было изменить качества гибрида. И.В.Мичурин указывал на возможность управления доминированием определенных признаков при развитии гибрида. Для этого на ранних стадиях развития необходимо воздействие определенными внешними факторами. Например, если гибриды выращивать в открытом грунте, на бедных почвах, повышается их морозостойкость.

Внутривидовая гибридизация.

Внутривидовая гибридизация — скрещивание особей одного вида. Применяют близкородственное скрещивание и скрещивание неродственных особей.

Близкородственное скрещивание (инбридинг) (например, самоопыление у растений) ведёт к повышению гомозиготности, что, с одной стороны, способствует закреплению наследственных свойств, но с другой — ведёт к снижению жизнеспособности, продуктивности и вырождению. *Скрещивание неродственных особей (аутбридинг)* позволяет получить гетерозисные гибриды. Если сначала вывести гомозиготные линии, закрепив желательные признаки, а затем провести перекрёстное опыление между разными самоопыляющимися линиями, то в результате в

ряде случаев появляются высокоурожайные гибриды. Явление повышенной урожайности и жизнеспособности у гибридов первого поколения, полученных при скрещивании родителей чистых линий, называется *гетерозисом*. Основная причина эффекта гетерозиса — отсутствие проявления вредных рецессивных аллелей в гетерозиготном состоянии. Однако уже со второго поколения эффект гетерозиса быстро снижается.

Аутбридинг — один из методов разведения, представляющий собой, в отличие от инбридинга, неродственное скрещивание.

Это — относительно простой и надёжный метод разведения, так как от поколения к поколению ожидается получение стабильных по продуктивности потомков, то есть нет рекомбинантных потерь из-за провалов в уровне продуктивности.

Аутбридинг — наиболее часто применяемый метод разведения у всех видов животных и во всех породах. Его применение было предпосылкой для создания примерно в 1850 году современных пород сельскохозяйственных животных из разнообразия местных пород, наряду с использованием таких методов разведения, как прилитие крови, поглощение и комбинирование для достижения этими породами сегодняшнего уровня продуктивности. Одновременно с началом использования чистопородного разведения стали образовываться племенные объединения заводчиков, и началось ведение племенных книг, называемые также «студбуки», в которых систематически описываются животные одной популяции. Поэтому аутбридинг в практическом животноводстве называют также разведение по племенной книге.

Лабораторная работа №5

Отдаленная гибридизация. Филогения и система рода *Triticum*, кариотипы, гомеология хромосом. Межвидовая и межродовая гибридизация. Виды несовместимости и способы преодоления нескрещиваемости. Базовые и новые методы синтеза тритикале. Создание секалотритикум нового типа ржано-пшеничных амфидиплоидов. Пшенично-пырейные гибриды. Синтез и ресинтез видов. Отдаленные гибриды в культуре ткани. Отдаленная гибридизация, её теоретическое и практическое значение

Отдаленная гибридизация.

Отдалённая гибридизация — скрещивание организмов, относящихся к разным видам и родам. Осуществляется с трудом, а полученные гибриды бесплодны из-за затруднения конъюгации хромосом разных видов в профазе (I) мейоза. Разработаны методы преодоления бесплодия. Искусственный (индуцированный) мутагенез используют для увеличения разнообразия исходного материала. Мутагенез вызывают действием мутагенных факторов, например, рентгеновского облучения.

Межвидовая и межродовая гибридизация.

Межвидовая гибридизация часто наблюдается как в природе, так и при культивировании человеком (содержании в неволе) у множества видов растений и животных. В природе в районах соприкосновения близких видов могут формироваться так называемые «гибридные зоны», где гибриды численно преобладают над родительскими формами.

Межвидовая интрогрессивная гибридизация широко распространена у дафний. В некоторых летних популяциях дафний гибриды преобладают, что затрудняет определение границ видов.

Хонорик — выведенный путём селекции гибрид между тремя родительскими видами рода *Mustela*. Самцы хонориков стерильны, а самки фертильны.

Известный экспериментальный гибрид Рафаноброссика (*Raphano-brassica*) был получен Г. Д. Карпеченко при скрещивании редьки с капустой. Оба вида принадлежат к разным родам и имеют по 18 хромосом. Гибрид, полученный в результате удвоения числа хромосом (36), был способен к размножению, так как в процессе мейоза хромосомы редьки и капусты конъюгировали с себе подобными. Он обладал некоторыми признаками каждого из родителей и сохранял их в чистоте при размножении.

Межродовые гибриды (как естественные, так и полученные селекционерами) известны также в семействах Злаки, Розовые, Цитрусовые, Орхидные и др. Так, гексаплоидный геном мягких пшениц образовался путём объединения диплоидных геномов двух предковых видов пшениц и одного вида близкого рода Эгилопс (*Aegilops*).

Виды несовместимости и способы преодоления нескрещиваемости.

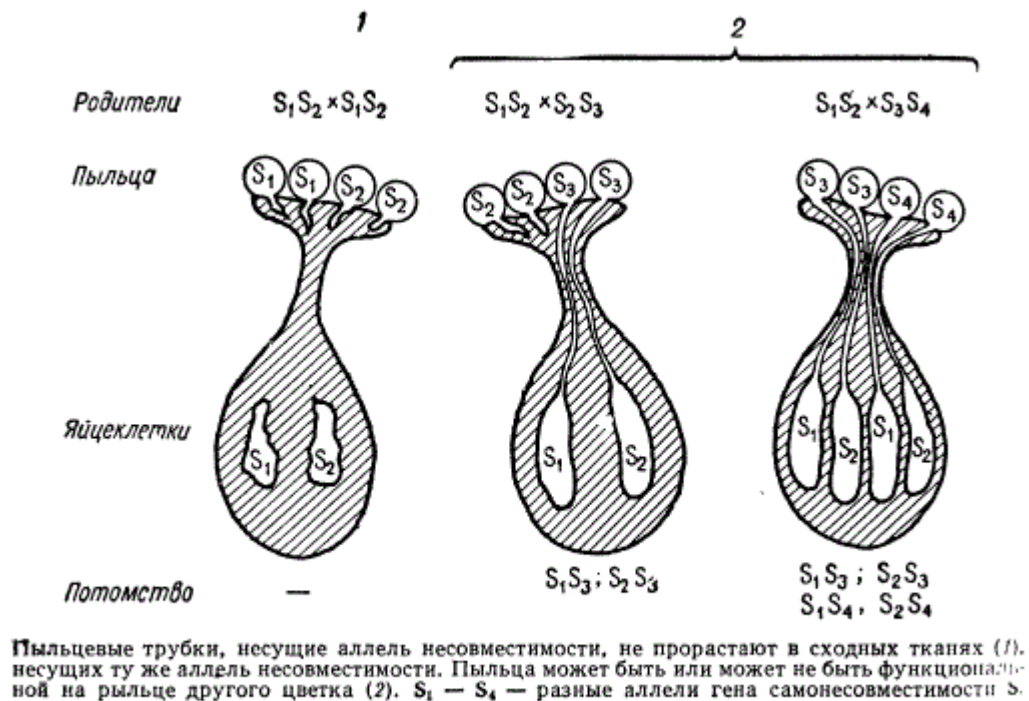
Нескрещиваемость является одним из признаков обособления видов и может быть обусловлена разными механизмами. Этим достигается изоляция одного вида от другого. В основе причин Скрещиваемости лежит генетическая дифференциация видов. Спаривание животных разных видов затруднено многими моментами: разными циклами размножения, анатомическим различием в строении половых аппаратов, географической изоляцией, разными видовыми и суточными ритмами половой активности. Однако в искусственных условиях с применением искусственного осеменения эти препятствия преодолимы. Основой нескрещиваемости является несовместимость половых клеток при оплодотворении, вызванной биохимическими и физиологическими различиями разных видов.

У растений нескрещиваемость так же широко распространена и имеет те же причины, что и у животных: несовпадение циклов размножения и различное строение мужских и женских органов цветка, пыльца отцовского вида часто не прорастает на рыльце пестика, либо начинает прорастать, но задерживается в рыльце или ткани пестика и не достигает завязи. Установлено, что рост пыльцевых трубок в чужеродной ткани пестика определяется генами. Они препятствуют прорастанию пыльцевого зерна, изменяют скорость роста, диаметр пыльцевых трубок и т. д.

Для того чтобы понять некоторые генетические механизмы, регулирующие скрещиваемость при отдаленной гибридизации нам следует обратиться к анализу действия генов, определяющих исход скрещиваемости внутри вида.

У растений широко распространено явление само несовместимости гермафродитных цветковых растений, когда при самоопылении не образуется семян. Этим создаются условия для перекрестного оплодотворения и поддержания гетерозиготности. Данное свойство растений контролируется специальными генами и проявляется в виде различного рода особенностей в развитии рыльца и столбика, с одной стороны, тычинок, пыльников и пыльцевых зерен — с другой.

Явление несовместимости контролируется геном S и многочисленными его аллелями S_1, S_2, S_3, S_4 и т. д. Допустим, что в диплоидных клетках столбика содержатся две аллели гена несовместимости — S_1 и S_2 . Пыльцевые зерна того же цветка содержат те же аллели — S_1 или S_2 , поэтому при самоопылении рост пыльцевых трубок с данными генами в ткани столбика подавляется.



Явление несовместимости у цветковых растений

Пыльцевая трубка будет прорасти только в случае, если пыльцевое зерно содержит аллель S_3 или аллель S_4 . Если даже удастся скрещивание двух растений с одинаковыми генотипами по генам S , то в гибридном растении полностью будет подавляться рост пыльцевых зерен, и гибрид окажется стерильным.

Следует заметить, что гены несовместимости могут контролировать весь процесс до образования зиготы от начала реакции пыльцевого зерна на ткань рыльца и столбика до слияния ядер в зародышевом мешке. В последнем случае гены несовместимости могут препятствовать слиянию ядра спермия и яйцеклетки в зародышевом мешке. Предполагают, что в основе действия этих генов в пыльцевых зернах имеется подобие процессов с образованием пыльцевых антигенов, ответственных за несовместимость. На действие генов несовместимости сильно влияют внешние условия (температура, влажность).

Возможно, что подобный механизм действует при скрещивании видов с целью получения некоторых отдаленных гибридов.

В тех случаях, когда при опылении растений разных видов пыльцевые трубки достигают семязпочки, проникают в микропиле и зародышевый мешок, но оплодотворения не происходит, может происходить разрастание нуцеллуса и возникать партенокарпия (разрастание завязи с образованием бессемянных плодов). В силу различия в росте пыльцевых трубок у скрещиваемых видов и родов наблюдаются разные исходы реципрокных скрещиваний: в одном направлении виды скрещиваются успешно, в обратном — не скрещиваются.

На скрещиваемость видов в сильной степени могут влиять различные физиологические изменения в половых органах растения, вызванные внешними факторами среды (температура, влажность и др.) и появляющиеся с возрастом цветка. Устраняя эти неблагоприятные условия, удастся преодолеть фенотипическую несовместимость видов.

Синтез и ресинтез видов.

С точки зрения теории познания, синтез представляет собой необходимый этап проявления познавательной деятельности сознания. В совокупности с анализом, метод синтеза позволяет получить представления о связях между составляющими предмета изучения.

Создание генетическим путем новых форм, не существующих в природе, называют синтезом видов. После отбора в ряду поколений они становятся вполне константными и могут быть самостоятельными таксономическими единицами. найдено

Ресинтезом видов называется искусственное восстановление уже существующих видов на основе комбинаций геномов при отдаленной гибридизации.

В 1930-х-годах был осуществлен ресинтез, т.е. воссоздание ряда видов, происхождение которых были не ясным.

Ученик Н.И.Вавилова В.А.Рыбин в 1936 году осуществил ресинтез сливы. Предполагаясь, что слива возникла в результате природной гибридизации алычи с терном, т.к. слива имеет $2n=48$, терн – $2n=32$, алыча $2n=16$.

Отдаленная гибридизация, её теоретическое и практическое значение

Отдаленная гибридизация – это скрещивание растений и животных, принадлежащих к разным видам, родам, семействам.

Значение отдаленной гибридизации:

- с теоретической точки зрения – проблема эволюции и филогенеза различных групп растений;
- с практической – создание новых форм организмов, ценных сортов растений и пород животных.

Лабораторная работа № 6

Использование метода экспериментального мутагенеза в селекции растений. Мутации - основа генетической изменчивости. Типы мутаций. Спонтанный мутагенез. Виды индуцированного мутагенеза -физический, химический, возникновение мутаций при старении семян. Характеристика физических и химических мутагенов. Факторы, влияющие на частоту возникновения индуцированных мутаций. Выделение и сохранение мутаций. Классификация мутаций по количественным и качественным признакам. Эффективность применения различных мутагенов для получения новых форм. Использование мутационной и комбинационной изменчивости для расширения границ отбора.

Использование метода экспериментального мутагенеза в селекции растений.

Экспериментальный мутагенез в селекции лесных древесных растений развивается благодаря работам ряда отечественных и зарубежных исследователей. В настоящее время он используется в двух направлениях: агротехническом и генетико-селекционном.

При агротехническом направлении индуцируется модификационная изменчивость, или ненаследственные изменения фенотипа, определенные генотипически обусловленной нормой реакции. При этом достигаются эффекты повышения всхожести семян, сокращения периода покоя и сроков стратификации семян; усиление ростовых процессов; увеличение выхода высококачественного посадочного материала (стандартных сеянцев); стимуляции плодоношения, ризогенеза, смоловыделения и усиления других полезных свойств древесных растений. В этом случае чаще всего мутагены используют в слабых концентрациях и дозах. При генетико-селекционном направлении применяют мутагены в более сильных

концентрациях и дозах. В этом случае стремятся индуцировать мутационную изменчивость и усилить формообразовательный процесс с целью получения ценного исходного материала и мутантных форм с хозяйственно ценными признаками.

К настоящему времени, по данным ряда авторов, у разных пород (клена, тополя, сосны, березы, дуба, липы, ореха, биоты и др.) получены ценные для лесного хозяйства и зеленого строительства формы. Среди них представляют интерес быстрорастущие, зимостойкие, устойчивые к болезням, а также декоративные формы: карликовые, с нетипичной для данного вида формой кроны (плакучие, стелющиеся, пирамидальные и др.), с различной величиной, формой и окраской листьев (Г.Ф. Привалов, 1965, 1968, 1974; Е.М. Гуляева и др., 1981; Ф.Л. Щепотьев, 1982; О.С. Машкина, 1995 и др.).

При искусственном получении мутаций генетики опираются на закон Н.И. Вавилова о гомологических рядах в наследственной изменчивости. Почти все формы, возникающие при искусственном мутагенезе, можно найти в природе, если они не элиминируются отбором. Значение индуцированного мутагенеза состоит в существенном увеличении частоты и спектра этих мутаций, а также в получении форм с комплексом хозяйственно ценных признаков. Для получения искусственных мутаций используют две основные группы методов: физических и химических.

Мутации - основа генетической изменчивости.

Мутация (лат. *mutatio* «изменение») — стойкое (то есть такое, которое может быть унаследовано потомками данной клетки или организма) изменение генома. Термин предложен Гуго де Фризом в 1901 году.

Мутагенез — процесс возникновения мутаций.

Типы мутаций

Геномные мутации — изменения, касающиеся числа целых хромосом в геноме. Хромосомные мутации — изменения, касающиеся участков внутри одной хромосомы. Генные мутации — изменения, происходящие внутри одного гена.

Спонтанный мутагенез.

Мутагенез — процесс изменения в нуклеотидной последовательности ДНК, приводящий к мутациям. Различают естественный (спонтанный) и искусственный (индуцированный) мутагенез.

Естественный, или спонтанный, мутагенез происходит вследствие воздействия на генетический материал живых организмов мутагенных факторов окружающей среды, таких как ультрафиолет, радиация, химические мутагены

Виды индуцированного мутагенеза -физический, химический, возникновение мутаций при старении семян. Характеристика физических и химических мутагенов.

Индукцированный мутагенез -- искусственное получение мутаций с помощью мутагенов различной природы. Впервые способность ионизирующих излучений вызывать мутации (мутагенный эффект) была обнаружена Г.А. Надсоном и Г.С. Филипповым (1925). Два года спустя Г.Г. Меллер обосновал факт мутагенного эффекта рентгеновых лучей, используя методы количественного учета мутаций у дрозофилы. В частности, было показано, что частота генных мутаций возрастает с увеличением дозы воздействия. В последние годы показана возможность вызывать повреждение ДНК человека для целого ряда вирусов, различных паразитарных организмов, гельминтов и др.

Физические мутагены: ионизирующее излучение; радиоактивный распад; ультрафиолетовое излучение; моделированное радиоизлучение и электромагнитные поля; чрезмерно высокая или низкая температура.

Химические мутагены: окислители и восстановители (нитраты, нитриты, активные формы кислорода); алкилирующие агенты (например, иодацетамид); пестициды (например гербициды, фунгициды); некоторые пищевые добавки (например, ароматические углеводороды, цикламаты); продукты переработки нефти; органические растворители; лекарственные препараты (например, цитостатики, препараты ртути, иммунодепрессанты).

К химическим мутагенам условно можно отнести и ряд вирусов (мутагенным фактором вирусов являются их нуклеиновые кислоты -- ДНК или РНК).

Лабораторная работа № 7

Гетерозис и инбридинг. Понятие и типы гетерозиса. Особенности проявления гетерозиса. Закрепление гетерозиса. Теории, объясняющие механизм гетерозиса. Промышленное применение гетерозиса у различных видов растений. Мужская стерильность, типы: ядерная, цитоплазматическая. Эффективность использования мужской стерильности при создании исходного материала. Методы расчета эффекта гетерозиса по различным признакам. Повышение уровня гомозиготности с помощью инбридинга. Использование инбридинга в селекции.

Гетерозис и инбридинг.

Преимущества гибридизации посредством использования гетерозиса хорошо зарекомендовали себя с помощью научных экспериментов и коммерческого учёта. Есть три компонента гетерозиса: индивидуальный (возникающий при скрещивании потомства), материнский (при скрещивании самки) и патернальный (при скрещивании самца). Таким образом, скрещивание между двумя чистопородными животными будет производить потомство, демонстрирующее индивидуальный гетерозис, который будет показывать улучшение выживаемости. Тем не менее, если мать сама является результатом скрещивания, то она покажет большее количество рождённых улучшенных поросят и лучший интервал между вязками из-за материнского гетерозиса. Патернальный гетерозис в основном влияет на половое влечение и показатели выработки спермы.

«Противоположностью» гетерозиса является инбридинг, при котором наблюдается депрессия репродуктивной функции в связи со спариванием близкородственных животных. Инбридинг, в частности, снижает показатели размера приплода, веса поросят, полового созревания и полового влечения хряков. Кроме того, инбридинг может привести к увеличению определённых дефектов (например, см. базу данных онлайн про наследование у животных в соответствии с законами Менделя).

Уровень инбридинга измеряется с помощью коэффициента инбридинга, который зависит от степени родства между животными. Коэффициенты инбридинга могут быть рассчитаны для отдельных самцов, отдельных самок и помётов.

Типы гетерозиса.

А. Густафсон предложил различать три основных типа гетерозиса: соматический, репродуктивный и адаптивный.

- гетерозис соматический - более мощное развитие вегетативных органов гибридов;
- репродуктивный - более мощное развитие репродуктивных органов, повышенная фертильность, высокий урожай семян, плодов;
- адаптивный гетерозис - повышение приспособленности гибридов к меняющимся условиям среды и их конкурентоспособность в борьбе за существование.

Мужская стерильность, типы: ядерная, цитоплазматическая.

Мужская стерильность - явление, связанное с продуцированием растениями пыльцы, не способной к оплодотворению. Она возникает вследствие полного недоразвития мужских репродуктивных органов (пыльников) или же в тех случаях, когда в нормально развитых пыльниках из-за нарушений мейоза не образуются нормальные микроспоры и пыльца становится нефункциональной, или стерильной.

Существуют три типа генетически обусловленной мужской стерильности:

- 1) генетическая, или ядерная, мужская стерильность, обусловленная действием одного и более генов в хромосомах;
- 2) цитоплазматическая мужская стерильность, обусловленная экстрахромосомными факторами, или плазмогенами;
- 3) цитоплазматически-ядерная мужская стерильность, обусловленная действием обоих факторов.

Из указанных типов стерильности наиболее пригодной для селекции растений оказалась цитоплазматическая мужская стерильность.

Цитоплазматическая мужская стерильность (цмс)

Цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС) — явление нарушения формирования пыльцы у растений. Оно используется для получения гибридов первого поколения в сельском хозяйстве — ЦМС одного из родительских растений нужна для предотвращения самоопыления. Причиной ЦМС называли мутации в генах митохондрий, однако этому заключению не хватало молекулярных подтверждений.

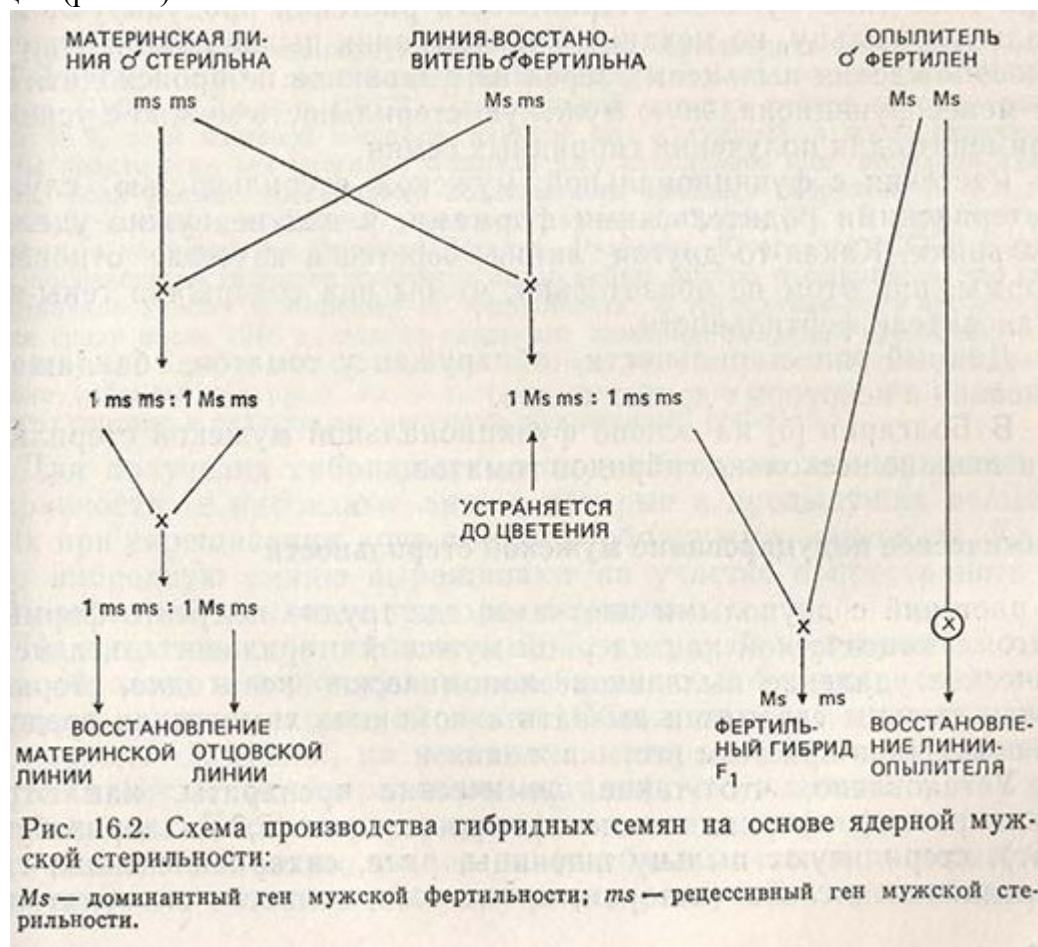
Этот тип стерильности спонтанно возникает у кукурузы, сахарной свеклы, моркови, лука, перца овощного и других растений. Источники цитоплазматической мужской стерильности, используемые в настоящее время, получают в основном от скрещиваний между разными видами (пшеница, рис, табак, фасоль обыкновенная, перец овощной, виды крестоцветных и др.) или даже от скрещиваний между разными родами (*Aegilops* ssp. X *Triticum* ssp.).

При скрещивании растения с цитоплазматической мужской стерильностью и растения с мужской фертильностью получают потомство с мужской стерильностью. Это показывает, что за признак цмс ответственны находящиеся в цитоплазме плазмогены. Они передаются потомству только через яйцеклетки, поскольку отцовская форма через пыльцевые зерна передает только ядро и поэтому не в состоянии вызвать у потомства мужскую стерильность. Далее установлено, что цитоплазматическая мужская стерильность как таковая не может быть самостоятельно использована в селекции гетерозисных гибридов, так как при скрещивании цмс-линий с любыми другими линиями получают стерильные гибриды F₁. У лука и других растений, где от F₁ используют вегетативные части, это не представляет особых трудностей, но у подсолнечника, кукурузы и других растений, основным продуктом которых являются семена, цмс использовать

нельзя. Следовательно, отцовская линия (опылитель) должна содержать гены-восстановители мужской фертильности, так называемые Rf-гены, чтобы растения F₁ дали семена.

Ядерная мужская стерильность

У большинства видов ядерная, или генетическая, точнее генная, мужская стерильность обусловлена одним рецессивным геном (сорго, фасоль обыкновенная), но может контролироваться и большим числом генов (ячмень, томаты). Поскольку речь идет о генах, находящихся в хромосомах, в потомствах материнской и отцовской линий происходит расщепление, и технологический процесс производства гибридных семян отличается от такового на основе цмс (рис. 1.)



Трудности в использовании ядерной мужской стерильности состоят в следующем: во-первых, фертильные растения необходимо удалять до цветения, чтобы они не опылили мужскистерильные растения, ибо это снижает эффект гетерозиса; во-вторых, из-за доминантности гена мужской фертильности (Ms) приходится выращивать в два раза больше растений, чем это нужно для производства семян (все растения $Msms$ удаляют).

Пытаясь преодолеть эти сложности, Рэмедж применил на ячмене так называемую сбалансированную систему третичных трисомиков, или систему ВТТ. Смысл ее заключается в получении растений-трисомиков с одной добавочной хромосомой, включающей сегмент двух негомологичных хромосом. Добавочная хромосома является носителем гена Ms , а два нормальных гомолога хромосомы содержат гены ms . Добавочная хромосома не передается потомству по отцовской линии. Потомство растения-трисомика расщепляется на ~70% дисомиков (диплоидные,

всегда мужскостерильные, msms) и ~30% трисомиков (фертильные, Msmsms). Рэмеджу удалось передать в добавочную хромосому маркерный ген антоциановой окраски стебля, что позволило различать стерильные и фертильные растения. Однако этот метод не получил широкого применения на практике, так как он достаточно сложен; кроме того, ВТТ-растения ослаблены и дают меньше семян, чем нормальные.

Использование инбридинга в селекции.

Инбридинг используется для перевода генов в гомозиготное состояние и получения чистых линий. При скрещивании чистых линий образуются гибриды, у которых ярко выражен гетерозисом.

Пример: таким способом получают гибридные семена большинства овощных культур, которые выращиваются в сельском хозяйстве.

Используется в селекции растений и отдалённая гибридизация.

Лабораторная работа № 8

Полиплоидия. Значение полиплоидии в селекции. Методы получения полиплоидных форм. Типы и идентификация полиплоидов. Способы получения и обнаружения автополиплоидов. Хозяйственно ценные свойства и признаки полиплоидов. Способы получения полиплоидов у различных видов растений. Гибридизация и отбор как методы повышения плодovitости и улучшения хозяйственно-ценных свойств автополиплоидов. Триплоиды в селекции. Получение и использование их в зависимости от способа размножения культур. Получение гаплоидов и их использование в селекции. Сорты (гибриды), полученные путём использования полиплоидии.

Полиплоидия. Значение полиплоидии в селекции.

Полиплоидия — увеличение числа наборов хромосом в клетках организма, кратное гаплоидному (одинарному) числу хромосом; тип геномной мутации.

Многие культурные растения полиплоидны, т. е. содержат более двух гаплоидных наборов хромосом. Среди полиплоидов оказываются многие основные продовольственные культуры; пшеница, картофель, овес. Поскольку некоторые полиплоиды обладают большой устойчивостью к действию неблагоприятных факторов и хорошей урожайностью, их использование и селекции оправдано.

Существуют методы, позволяющие экспериментально получать полиплоидные растения. За последние годы с их помощью созданы полиплоидные сорта ржи, гречихи, сахарной свеклы.

Впервые отечественный генетик Г. Д. Карпеченко в 1924 г. на основе полиплоидии преодолел бесплодие и создал капустно-редечный гибрид Капуста и редька в диплоидном наборе имеют по 18 хромосом ($2n = 18$), Соответственно их гаметы несут по 9 хромосом (гаплоидный набор). Гибрид капусты и редьки имеет 18 хромосом. Хромосомный набор складывается из 9 «капустных» и 9 «редечных» хромосом. Этот гибрид бесплоден, так как хромосомы капусты и редьки не конъюгируют, поэтому процесс образования гамет не может протекать нормально. В результате удвоения числа хромосом в бесплодном гибриде оказались два полных (диплоидных) набора хромосом редьки и капусты (36). Вследствие этого возникли нормальные условия для мейоза: хромосомы капусты и редьки соответственно конъюгировали между собой. Каждая гамета несла по одному гаплоидному набору редьки и капусты ($9 + 9 = 18$). В зиготе вновь оказалось 36 хромосом; гибрид стал плодovитым.

Мягкая пшеница — природный полиплоид, состоящий из шести гаплоидных наборов хромосом родственных видов злаков. В процессе ее возникновения отдаленная гибридизация и полиплоидия играли; важную роль.

Методом полиплоидизации отечественные селекционеры создали ранее не встречавшуюся в природе ржано-пшеничную форму — тритикале. Создание тритикале — нового вида зерновых, обладающего выдающимися качествами,— одно из крупнейших достижений селекции. Он был выведен благодаря объединению хромосомных комплексов двух различных родов — пшеницы и ржи. Тритикале по урожайности, питательной ценности и другим качествам превосходит обоих родителей. По устойчивости к неблагоприятным почвенно-климатическим условиям и наиболее опасным болезням она превосходит пшеницу, не уступая ржи.

Эта работа, несомненно, относится к числу блестящих достижений современной биологии.

В настоящее время генетики и селекционеры создают всё новые формы злаков, плодовых и других культур с использованием полиплоидии.

Методы получения полиплоидных форм:

- действием колхицина, получаемый из семян и клубнелуковиц растения безвременника.
- использование химических соединений (аценафтен, хлористый сангва - нарин; ганиексан, линдам.

Успех работы зависит от соблюдения ряда условий:

1. Для удвоения числа хромосом необходимо воздействовать колхицином на меристематические ткани, имеющие максимальное количество делящихся клеток. Следовательно, обработке лучше всего подвергать прорастающие семена, молодые проростки, точки роста растений, пробуждающиеся почки, бутоны, клубки.

2. Необходимо учитывать, что чувствительность разных растений к колхицину не одинакова.

Поэтому при обработке семян по началу используются 001-02% растворы колхицина, а при воздействии на точки роста — 0,5-2% - ные.

3. Для роста опытных растений необходимо создавать оптимальные условия как во время обработки, так в последующий период методы использования колхицина применительно к различным культурам:

1. обработки семян.
2. обработка проростков
3. обработки молодых сеянцев, обработка корней
4. обработка почек, побегов и стеблей

Полиплоидные растения выделяют по ряду признаков: обычно у них наиболее крупные пыльцевые зерни и семена, они отличаются по проросткам, листья у полиплоидов крупные, шире и толще.

Лучший способ определения полиплоидности - микроскопическое исследование конуса нарастания, можно развивающихся побегов.

Выделенные в год обработки, полиплоидные растения обозначают C_0 , а их потомства C_1 , C_2 .

Но чтобы получить более высоко полиплоидные формы, то необходимо скрещивать друг с другом разные первичные полиплоидные формы.

Получение гаплоидов и их использование в селекции.

Гаплоиды — это особи обычно диплоидных или аллополиплоидных видов, в соматических клетках которых содержится в 2 раза меньше хромосом, чем у исходных форм, причем из каждой пары гомологичных хромосом представлена только одна хромосома.

Методы получения

Экспериментально получить гаплоидные растения можно разными методами. В их числе:

1) Отбор близнецов— близнецы встречаются не только у человека и животных, но у растений. Из одного семени могут развиваться два растения; их можно отделить друг от друга и вырастить независимо. Эти растения обычно развиваются из двух зародышевых мешков, лежащих в одной семяпочке. Было обнаружено, что один из близнецов такой пары часто имеет уклоняющееся от нормы число хромосом. Как правило, это число на 50% выше нормы, т. е. это триплоидные растения, однако среди близнецов нередко возникают также и гаплоиды;

2) межвидовые скрещивания— метод состоит в применении для опыления пыльцы другого вида. Если, например, *Solanum nigrum* (паслен черный) опылить пыльцой *S. luteum* (паслен желтый), то могут возникнуть гаплоиды *S. nigrum* (как показал Йоргенсен). Эти гаплоиды развиваются из неоилототворенных яйцеклеток *S. nigrum*;

3) радиологический метод— метод получения гаплоидов связан с опылением пыльцой, облученной большими дозами рентгеновских лучей. При этом хромосомный набор мужской клетки перестает функционировать и гаплоиды получают хромосомный набор только от женской клетки;

4) культура микроспор— культура пыльцы представляет собой культивирование микроспор, освобожденных от соматических тканей пыльника, в жидкой среде.

Использование в селекции

Для успешной селекции на гаплоидном уровне необходимо иметь возможность получать гаплоиды данной культуры в достаточно большом количестве.

Близнецовый метод может дать хорошие результаты, но он действительно очень трудоемкий; лишь около 0 5 % близнецов - гаплоиды, а частота возникновения близнецов обычно очень низкая.

Эффективность межвидовых скрещиваний зависит как от скрещиваемых видов, так и от более тонких различий между отдельными линиями. Так, от скрещивания двух видов картофеля (*Solanum tuberosum* X *Solanum phureja*) иногда возникают гаплоиды с частотой до нескольких растений на сотню выросших ягод. После специального отбора материнских и, особенно, отцовских растений выход гаплоидов достигает нескольких десятков на сотню ягод.

Культура микроспор наиболее перспективный метод, предложенный индийскими и японскими учеными, пыльцу можно получать несколькими способами, один из которых пассивный.

Гаплоиды и дигаплоиды имеют ряд преимуществ в селекционной работе:

● гаплоидные растения имеют один набор хромосом, характерный для гамет, что дает селекционерам возможность наблюдать мутации сразу же в ходе осмотра гаплоидных растений, поскольку все рецессивные генные мутации в гаплоидных организмах не маскируются доминантными аллелями;

● если гаплоидные клетки подвергнуть полиплоидизации с помощью колхицина, то возникнут дигаплоиды, характеризующиеся абсолютной гомозиготностью. Скрещивание гомозиготных линий дает, как правило, высокопродуктивное потомство. С другой стороны, в настоящее время картофель не размножают семенами из-за пестроты потомства, а создание с помощью гаплоидов гомозиготных линий устранит этот недостаток;

● гомозиготные растения используются селекционерами и в других целях: количественный генетический анализ, изучение взаимодействия генов, изучение генетической изменчивости, определение групп сцепления, установление числа генов, действующих на количественные признаки, определение локализации полигенов и т.д.

● гаплоидные растения лишены летальных или сублетальных мутаций, ведущих к гибели или ослаблению потомства.

Гаплоидия – уменьшение числа хромосом, в результате которого клетка содержит только одну из пар гомологичных хромосом.

Особенности гаплоидных организмов:

1. Проявляют рецессивные аллели.
2. Уменьшенные размеры клеток и тела.
3. Часто бесплодны.

Гаплоидия – используется для сокращения срока создания сорта в 1,5–2 раза (за 6 лет). Резко снижает объем популяции для отбора.

Лабораторная работа № 9

Новые генетические подходы и решения в селекции. Цитоплазматическая мужская стерильность и ее использование в селекционной практике для создания гетерозисных двойных межлинейных гибридов. Анеуплоидия. Гаметная и зиготная селекция. Практическая реализация указанных методов.

Цитоплазматическая мужская стерильность и её использование в селекции.

Одним из самых ярких примеров цитоплазматической наследственности можно считать цитоплазматическую мужскую стерильность (ЦМС), обнаруженную у многих растений — кукурузы, лука, свеклы, льна.

— явление полной или частичной стерильности андроеца высших растений, причиной которому является особая мутация в геноме митохондрий, фертильность растений восстанавливается полностью или частично при наличии доминантного аллеля ядерного гена-восстановителя фертильности. ЦМС проявляется в трех основных формах:

- 1) Мужские генеративные органы – тычинки – совершенно не развиваются; подобное явление наблюдается у растений некоторых видов табака;

2) Пыльники в цветках образуются, но пыльца их нежизнеспособна; эта форма стерильности чаще всего встречается у кукурузы;

3) В пыльниках образуется нормальная пыльца, но они не растрескиваются и пыльца не попадает на рыльца; это очень редкое явление наблюдается иногда у некоторых сортов томата.

Анеуплоидия.

Анеуплоидия — изменение кариотипа, при котором число хромосом в клетках не кратно гаплоидному набору (n). Отсутствие в хромосомном наборе диплоидного организма одной хромосомы называется *моносомией* ($2n-1$); отсутствие двух гомологичных хромосом — *нуллисомией* ($2n-2$); наличие дополнительной хромосомы называется *трисомией* ($2n+1$). Анеуплоидия возникает в результате нарушения сегрегации хромосом в митозе или мейозе. Анеуплоидия вызывает у человека некоторые наследственные синдромы. Анеуплоидия по аутосомам нарушает нормальное эмбриональное развитие и является одной из основных причин спонтанных аборт. Анеуплоидия характерна для опухолевых клеток, особенно для клеток солидных опухолей. Патологический фенотип при анеуплоидии формируется из-за нарушения дозового баланса генов, при моносомии дополнительный негативный вклад оказывает гемизиготное состояние генов моносомной хромосомы.

Врождённая анеуплоидия может возникнуть, если в анафазе I мейоза гомологичные хромосомы одной или нескольких пар не разойдутся. В этом случае оба члена пары направляются к одному и тому же полюсу клетки, и тогда мейоз приводит к образованию гамет, содержащих на одну или несколько хромосом больше или меньше, чем в норме. Это явление известно под названием *нерасхождение*. Когда гамета с недостающей или лишней хромосомой сливается с нормальной гаплоидной гаметой, образуется зигота с нечётным числом хромосом: вместо каких-либо двух гомологов в такой зиготе их может быть три или только один.

Зигота, в которой количество аутосом меньше нормального диплоидного, обычно не развивается, но зиготы с лишними хромосомами иногда способны к развитию. Однако из таких зигот в большинстве случаев развиваются особи с резко выраженными аномалиями.

Формы анеуплоидии.

По типу вовлечённых хромосом выделяют анеуплоидию половых хромосом и аутосомную анеуплоидию. Анеуплоидия по половым хромосомам характеризуется значительно более мягкими фенотипическими проявлениями, чем анеуплоидия по аутосомам, так как в отношении X-хромосомы работает механизм дозовой компенсации, а Y-хромосома несёт малое количество генов и добавочная Y-хромосома незначительно нарушает дозовый баланс.

Моносомия

Последствия моносомии являются, как правило, более тяжёлыми по сравнению с трисомией. В случае моносомии негативный эффект анеуплоидии обусловлен не только нарушенным дозовым балансом, но и гемизиготным состоянием генов, находящихся на хромосоме, не имеющей пары. Моносомии по аутосомам у человека являются эмбрионально летальными.

Моносомия по X-хромосоме у женщин приводит к синдрому Шерешевского-Тёрнера.

Моносомия по Y-хромосоме является летальной перестройкой и несовместима с живорождением.

В случае обширной делеции в какой-либо хромосоме иногда говорят о частичной моносомии. Примером может служить синдром кошачьего крика, причиной которого является утрата части короткого плеча хромосомы 5.

Трисомия

Трисомия — это наличие трёх гомологичных хромосом вместо пары (в норме). Причиной подавляющего большинства трисомий у человека являются ошибки расхождения хромосом при оогенезе, причём наибольший вклад дают ошибки в мейозе I по сравнению со вторым мейотическим делением. Вероятность трисомий у потомства повышается с возрастом матери.

Наиболее часто встречающейся у человека является трисомия по 16-й хромосоме (более одного процента случаев беременности), следствием этой трисомии является спонтанный выкидыш в первом триместре беременности.

Гаметная и зиготная селекция. Практическая реализация указанных методов.

Традиционным для селекционера является отбор на уровне спорофита.

Между тем в жизненном цикле однолетних растений из 12 этапов органогенеза 7 относятся к репродуктивным фазам развития:

- формирование цветков,
- микро и макроспорогенез,
- гаметогенез,
- прорастание и рост пыльцевых трубок,
- зигото,
- эмбриогенез

Именно на этих этапах жизненного цикла растения происходит интенсивная элиминация нетрадиционных рекомбинантных генотипов, носящая характер стабилизирующего отбора. До стадии взрослого растения доходит только очень малая часть прорастание пыльцы и рост пыльцевых трубок, оплодотворяющая способность. Образцы выращивали в открытом грунте при общепринятой агротехнике.

Для получения семенного потомства, устойчивого к свинцу и кадмию, проводили искусственное опыление своей и чужеродной пыльцой на сортах Доходный и Beta.

Предварительно на рыльце пестиков наносили пипеткой следующего раствора:

- дистиллированную воду;
- нитрат свинца в концентрации 100 мг/л;
- ацетат кадмия – 20 мг/л.

Жизнеспособность пыльцы перед опылением определяли методом проращивания на искусственной питательной среде. При оценке солеустойчивости мужских гамет и состав среды дополнительно вводили нитрат свинца и ацетат кадмия в указанных выше концентрациях. Длину пыльцевых трубок измеряли в делениях окуляр-микрометра. Устойчивость пыльцы к тяжелым металлам определяли как отношение жизнеспособности пыльцы в опыте к ее жизнеспособности в контроле, умноженное на 100%.

Лабораторная работа № 10

Теория и методы отбора в селекции растений. Этапы селекционного процесса, виды питомников, оцениваемые признаки и свойства, принципы и методы оптимизации селекционного процесса. Критерии патентоспособности сорта растений - новизна, отличимость, однородность, стабильность. Генетические карты культурных растений и их использование в селекции. Принципы и методы молекулярно-генетического маркирования сортов и гибридов растений. Естественный и искусственный отбор и их значение в селекции. Творческая роль отбора.

Селекцион процесс, питомники исходного материала.

Процесс создания сорта (селекционный процесс) состоит из трёх этапов: 1) создание (или выбор) популяций для отбора (получение изменчивости); 2) отбор нужных генотипов – исходных родоначальных (элитных) растений; 3) испытание потомств и их размножение до производственно значимых объёмов. Создание нового сорта длится 10–12 лет и более.

На всех трёх этапах возможны различные варианты сокращения времени работы. Изучая исходный материал, нужно выделять доноры признаков, т. е. работать на уровне гена, а не сорта и признака. Для повышения эффективности работы используют сооружения с искусственным климатом. *Фитотроны* – сложные инженерные сооружения, позволяющие с высокой точностью создавать заданный режим по Т, освещённости и относит влажности воздуха. *Селекционные комплексы* – более простые и дешёвые инженерные сооружения. Они имеют репродукционные теплицы, климатические камеры и установки искусственного выращивания растений. Можно сэкономить время и на завершающих этапах селекции путём совершенствования методики сортоиспытания и своевременного проведения экологии сортоиспыт. Эколог сортоиспыт (ЭСИ) позволяет выявить реакцию сорта на различные условия выращивания, оценить экологическую пластичность сорта и решить вопрос о целесообразности передачи сорта в Государственное испытание. Сокращению селекционного процесса способствуют мероприятия по ускоренному размножению отобранных родоначальных растений. Питомники исходного материала служат основным источником генетического разнообразия, из которого отбирают нужные формы растений для последующей работы. В этих питомниках изучают коллекционный материал, мутантные, полиплоидные и другие формы, осуществляют скрещивания. *Коллекционный питомник* – первоначальное изучение исходного материала – лучших сортов отечественной и зарубежной селекции, а также др ценных для селекции образцов в целях выделения наиболее перспективных форм для дальнейшего изучения и сравнения на следующем этапе селекц работы. *основное назначение* – выделение биолог и хоз-цен форм для селекционного питомника, а также отбор растений для скрещивания, обработки мутагенами и др. Число образцов 300–2000 и более. делянка 1–2 м. Стандарт ч/з 20–30 номеров, повторность отсутствует сеят ССФК7, убирают вручную. Здесь можно высевать многие самоопыл ку-ры для скрещивания-специальный родительский питомник (питомник гибридизации).сеют ссфк7,делянка 2м², 3повторности, уборка вручную.

Гибридный питомник. В этом питомнике высевают все генерации гибридов от F₁ до F₅–F₆. Стандарт размещают через 20–30 номеров Размер делянок определяется количеством семян Для гибридов F₁ наиболее удобна длина рядков 2 м, для F₂ и F₃ – 6 м. В гибридном питомнике убирают: а) отдельные элитные растения, выделенные по различным признакам; б) лучшие колосья с отобранных растений ; в) лучшие семьи старших поколений. *Специальные питомники.* В связи с использованием в селекции метода мутагенеза, полиплоидии, культуры

тканей и клеток возникает необходимость в специальных питомниках для выращивания мутант форм или полиплоидов, анеу, гаплоид и др. В группу специальных относят и питомник родительских форм (питомник гибридизации).

Критерии патентоспособности сорта растений - новизна, отличимость, однородность, стабильность.

Правовая охрана нетрадиционных объектов интеллектуальной собственности

Содержащиеся в данной теме термины имеют следующее значение:

"плодовый материал" - целые растения или их части, реализуемые в целях, отличающихся от воспроизводства сорта;

"посадочный материал" - растения, семена, рассада, луковицы и другие части растений, предназначенные для размножения;

"автор сорта (селекционер)" - гражданин, творческим трудом которого создан сорт растения;

"сорт" - группа растений, которая независимо от патентоспособности определяется признаками, характеризующими данный генотип или комбинацию генотипов, и отличается от других групп растений того же ботанического таксона хотя бы одним признаком. Сорт может быть представлен несколькими растениями, одним растением либо одной или несколькими частями растения при условии, что такая часть или части могут быть использованы для воспроизводства целых растений сорта;

охраняемый сорт" - сорт, внесенный в Государственный реестр охраняемых сортов растений Республики Беларусь

Сорту предоставляется правовая охрана, если он обладает новизной, отличимостью, однородностью и стабильностью.

Сорт считается новым, если на дату подачи заявки на выдачу патента на сорт <*> посадочный или плодовый материал этого сорта не продавался либо не передавался иным образом селекционером или его правопреемником или с их разрешения другими лицами для использования на территории Республики Беларусь ранее чем за один год до даты подачи заявки, а на территории любого иного государства - ранее чем за четыре года до даты подачи заявки. Указанная льгота по новизне для иностранных граждан и юридических лиц в отношении древесных культур и винограда устанавливается на срок в шесть лет до даты подачи заявки.

Сорт считается отличимым, если он явно отличается от любого другого сорта, существование которого к моменту подачи заявки является общеизвестным.

Генетические карты

Знание генетических карт культурных растений и домашних животных позволяет планировать селекционный процесс, что способствует получению надежных результатов в краткие сроки.

Построение генетических карт дикорастущих растений и диких животных важно и с точки зрения экологии. В частности, исследователь получает возможность изучать не просто фенотипические признаки организмов, а конкретные, генетически обусловленные признаки.

Естественный и искусственный отбор и их значение в селекции. Творческая роль отбора.

При всякой селекционной работе отбор является наиболее важным и решающим процессом. Отбор - это основа селекционной работы: с отбора исходных форм начинается выведение сорта, отбором и заканчивается апробация форм и признание нового сорта. Он имеет место и при

гибридизации и мутациях. При чистом отборе из уже существующего генетического многообразия выделяют и размножают только ту часть, которая больше всего соответствует целям селекции. При скрещиваниях и мутациях можно получить не существовавшие прежде комбинации наследственных основ, новые наследственные задатки, следовательно, получить растения с новыми качествами. Селекционер, как правило, использует растительный материал, который подвергался естественному отбору в течение тысячелетий, т.е. те растения, которые приспособились к окружающим условиям. Как известно, естественный отбор происходит под действием климата, почвенных условий и живых организмов.

Существуют разные классификации форм отбора. Широко используется классификация, основанная на характере влияния форм отбора на изменчивость признака в популяции.

- 1 Движущий отбор
- 2 Стабилизирующий отбор
- 3 Дизруптивный отбор
- 4 Дестабилизирующий отбор
- 5 Половой отбор

Дарвин предполагал, что отбор может применяться не только к индивидуальному организму, но и к семейству. Он также говорил, что, возможно, в той или иной мере это может объяснять и поведение людей. Он оказался прав, однако предоставить более расширенное представление этой концепции стало возможно только после появления генетики. Первый набросок «теории родственного отбора» сделал английский биолог Уильям Гамильтон в 1963 году, который первым предложил рассматривать естественный отбор не только на уровне индивида или целого семейства, но и на уровне гена

В селекции существуют два метода искусственного отбора: массовый и индивидуальный.

При массовом отборе отбирают большое количество растений, которые в наибольшей степени отвечают задачам селекции, и размножают их совместно. Выбор или отбор желательных, наиболее пригодных для селекции типов называют положительным массовым отбором, а искоренение нежелательных форм - отрицательным.

1. Пример отрицательного массового отбора - уход за запасом. Удаляют при рубках ухода наименее ценные, больные и худшие деревья.
2. Сплошная рубка насаждений, не соответствующая местообитанию - пример массового отрицательного отбора. Этим предотвращается опасность распространения непригодных наследственных задатков через пыльцу.
3. Отбор в питомнике - среди семян в посевном отделении и саженцев в школьном можно распознать нежелательные типы и удалить их. Например, у 2-х летних семян ели можно выбраковывать такие, у которых вместо верхушечного побега образуется куст, или отсутствуют боковые побеги, приобретают форму ведминой метлы - кустится верхушечный побег. Или у семян бука образуется двойная верхушечка, или плохо выражен главный побег и т.д. Положительный массовый отбор наиболее простой. В насаждении отбирают лучшие деревья, отличающиеся по прямым или коррелятивным признакам. К прямым признакам относятся:

1. Быстрота роста, определяется как отношение высоты и возраста;
2. Очищаемость ствола от сучьев;

3. Полнодревесность;

4. Толщина и угол отхождения боковых ветвей и т.д. Коррелятивные признаки (понятие дал Ч.Дарвин) - когда один признак зависит от другого, например, строение коры деревьев коррелятивно связано с физико-механическими свойствами древесины, быстротой роста, содержание поздней древесины коррелятивно связано с физико-механическими свойствами. Массовый отбор бывает однократным и многократным.

Примером однократного массового отбора может быть такова – с лучших деревьев перед рубкой собирают семена и используют для посева. Эффективность такого отбора небольшая, т.к. все наши растения перекрестно опыляемые, поэтому семена имеют как материнскую, так отцовскую наследственность. При таком отборе нельзя ожидать получения строго выраженного потомства, которое полностью бы унаследовало ценные признаки материнских деревьев. Но если при выращивании сеянцев из этих семян применить последующий отбор на быстроту роста, то посадочный материал значительно улучшится. Поэтому однократный массовый отбор является простым и доступным по технике проведения и следует рекомендовать для использования в практике лесного хозяйства.

Более эффективен многократный массовый отбор, повторяемых в ряде потомств. Этот отбор применяется широко в сельскохозяйственной практике. А вот применять его в лесном хозяйстве почти невозможно, т. к. он займет десятки лет - надо дожидаться каждый раз начала плодоношения отбираемых лучших древесных растений. Этот метод отбора можно применять только у ценных кустарниковых пород, рано вступающих в стадию плодоношения (лещина обыкновенная, облепиха и т.д. при искусственном разведении).

Этот метод с успехом можно применять при вегетативном размножении. При вегетативном размножении обычно полностью наследуются материнские свойства и признаки.

Метод отбора применяется такой же, как и при семенном размножении. В насаждениях или зарослях кустарников отбирают особи, с которых режут черенки для последующего их размножения. Со всех отобранных экземпляров черенки высаживают вместе без учета индивидуальных особенностей, т.к. если материнские особи отличаются от средних по своей продуктивности, урожайности или по другим каким - либо качествам, то полученное потомство будет иметь эти же свойства. Такие экземпляры будут служить объектами для последующего отбора.

Метод индивидуального отбора при семенном размножении, как и массовый, требует длительного времени. В лесном хозяйстве, в частности в селекции лесных культур, наиболее перспективен индивидуальный отбор лучших деревьев, т.е. плюсовых. Наследственная ценность таких деревьев может быть установлена путем испытания клонов или потомства. Для этого с плюсовых деревьев нарезают черенки, которые прививают на другие подвои. Привитые деревца (5-10 растений каждого клона) от различных плюсовых деревьев выращивают в одинаковых условиях на относительно большом расстоянии друг от друга. Наблюдения за ростом и физиологическим состоянием выращиваемых растений позволит дать оценку отобранных плюсовых деревьев. При этом, однако следует учитывать что подвои, если они неоднородные по генотипу, могут неодинаково влиять на привои. Это обстоятельство может затруднить сравнения привоев. В связи с этим более надежным будет испытание клонов при укоренении черенков, срезанных с плюсовых деревьев. В настоящее время разработаны и испытаны многочисленные способы укоренения черенков с большинства древесных и кустарниковых пород.

Э. Ромедер и Г.Шенбах предложили метод индивидуального отбора при семенном размножении в форме селекции семейством. При этом методе отбирают несколько десятков плюсовых деревьев, в семенной год собирают семена или плоды с каждого дерева отдельно и высевают раздельно. Затем сеянцы высаживают на опытные делянки, где изучают потомство от свободного опыления. От каждого семейства выбирают 10 растений, а затем из каждого потомства - 10 наиболее продуктивных деревьев и заготавливают с них семена или плоды. Недостаток -длительный срок, неизвестен опылитель - отец, который может быть худшим деревом и передать эти худшие свойства по наследству.

Многократный индивидуальный отбор проводится по тому же принципу, т.е. отбирается несколько десятков плюсовых деревьев, в семенной год собирают семена, высевают с каждого отдельно и высаживают отдельно. Затем из каждого потомства после вступления его в пору плодоношения отбирают 10 лучших особей, с которых собирают семена и высевают их отдельно. И так можно повторять несколько раз и он будет длиться десятки лет. У кустарников этот период будет значительно меньше, т.к. они намного раньше вступают в пору плодоношения по сравнению с древесными породами. Однако при вегетативном размножении принципы и методы индивидуального отбора остаются такими же, как и при семенном размножении. Черенки режут с отобранных по прямым или коррелятивным признакам лучших деревьев и кустарников. Можно использовать отводки или корневые отпрыски. Клоны высаживают на испытательный участок для сравнения скорости роста или каких-либо других качеств материнских особей. Сравнительную оценку проявления признаков у различных клонов деревьев на скорость роста можно проводить в 4-5 -летнем возрасте, по другим признакам - позже, но не позднее 7-10 лет. У кустарников в более раннем возрасте, например у ив - в 2-3 года. После оценки потомства лучшие материнские особи можно использовать для сортового размножения.

Этот метод широко применяется при испытании различных форм тополей

Лабораторная работа № 11

Нетрадиционные и новые методы создания исходного материала. Методы селекционных биотехнологий *in vitro*: фундаментальные основы селекционных биотехнологий. Генетические основы новых селекционных технологий. Типы апомиксиса: партогенез, апоспория, адвентивная эмбриония, апогамия. Культура изолированных клеток и тканей. Растительные протопласты, соматическая гибридизация.

Методы селекционных биотехнологий in vitro: фундаментальные основы селекционных биотехнологий.

Биотехнологические методы в селекции растений стали применяться примерно с середины минувшего столетия, и значение их непрерывно возрастает, поскольку биотехнологии под силу задачи, которые традиционными методами решить невозможно или чрезвычайно трудно. Уже сейчас достигнуты впечатляющие результаты: миллионы гектаров в мире занимают ежегодно сортами и гибридами полученными с помощью биотехнологий.

Отличительным признаком биотехнологических методов, используемых в селекции растений, является манипуляции *in vitro*. Все методы биотехнологии могут в той или степени могут быть использованы в практической работе как на отдельном ее этапе селекции, самостоятельно или комплексно в зависимости от задач и степени кооперации селекционеров или биотехнологов.

Основные селекционные задачи, решаемые с помощью методов биотехнологии следующие: - создание нового исходного материала для селекции; - снижение трудоемкости селекционных работ за счет уменьшения популяции для отбора; - ускорение селекционного процесса за счет быстрого получения гомозиготных генотипов после проведения скрещивания или получения самоопыленных линий при селекции гетерозисных гибридов; - повышение эффективности отбора ценных генотипов и постоянного контроля за наличием их в отбираемом селекционном материале.

В селекции растений используют две группы биотехнологических методов.

Первая группа – методы культуры клеток и тканей.

Вторая группа – методы генной инженерии.

Методы культуры клеток и тканей.

Существуют три вида культуры клеток и тканей: - каллусная культура; - культура клеток и агрегатов клеток; - культура протопластов.

Для проведения работ по клеточной селекции растений в условиях *in vitro* в качестве объекта исследования могут быть использованы каллусные, суспензионные культуры или изолированные протопласты. Выбор объекта зависит от наличия разработанных технологий применительно к различным видам растений, а также от конечных целей исследования.

Каллусная ткань представляет собой легко доступный материал, который наиболее часто используют для клеточной селекции. Как правило, работу проводят на первичной или пересадочной каллусной ткани, которая не утрачивает способности к регенерации на протяжении ряда субкультивирований. Однако при работе с каллусными культурами многие исследователи отмечают существенные недостатки данного объекта: медленный рост ткани, неравноценное для всех клеток действие токсических веществ, которые применяются в качестве селективного фактора, а также потеря регенерационной способности в процессе культивирования каллусных клеток. Несомненно, проводить селекцию целесообразно на уровне одиночных клеток (суспензионная культура, протопласты). Однако для многих видов растений не разработаны эффективные технологии и способы культивирования одиночных клеток. Поэтому, несмотря на перечисленные выше недостатки использования каллусных культур, этот способ селекции остается для некоторых видов растений пока единственным.

Получение стабильно устойчивых линий — процесс длительный. Как правило, селекция начинается с получения достаточного количества каллусной массы из изолированных растительных эксплантов, использующейся в дальнейшем для определения концентрации селективного фактора (построение дозовой кривой), при которой наблюдается одновременно рост каллусной ткани, и в то же время часть каллусных колоний погибает. Выбранная концентрация селективного фактора признается оптимальной и используется в дальнейших экспериментах. Так как первично полученные на средах с селективными факторами колонии клеток могли возникнуть вследствие физиологической адаптации или определенного состояния дифференцировки клеток и не быть генетически устойчивыми, то в течение последующих 4—6 субкультивирований на селективной среде проверяется стабильность устойчивости полученных клонов. Затем их переносят на среду без селективного фактора и субкультивируют еще 2—3 пассажа. И только после повторного возвращения в селективные условия отбирают стабильные клоны, из которых пытаются получить растения-регенеранты. Однако работы, проведенные с получением растений, устойчивых к повышенным солям, а также к токсинам, выделенным из грибов—возбудителей болезней, показали, что устойчивость клетки и растения к исследуемому селективному фактору

может совпадать и не совпадать. Прямая корреляция между устойчивостью растений и клеток *in vitro* отмечена лишь для низких температур, устойчивостью к гербицидам, высоким концентрациям алюминия и другим факторам.

Большое число работ по культивированию каллуса, с целью получения нового селекционного материала, проведено на пшенице, ячмене, рисе, сорго, а также на картофеле, томатах, люцерне и, крайне редко, на древесных. Уже достигнуты первые положительные результаты по получению растений пшеницы, риса, картофеля, устойчивых к NaCl или Na₂SO₄. Получены клетки, а из них растения моркови, которые синтезируют в 20 раз больше метионина, в 30 раз — триптофана, в 5 раз — лизина путем добавления в питательную среду токсичных аналогов аминокислот. Для картофеля получены растения, устойчивые к кольцевой гнили. Что касается древесных, то для них работы в этом направлении крайне редки и часто имеют поисковый характер. Таким образом, использование каллусной культуры в селекционных целях открывает огромные возможности в создании новых форм растений, несущих ценные признаки, необходимые для человечества.

Наряду с перечисленными выше объектами (каллусная, суспензионная культура, изолированные протопласты), в качестве исходного материала для селекции могут быть использованы культуры соматических или андрогенных эмбриоидов, такие органогенные экспланты, как сегменты листьев или различные меристематические и стеблевые части растений, а также культура изолированных зародышей. Например, путем культивирования и селекции *in vitro* зародышей из семян получены растения ячменя, устойчивые к аналогам аминокислот, с улучшенным содержанием белка. Для картофеля разработан эффективный метод обработки побегов и черенков мутагеном, приводивший к получению химерных мутантов хлорофиллдефектности и антибиотикоустойчивости. При культивировании пыльников яровой пшеницы сорта Саратовская-29 и Московская-35 на питательных средах с повышенным содержанием солей хлорида натрия получены соматические эмбриониды, а в дальнейшем растения-регенеранты, проявившие повышенную солеустойчивость (Беккужина, 1993).

Таким образом, проведение селекции на клеточном уровне позволяет создавать новые формы растений в 2—4 раза быстрее по сравнению с традиционными способами селекции.

Методы генной инженерии.

Главнейшая цель генно-инженерных манипуляций применительно к селекции заключается в перенос гена, отвечающего за какой-то важный хозяйственный признак, и обеспечение его экспрессии, из одного вида в другой (трансгенез), часто очень далекий и в систематическом отношении, например, из бактерии в высшее растение. Донором гена может быть, конечно, и относительно близкий вид, когда отдаленная гибридизация невозможна из-за явной несовместимости. Трансгенез складывается из нескольких операций: - обособление переносимого гена; - клонирование его; - перенос гена в геном реципиента; - обеспечение его экспрессии; - получение растений – регенерантов с новым геном. Далее растения получают в селекционный процесс.

Успехи генной инженерии по созданию новых форм растений впечатляющие. В Мирове десятки и сотни трансгенных сортов высеваются на сотнях миллионах гектарах. Препятствием к их распространению служат опасения, что они могут причинить вред при применении их в качестве кормов и продовольствия (при применении в технических целях подобных опасений нет). К сожалению, о том, кто прав: те, кто считает генетически модифицированные продукты безвредными, или те кто полагают, что можно ожидать негативных последствий от их употребления, можно будет судить лишь через большой промежуток времени и при условии больших статистических выборок. В любом случае должна присутствовать полная информация о

наличии генетически измененной продукции в продуктах питания, чтобы каждый мог принимать решение об их употреблении самостоятельно. В ряде стран например в США, Канаде, генетически модифицированные продукты находят широкое применение. В России использование их запрещено, но проконтролировать использование этого закона достаточно сложно.

Достижения генетической инженерии – коммерческие сорта, которые возделываются на очень больших площадях. Однако, многие разработки так и не вышли из стадии эксперимента.

Генная инженерия наибольших успехов достигла там, где требовалось небольшое изменение генома, чтобы добиться существенного изменения хозяйственно ценного признака носящего моногенный характер.

Самое крупное достижение генной инженерии – получение трансгенных сортов, устойчивых к гербицидам. Посевы этих сортов составляют примерно 80 % от площади под всеми трансгенными сортами. Генетический механизм устойчивости к гербицидам, который удалось реализовать генно-инженерным путем, заключается либо в замене гена растения, который подвергается атаке гибрида, на ген, делающий эту атаку неэффективной, либо к введению гена, инактивирующего гербицид.

В настоящее время получены сорта и гибриды, устойчивые к гербицидам у кукурузы, пшеницы, картофеля, хлопчатника, риса, сои, сахарной свеклы, томатов и других культур.

Созданы трансгенные сорта кукурузы, хлопчатника, риса, сои, картофеля, томата устойчивые к насекомым, вредителям занимающие около 400 тыс. га.

Возможно, на второе место среди достижений генной инженерии следует поставить созданные трансгенные сорта, устойчивые к насекомым вредителям. Самый известный пример введение в растения бактериального гена, ответственного за образование дельта – токсина, вызывающего гибель насекомых семейства чешуекрылых, которому принадлежит большое число опасных вредителей с.-х. культур.

Методами генной инженерии решается и проблема повышения качества продукции растениеводства. Заметные успехи достигнуты в двух направлениях: повышения качества растительного масла и повышения качества белков эндосперма зерновых культур. В первом случае получили сорта рапса с низким содержанием эруковой кислоты. Во втором – добились увеличения содержания лизина в белке кукурузы и пшеницы. Известно, что белки семян зерновых злаков неполноценны по аминокислотному составу (за исключением овса).

Ведутся работы и по повышению продуктивности растений, основанные на модификации фотосинтетического аппарата.

Повышение устойчивости к абиотическим факторам (засуха, чрезмерно высокие или низкие температуры и т.д.) методами генной инженерии чрезвычайно сложна, поскольку защитные механизмы растений полигенны. Но реакции, проявляющиеся в момент стресса, не всегда имеют столь сложную природу, и тут возможно вмешательство на уровне отдельного гена. В частности показано, что во время засухи накапливаются низкомолекулярные вещества, например пролин. Бактериальные гены, отвечающие за биосинтез пролина, были введены в растения табака.

Получены данные свидетельствующие о более высокой засухоустойчивости трансгенных растений. Ведутся и другие аналогичные исследования, но о получении стрессоустойчивости сортов методами генной инженерии говорить пока рано.

Соматическая гибридизация.

Под *соматической гибридизацией* понимается создание неполовых гибридов путем слияния изолированных протопластов, выделенных из соматических клеток растений.

Для обозначения соматического гибрида используют вместо формулы $A \times B$, принятой для записи половой гибридизации, формулы $A+B$ или $A(\times)B$. Для обозначения гибрида, несущего гены ядра только одного из родителей наряду с цитоплазматическими (внеядерными) генами от обоих или только от другого родителя используют термин «цитоплазматический гибрид» (*цибрид*).

Соматическая гибридизация растений включает четыре отдельных этапа: 1) выделение протопластов; 2) слияние протопластов; 3) отбор и регенерация растений; 4) анализ растений-регенерантов.

Соматическая гибридизация открывает перед исследователем возможность: 1) скрещивать филогенетически отдаленные виды растений, которые невозможно скрестить половым путем; 2) получить асимметричные гибриды, несущие весь генный набор одного из родителей наряду с несколькими хромосомами другого; 3) создать систему гибридизации, включающую одновременное слияние трех и более родительских клеток; 4) получить растения, гетерозиготные по внеядерным генам (генам пластид и митохондрий).

Выделяют следующие методы слияние протопластов: 1) *Использование полиэтиленгликоля (ПЭГ)* в сочетании с высоким pH (9–11) среды и повышенным содержанием ионов кальция Ca^{2+} (100– 300 мМ). Полиэтиленгликоль выполняет роль индуктора слияния, который обеспечивает агрегацию (слипание). Высокое значение pH и высокая концентрация ионов кальция необходимы для нейтрализации отрицательного поверхностного заряда, который имеют протопласты. 2) *Электрослияние протопластов.* В этом случае протопласты помещают в неоднородное переменное электрическое поле. В данных условиях протопласты образуют мостик из нескольких клеток между электродами. После пропускания единичных импульсов тока происходит слияние протопластов в результате разрыва их плазмалемм.

Гибридизация соматических клеток позволяет преодолеть созданные эволюцией барьеры несовместимости и скрещивать между собой растения, принадлежащие к различным видам, родам и семействам. При этом обычно наблюдается элиминация хромосом одного из родителей. Чаще всего гибриды между отдаленными видами аномальные и не дают потомства. Однако большой практический интерес представляет создание асимметричных гибридов, несущих полный геном одного из родителей и лишь несколько хромосом или генов другого.

Лабораторная работа № 12.

Методы генетической и клеточной инженерии. Генная инженерия, результативность использования в создании новых форм. Использование для клонирования генов Ti-плазмид из *Agrobacterium tumefaciens*. Методы изучения экспрессии клонированной ДНК в растительных клетках. Практические аспекты реализации генных технологий в сельском хозяйстве. Перспективы развития селекции в связи с развитием технологии рекомбинантных ДНК и клонирования. Значение и распространение трансгенных растений.

Методы генетической и клеточной инженерии.

Клеточная инженерия - область биотехнологии, основанная на культивировании клеток и тканей на питательных средах.

В середине 19 столетия Теодор Шванн сформулировал клеточную теорию (1838). Он обобщил имевшиеся знания о клетке и показал, что клетка представляет основную единицу строения всех живых организмов, что клетки животных и растений сходны по своему строению. Т.Шванн внес в науку правильное понимание клетки как самостоятельной единицы жизни, наименьшей единицы живого: вне клетки жизни.

Улучшение растений и животных на основе клеточных технологий.

- Выращиваемые на искусственных питательных средах клетки и ткани растений составляют основу разнообразных технологий в сельском хозяйстве. Один из них направлены на получение идентичных исходной форме растений. Другие – на создание растений, генетически отличных от исходных, путем или облегчения и ускорения традиционного селекционного процесса или создания генетического разнообразия и поиска и отбора генотипов с ценными признаками. Генетическое улучшение животных связано с разработкой технологий трансплантации эмбрионов и методов микроманипуляции с ними (получение однояйцевых близнецов, межвидовые пересадки эмбрионов и получение химерных животных, клонирование животных при пересадке ядер эмбриональных клеток в энуклеированные, т.е. с удаленным ядром, яйцеклетки).
- в 1996 шотландским ученым из Эдинбурга в первые удалось получить овцу из энуклеированной яйцеклетки, в котором было пересажено ядро соматической клетки (вымени) взрослого животного.

Генная инженерия.

- Генная инженерия основана на получении гибридных молекул ДНК и введении этих молекул в клетки других организмов, а так же на молекулярно-биологических, иммунохимических и биохимических методах.
- Генная инженерия начала развиваться с 1973 года, когда американские исследователи Стенли Коэн и Энли Чанг встроили бактериальную плазмиду в ДНК лягушки. Затем эту трансформированную плазмиду вернули в клетку бактерий, которая стала синтезировать белки лягушки, а также передавать лягушачью ДНК своим потомкам. Таким образом был найден метод, позволяющий встраивать чужеродные гены в геном определенного организма.
- Генная инженерия находит широкое практическое применение в отраслях народного хозяйства, таких как микробиологическая промышленность, фармакологическая промышленность, пищевая промышленность и сельская хозяйственность.

Использование для клонирования генов Ti-плазмид из *Agrobacterium tumefaciens*.

За последнее десятилетие в области генетической инженерии растений достигнуты значительные успехи. Были разработаны разнообразные методы генетической трансформации и, в настоящее время осуществлена экспрессия чужеродных генов в растениях многих видов. Наиболее важным для развития генетической инженерии растений было открытие молекулярных основ опухолевых образований с помощью *Agrobacterium tumefaciens*.

Вирулентные штаммы *Agrobacterium tumefaciens* (сем. *Riobiaceae*) характеризуются присутствием в клетках большой плазмиды, так называемой Ti-плазмиды, весом более 150 т.п.н. (см. Приложение).

Агробактерии вызывают опухолевый рост у многих двудольных и голосеменных, а так же у некоторых однодольных растений. Для инфицирования *in vivo* необходимо повреждение тканей растения.

После прикрепления к клеточной стенке растительной клетки агробактерии переносят часть Ti-плазмиды (так называемой тДНК) в ядро, где происходит ее стабильная интеграция в хромосому растения.

Доказано, что функция распознавания клеток и прикрепления к ним, а так же вырезание, перенос и, возможно, интеграция тДНК в растительный геном кодируется двумя хромосомными генами - *Chva* и *Chvb* и рядом генов *vir*-области, находящихся на Ti-плазмиде.

После переноса в ядро растительной клетки, тДНК может интегрироваться в геном в виде одной или нескольких копий. Встроенная тДНК имеет свойства, характерные для ДНК эукариот, что показано в экспериментах по гиперчувствительности к ДНК-азе I (Schafer, 1984). В зависимости от типа Ti-плазмиды, в тДНК находится от семи до тринадцати генов, ответственных за опухолевый фенотип. Гены 1 и 2 кодируют ферменты, участвующие в синтезе ауксина, индолилуксусной кислоты, в то время, как ген 4 кодирует изопентенилтрансферазу, синтезирующую цитокинин изопентенила денозин 5'-монофосфат.

Одновременная транскрипция генов 1,2 и 4 приводит к повышению уровня фитогормонов внутри трансформированных клеток. Результатом этого является повышение митотической активности и образование опухоли. Другие гены тДНК кодируют синтез так называемых опинов, из которых наиболее изучены нопалин и октопин. Опины представляет собой производное аминокислот и сахаров, которые служат источником питания для агробактерий. В целом, образование корончатого галла представляет собой хорошо охарактеризованный пример генетической инженерии растений в природе.

Мутации в вирулентных генах агробактерий. Наличие Ti-плазмид в клетках агробактерий является абсолютно необходимым условием патогенности микроорганизма. Излеченные от Ti-плазмид штаммы агробактерий авирулентны. На вирулентность *Agrobacterium tumefaciens* оказывают влияние различные мутации, котируемые как на опухолевых плаزمидях, так и на хромосомах. Ранние этапы взаимодействия агробактерий с растениями, так же как хемотаксис, прикрепление к поверхности растительной клетки и специфическое связывание в центрах инфекции контролируются генами, имеющими хромосомную локализацию. В хромосоме расположены некоторые гены, регулирующие экспрессию *vir*-генов Ti-плазмид. Присоединение агробактерий к клеткам растения является одним из первых этапов, определяющих эффективное взаимодействие. Этот этап у *Agrobacterium tumefaciens* контролируют два связанных между собой хромосомных локуса *Chva* и *Chvb*, размерами 1,5 kb и 5kb, соответственно. Гены этих локусов экспрессируются конститутивно. В результате транспозонного мутагенеза этих областей получают авирулентные или дефектные по прикреплению агробактерии. Мутации в этих локусах сильно понижают или ингибируют вирулентность бактерии, но не для всех хозяев. Локус *Chvb* определяет синтез нейтрального циклического -D-гликана, который трансформируется в периплазматическое пространство клетки с помощью продукта гена *Chva*. Роль нейтрального -D-

гликана в инфекционном процессе еще точно не установлена. Помимо циклического -D-гликана в прикреплении патогенных агробактерий к растительным клеткам принимают участие и другие полисахариды, в частности внеклеточные экзополисахариды.

Организация vir-генов Ti-плазмид. Вирулентные гены агробактерий на Ti- и Ri-плазмидах кластеризованы в области vir размером около 30-35 kb, проявляющей в этих плазмидах значительную гомологию ДНК. Выявлена также гомология vir-генов Ti-плазмид *Agrobacterium tumefaciens* с tra-генами конъюгативных плазмид. В Ti-плазмидах в области vir локализовано шесть различных групп комплементации A, B, C, D, E и G, организованных в единый регулон [Stachel Nester, 1986]. Октопиновая Ti-плазида Arh 5 имеет дополнительный локус vir F, расположенный справа от локуса vir E [Кооукаас et al., 1984]. Мутации в генах vir A, vir G, vir B и vir D придают агробактериям авирулентный фенотип, в отличие от большинства хромосомных мутаций, имеющих круг трансформируемых растений-хозяев.

Продукты генов vir-области контролируют процессинг тДНК в бактериальной клетке, ее перенос в растительную клетку и интеграцию в ядерный геном растения, причем эти процессы гены vir могут определять не только в цис, но и в транс положении по отношению к тДНК (то есть находясь в разных репликонах). Исходя из этого свойства области vir, сконструированы и успешно используются в практике удобные бинарные векторы для генетической инженерии растений [Дрейпер с соавт., 1991]. Для процессов "вырезания" тДНК из плазмиды (точнее, высвобождения в процессе репликативного синтеза) и ее переноса в растение необходимо фланкирование этой области особыми границами: несовершенными прямыми повторяющимися последовательностями ДНК размером 24, проявляющими значительную гомологию у всех изученных Ti- и Ri-плазмид. Границы тДНК гомологичны области oriT конъюгативных плазмид. В этой области сайт-специфические эндонуклеазы производят одноцепочечный разрыв, служащий началом репликации по типу разматывающегося рулона, происходящей в процессе транспорта плазмиды. Репликация обеспечивает сохранение плазмиды в материнской клетке и появление ее копии в дочерней.

Для нормального процессинга тДНК и ее переноса в растительную клетку особенно важна ее правая граница, которая одна может определять полярность переноса тДНК. Удаление правой границы из Ti-плазмид делает агробактерии полностью авирулентными. Замена ее на искусственно синтезированную, так же как и на левую, восстанавливает вирулентность микроорганизма.

На процессинг тДНК в клетках бактерий влияют мутации в генах vir D, vir C и vir E - оперонов, на транспорт т-комплекса в растительную клетку - мутации в генах vir B и vir D – оперонов.

Лабораторная работа № 13

Методы аналитической и синтетической селекции. Индивидуальный и массовый отбор и их разновидности. Отбор при скрещиваниях по доминантным и рецессивным признакам. Отбор у само- и перекрестноопыляющихся видов растений. Метод Педигри. Бекроссная селекция. Создание замещенных линий (скрещивание с ограниченной ответственностью). Сравнение методов селекции растений.

Методы аналитической и синтетической селекции.

Аналитическая селекция. Метод, связанный с анализом линий, из которых состоит популяция, и отбором лучших из них.

Основными методами синтетической селекции являются внутривидовая и отдаленная гибридизация, химический и физический мутагенез, полиплоидия, гаплоидизация и дигаплоидизация, использование инцухта, гетерозиса, цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС), эмбриокультура, соматическая гибридизация, культура пыльников и другие биотехнологические методы и приемы генной инженерии.

Индивидуальный и массовый отбор и их разновидности.

Массовый отбор: самый простой, не требующий больших затрат труда, в связи с чем малоэффективен. Используется массовый отбор в 2 – х формах: 1) негативный – из популяции удаляют нежелательные растения. И 2) позитивный отбор лучших растений из популяции. Эффективность массового отбора повышается если его направление совпадают с естественным отбором. Массовый отбор в селекции не используется, а если используется то редко. В основном используется в семеноводстве.

Индивидуальный отбор – может быть однократным, двукратным или многократным. Для того чтобы контролировать опыление при отборе используют разные его модификации: индивидуально – семейный отбор. После отбора элитных растений их семена высевают на отдельной делянке (семье), каждая семья высеивается изолированно друг от друга, чтобы опыление происходило внутри семьи. Перед цветением проводят внутрисемейную обработку.

Задача 1.

У тыквы дисковидная форма плода доминирует над шаровидной. Гомозиготную шаровидную тыкву опылили пыльцой такой же тыквы. Какими будут гибриды первого поколения?

Задача 2.

У морских свинок черная окраска шерсти доминирует над белой. Скрестили двух гетерозиготных самца и самку. Какими будут гибриды первого поколения?

Задача 3.

У человека ген, вызывающий одну из форм наследственной глухонемой, рецессивен по отношению к гену нормального слуха. От брака глухонемой женщины с абсолютно здоровым мужчиной родился здоровый ребенок. Определите генотипы всех членов семьи.

Задача 4.

Известно, что одна из форм шизофрении наследуется как рецессивный признак. Определите вероятность рождения ребёнка с шизофренией от здоровых родителей, если известно, что они оба гетерозиготны по этому признаку.

Задача 5.

Ген, определяющий лень, доминирует над работоспособностью. Есть подозрение, что Емеля из сказки «По щучьему велению» гетерозиготен. Может ли быть такое, если известно, что мать Емели была работающей, а отец – очень ленивый?

Задача 6.

Известно, что отсутствие полос у арбузов - рецессивный признак. Какое потомство получится при скрещивании двух гетерозиготных растений с полосатыми арбузами?

Лабораторная работа № 14.

Оценка исходного материала по главнейшим признакам. Методы оценки селекционного материала. Методы оценки материала. Прямые, косвенные, провокационные оценки. Длина вегетационного периода. Качество продукции. Пути ускорения селекционного процесса. Фоны для оценки исходного материала (провокационные, инфекционные, селективные и др.). Оценка существующих сортов на различные виды устойчивости (к полеганию, зимостойкости, засухоустойчивости). Генетические основы селекции растений на болезнеустойчивость и качество продукции. Доноры и источники для селекции. Статистические методы в селекции.

Длина вегетационного периода.

Период вегетации – это время, которое отличается у всех видов и сортов растений. Считается, что он может длиться в течение 3 дней–3 месяцев. Это зависит от:

- состояния почвы;
- погоды;
- наследственности;
- заболеваний и патологий.

В зависимости от данных факторов вегетация разная по времени. В некоторых случаях она достигает до 9 месяцев. Многие культуры неспособны полностью созреть, и их собирают раньше, поскольку времени на дозревание нет.

Качество продукции.

Качество продукции — совокупность свойств и признаков продукции, товаров, услуг, обуславливающих их способность удовлетворять потребности и запросы людей, соответствовать своему назначению и предъявляемым требованиям.

Качество определяется мерой соответствия товаров и услуг условиям и требованиям стандартов, договоров, контрактов, запросов потребителей.

Основные факторы, влияющие на качество продукции

Факторы внешней среды:

- уровень требований к качеству (потребители, прогресс, конкуренты);
- наличие поставщиков капитала, трудовых ресурсов, материалов, энергии, услуг;
- действующее законодательство в области качества и работа государственных органов.

Внутренние факторы предприятия:

- Материальная база предприятия (финансы, оборудование, инфраструктура);

- Персонал (квалификация и мотивация);
- Качество проекта (совершенство конструкции);
- Качество исполнения (применение передовых технологий);
- стабильность процессов;

Важным фактором является менеджмент¹(организация работ и управление предприятием), в том числе — система управления качеством, предусматривающая:

- маркетинг;
- взаимоотношение с заказчиками (контракты, сервис);
- контроль качества на всех этапах создания продукции;
- оперативное реагирование на проблемы с качеством.

Пути ускорения селекционного процесса.

- Сокращение длительности жизненного цикла (использование защищенного грунта, совершенствование агротехники возделывания)
- Ранняя диагностика ценных генотипов (использование генетических методов, молекулярных маркеров и др.)
- Совмещение нескольких этапов селекционного процесса (первичного и государственного сортоиспытания, отбора и сортоиспытания)

Фоны для оценки исходного материала (провокационные, инфекционные, селективные и др.).

Провокационные фоны. Эти фоны применяют для оценки устойчивости селекционного материала к засухе, пониженным температурам, засолению, полеганию. Перечисленные неблагоприятные условия проявляются не каждый год, поэтому фоны для оценки необходимо создавать искусственно.

Инфекционные и инвазионные фоны. Эти фоны создают для оценки устойчивости растений к различным болезням и вредителям.

Селективные фоны. В плохих условиях можно выявить устойчивые формы, но трудно обнаружить особи с высоким потенциалом продуктивности. Селективный фон должен быть высоким, оптимально благоприятным, т. е. соответствовать условиям среды и агротехнике, в которых будет выращиваться сорт

Таким образом, провокационные, инфекционные и инвазионные фоны выявляют более устойчивые генотипы, а селективные – более продуктивные формы растений.

Существуют два типа оценки селекционного материала:

1. Прямая оценка. Прямая оценка осуществляется путём непосредственного осмотра селекционного материала, измерения растений или их органов, подсчёта, взвешивания и т. д.
2. Косвенная оценка. В ряде случаев об отдельных свойствах растения можно судить по косвенным показателям. Например, об устойчивости растений подсолнечника к

подсолнечниковой моли можно судить по наличию или отсутствию панцирного слоя в оболочке семени.

Оценка на разных этапах селекционного процесса. *На первом этапе* работы оценку растений проводят только по основным признакам, часто глазомерно. *На ранних этапах* селекционного процесса применяют экспресс-методы, позволяющие осуществить оценку быстро и достаточно точно. Оценку проводят в основном по *косвенным признакам*: 1) *засухоустойчивость* 2) *жаростойкость* 3) *холодостойкость* 5) *иммунность* 6) *устойчивость к полеганию*. На завершающем этапе селекции самые лучшие, перспективные селекционные номера подвергают наиболее полной и всесторонней оценке по комплексу хозяйственно-ценных признаков и в первую очередь по урожайности.

Лабораторная работа № 15.

Эффективность использования селекционно-генетических методов при выведении новых сортов в Российской Федерации. Состояние селекции сельскохозяйственных растений. Достижения, основные направления современной селекции сельскохозяйственных культур в Российской Федерации. Выдающиеся сорта полевых, овощных, плодовых, ягодных и декоративных культур Ставропольского края.

Достижения и основные направления современной селекции

За последнее столетие селекционеры добились поразительных успехов. Урожайность зерновых повысилась в 10 раз. В развитых странах получают до 100 ц/га пшеницы, риса, кукурузы. Новые сорта картофеля дают почти 1 000 ц/га — это в четыре раза выше урожая прежних сортов. Успехи наблюдаются и в селекции других культур.

Путем гибридизации географически отдаленных форм и отбора академик П. П. Лукьяненко получил высокопродуктивные сорта кубанской пшеницы "безостая 1", "аврора", "кавказ". Академик В. Н. Ремесло вывел замечательные морозоустойчивые сорта озимой пшеницы "мироновская 808", "юбилейная 50", "харьковская 63". В разных регионах России (в Сибири, Поволжье) и за рубежом широко используются сорта яровой пшеницы, полученные А. П. Шехурдиным и В. Н. Мамонтовой: "саратовская 29", "саратовская 36", "саратовская 210". Саратовские сорта занимают более половины посевных площадей яровой пшеницы. "Саратовская 29" обладает прекрасными технологическими свойствами и служит стандартом хлебопекарных качеств.

Академик В. С. Пустовойт на Кубани получил сорт подсолнечника, содержащий в семенах до 50 — 52 % масла.

Серьезная проблема связана с сохранением культурных форм: возделывание лишь отдельных сортов резко сокращает генофонд, снижает приспособляемость. При изменении климата или по другим причинам сорт может исчезнуть. При селекции высокомасличных сортов подсолнечника на Кубани оказались отобранными особи с тенденцией к позднему созреванию. Эта тенденция стала развиваться, подсолнечник созревал все позже и, наконец, перестал вызревать до дождей, начал гнить на полях. Восстановить культурные сорта оказалось делом не легким: к тому времени сорта В. С. Пустовойта сменили по всему миру все другие сорта подсолнечника.

Значительный вклад в селекцию новых пород животных внес отечественный селекционер М. Ф. Иванов. Им была выведена одна из самых продуктивных в мире пород шерстно-мясных тонкорунных овец — "асканийский рамбуль", высокопродуктивная порода свиней "украинская степная белая", мясомолочная "костромская" порода коров. Для получения "асканийского

рамбулье" были скрещены лучшие представители украинских мериносов с "американскими рамбулье". В результате девятилетней селекционной работы по скрещиванию привезенного из Англии выдающегося производителя "крупной белой" породы с лучшими местными породами была получена порода "украинская степная белая", которая по весу, скороспелости, плодовитости и качеству продукции не уступает "крупной белой", но прекрасно переносит местные условия.

Гибридизация с дикими видами придает культурным формам устойчивость к условиям среды и невосприимчивость к болезням. Гибрид тонкорунных и грубошерстных овец с диким бараном архаром — архаромеринос — может использовать высокогорные пастбища, недоступные обычным овцам. Проведена гибридизация яка с крупным рогатым скотом. В результате успешного применения гетерозиса выводят бройлерных цыплят. Межродовой гибрид белуги со стерлядью — бестер — неприхотлив и может выращиваться в непроточных водоемах.

Селекция микроорганизмов направлена на создание генетических линий (штаммов), обеспечивающих максимальную производительность полезных веществ. Продукты жизнедеятельности бактерий и одноклеточных эукариот (водорослей, дрожжей и плесневых грибов) находят применение в различных областях промышленности и медицины. На деятельности микроорганизмов основано брожение теста, получение большинства молочных продуктов, квасов, виноделие, пивоварение, квашение капусты, кормовых добавок, а также производство лекарств и биологически активных соединений.

С целью увеличения эффективности селекции диапазон наследственной изменчивости исходных организмов иногда удается расширить с помощью мутагенеза. У бактерий набор хромосом гаплоидный, поэтому каждая мутация проявляется в фенотипе уже в первом поколении, облегчая отбор. Большая скорость размножения позволяет быстро получить значительное потомство. Полученные штаммы подвергают многократному отбору с пересевом на питательные среды и контролем на образование требуемого продукта.

Использование данной технологии позволяет получать штаммы значительно более продуктивные, чем природные формы. Так, получены плесневые грибы, продуцирующие в тысячи раз больше антибиотика, чем исходные формы. Новые штаммы микроорганизмов синтезируют в необходимых для человечества количествах витамины В1, В12, которые неспособны вырабатывать организмы животных и человека.

8 семестр

Лабораторная работа № 1

Введение в селекцию животных. Понятие селекция, задачи селекции основных видов с.-х. животных. Роль отечественных ученых в развитии селекции. Достижения селекции в России. Происхождение домашних животных. Теоретические и прикладные аспекты сохранения биоразнообразия животных. Современное понятие породы и популяции. Классификация пород и категории популяции.

Цель: ознакомиться с теорией

Разведение животных является одной из самых древних областей человеческой деятельности. Еще до появления науки о селекции люди занимались разведением животных в приусадебных хозяйствах, повышая их продуктивность путем рационального кормления и содержания. С развитием производства, изменением социальных условий, когда у человека появилась потребность усовершенствовать приемы разведения животных и увеличить их продуктивность, начала развиваться и наука о селекции, а в последующем наука о генетике сельскохозяйственных животных.

Слово "селекция" произошло от лат. "selectio", что в переводе обозначает выбор, отбор". Селекция это наука, которая разрабатывает новые пути и методы получения сортов растений и их гибридов, пород животных. Это также и отрасль сельского хозяйства, занимающаяся выведением новых сортов и пород с нужными для человека свойствами: высокой продуктивностью, определенными качествами продукции, невосприимчивых к болезням, хорошо приспособленных к тем или иным условиям роста. Теоретическая основа селекции - генетика и разрабатываемые ею закономерности наследственности и изменчивости организмов. Эволюционная теория Чарльза Дарвина, законы Грегори Менделя, учения о чистых линиях и мутациях позволили селекционерам разработать методы управления наследственностью растительных и животных организмов. Большую роль в селекционной практике играет гибридологический анализ.

Селекция как основа повышения продуктивности сельскохозяйственных животных играет важную роль в обеспечении продовольственной безопасности. Как известно, среди сельскохозяйственных животных крупный рогатый скот (КРС) является доминирующим источником производства молока и мяса.

Селекционный процесс разбивается на три отрасли: селекция в растениеводстве, селекция в животноводстве и селекция микроорганизмов.

Отыскать определенный ген, извлечь его из клетки, вживить в другую клетку и получить абсолютно новый организм, идеально отвечающий всем требованиям, - о таком можно только мечтать. Найди нужное сочетание генов, и картофель перестанет бояться колорадского жука, пшеница - дождей и заморозков, соя даст невиданные урожаи, в помидорах будет вдвое больше в-каротина, капуста брокколи начнет тормозить рост раковых клеток, куры осчастливят нас яйцами, богатыми полиненасыщенными жирными кислотами, которые есть только в рыбе. Да мало ли чего еще можно добиться, манипулируя геномным кодом!

Достижения селекции в России

Работы И. В. Мичурина

Неоценимый вклад в развитие селекции растений внес отечественный селекционер, выдающийся преобразователь природы Иван Владимирович Мичурин (1855–1935). Объектом селекции служили разнообразные плодово-ягодные культуры: семечковые, косточковые; всего И.В. Мичуриным было создано свыше 300 сортов культурных растений, часть которых эксплуатируется до сих пор. Основные принципы работ И.В. Мичурина: гибридизация, отбор и воздействие условий среды. И.В. Мичурину принадлежит крылатое выражение; «Мы не можем ждать милостей от природы, взять их у неё – наша задача».

И.В. Мичурин был не просто талантливым садоводом-любителем. Он внес неоценимый вклад в мировую науку. В частности, Иван Владимирович экспериментально обосновал эффект *смены доминирования*: в зависимости от почвенно-климатических условий, характера подвоя и привоя и других факторов генотип может проявиться в фенотипе, а может и не проявиться. И.В. Мичурин использовал в своих работах *метод ментора*, основанный на различных комбинациях прививок. Для получения гибридов И.В. Мичурин широко использовал *эколого-географические скрещивания* – если родители происходят из разных географических районов или из разных местообитаний, то гетерозис проявляется наиболее сильно. Это вызвано тем, что эти родители имеют наиболее сильно различающиеся генотипы, сформировавшиеся в ходе естественного отбора в разных условиях. И.В. Мичурин установил, что *селекцию сорта нужно вести в тех условиях, в которых планируется его дальнейшая эксплуатация*.

Происхождение домашних животных

Человек с давних времен стал приручать и одомашнивать животных. С совершенствованием средств и техники охоты число диких зверей и птиц вокруг человеческих поселений быстро сокращалось, и более надежным источником пищи стали прирученные животные. От приручения человек перешел к одомашниванию многих из них. Одомашнивание диких предков современных сельскохозяйственных животных началось 10—15 тыс. лет тому назад. О том, как это происходило, мы узнаем из раскопок древних поселений, где археологи обнаруживают предметы и остатки сооружений, рассказывающие о древнейшем скотоводстве, а также изображения самых разных одомашненных животных.



Фрески с изображениями домашних животных свидетельствуют о том, что в Древнем Египте было уже высоко развито животноводство.

Одомашнивание крупного рогатого скота, свиней, собак произошло в основном там, где раньше всего возникло земледелие, — в бассейнах рек Тигра, Евфрата, Нила, Инда, Амударьи. В верховьях Енисея наши ученые обнаружили древние росписи на скалах и в пещерах, которым 2 тыс. лет. Они изображают уже одомашненных животных и рядом с ними человека.

К домашним животным относят крупный рогатый скот, овец, коз, северных оленей, верблюдов, лам, альпака, буйволов, яков, лошадей, ослов, свиней, собак, кошек, кроликов, морских свинок, кур, уток, гусей, индеек, цесарок, голубей, пчёл, тутового шелкопряда, карпа, аквариумных рыб. На стадии одомашнивания находятся олени (марал, пятнистый олень и лось) и антилопа канна, а также пушные звери (лисица, песец, норка, соболь, нутрия).

Теоретические и прикладные аспекты сохранения биоразнообразия животных

Биология сохранения живой природы — научная дисциплина, которая объединяет людей и знания из различных областей и направлена на преодоление кризиса биоразнообразия. Биология сохранения живой природы отличается от смежных прикладных дисциплин более общим теоретическим подходом к защите биологического разнообразия. Приоритетной задачей биологии сохранения живой природы является обеспечение долговременного сохранения всех биологических сообществ, а экономические аспекты при этом учитываются как вторичные.

Поскольку кризис биоразнообразия обусловлен в основном антропогенными факторами, биология сохранения живой природы исходит из идей и оценок, сформулированных в различных небιологических дисциплинах (в частности, этике). Природоохранная этика формирует поведение, обеспечивающее сохранение видов и их мест обитания. Социальные науки (например, антропология, социология) позволяют понять, как следует образовывать людей, чтобы пробудить в них желание и умение сохранять природные ресурсы и виды, живущие в непосредственной близости.

Необходимость сохранения биологического разнообразия была осознана давно. Повсеместно во многих культурах обнаруживаются религиозные и философские воззрения, подчеркивающие важность сохранения видов и уголков дикой природы. Многие религии предписывают человеку жить в гармонии с природой и защищать живой мир. Современные защитники дикой природы, представленные активистами и членами различных экологических организаций, отстаивают необходимость сокращения или полного прекращения форм деятельности и видов промышленности, нарушающих нормальное взаимодействие компонентов Земли.

Существующая парадигма устойчивого развития включает в себя следующее положение: использование природных ресурсов для удовлетворения потребностей человека должно осуществляться таким образом, чтобы не причинять вреда биологическим сообществам, и с учетом потребностей будущих поколений.

Термин «популяция» происходит от латинского *populus* – население. Долгое время (начиная с конца XVIII в.) популяцией называли (а часто называют и сейчас) любую группировку организмов, обитающих на определенной территории.

В 1903 г. датский генетик Вильгельм Людвиг Иоганнсен впервые употребил термин «популяция» для обозначения группы особей, неоднородной в генетическом отношении.

Иоганнсен впервые применил комплекс генетических и статистических методов для изучения структуры популяции самооплодотворяющихся (самоопыляющихся) организмов. Он избрал объектом исследования популяции самоопылителей, которые можно было легко разложить на группы потомков отдельных самоопыляющихся растений, т. е. произвести выделение *чистых линий*. Анализу была подвергнута масса (размеры) семян фасоли *Phaseolus vulgaris*. В настоящее время известно, что масса семян определяется полигенно и в сильной степени подвержена влиянию факторов внешней среды.

Иоганнсен провел взвешивание семян одного сорта фасоли и построил вариационный ряд по этому показателю. Масса варьировала в пределах от 150 до 750 мг. В дальнейшем семена массой 250...350 и 550...650 мг были высеяны отдельно. С каждого выросшего растения семена были вновь взвешены. Тяжелые (550...650 мг) и легкие (250...350 мг). Семена, выбранные из сорта, представляющего популяцию, дали растения, семена которых отличались по массе: средняя масса семян растений, выросших из тяжелых семян, составила 518,7 мг, а из легких – 443,4 мг. Этим было показано, что сорт – популяция фасоли состоит из генетически различных растений, каждое из которых может стать родоначальником чистой линии. На протяжении 6...7 поколений Иоганнсен отбирал тяжелые и легкие семена с каждого растения в отдельности. Ни в одной линии не произошло сдвига массы семян. Изменчивость размеров семян внутри чистой линии была ненаследственной, модификационной.

Таким образом, В. Иоганнсен генетически неоднородные (гетерогенные) популяции противопоставлял однородным *чистым линиям* (или клонам), в которых невозможен отбор (нет выбора!).

Вскоре подобные исследования были выполнены и для перекрестно-оплодотворяющихся организмов (работы Д. Джонса и Е. Иста с табаком).

Английский математик Годфри Харди (1908) сформулировал понятия *панмиксии* (свободного скрещивания) и создал математическую модель для описания генетической структуры *панмиктической популяции*, т.е. популяции свободно скрещивающихся раздельнополых организмов. Немецкий врач-антропогенетик Вильгельм Вайнберг (в этом же 1908 г.) независимо от Харди создал сходную модель панмиктической популяции.

Учение о неоднородности популяций развил российский генетик Сергей Сергеевич Четвериков. Его работой «О некоторых аспектах эволюционного процесса с точки зрения современной генетики» (1926) было положено начало современной эволюционной и популяционной генетики. В 1928 г. Александр Сергеевич Серебровский создает учение о генофонде.

В течение 1920–1950-ых гг. в англоязычных странах формируется понятие *идеальной популяции*, и на основании этого понятия интенсивно развивается математическая генетика (Сьюелл Райт, Рональд Фишер, Джон Холдейн (J.B.S. Haldane, не путать с физиологом Холдейном) и др.).

В нашей стране, несмотря на господство лысенковщины, учение о популяциях развивалось в работах И.И. Шмальгаузена (популяция рассматривалась как элементарная единица эволюционного процесса), А.Н. Колмогорова (анализировались случайные процессы в популяциях) и других ученых. Однако в большинстве случаев популяция рассматривалась с экологической точки зрения (например, как *форма существования вида*; С.С. Шварц). Лишь в 1906–1970-гг., благодаря работам Н.В. Тимофеева-Ресовского и его сотрудников формируется синтетический подход к определению популяции как эколого-генетической системы.

Классификация пород и категории популяции.

1. Классификация пород по происхождению построена на принципе изучения истории выведения пород. Эта классификация имеет значение для племенной работы, для использования того или иного метода разведения и отнесения животных в чистопородные при бонитировке. По происхождению многие породы можно объединить в родственные группы. Например, в молочном скотоводстве можно выделить группу староголландского скота: голштинская, британо-фризская, голландская, черно-пестрые породы Германии, Дании, Швеции, России, Франции и др. В группу швицкого скота входят животные, полученные от использования швицкой породы: бурая, карпатская, костромская и др. Эти породы стран СНГ, Европы и других стран объединяются в группу бурого скота.

2. Классификация пород по количеству и качеству затраченного труда основана на характере племенной работы, общего уровня культуры ведения животноводства, экономических условий, в которых создаются и разводятся различные породы. По этому принципу породы делятся на три группы.

Лабораторная работа №2

Развитие исследований по частной генетике животных. Признаки качественные и количественные. Генетический анализ сложных признаков. Основные селекционные признаки у разных видов с.-х. животных. Цитологическая характеристика разных видов с.-х. животных. Вредные и летальные гены у с.-х. животных. Применение современных методов в селекционной работе.

По признанию многих современных биологов генетика в последние годы стала сердцевинной всей биологической науки. Лишь в рамках генетики разнообразие жизненных форм и процессов может быть осмыслено как единое целое.

Таким образом, генетика – наука о наследственности и ее реализации в развитии, о закономерностях наследования генетически закрепленных признаков. Наследственность можно определить как биологический процесс, обуславливающий сходство между родителями и потомством. В понятие наследственности по М.Е.Лобашеву входят четыре группы явлений: организация генетического материала, его экспрессия, воспроизведение (репликация) и передача от одного поколения к другому. Таким образом, генетика объединяет в одно целое эмбриологию и биологию развития, морфологию и физиологию, объединяет в единую науку – биологию.

Другой проблемой генетики является проблемы изменчивости общего для любого конкретного вида генотипа.

Очень велико и практическое значение генетики, т.к. она служит теоретической основой селекции полезных микроорганизмов, культурных растений и домашних животных.

Из генетики выросли такие мощно развивающиеся науки как биотехнология, генная инженерия, молекулярная биология. Трудно переоценить роль генетики в развитии медицины. Основными разделами современной генетики являются: цитогенетика, молекулярная генетика, мутагенез, популяционная, эволюционная и экологическая генетика, физиологическая генетика, генетика индивидуального развития, генетика поведения и др. Разделами частной генетики: генетика микроорганизмов, генетика растений, генетика животных, генетика человека.

Признаки качественные и количественные

Все признаки, которыми обладают живые организмы, принято делить на две категории — качественные и количественные. *Качественные* — признаки имеющие четко различимые формы, например, окраска или генетические аномалии, передаваемые отдельными генами. На фенотипическое проявление качественных признаков условия среды практически не влияют. Для характеристики популяции по качественным признакам используют понятия *частота генов и генотипов*.

Однако большая часть свойств организма представлена количественными признаками. Они проявляют в основном непрерывную изменчивость и могут быть измерены — рост, длина шерсти, вес. Количественные признаки, в большей степени, чем качественные, зависят от условий среды и обусловлены многими генами, так называемыми полигенами, то есть системой неаллельных генов, одинаково влияющих на формирование данного признака. Взаимодействие таких генов в процессе формирования признака называется полимерным. Эти гены также называются аддитивными, так как их действие суммируется.

Генетический анализ сложных признаков.

Генетический анализ — комплекс методов исследования генотипа и фенотипа. Генотип — совокупность генов, а фенотип — совокупность 12 признаков конкретного организма. Особенностью генетического анализа является то, что изучение генов осуществляется через контролируемые ими признаки. В связи с этим предметом генетического анализа является фенотип организма и его отдельные признаки. Признаком в генетике называют любое свойство, особенность, по которым организмы могут отличаться друг от друга. Это могут быть морфологические, биохимические, физиологические, анатомические и другие отличия. Подобно тому, как генотип можно разложить на элементарные наследственные единицы — гены, фенотип особи можно представить как совокупность элементарных единиц — фенов. Каждый фен контролируется одним конкретным геном. Фен — есть простой элементарный признак. Сложный признак контролируется несколькими генами, представляя собой сочетание фенов или фенотип. Изучение элементарных признаков (фенов) позволяет выявить связь между геном и контролируемым им признаком, то есть изучить функцию гена. Анализ сложных признаков проливает свет на механизмы взаимодействия генов, которые приводят к проявлению того или иного фенотипа.

Основные селекционные признаки у разных видов с.-х. животных.

Селекция животных — особая отрасль сельскохозяйственного производства. Она проводится с целью увеличения плодовитости и продуктивности домашних животных или выведения новых пород с нужными человеку свойствами.

Домашние животные разводятся человеком с разными целями: для получения продовольственных продуктов (мясо, молоко, яйца), промышленного сырья (шерсть, кожа, перо и др.), как тягловое и транспортное средство, для удовлетворения многих других потребностей, в том числе эстетических.

Искусственный отбор и последующее применение различных способов селекции создали те специализированные формы домашних животных, которые используются человеком и в настоящее время в разных частях света.

В различные периоды жизни человеком были одомашнены многие животные: большинство видов крупного рогатого скота, лошади, овцы, свиньи, куры, утки, собаки, кошки, кролики и др. Первыми одомашниванию (приручению и разведению) подвергались животные, ведущие стадный или стайный образ жизни. Позже стали одомашнивать и животных, ведущих одиночный образ жизни: пушных зверей (соболь, *серебристая лисица*, *норки*, нутрия), виды, перспективные в продовольственном направлении (*антилопа*, *лось*, *марал*, *пятнистый олень*, сазан), дающие лечебные яйца (перепел), а также отвечающие декоративным целям (птицы: *волнистые попугайчики*, *канарейки*; рыбы: *гуппи*, *скалярии*, *мечехвосты* и др.). В наши дни повторно происходит одомашнивание страуса для получения мяса, яиц и перьев.

Вредные и летальные гены у с.-х. животных

Причина летальных и полуметальных аномалий в основном связана с переходом в гомозиготное состояние мутантных рецессивных генов. Для того чтобы вредные рецессивные мутации не распространялись в конкретном стаде или породе, необходима организация генетического контроля (мониторинга) за проявлением патологии у животных.

В каждом стаде должна быть налажена система учета рождения уродливого и аномального приплода. На основании этого учета проводят генетический анализ для установления роли наследственности в возникновении аномалий. Такой анализ должен подкрепляться сведениями из литературы относительно причин данной патологии.

Если в стаде животных появляется врожденная аномалия и установлено, что она контролируется аутосомным рецессивным геном, это значит, что оба родителя, от которых получен аномальный потомок, являются скрытыми (гетерозиготными) носителями данной мутации. При искусственном осеменении рецессивные мутации могут быстро распространиться в породе, если будут использованы проверенные на мутацию производители. Особенно недопустимо использование гетерозиготных по вредным рецессивным генам производителей в племенных хозяйствах.

Если аномалии возникают у высокопродуктивных родителей в племенных стадах, то мужских потомков целесообразно проверять

на гетерозиготное носительство путем родственных спариваний. Для интенсивного использования производителей в последующем отбирают только тех из них, у которых при инбридинге не было получено аномального приплода. Проверка производителей по качеству потомства должна предусматривать учет не только продуктивности потомства, но и его жизнеспособности.

Влияние генетических факторов на мертворожденность и постнатальную смертность молодняка. Мертворожденность и гибель молодняка в первые дни после рождения причиняют значительный ущерб животноводству. Подсчитано, что в общем доходе, получаемом от коровы, 10—12 % составляет доход от теленка. Мертвыми рождаются от 1 до 10 % телят. Причины рождения нежизнеспособных телят могут быть различными. Значительную долю (около 20 %) перинатальной смертности приплода крупного рогатого скота составляют трудные отелы.

На частоту мертворожденное™ оказывают также влияние генетические и средовые факторы, порода и методы разведения. Установлено влияние отцов на частоту мертворождений и смертности телят после рождения. Перинатальная смертность может быть связана с применением инбридинга.

При проверке производителей по качеству потомства необходимо вести строгий учет заболеваемости и смертности, а также вынужденного убоя молодняка. Быков, имеющих преимущество по ряду селекционируемых признаков, но характеризующихся повышенной смертностью потомков (более 5 %), следует использовать очень ограниченно.

Для определения генетических и средовых причин смертности приплода в товарных хозяйствах необходимо одновременно использовать сперму не одного, а нескольких производителей. В этом случае достоверно повышенную частоту смертности в потомстве определенного быка при прочих равных условиях надо рассматривать как проявление генотипа данного производителя.

Задача 1. У мышей желтая окраска доминирует над черной, при этом гомозиготные зародыши желтых мышей начинают развиваться, а затем рассасываются. При скрещивании желтых мышей в потомстве получено 12 мышат. Сколько из них гетерозиготные?

Задача 2. У мышей ген короткохвостости в доминантном состоянии является летальным, вызывая гибель зародыша на ранних стадиях развития. У гетерозигот хвосты короче, чем у нормальных особей. Определить фенотипы и генотипы потомства, возникающего от скрещивания длиннохвостых и короткохвостых мышей.

Применение современных методов в селекционной работе.

Современные методы селекции. Источники изменчивости для искусственного отбора.

Селекция-это наука о совершенствовании существующих и выведения новых пород животных, сортов растений, а так же практическая деятельность человека в этих направлениях.

Современная селекция использует различные методы. Главные из них:

-изучение существующего в природе многообразия видов, пород и сортов для использования их в качестве исходного материала для селекции;

-искусственный отбор особей, обладающих важными для селекционера признаками;

Одним из основных методов селекции является искусственный отбор, предполагающий сохранение и размножение организмов с признаками, ценными и полезными для человека. Обычно используют два вида искусственного отбора.

Массовый отбор проводят без учета генотипа организмов, только по внешним признакам, т.е. на основании фенотипа, поэтому отобранные организмы генетически неоднородны. Метод массового отбора всегда требует повторного отбора и действует медленно.

Индивидуальный отбор предполагает изучение генотипа родительских организмов, анализ потомков, проведение близкородственных скрещиваний и получение чистых линий, характеризующихся генетической однородностью.

-искусственное получение мутаций путем воздействия мутагенными факторами;

Факторы, воздействие которых на организм приводит к появлению мутаций, называются мутагенами. Обычно мутагены подразделяют на три группы. Для искусственного получения мутаций используются физические и химические мутагены.

Лабораторная работа № 3

Использование популяционно-генетических и математических методов в селекции с.-х. животных. Наследуемость и повторяемость основных хозяйственно-полезных признаков у животных разного направления продуктивности. Зависимость генетических параметров от внешних факторов и уровня селекции. Использование иммунологических, биохимических маркеров в селекции. Определение происхождения животных, генетического родства пород. Поиски коррелятивных связей интерьерных показателей крови с продуктивностью.

Цель темы: овладеть методиками расчета генетических параметров отбора (наследуемость, повторяемость, эффект селекции, селекционный дифференциал, индекс препотентности).

Использование популяционно-генетических и математических методов в селекции с.-х. животных.

Наибольшее применение в разведении животных получила популяционная генетика, изучающая изменения генетической структуры больших групп организмов (популяций) под влиянием внешних и внутренних факторов. Следует отметить, что из большого арсенала генетических методов изменения наследственности далеко не все могут быть использованы в селекции животных. Так метод искусственного мутагенеза, с помощью которого получают резкие изменения наследственности, не может быть применен из-за ничтожно малого числа полезных изменений. Если в растениеводстве таких изменений множество, то в животноводстве подобный отбор немыслим.

Невозможно и использование полиплоидии, так как у животных при этом нарушается воспроизводительная функция. В результате практическое значение имеет такой метод управления наследственностью — использование комбинативной изменчивости за счет генетического разнообразия гамет каждой особи и разнообразия генотипов, как в пределах каждой породы, так и при межпородных скрещиваниях. Параметры комбинативной изменчивости огромны и познание ее закономерностей возможно лишь на основе теории вероятности с помощью методов математической статистики. Именно их и использует популяционная генетика. При этом популяция рассматривается как нечто целое, представляющее собой наименьшую структурную единицу, к которой приложимы закономерности эволюции органического мира.

Математическая модель может быть построена в виде формулы, устанавливающей количественную связь независимых аргументов с функцией; она, в отличие от естественных экспериментов, позволяет более точно описывать исследуемые процессы, делает это описание более обозримым и удобным для последующего анализа, а также дает возможность заметно уменьшить объем натурных экспериментов и снизить их трудоемкость.

Метод наименьших квадратов находит широкое применение в животноводстве, так как позволяет установить зависимость между различными промерами статей тела и мясной продуктивностью, а также линейными промерами вымени у тех или иных видов сельскохозяйственных животных.

Наследуемость и повторяемость основных хозяйственно-полезных признаков у животных разного направления продуктивности.

Наследуемость - это доля генотипической изменчивости в общем фенотипическом разнообразии признака. Доля генотипической изменчивости выражается коэффициентом наследуемости (h^2), величина которого изменяется от 0 до 1 в долях единицы или от 0 до 100 в процентах. Чем больше величина h^2 , тем выше наследственная обусловленность изменчивости.

Задание I. Задание №_____ Из карточек племенных коров выписать показатели удоя по 1 лактации, % жира или живую массу матерей и дочерей по следующей форме:

№ n/n	Показатель продуктивности		№ n/n	Показатель продуктивности	
	матери (х)	дочери (у)		матери (х)	дочери (у)
1			26		
2			27		
3			28		
4			29		
5			30		
6			31		
7			32		
8			33		
9			34		
10			35		
11			36		
12			37		
13			38		
14			39		
15			40		
16			41		
17			42		
18			43		
19			44		
20			45		
21			46		
22			47		
23			48		
24			49		
25			50		

На основании выборки необходимо вычислить:

1. коэффициент наследуемости (h^2) используя удвоенный коэффициент корреляции (r) в парах мать-дочь и удвоенный коэффициент регрессии дочерей по матерям

(R д/м)

1. эффект селекции по формуле $ES = SD \times h^2$, где SD – селекционный дифференциал по жиру = 0,1%, по удою = 1000 кг, по живой массе = 50 кг.

Корреляционная решетка

X Y											P_y	a_y	$P_y a_y$	$P_y a_y^2$
P_x														
a_x														
$P_x a_x$														
$P_x a_x^2$														

Расчеты и выводы:

Коэффициент наследуемости признаков у сельскохозяйственных животных

(по Х.Ф.Кушнеру).

Показатели	h^2	Показатели	h^2
1. Удой	0,3-0,4	10. Живая масса свиней	0,3-0,5
2. % жира	0,6-0,8	11. Толщина шпика	0,5-0,7

3. Лактационная кривая	0,12	12. Оплата корма у свиней	0,3-0,6
4. % белка	0,5-0,7	13. Энергия роста свиней	0,2-0,4
5. Скорость выдаивания	0,4-0,6	14. Качество туши	0,5-0,6
6. Форма вымени	0,3-0,4	15. Настриг шерсти	0,4
7. Живая масса КРС	0,3-0,7	16. Яйценоскость	0,1-0,3
8. Оплата корма	0,4	17. Масса яиц	0,6-0,7
9. Многоплодие свиней	0,13	18. Скороспелость птицы	0,2-0,5

Повторяемость - степень соответствия между показателями продуктивности в одной и той же группе животных, но в разных условиях или в разном возрасте. Повторяемость определяют по коэффициенту корреляции величины признака у какой-либо группы животных в разные сезоны и годы. Коэффициент повторяемости можно использовать для прогноза продуктивности при отборе животных в раннем возрасте, для оценки генеральной разнообразности в стаде, группе; является верхним пределом коэффициента наследуемости, применяется в качестве меры ошибки опыта и с его помощью можно судить о надежном использовании поправочных коэффициентов на возраст, кормление.

Зависимость генетических параметров от внешних факторов и уровня селекции

Генетические параметры селекции - это математически обоснованные селекционные показатели, которые определяют и уточняют генетическую ценность отбора животных и признаков, по которым он ведется.

У человека в ходе исторического развития выработался высокий уровень адаптации к окружающей среде благодаря тому, что гены определяют не только конечный признак, но и пределы вариации признаков в зависимости от определенных факторов внешней среды. Этим достигается не только меньшая зависимость от окружающей среды, но усложняется строение генетического аппарата и контроль развития признаков.

К генетическим параметрам селекции животных относятся: **изменчивость, наследуемость, повторяемость, корреляция признаков, регрессия, препотентность** и некоторые другие показатели наследования.

В настоящее время разрабатываются программы селекции животных на основе положений популяционной генетики и с использованием иммуногенетических методов. Изучение изменчивости, наследуемости, возрастной устойчивости, основных хозяйственно полезных признаков и их взаимосвязи применительно к конкретному стаду, породе позволяет выбрать такие приемы отбора и подбора, которые обеспечат повышение продуктивности животных с каждым поколением.

Использование иммунологических, биохимических маркеров в селекции

В настоящее время в селекции животных широко используются иммуногенетические критерии для установления достоверности происхождения животных, характеристики линий, пород, популяций, повышения естественной резистентности организма и определения силы иммунологических реакций, детерминации ряда хозяйственно-полезных признаков.

Частоту встречаемых отдельных антигенных факторов используют для выявления генофонда популяций, более глубокие вопросы селекции связывают с изучением аллелей групп крови. Часто встречаемые аллели групповых факторов крови характеризуют более высокие показатели функциональной деятельности организма, так как искусственный отбор способствует насыщению популяции животными с повышенной адаптационной возможностью. В некоторых работах на сельскохозяйственных животных и птицах показано превосходство гетерозиготных особей над гомозиготными, эти работы проведены в конкретных стадах с изучением влияния отдельных аллелей на продуктивные признаки, жизнеспособность, устойчивость животных к некоторым заболеваниям.

Полиморфизм генетико-биохимических систем у разных видов сельскохозяйственных животных используется для характеристики изменчивости в пределах вида на основе уровня средней гетерозиготности на локус и доли полиморфных локусов, а для сравнения генетических структур различных групп животных – значениями генетических дистанций (Глазко В.И., 1996). Согласно опубликованным материалам наименьшее значение уровня средней гетерозиготности наблюдается у видов, которые представлены малой численностью пород (козы $n=20$, гетерозиготность на локус – 0,001-0,05) и наоборот, виды животных с большим количеством пород имеют и наибольшие показатели гетерозиготности (крупный рогатый скот, $n=1100$; 0,069-0,260; свиньи – $n=203$; 0,028-0,066; лошади – $n=400$; 0,030-0,160). Чем больше пород у вида, тем чаще встречаются высокие показатели величины генетических дистанций (по М. Нею, 1972).

Исследования активности АС АЛТ, щелочной фосфатазы, ЛДГ, γ -ГТ сыворотки крови черно-пестрого скота показали генотипическую возрастную изменчивость ферментов, выявлены корреляционные зависимости отдельных из них с уровнем молочной продуктивности.

На овцах доказана зависимость между лактатдегидрогеназой, фосфолипидами, интенсивностью эндогенного дыхания кожи с настригами шерсти.

Определение происхождения животных, генетического родства пород

Для изучения происхождения животных существуют следующие методы: археологический, анатомо-физиологический, этнографический, цитогенетический и др. Без археологических исследований трудно было бы установить очаги доместикации; ценным материалом служат раскопки древних поселений, рисунки на скалах, в пещерах. Анатомы изучают кости, зубы, черепа животных, устанавливают динамику изменений их при доместикации. Изучение народных сказаний, литературных источников, общих для некоторых народов названий видов животных позволяет проследить процесс доместикации и передвижения человека и животных по земле. Изучая геном шакала, койота и собаки, генетики пришли к выводу, что все они произошли от волка.

Порода – созданная человеком достаточно многочисленная группа животных одного вида, характеризующая общность происхождения основных хозяйственных полезных признаков, а также морфологических и физиологических особенностей животных, которые с определенной степени устойчивости передаются потомству. Свойства породы: - общее происхождение, - сходство животных, - изменчивость, - способность животных передавать эти показатели по наследству, - животные должны быть полезными для человека.

Структура породы:

1. Отродье (зональный тип) – часть породы обладающая наряду с общими для породами свойствами и некоторыми специфическими особенностями в направлении продуктивности, характере, телосложении, конституциями, отличающаяся лучшей приспособленностью к условию разведения и устойчивости заболеваниям и неблагоприятным факторам среды.

2. Заводской тип – объединяет животных обладающих особенностями телосложения и продуктивности характерными только для данного племенного завода и его племенных хозяйств.
3. Линия – группа животных, происходящих от выдающегося родоначальника линии, и в следствии направленной селекции поддерживающее с ним сходство по важнейшим хозяйственно – полезным признакам. Во главе линии стоит как правило очень ценное в племенном продуктивном отношении животное. Количество линий в заводской породе не менее 15.
4. Семейство – группа животных состоящая из нескольких поколений женского потомства, лучших по племенным и продуктивным качествам маток родоначальниц. Распространено в свиноводстве.

Поиски коррелятивных связей интерьерных показателей крови с продуктивностью

В последние годы широкое развитие в зоотехнии получило учение об интерьере сельскохозяйственных животных. Интерьером называется совокупность внутренних, физиологических, анатомических и биохимических свойств в организме в связи с его конституцией и направлением продуктивности. Изучение интерьера дает возможность познать внутреннюю структуру организма, установить соотносительное развитие в нем различных органов, тканей и систем, физиологические и биохимические свойства организма, его конституциональные особенности, формообразовательные процессы в онтогенезе, выявить факторы, воздействующие на них. Для изучения интерьера используют различные методы: морфологический, гистологический, физиологический, биохимический, цитогенетический, рентгеноскопический и др. В качестве объектов интерьерных исследований ученые используют кровь животных и ее иммунобиологические свойства, молочные железы, потовые и сальные железы кожи, внутренние органы, костяк и др.

Важнейшим объектом интерьерных исследований является кровь. Она связывает все ткани и органы, перенося питательные вещества и кислород. Без нее невозможен обмен веществ. Основные показатели, по которым ведется изучение свойств крови: общее ее количество, состав эритроцитов и лейкоцитов, содержание гемоглобина, белка и его фракций, резервная щелочность, содержание сахара, молочной кислоты, ферментов и др. В теле животных разных видов количество крови неодинаково: так, в организме лошади ее содержится 9,8% общей живой массы, коровы - 8,0, овцы - 8,1, свиньи - 4,6, кролика - 5,45 и в теле курицы - 8,5%. Соотношение общей массы крови и массы тела с возрастом почти не изменяется. Состав крови, содержание в ней форменных элементов с возрастом животных изменяется. В крови новорожденных животных число эритроцитов и содержание гемоглобина наибольшее, что является одной из важнейших приспособительных реакций организма к внутриутробной жизни. С возрастом содержание гемоглобина и эритроцитов уменьшается. На состав крови оказывает влияние пол животного, условия кормления и содержания, физиологическое состояние (беременность, период лактации) и ряд других факторов. У мясных пород крупного рогатого скота количество эритроцитов в 1 мл крови колеблется от 8780 до тыс., у молочных пород - от 5280 до 6910 тыс.

Лабораторная работа №4

Возможности использования методов генетической инженерии в животноводстве. Регуляция пола у животных. Использование методов трансплантации и клонирования зигот в племенном животноводстве. Замораживание спермы, яйцеклеток и зигот, как способ сохранения генофонда исчезающих пород и видов животных.

Применительно к животноводству генная инженерия позволяет изменять свойства организмов:

- повышать продуктивность;
- повышать сопротивляемость болезням;
- увеличивать скорость роста;
- улучшать качество продукции;
- создавать животных, которые являются биореакторами, продуцентами ценных биологически активных веществ.

Животное, несущее рекомбинантный ген, называется трансгенным; ген, интегрированный в геном реципиента, называется *трансгеном*; продукт этого гена — трансгенным. Селекция позволяет закрепить новый ген в потомстве и создать трансгенные линии.

Этапы получения трансгенного животного методом микроинъекции новой ДНК в эмбрион:

- приготовление раствора ДНК для инъекции;
- извлечение эмбрионов из донорных организмов;
- пересадка инъецированных эмбрионов в яйцеводы или после культивирования — в матку реципиентов.

У родившихся потомков исследуют экспрессию трансгена и затем традиционными методами разведения животных получают трансгенное потомство (линии).

Эффективность методики в целом зависит от успеха приготовления раствора ДНК для инъекции (чистота, концентрация).

Обычно гены транспортируют на самых ранних стадиях развития животного.

Для микроинъекции ДНК в эмбрион используют специальные пипетки с внутренним диаметром 1 мкм.

Инъецированные эмбрионы переносят в яйцеводы хирургическим путем, каждому реципиенту по 20—30 зигот в один яйцевод или отдельно в каждый. Доказательства интеграции и экспрессии ДНК получают анализом ядросодержащих клеток тканей либо внутренних жидкостей реципиента на качество и количество экзогенных белков.

Трансген не передается потомству по законам Менделя с частотой 50 %. После инъекций новые линии животных, содержащие трансгенные клетки, появляются в виде «мозаики».

Продуктивность и скорость роста животных

Увеличения продуктивности и скорости роста удалось достигнуть с помощью применения гормона роста микробного происхождения. Он оказывает стимулирующее действие на лактацию и рост животного. Этот гормон применяют в виде инъекций. При ежедневной инъекции молодняку КРС удалось увеличить суточные привесы на 20—30 % при значительном сокращении расхода кормов и росте содержания белка в тканях. У свиней менее значительный эффект наблюдался при одновременном кормлении модифицированным кормом с повышенным содержанием белка. У овец применение гормона не вызвало увеличение привеса, хотя привело к снижению содержания жира.

В данном направлении животноводства (повышение продуктивности) сейчас рассматривается возможность уменьшения содержания лактозы в молоке путем создания животных, у которых в молочной железе присутствует ген, катализирующий распад лактозы. Это позволит получать

натуральное молоко с пониженным содержанием лактозы для людей, не переносящих молочный сахар.

Известны способы регуляции пола животных, например, с помощью идентификации пола и избирательной трансплантации зародышей, воздействия на организм самок физиологически активными препаратами

Кроме того, существуют способы регуляции пола, основанные на влиянии естественных факторов на организм, в частности, создании определенных условий питания самцов и самок

К недостаткам указанных способов относятся - высокая стоимость; - необходимость использования сложной техники и оборудования; - сложность молекулярно-генетических методов; - незначительные отклонения соотношения полов в потомстве от генетически обусловленного (1:1); - необходимость создания определенных условий кормления и содержания животных.

Известен также способ регуляции пола животных с помощью иммунизации самок тканевыми гомогенатами самца, основанный на подавлении в организме самок живых клеток, дающих начало мужским особям, путем обработки их антисывороткой против тканей самца

Недостатками этого метода являются - возможность смещения соотношения полов в потомстве только в сторону увеличения количества самок; - большие материальные затраты на приготовление и введение препарата; - необходимость подкожного введения препарата, что увеличивает трудоемкость процедуры и требует привлечения дополнительных ветеринарных специалистов; - возможность возникновения стрессовых и аллергических реакций у животных.

Одним из методов направленного эмбриогенеза с.-х. животных является трансплантация яйцеклеток и зигот. В последние годы с развитием техники замораживания и хранения эмбрионов во многих странах стала широко практиковаться и пересадка зародышей с.-х. животных.

Одним из перспективных методов направленного развития признаков высокой молочности у молочного скота является получение оплодотворенных яйцеклеток от высокоценных в племенном отношении коров-рекордисток. Основа метода — это комплекс эндокринологических приемов, называемых суперовуляцией, благодаря которым удается получить от одного донора повышенный выход 'полноценных зародышей. Предполагается, что коровы-рекордистки будут использоваться в качестве доноров оплодотворенных яйцеклеток. Специалисты полагают, что от коровы через каждый 21 день можно получать без ущерба для ее здоровья 12 и более яйцеклеток и тем самым увеличить количество ее потомков. Вместо осеменения спермой быков коровам посредственной продуктивности будут пересаживать оплодотворенные яйцеклетки коров-рекордисток. Тысячи подобных опытов в ряде стран завершились. В настоящее время в США и Канаде получено более 70 тыс. телят методом трансплантации. Некоторые фирмы начали экспорт зародышей в другие страны.

Яйцеклетки пересаживают с помощью хирургического вмешательства. Метод состоит из двух этапов: а) суперовуляции яйцеклеток у доноров (коров), т. е. получение у рекордисток в нужный момент 10—12 яйцеклеток; б) введения яйцеклеток реципиентам. В связи с этим важным моментом является синхронизация охоты у животных доноров и реципиентов.

Второй метод - нехирургической пересадки яйцеклеток. Незрелые яйцеклетки извлекают из яичника донора, культивируют их до стадии созревания; созревшие яйцеклетки оплодотворяют и культивируют *in vitro* в течение 3 - 4 дней (работы Д. Зойделя).

Биотехнический метод как прием направленного формообразования в эмбриональный период развития организма в научном отношении дает возможность исследовать особенности ранних

стадий эмбриогенеза, определить влияние материнского организма на плод, причины яловости и смертности плодов, изучить влияние различных мутагенных факторов на яйцеклетки и создать методы трансплантации ядер соматических клеток в яйцеклетки и развития последних. В практическом отношении этот метод важен для направленного выращивания высокопродуктивных животных высокоинтенсивного типа для промышленной технологии.

При широком проведении работ с трансплантацией зигот для разрешения проблем практической селекции большое значение имеет изучение генотипа животных-трансплантантов. В литературе по этому вопросу нет единого мнения. Одни исследователи (А. Д. Курбатов, 1951; А. И. Лопырин и др., 1950) находят, что организм реципиента оказывает существенное влияние на трансплантатов, расшатывая их наследственность. Другие авторы (Ф. М. Мухамедгалиев, 1971; Дикинсон, 1962) являются сторонниками противоположной точки зрения. В связи с этим большой интерес в изучении этой сложной научной проблемы имеют исследования, проведенные на овцах в 1970—1976 гг. Ф. М. Мухамедгалиевым и другими. Было установлено, что организм реципиентов (грубошерстных овец) не оказал существенного генетического влияния на организм ягнят-трансплантантов асканийской тонкорунной породы. Как выяснилось, овцы во всех вариантах опытов одинаково наследовали признаки генетических родителей. Не умаляя значения этих исследований и вывода из них, следует, однако, заметить, что взаимоотношения материнского организма (реципиента) и развивающейся в его утробе чужеродной зиготы-трансплантанта весьма сложные и полностью еще не выяснены. Эта проблема ждет своего разрешения. Очевидно, однозначный ответ на этот вопрос вряд ли будет верным. Нужны комплексные глубокие исследования.

Трансплантация зигот и эмбрионов решает ряд важных научно-практических задач: улучшение генотипа животных, копирование животных с известной продуктивностью и др.

В ближайшем будущем с помощью генной инженерии будут решаться более сложные цитогенетические проблемы.

Выделение генов, их синтез, интеграция чужого гена с клеткой-реципиентом в ближайшем будущем станет элементом работы по молекулярной реконструкции организма.

Регулирование функции воспроизводства животных. Промышленная технология на животноводческих комплексах требует определенной ритмичности и регулирования функции воспроизводства у животных. В настоящее время разработаны методы синхронизации охоты у телок, коров и свиней и их оплодотворения. Опыты на свиньях показали, что наибольший эффект получается при инъекции сыворотки жеребых кобыл с соотношением общей гонадотропной активности к лютеинизирующей 4:1 в день отъема поросят или на фоне обработки маток оксипрогестероном. Такой метод вызвал синхронизацию охоты у 100% (30 голов) животных опытной группы при 75% -ной оплодотворяемости по сравнению с 69% -ной в контроле.

У ремонтных свинок наиболее эффективно в синхронизации эструса и повышении оплодотворяемости комплексное применение оймакса, ацетат-мегестрола и СЖК. У коров, по данным Ю. Д. Клинского (1977), наилучшее действие для синхронизации охоты оказывает ацетат-мегестрол, у свиней и овец, по данным Латвийского НИИ животноводства - мепрегенол-диацетат.

Лабораторная работ №5

Основы геномной оценки Геномная селекция – метод современной селекции животных. Повышение точности геномных племенных оценок путем объединения референсных популяций.

Международный проект «Геном человека». Содержание, организация и реализация геномной информации. Создание референтных групп животных. Оценка племенной ценности с использованием методов геномного сканирования (genomic breeding values – GEBV). SNP-маркеры – основа геномной селекции. Предсказание генотипов отсутствующих SNP на основе чипов с более низкой плотностью маркеров. Предсказание генотипов у негенотипированных животных по генотипам родственников.

Основы геномной оценки Геномная селекция – метод современной селекции животных.

Геномная селекция — технология, позволяющая улучшить генофонд популяций сельскохозяйственных животных, используя информацию о ДНК-маркерах, ассоциированных с проявлением экономически важных признаков. Наиболее актуально ее применение в скотоводстве, в котором по сравнению с другими отраслями в силу более продолжительного интервала между поколениями и низкого многоплодия классический метод селекции является менее эффективным.

При применении геномной селекции для оценки племенной ценности основной отсев животных проводится в раннем возрасте. Поэтому доля выбракованных взрослых животных сокращается в разы, что существенно повышает эффективность экономики производства племенной продукции в сравнении с традиционными методами отбора.

Впервые оценка племенной ценности на основе геномного анализа была официально признана в США в 2009 году. Тогда же ее признали в Канаде, Дании, Швеции, Финляндии, Франции, Германии, Голландии и Австралии. В Австрии и Италии геномную селекцию стали использовать с 2011 года, в Испании и Польше — с 2012-го. Применение данной технологии позволяет этим странам экономить значительные ресурсы на содержании племенного поголовья за счет возможности определить их племенную ценность в раннем возрасте, ускоряет развитие местного животноводства, позволяя сохранять лидерство в производстве племенного материала, и дает конкурентные преимущества на мировом рынке.

Международный проект «Геном человека».

Проект «Геном человека» (англ. The Human Genome Project, HGP) — завершённый международный научно-исследовательский проект, главной целью которого было определение пар оснований, которые составляют ДНК человека, а также выявление, картирование и секвенирование всех генов человеческого генома как с физической, так и с функциональной точки зрения. Этот проект остается крупнейшим международным биологическим проектом, когда-либо проводившимся в биологии. К 2003 году было секвенировано лишь 85 % генома человека, проект был завершён в 2022 году, когда было достигнуто полное секвенирование генома человека.

Проект начался в 1990 году под руководством Джеймса Уотсона под эгидой Национальной организации здравоохранения США. В 2000 году был выпущен рабочий черновик структуры генома, полный геном — в 2003 году, однако и сегодня дополнительный анализ некоторых участков ещё не закончен. Частной компанией Celera Corporation был запущен аналогичный параллельный проект, завершённый несколько ранее международного. Основным объём секвенирования был выполнен в двадцати университетах и исследовательских центрах США, Великобритании, Японии, Франции, Германии и Китая¹ Кроме очевидной фундаментальной значимости, определение структуры человеческих генов является важным шагом для разработки новых медикаментов и развития других аспектов здравоохранения.

Хотя целью проекта по расшифровке генома человека являлось понимание строения генома человеческого вида, проект также фокусировался и на нескольких других организмах, среди которых - бактерии, в частности, *Escherichia coli*, насекомые, такие, как мушка дрозофила, и млекопитающие, например, мышь.

Изначально планировалось определение последовательности более трёх миллиардов нуклеотидов, содержащихся в гаплоидном человеческом геноме. «Геном» любого человека уникален; картирование «генома человека» включало секвенирование небольшого числа людей, а затем сборку для получения полной последовательности для каждой хромосомы. Поэтому готовый «геном человека» представляет собой мозаику, не представляющую ни одного индивидуума. Полезность проекта заключается в том, что подавляющая часть человеческого генома одинакова у всех людей.

Геном любого отдельно взятого организма (исключая однояйцевых близнецов и клонированных животных) уникален, поэтому определение последовательности человеческого генома в принципе должно включать в себя и секвенирование многочисленных вариаций каждого гена. Однако, в задачи проекта «Геном человека» не входило определение последовательности всей ДНК, находящейся в человеческих клетках: некоторые гетерохроматиновые области (в общей сложности около 8 %) оставались не секвенированными. Лишь в апреле 2022 года было сообщено, что международная команда исследователей секвенировала последние 8 % генома человека

Проект стал кульминацией нескольких лет работы, поддержанной министерством энергетики США, в частности, семинаров, проводившихся в 1984 и 1986 годах, и последовавшими действиями министерства энергетики. Отчёт 1987 года указывает: «Окончательной целью данного начинания является понимание человеческого генома» и «знание человеческого генома так же необходимо для прогресса медицины и других наук о здоровье, как знание анатомии было необходимо для достижения её нынешнего состояния». Поиски технологий, подходящих для решения предложенной задачи, начинались ещё во второй половине 1980-х годов.

Начиная с 1988 года главой Национального центра исследований человеческого генома в Национальной организации здравоохранения США (NIH) был Джеймс Уотсон. В 1992 году его вынудили уйти в отставку, в основном из-за несогласия с позицией его руководителя, Бернадины Хили (англ.) по вопросам патентования генов (англ.). В апреле 1993 его заменил Френсис Коллинз, а в 1997 году название центра было изменено на Национальный институт исследований человеческого генома (англ.) (NHGRI).

Трёхмиллиардный проект был формально запущен в 1990 году министерством энергетики США и Национальным институтом здравоохранения, и ожидалось, что он продлится 15 лет. Помимо США, в международный консорциум вошли генетики Китая, Франции, Германии, Японии и Великобритании.

В силу широкой международной кооперации и новых достижений в области геномики (особенно в секвенировании), а также значительных достижений в вычислительной технике «черновик» генома был закончен в 2000 году (о чём было объявлено совместно президентом США Биллом Клинтон и британским премьер-министром Тони Блэром 26 июня 2000 года). Продолжение секвенирования привело к объявлению в апреле 2003 года о почти полном завершении работы, на два года раньше, чем планировалось. В мае 2006 года была пройдена другая веха на пути к завершению проекта, когда в журнале «Nature» была опубликована последовательность последней хромосомы — хромосомы 1.

Содержание, организация и реализация геномной информации.

Международная организация по изучению генома человека (англ. *The Human Genome Organisation, HUGO*) — организация, созданная в рамках проекта «Геном человека». HUGO была создана в 1989 году в качестве международной организации, прежде всего для стимулирования сотрудничества между генетиками во всем мире. С момента образования в HUGO вошли 220 учёных из разных стран, в том числе пять советских биологов.

С самого начала работ по геномному проекту была выработана договорённость об открытости и доступности всей получаемой информации для его участников независимо от их вклада и государственной принадлежности. Все 23 хромосомы человека были поделены между странами-участницами. Советские учёные должны были исследовать структуру 3-й и 19-й хромосом. Однако, в связи с политической обстановкой в СССР и последующем его распадом финансирование этих работ было урезано, и реального участия всеквенирования отечественные учёные не принимали^[1]. Программа геномных исследований в России была полностью перестроена и сконцентрирована на новой области — биоинформатике, занимающейся анализом и осмыслением уже полученных результатов.

На сегодняшний день целями исследований HUGO являются:

- Исследование природы, структуры, функций и взаимодействий генов, геномных элементов и генома человека, а также установление взаимосвязи между генами и соответствующими заболеваниями;
- Изучение природы, распределения и эволюцию генетических вариаций в организме человека и в других организмах;
- Установление взаимосвязи между генетическими изменениями и окружающей средой, изучение генетических особенностей различных народов и разработка методов диагностики, лечения и профилактики генетических заболеваний;

Развитие сотрудничества, распространение информации и координация деятельности в областях протеомики, биоинформатики, моделирования биологических систем, а также в области медицинских

Лабораторная работа № 6

Использование геномных данных в селекции птицы. Регистрация фенотипической и молекулярной эволюции. Макро- и микрохромосомы в геномной оценке. Точность прогноза в геномной селекции. Импутация. Геномная оценка куриц и петухов. Геномная селекция в свиноводстве. Изучение генома свиней с использованием ДНКмаркеров. Геномная селекция в овцеводстве, коневодстве и других отраслях животноводства. Прогресс ДНК-технологий в коневодстве.

Использование геномных данных в селекции птицы.

Новые технологии определения последовательности нуклеотидов ДНК привели к открытию сотен тысяч мононуклеотидных полиморфных маркеров, некоторые из которых связаны с племенными качествами животных. Разработанный на основе этих достижений, геномный отбор произвел революционный сдвиг в птицеводстве. Разработанная система молекулярных маркеров предоставляет уникальную возможность значительно повысить точность оценки селекционной ценности для управления генетической изменчивостью, сокращения интервала между поколениями и ускорения генетического прогресса. Геномное разведение в птицеводстве имеет ряд отличий от аналогичных технологий, используемых в сельскохозяйственных видах млекопитающих. Существование двух категорий хромосом (макро- и микрохромосом) с разной скоростью рекомбинации, предпочтительная оценка геномных самок, быстрая смена поколений вносят свои особенности. Технология быстро внедряется в различные отрасли птицеводства, включая производство бройлеров, и используется крупными птицеводческими компаниями. Отдельные этапы геномного отбора нуждаются в совершенствовании, и непрерывное совершенствование технологии может быть достигнуто путем ее использования в практических и научных целях. Совершенствованию отдельных этапов отбора генома поможет совершенствование регистрации и математической обработки фенотипической и молекулярной базы данных, внедрение и оценки неравновесия сцепления.

Регистрация фенотипической и молекулярной эволюции.

Для более полного понимания генетических механизмов важно идентифицировать геномные регионы, приводящие к фенотипической дифференциации в процессе селекции птиц. Общедоступными чипами для кур являются чипы средней плотности (SNP60K) или более низкой плотности (Groenen et al., 2011) производства Illumina (США) и чип высокой плотности типа SNP600K (Kranis et al., 2013) производства Affymetrix (США). С использованием чипа SNP60K были просканированы геномы двух линий кур, у которых в процессе 50 поколений отбора получена 9-кратная разница по массе тела (Johansson et al., 2010). Анализ свыше 50000 SNP показал, что в результате селекции в линиях фиксированы альтернативные аллели в более чем 50 регионах генома. Обнаружено также 10 регионов фиксации дифференциации 3-го, 5-го и 10-го поколений. Многие регионы по всему геному показали значительные различия в частоте аллелей между линиями, например, на хромосоме 1 найден регион, связанный с размером грудной мышцы, на хромосоме 3 – с ростом и жировым обменом, на хромосоме 4, в разных районах, – со скоростью роста и живой массой. Это указывает на эволюцию фенотипических признаков в линиях в процессе 50 поколений в результате эксплуатации устоявшейся генетической изменчивости. Различия по частоте аллелей свидетельствуют об интенсивности селекции. К сожалению, результаты анализов пока не обеспечивают доказательств участия конкретных генетических полиморфизмов в фенотипической экспрессии, т. е. имеется мало объяснений проникновений в суть потенциальных генетических механизмов, действующих либо на уровне единичных генов, либо через взаимодействие конкретных генных сетей. Ясно, что эволюция является тем процессом, с помощью которого популяции генетически адаптировались в ответ на селекцию. Поэтому понимание генетических механизмов, приводящих к фенотипической дифференциации, требует идентификации областей в геноме, которые находились под давлением отбора. При помощи SNP60K-чипов проведено сравнение влияния GS и традиционной селекции согласно методологии BLUP (Best Linear Unbiased Prediction – наилучший линейный несмещенный прогноз) в трех различных яичных линиях кур (Heidaritabar et al., 2014). Средние изменения частоты аллелей были больше с GS (0.056, 0.064 и 0.066) по сравнению с BLUP (0.044, 0.045 и 0.036) для линий B1, B2 и W1 соответственно. В трех линиях, на которых использовался BLUP, было выделено 35 регионов, находящихся под селекционным давлением, тогда как при использовании GS было выявлено 70 подобных регионов. Оценено изменение частот аллелей по всему геному в популяциях, которые прошли селекцию в течение двух поколений на основе разных методов – племенной BLUP EBV и геномной EBV (GEBV). Пороги изменения частот аллелей значительно различались при GS (0.167–0.198) и BLUP (0.105–0.126). Эти результаты показывают, что в равных условиях при GS степень давления отбора гораздо выше, чем при использовании BLUP. Благодаря использованию молекулярно-генетических инструментов, в формировании количественных признаков появилось больше ясности, и, следовательно, молекулярные маркеры помогут предсказать генетическую ценность птицы более точно (Dekkers, 2004) и увеличить генетический прогресс. После разработки сравнительно недорогих и надежных методик генотипирования, особенно нового поколения (Pérille et al., 2016), такой подход стал возможен в практической селекции (Wang et al., 2009). Направленный отбор оказывает влияние на гетерозиготность популяции. Большинство методов геномного анализа, разработанных для оценки аллельного разнообразия, основаны на расчете частот определенных аллелей (Elferink et al., 2012), а также на неравновесии по сцеплению (Ennis, 2007). Уже ранние исследования показали, что частоты желательных аллелей, а также аллели в соседних регионах возрастают с течением времени, когда популяция подвергается отбору (Smith, Haigh, 1974). Этот процесс может увеличить возможность достоверного выявления связи SNP-маркера с количественным признаком. Обнаружение таких связей в нескольких поколениях и в референтной популяции дает возможность вычислять прогноз относительно племенной ценности родителей и будущих потомков. Геномные исследования полезны для изучения закономерностей изменения ДНК в свете генетической основы формирования фенотипических признаков. К настоящему времени имеется много сообщений об ассоциации между генотипами и фенотипами у кур. Наблюдалась связь некоторых SNP разных пород с такими признаками, как вес тела (Sharma et al., 2008; Bai et

al., 2012), ранняя и поздняя смертность (Livant et al., 2007), межмышечное отложение жира (Zhang et al., 2012), масса брюшного жира и толщина подкожного жира (Liu et al., 2006), частота заболеваний (Ewald et al., 2011).

Макро- и микрохромосомы в геномной оценке

Известно, что у большинства видов птиц геном представлен макро- и микрохромосомами. У курицы пять первых макрохромосом (GGA 1–5) варьируют в размерах от 50 до 200 Mb, пять промежуточных хромосом (GGA 6–10) – в диапазоне от 20 до 40 Mb, в 28 микрохромосомах (GGA 11–38) объем в среднем составляет ~12 Mb и в самых маленьких – ~5 Mb и менее (Rao et al., 2011). В микрохромосомах имеется более высокое содержание GC-пар. Межгенные расстояния (включая размер интронов) на микрохромосомах меньше, что приводит к значительно более высокой плотности генов по сравнению с макрохромосомами. Расстояние между точками рекомбинации в микрохромосомах 50–100 kb/cM, что значительно меньше по сравнению с макрохромосомами (~300 kb/cM). Отсюда LD не может быть одинаковым по всему геному.

Точность прогноза в геномной селекции

Исследование вклада генных (кодирующих) и негенных (некодирующих) регионов в обнаружении связей с фенотипическими проявлениями представляет большой интерес для использования в геномной селекции. До недавнего времени изучение геномных ассоциаций было сосредоточено на кодирующих генах, о чем свидетельствует появление секвенирования экзонов с разработкой специальных компьютерных программ (Cosart et al., 2014). Следует отметить, что генотипирование экзонов – менее дорогостоящий процесс, чем секвенирование всего генома. В исследованиях (Abdollahi-Arpanahi et al., 2016) было проведено генотипирование чипами SNP600K Affymetrix и поиском ассоциации с рядом фенотипических признаков бройлеров. Последующий анализ шести геномных областей (межгенных, интронов, миссенс-районов, синонимичных кодонов, 5'- и 3'-нетранслируемых областей и регионов, которые расположены в 5 kb вверх и вниз от кодирующих генов) показал, что все геномные области имеют важное значение для оценки целевых признаков, а такой подход к изучению всего генома является лучшим инструментом для прогнозирования количественных признаков. Конечно, класс синонимичных последовательностей, как правило, имеет наибольший вклад. Вне зависимости от изучаемого признака вклад геномной дисперсии доминирования к общей генетической изменчивости был незначительным, как и вклад каждого из геномных регионов к дисперсии доминирования. Тем не менее в общей сложности вклад доминантной дисперсии в общую генетическую изменчивость был гораздо ниже по сравнению с аддитивной дисперсией (Abdollahi-Arpanahi et al., 2016). Самая низкая прогностическая способность была получена для класса миссенс геномных областей. Как известно, миссенс-мутация приводит к изменению кодона. С другой стороны, класс аннотированных синонимичных областей включает SNP, для которых замена одного основания на другой в кодирующей области не модифицирует аминокислоту. В целом имеющиеся результаты исследований свидетельствуют о том, что варианты некодирующих нуклеотидных последовательностей в геноме также очень важны для прогноза племенной ценности, и внимание не должно быть ограничено вариантами в пределах только белок-кодирующих областей. Вклад в прогноз класса межгенных регионов для признаков бройлеров был подтвержден в ряде работ. К тому же увеличение размера выборки может повысить мощность прогноза степени проявления количественных признаков (Fan et al., 2013; Morota et al., 2014). Таким образом, все генные и негенные регионы вносят свой вклад в фенотипическую вариабельность. Данные Энциклопедии элементов ДНК (The ENCODE Project, 2012) показывают, что, учитывая многие транскрипционные факторы, метилирование ДНК, модификацию структуры хроматина и гистонов и другие регуляторные механизмы, можно считать, что около 80 % генома имеет биохимические функции. Тем не менее ДНК-последовательности в межгенных участках считаются «темной материей», или «темной материей транскриптов», так как их роль по-прежнему неоднозначна. Проведенные исследования показали, что 43 % регионов в геноме, которые обнаруживаются при GWAS, указывают на межгенную локализацию (за пределами промотора и расшифрованных областей) и 45 % – на интроны (Hindorff et al., 2009). В то же время миссенс-кодона и

промоторные области значительно обогащены признак-ассоциированными SNP, тогда как межгенных областей представлено значительно меньше (Kindt et al., 2013). С другой стороны, прогнозирование по анализу целого генома для предсказания генетической ценности индивидов основывается на эффекте всех расчетных вариантов одновременно. Так, выявлено, что генные регионы внесли существенный вклад в аддитивную генетическую изменчивость по сравнению с негенными регионами (Yang et al., 2011), так же как и классы миссенс и синонимичных геномных областей (Koufariotis et al., 2014). Миссенс-регионы неизменно характеризовались самой низкой воспроизводимостью, тогда как синонимичные регионы имели самую высокую воспроизводимую с точки зрения получения корреляций для прогноза (Do et al., 2015). Вероятно, вклад неаддитивной дисперсии к общей вариации незначителен, в то время как взаимодействие внутри и между локусами генома – широко распространенное явление. Мультилокусные взаимодействия вносят значительный вклад в аддитивную дисперсию и не приводят к значительному увеличению неаддитивной генетической дисперсии, но если уровень гетерозиготности высок при анализе множества локусов, то эпистатические локусы объясняют большую часть неаддитивной дисперсии, хотя эпистатические эффекты могут влиять и на аддитивную дисперсию. Как правило, предполагают, что чем больше количество животных в референтной популяции и чем выше наследуемость отдельного признака, тем выше точность предсказания племенной ценности. Так, определена точность прогнозирования в зависимости от числа поколений предков, включенных в референтную популяцию линий (Weng et al., 2016). При этом были использованы записи 16 фенотипических признаков. Уровень точности прогнозирования племенной ценности увеличивался с увеличением числа тесно связанных поколений предков. Оптимальное число референтных поколений составляло 4 или более для признаков с высоким коэффициентом наследуемости. В среднем точность была выше с моделью BayesB, чем с BLUP (анализ родословных). Анализ данных показал, что точность геномного прогнозирования и BLUP может быть под влиянием наследуемости признака, характера фиксированных эффектов и степени аддитивных генетических взаимоотношений между фенотипом особей и кандидатов для отбора. Таким образом, геномная точность прогнозирования зависит от плотности маркеров чипа (Meuwissen et al., 2001), числа животных в референтной популяции (Daetwyler et al., 2008; Hayes et al., 2009), размера и числа локусов количественных признаков, их уровня наследования (Daetwyler et al., 2010; Kizilkaya et al., 2010), а также от уровня неравновесия по сцеплению или связи между маркерами и локусами количественных признаков (Habier et al., 2010). Включение данных о животных из прошлых поколений способно увеличить объем референтных данных. В отличие от BLUP, геномный GBLUP-прогноз, учитывая высокий LD между маркерами и QTL далеких поколений, вносит свой вклад в точность прогнозирования (Habier et al., 2007).

Импутация.

Применение импутации значительно снижает затраты на генотипирование. Естественно, стоит вопрос о правомочности такой оценки и избежании ошибок. Проведенные исследования показали (Wang et al., 2013b), что геномный отбор может быть осуществлен путем генотипирования чипами с низкой плотностью маркеров и последующей импутацией с потерей точности менее чем на 6 %. Существует несколько программ, которые могут быть использованы для импутации генотипа, включая AlphaImpute (Hickey et al., 2011; Wang et al., 2013a) и Beagle (Browning B.L., Browning S.R., 2009). Средняя частота ошибок импутации генотипа для проверки особи определяется как среднее значение абсолютной разности наблюдаемых и импутируемых генотипов (Zhang, Druet, 2010). Как было упомянуто, более высокая плотность SNP означает более высокую стоимость генотипирования, которая остается ключевым сдерживающим фактором в реализации GS в программах разведения животных. Импутация геномной информации стала стандартной практикой в современных генетических исследованиях с целью увеличения охвата генома и повышения точности GS и GWAS. Даже с небольшим числом животных в контрольной популяции может быть достигнута разумная точность расчетных данных (Heidaritabar et al., 2015). Высокая плотность SNP-генотипирования массивов является важным инструментом обнаружения

генетических ассоциаций со сложными признаками и тонкой характеристикой локусов количественных признаков. В работе (Kranis et al., 2013) проведено генотипирование кур с помощью чипа 600K Affymetrix® Axiom® HD. По результатам секвенирования обнаружено около 196 млн предположительных SNP, из которых 1.8 млн были выбраны для генотипирования. Из них ~64 % SNP были полиморфными, со стабильным менделирующим наследованием. Окончательный массив включал 580954 SNP. Такое тонкое генотипирование будет полезным для GWAS, GS, картирования локусов количественных признаков, анализа генома для селекции и других геномных анализов. Важно, что при этих условиях можно осуществлять строгие критерии фильтрации, включающие частоту, локализацию в геноме и в структуре генов. При использовании таких методов имеется возможность более широкого охвата анализом микрохромосом.

Геномная оценка куриц и петухов

Для видов животных, таких как молочный скот, наибольшую выгоду получают от генотипирования производителей, в то время как коровы дают меньше потомства, а значит, их вклад в генетический прогресс ниже. В программах разведения цыплят-бройлеров петухи имеют меньше потомства по сравнению с быками, а курочки – гораздо больше, чем молочные коровы. Большинство производственных показателей у птиц регистрируется для обоих полов. Следовательно, в бройлерном птицеводстве более выгодно генотипирование обоих полов. Имеется информация о вкладе генотипов самцов и самок после обработки результатов генотипирования 15723 бройлеров (Lourenco et al., 2014; Liu et al., 2015). Геномные оценки проведены в трех вариантах выборок: 4648 петухов, 8100 куриц и 12748 голов обоих полов. Можно отметить, что в случае использования референтной популяции одного пола наибольшую выгоду для молодых особей генотипированного поголовья получает птица того же пола. В целом генотипирование самцов и самок улучшает прогнозы всех молодых генотипированных особей, независимо от пола. Важной проблемой остается регистрация ложных или неопределенного уровня ценности ассоциаций с количественными признаками SNP и локусов в процессе геномной оценки (Brzyski et al., 2017). В разрешении таких задач главное значение приобретает использование оригинальных комплексных статистических обработок (Hormozdiari et al., 2014; Peterson et al., 2016). Генетическую основу множественных фенотипов часто исследуют путем тестирования большой совокупности гипотез, проверяющих существование ассоциации между каждым из признаков и сотнями тысяч генотипированных вариантов. В интересах интерпретируемости результаты часто суммируют, чтобы отчетность фокусировалась на вариантах, обнаруженных для связи с некоторыми фенотипами. Применение процедур контроля ложных ассоциаций (false discovery rate – FDR) по всему набору гипотез не позволяет контролировать скорость ложного обнаружения ассоциированных вариантов, а также ожидаемое значение средней доли ложного обнаружения фенотипов, на которые такие варианты влияют. Предлагаемые иерархические процедуры тестирования, позволяющие контролировать частоты ошибок, обеспечивают более надежную основу для идентификации вариантов с фенотипическими эффектами (Peterson et al., 2016).

Лабораторная работа № 7

Предмет, методы и задачи дисциплины Генетика микроорганизмов. Генетический аппарат бактерий. Мутагенез. Типы хромосомных и генных мутаций.

Генетика микроорганизмов.

Генетика микроорганизмов представляет собой раздел общей генетики, предмет изучения которой — разнообразные микроорганизмы, такие как вирусы, бактерии и микроскопические грибы, а также особенности их наследственности и изменчивости.

Отличительная характеристика микроорганизмов — наличие гаплоидного набора хромосом или кольцевая молекула ДНК. За счет этого обеспечивается возможность мутаций уже в первом поколении потомков.

До определенного времени ученые полагали, что у микроорганизмов нет ядерного аппарата. Такое мнение бытовало приблизительно до 30-х 20 века. По этой причине не изучались и вопросы наследственности и изменчивости микроорганизмов.

Изобретение электронного микроскопа стало поворотной точкой в изучении микроорганизмов. А в целом появление этого инструмента позволило увидеть субмикроскопическую структуру клетки.

Начало 40-х годов связано с тем, что ученые-генетики обратили пристальное внимание на микроорганизмы. Полноценными объектами микроскопических исследований стали бактерии, вирусы и микроскопические грибы. Появляется даже целая отрасль микробиологии, которая получила название генетики микроорганизмов.

Генетический аппарат бактерий

Генетический аппарат бактерий представлен хромосомными (нуклеоид) и внехромосомными (плазмиды, инсерционные последовательности, транспозоны) структурами.

Нуклеоид:

- не имеет ядерной мембраны и не связан с гистонами;
- одна непарная суперспирализованная хромосома состоит из двунитевой молекулы ДНК (кольцевой или линейной) размером от 3×10^8 до $2,9 \times 10^9$ Д и содержит до 4600 генов;
- один конец бактериальной хромосомы связан с мезосомой;
- некоторые бактерии имеют сложные геномы, состоящие из двух или нескольких репликонов.

Структура ДНК и генетический код. Материальной основой наследственности, определяющей генетические свойства всех организмов, является ДНК. Исключение составляют только РНК-содержащие вирусы, у которых генетическая информация закодирована в РНК.

ДНК состоит из последовательности химически связанных нуклеотидов и имеет структуру правильной двойной спирали из закрученных одна вокруг другой двух полинуклеотидных цепей. Каждый нуклеотид состоит из азотистого основания, сахара дезоксирибозы и фосфатной группы. Азотистые основания представлены пуринами (аденин, гуанин) и пиримидинами (тимин, цитозин). ДНК содержит А, С, G, T; РНК — А, С, G, U.

Каждый нуклеотид обладает полярностью. У него имеются дезоксирибозный 3'-конец и фосфатный 5'-конец. Нуклеотиды соединяются в полинуклеотидную цепочку фосфодиэфирными связями между 5'-концом одного нуклеотида и 3'-концом другого. Соединение между двумя цепочками обеспечивается водородными связями комплементарных азотистых оснований: аденина с тимином, гуанина с цитозином. Нуклеотидные цепи антипараллельны: на каждом конце линейной молекулы ДНК расположены 5'-конец одной цепи и 3'-конец другой цепи. Последовательность нуклеотидов ДНК определяет последовательность аминокислотных остатков в молекуле белка.

Каждому белку соответствует свой ген — уникальная структурная единица наследственности. Ген — фрагмент полинуклеотидной цепи молекулы ДНК, отличающийся числом и специфичностью последовательности нуклеотидов и кодирующий синтез одного пептида. В ДНК содержатся структурные и регуляторные гены.

Структурные гены несут информацию о синтезируемых ферментах или структурных белках. Гены, ответственные за синтез вещества, обозначают строчными буквами латинского алфавита, соответствующими названию данного вещества со знаком «+» (his^+ — гистидиновый ген, leu^+ — лейциновый ген). Гены, контролирующие резистентность к лекарственным препаратам, фагам, обозначают буквой r ($resistent$ — резистентный). Напр., резистентность к стрептомицину записывается str^r , а чувствительность — str^s .

Регуляторные гены регулируют транскрипцию структурных генов.

Хромосома состоит из особых функциональных единиц — оперонов. Оперон — совокупность промотора, оператора и структурных генов — является функциональной генетической единицей, регулирующей экспрессию одного или группы генов.

Основные этапы развития генетической системы: кодон ◊ ген ◊ оперон ◊ геном вирусов и плазмид ◊ хромосома прокариот (нуклеоид) ◊ хромосомы эукариот (ядро).

Регуляция выражения генетической информации у бактерий. Бактериальная клетка способна запустить или прекратить синтез фермента в зависимости от присутствия соответствующего субстрата. Для этого бактериальные гены объединены в группы так, что все ферменты, необходимые для осуществления биосинтеза, детерминируются генами, сцепленными друг с другом. Вся группа генов может транскрибироваться в одну полицистронную мРНК, которая последовательно транслируется рибосомами с образованием каждого из белков.

Экспрессия генов у прокариот регулируется на уровне транскрипции. Роль сигнальных веществ для запуска транскрипции играют низкомолекулярные соединения, которые являются либо субстратом для фермента, либо продуктом ферментативной деятельности. Индукция и репрессия представляют собой разные стороны одного и того же явления. Малые молекулы, индуцирующие образование ферментов, способных метаболизировать их, называются индукторами. Те же, которые предотвращают образование ферментов, способных синтезировать их, — корепрессорами.

Молекулы-эффекторы не могут вступать в прямое взаимодействие с ДНК, посредником для них служит специальный регуляторный белок. Регуляторный белок, который связывается с ДНК в отсутствие индуктора, называется репрессором.

За синтез регуляторных белков ответственны регуляторные гены. В присутствии белка-репрессора транскрипция блокирована; его удаление обуславливает доступ РНК-полимеразы к генам и запуск транскрипции. Прекращение синтеза фермента при помощи белка-репрессора получило название репрессии. Репрессия позволяет бактериальной клетке избежать перевода своих ресурсов на ненужную в данный момент синтетическую активность. Если индуктор присутствует в клетке в высокой концентрации, то в результате специфического присоединения к регуляторному белку он изменяет его конформацию и способность связываться с ДНК.

Контроль транскрипции достигается взаимодействием регуляторного белка с регуляторным сайтом (оператором), который расположен между структурными генами и промотором (участком, распознаваемым ДНК-зависимой РНК-полимеразой). Промотор служит местом связывания РНК-полимеразы, и от него начинается транскрипция.

Ген имеет три фундаментальные функции.

Непрерывность наследственности — обеспечивается полуконсервативным механизмом репликации ДНК: каждая из двух цепочек ДНК хромосомы или плазмиды служит матрицей для синтеза комплементарной дочерней цепочки ДНК.

Репликация начинается с расплетения двунитевой структуры ДНК ферментом ДНК-гидролазой. При этом формируются две репликативные вилки, которые двигаются в противоположных направлениях, пока не встретятся. Формирование новой дочерней цепи осуществляется ферментом ДНК-полимеразой, присоединяющей комплементарные матрице нуклеотиды к свободному 3'-концу растущей цепочки. Для осуществления реакции полимеризации нуклеотидов на матрице родительской цепочки ДНК-полимеразе требуется затравка, которая называется праймером (англ. primer - запал). Праймер — короткая нуклеотидная цепочка, комплементарная матричной цепочке со свободным 3'-концом.

Две цепи двойной спирали ДНК комплементарны друг другу. На каждой цепи из структурных элементов ДНК (дезоксирибонуклеозидтри фосфатов) синтезируется новая цепь. При этом с каждым из оснований спаривается комплементарное ему основание, так что каждая из двух новых цепей будет комплементарна родительской цепи. Обе новые двойные цепи состоят из одной родительской и одной вновь синтезированной цепи. Такая точная репликация ДНК гарантирует сохранение генетической информации. ДНК бактерий, будучи носителем наследственной информации, сама не служит матрицей для синтеза полипептидов. Биосинтез белков происходит на рибосомах, которые непосредственно с ДНК не соприкасаются. Передачу записанной в ДНК информации к местам синтеза белка осуществляет одноцепочечная мРНК. По последовательности оснований цепь мРНК комплементарна цепи ДНК и отличается от цепи ДНК тем, что тимин в РНК заменен урацилом.

Транскрипция — синтез мРНК на одной из цепей ДНК, начиная с 5'-конца; механизм этого процесса сходен с механизмом репликации ДНК.

Трансляция — перевод нуклеотидной последовательности мРНК в последовательность аминокислот. Аминокислоты затем собираются в полипептидную цепь, т. е. синтезируется белок (рис. 1)

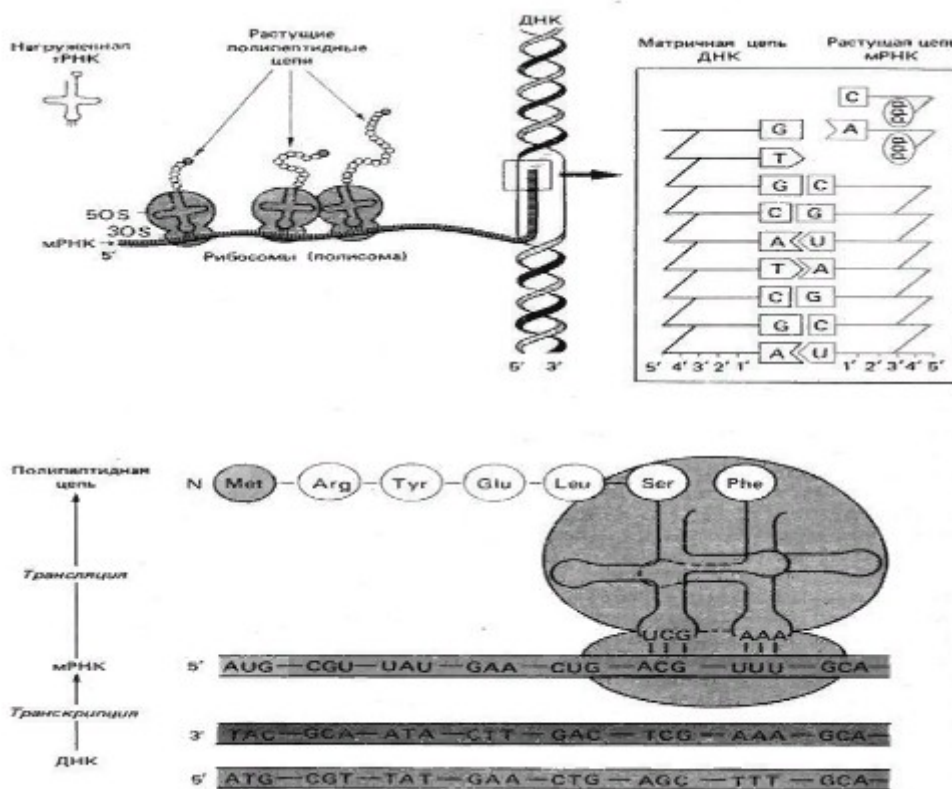


рис.1 Биосинтез белка

Последовательность аминокислот определяет пространственную структуру белка — конформацию. По мере продвижения рибосомы вдоль мРНК полипептидная цепь растет, закручивается и свертывается в клубок. В результате возникает структура, обуславливающая специфические свойства и функцию данного белка. К мРНК обычно прикрепляется несколько рибосом, так что на одной и той же матрице одновременно синтезируется несколько полипептидных цепей. На конце мРНК находится кодон, от которого зависит отделение сформированной полипептидной цепи от рибосомы.

Таким образом, нуклеотидная последовательность ДНК представляет собой закодированную «инструкцию», определяющую структуру специфического белка. Репликация хромосомной (и

плазмидной) ДНК обуславливает передачу генетической информации по вертикали — от родительской клетки к дочерней. Передача генетической информации по горизонтали осуществляется при генетических рекомбинациях.

2. Взаимоотношения между последовательностью нуклеотидов в гене и последовательностью аминокислот в белке устанавливаются с помощью генетического кода из четырех оснований. Код триплетный, поскольку кодон (функциональная единица, кодирующая аминокислоту) состоит из трех оснований. Последовательности кодонов считываются непрерывно, начиная с фиксированной стартовой точки на одном конце гена и заканчивая точкой терминирования на другом конце гена. Это значит, что различные части гена не могут читаться независимо.

Мутагенез.

Мутагенез — процесс изменения в нуклеотидной последовательности ДНК, приводящий к мутациям. Различают естественный (спонтанный) и искусственный (индуцированный) мутагенез.

Естественный, или спонтанный, мутагенез происходит вследствие воздействия на генетический материал живых организмов мутагенных факторов окружающей среды, таких как ультрафиолет, радиация, химические мутагены.

Мутационная теория Де Фриза и Коржинского

Мутационная теория составляет одну из основ генетики. Она зародилась вскоре после переоткрытия Т. Морганом законов Менделя в начале XX столетия. Можно считать, что она почти одновременно зародилась в умах голландца Хуго Де Фриза (1903) и русского ботаника Сергея Коржинского (1899). Однако приоритет в первенстве и в большем совпадении изначальных положений принадлежит российскому ученому. Признание основного эволюционного значения за дискретной изменчивостью и отрицание роли естественного отбора в теориях Коржинского и Де Фриза было связано с неразрешимостью в то время противоречия в эволюционном учении Чарльза Дарвина между важной ролью мелких уклонений и их «поглощением» при скрещиваниях (см. кошмар Дженкина).

Основные положения мутационной теории Коржинского — Де Фриза можно свести к следующим пунктам:

1. Мутации внезапны, как дискретные изменения признаков
2. Новые формы устойчивы
3. В отличие от наследственных изменений, мутации не образуют непрерывных рядов, не группируются вокруг какого-либо среднего типа. Они представляют собой качественные скачки изменений
4. Мутации проявляются по-разному и могут быть как полезными, так и вредными
5. Вероятность обнаружения мутаций зависит от числа исследуемых особей
6. Сходные мутации могут возникать неоднократно

Типы хромосомных и генных мутаций.

Генные мутации

В основе генных мутаций лежит изменение в строении молекулы ДНК. Все они могут быть объединены в три группы.

1. Замена одних азотистых оснований на другие. Например, при дезаминировании (цитозин превращается в тимин) или при ошибочном включении нуклеотида в процессе репликации ДНК.
2. Сдвиг рамки считывания — в результате выпадения или вставки какого-то нуклеотида в синтезируемую цепь.

AAA ЦГТ ААЦ фен — ала — лей

AAA АЦГ ТАА фен — цис — иле

кодогенная цепь ДНК полипептид

1. Изменение порядка нуклеотидов в пределах гена (при повороте на 180° участка цепи ДНК).

Хромосомные мутации

В основе хромосомных мутаций лежат изменения в строении хромосом. Они подразделяются на внутри- и межхромосомные.

● Внутрихромосомные:

- а) дефишенси – отрыв концевой участка хромосомы;
- б) делеция – выпадение срединного участка хромосомы;
- в) дупликация – удвоение участка хромосомы;
- г) инверсия – поворот участка хромосомы на 180° . Инверсия может быть перичентрической (захватывает центромеру) и парацентрической (в пределах одного какого-то плеча).

● Межхромосомные:

- а) транслокация – в основе лежит отрыв участка одной хромосомы и присоединение его к другой хромосоме. Разновидности транслокаций: реципрокная (взаимный обмен плечами) и робертсоновская – центрическое разделение или слияние отдельных хромосом.

Предполагают, что в процессе превращения обезьяны (шимпанзе) в человека имело место слияние двух акроцентрических хромосом в одну метацентрическую.

- б) транспозиция – перемещение небольших участков генетического материала в пределах как одной хромосомы, так и всего кариотипа.

Лабораторная работа № 8

Генетическая рекомбинация: Гомологичная рекомбинация. сайт-специфическая рекомбинация. транспозиция.

Генетическая рекомбинация:

Генетическая рекомбинация (также известная как генетическая перетасовка) - это обмен генетическим материалом между различными организмами, который приводит к получению потомства с комбинациями признаков, которые отличаются от тех, которые были обнаружены у обоих родителей. У эукариот генетическая рекомбинация во время мейоза может привести к новому набору генетической информации, которая в дальнейшем может передаваться от родителей к потомству. Большая часть рекомбинации происходит естественным путем и может быть классифицирована на два типа: (1) внутрихромосомная рекомбинация, происходящая за счет независимого набора аллелей, локусы которых находятся на разных, но гомологичных хромосомах (случайная ориентация пар гомологичных хромосом в мейозе I); и (2) внутрихромосомная рекомбинация, происходящая за счет скрещивания

Во время мейоза у эукариот генетическая рекомбинация включает в себя спаривание гомологичных хромосом. За этим может последовать передача информации между хромосомами. Передача информации может происходить без физического обмена (часть генетического материала копируется из одной хромосомы в другую без изменения донорской хромосомы) (см. Путь SDSA на рисунке); или путем разрыва и воссоединения нитей ДНК, в результате чего образуются новые молекулы ДНК (см. Путь DHJ на рисунке)..

Рекомбинация может также происходить во время митоза у эукариот, где обычно участвуют две сестринские хромосомы, образовавшиеся после хромосомной репликации. В этом случае новые комбинации аллелей не образуются, поскольку сестринские хромосомы обычно идентичны. В мейозе и митозе рекомбинация происходит между похожими молекулами ДНК (гомологичными

последовательностями). При мейозе не сестринские гомологичные хромосомы соединяются друг с другом, так что рекомбинация характерно происходит между не сестринскими гомологами. Как в мейотических, так и в митотических клетках рекомбинация между гомологичными хромосомами является общим механизмом, используемым при репарации ДНК.

Преобразование генов - процесс, в ходе которого гомологичные последовательности становятся идентичными, также подпадает под генетическую рекомбинацию.

Генетическая рекомбинация и рекомбинационное восстановление ДНК также происходят у бактерий и архей, которые используют бесполое размножение.

Рекомбинацию можно искусственно вызвать в лабораторных условиях (*in vitro*), производя рекомбинантную ДНК для целей, включая разработку вакцины.

V (D) J рекомбинация в организмах с адаптивной иммунной системой - это тип сайт-специфичной генетической рекомбинации, которая помогает иммунным клеткам быстро диверсифицироваться, распознавать и адаптироваться к новым патогенам.

Гомологичная рекомбинация, или общая рекомбинация, — тип генетической рекомбинации, во время которой происходит обмен нуклеотидными последовательностями между двумя похожими или идентичными хромосомами. Это наиболее широко используемый клетками способ устранения двух- или односторонних повреждений ДНК. Гомологичная рекомбинация также создаёт разнообразие комбинаций генов во время мейоза, обеспечивающих высокий уровень наследственной изменчивости, что, в свою очередь, позволяет популяции лучше адаптироваться в ходе эволюции.

Различные штаммы и виды бактерий и вирусов используют гомологичную рекомбинацию в процессе горизонтального переноса генов.

Хотя механизм гомологичной рекомбинации (ГР) широко варьируется среди разных организмов и типов клеток, зачастую в её основе лежит один и тот же механизм. Разрыв двух нитей ДНК приводит к тому, что 5'-концы непосредственно рядом с повреждением удаляются. Следующий шаг заключается во внедрении или инвазии 3'-конца повреждённой цепи в другую, целую ДНК, используемую в качестве матрицы. Дальнейшая последовательность событий может идти двумя путями (описанными ниже), известными как DSBR или SDSA. Гомологическая рекомбинация, происходящая во время репарации ДНК, как правило, приводит к восстановлению молекулы в том же виде, в котором та находилась до повреждения.

Поскольку явление ГР прослеживается во всех трёх доменах живой природы, а также у вирусов, его можно считать универсальным биологическим механизмом. Открытие ГР-генов у протистов — разнообразной группы эукариотических микроорганизмов — было истолковано как свидетельство того, что мейоз возник на раннем этапе эволюции эукариот. Так как нарушение работы этих генов часто связана с возникновением нескольких видов рака, белки, кодируемые этими генами и участвующие в процессе ГР, являются предметом активных исследований. На гомологической рекомбинации построен также генетический таргетинг — процесс, при котором в геном организма вносятся искусственные изменения. За развитие этой технологии Марио Капекки, Мартин Эванс и Оливер Смитис были удостоены в 2007 году Нобелевской премии по физиологии и медицине. Капекки и Смитис независимо друг от друга открыли способ редактирования геномов эмбриональных стволовых клеток мышей, однако, высококонсервативные механизмы, лежащие в основе репарации повреждений ДНК, в том числе вставки изменённой последовательности гена при генной терапии, были впервые изучены в экспериментах с плазмидами, проведённых Опп-Вивер, Шостаком и Ротштейном. Исследование плазмид, облучённых γ -излучением, привело к экспериментам, в ходе которых при помощи эндонуклеаз разрезались хромосомы для нужд генной инженерии клеток млекопитающих, где нехомологичная рекомбинация встречается чаще, чем у дрожжей.

Сайт-специфическая рекомбинация. транспозиция.

Сайт-специфическая рекомбинация — тип генетической рекомбинации в которой при обмене цепей ДНК происходит реакция между специфическими сайтами. Перестановка сегментов ДНК

происходит путем распознавания и связывания коротких последовательностей ДНК (сайтов), в которых специальные ферменты расщепляют, переставляют и снова соединяют цепи ДНК. Для одних систем рекомбинации достаточно только фермента рекомбиназы, другие же требуют наличия дополнительных факторов. В природе сайт-специфическая рекомбинация случается при интеграции вируса в геном (образование провируса). Системы сайт - специфической рекомбинации высокоспецифичны, быстры и эффективны даже при работе со сложными эукариотическими геномами и по этой причине широко используются в генетической инженерии. Они участвуют во множестве клеточных процессов, включая репликацию бактериального генома, патогенез, передвижение мобильных генетических элементов и образовании антител в лимфоидных клетках млекопитающих. Сайты - рекомбинации обычно имеют длину от 30 до 200 нуклеотидов и состоят из двух инвертированных повторов, с которыми связывается рекомбиназа, между которыми располагается последовательность по которой и происходит рекомбинация. Оба сайта по которым происходит рекомбинация как правило идентичны, но бывают и исключения (например сайты интеграции фага лямбда).

Транспозиции - лежат в основе передвижения подвижных (мобильных) генетических элементов.

Подвижные элементы - это особые последовательности ДНК, способные к перемещениям из одного участка молекулы ДНК (хромосомы или плазмиды) в другой, или в другую молекулу в той же клетке, или даже в клетки другого организма. Подвижные элементы, как правило, не существуют автономно, а находятся в составе хромосом или плазмид. Транспозиции осуществляются особыми белками, ген (или гены) которых в основном локализован в самих подвижных элементах, в их центральной части. Главный белок транспозиции – транспозаза.

Выделяют три основных механизма рекомбинации при транспозициях:

- репликативная транспозиция - увеличивает количество транспозонов, т.к. исходный родительский транспозон остается на своем месте; нуждается в транспозазе (взаимодействует концами родительского транспозона) и резольвазе (взаимодействует с дочерней копией);
 - нерепликативная транспозиция - заключается в вырезании элемента и его перемещении в новое место.
 - перемещение ретротранспозонов - Ген *pol* ретротранспозона кодирует несколько ферментов: интегразу, обратную транскриптазу, РНКазу и протеазу.
- Векторы эукариот.

Векторы в генетике - плазида, бактериофаг или любая другая форма ДНК или РНК, обладающая способностью к автономной репликации в определенных клетках и способная акцептировать чужеродную ДНК (РНК) без утери способности к репликации.

Эукариотический вектор - представляет собой небольшую молекулу ДНК, способную автономно реплицироваться в клетках животных. Помимо последовательностей нуклеотидов, обеспечивающих репликацию, эукариотические векторы могут содержать гены, используемые в качестве селективируемых маркеров, а также один или несколько уникальных сайтов рестрикции, по которым производится встраивание клонируемых последовательностей нуклеотидов ДНК. Поскольку непосредственное клонирование рекомбинантных ДНК в клетках животных было бы дорогостоящей и малоэффективной процедурой, эукариотические векторы используют, как правило, для получения экспрессии уже клонированных последовательностей нуклеотидов в клетках животных и растений, а сам процесс клонирования проводят в бактериях. Следовательно, эукариотические векторы должны быть челночными векторами. Для экспрессии в клетках рекомбинантные ДНК помещают под контроль регуляторных элементов, узнаваемых и используемых ферментативными системами эукариотических клеток.

В отличие от бактерий в клетках эукариот внехромосомные, автономно реплицирующиеся генетические элементы типа бактериальных плазмид встречаются редко. Поэтому при

конструировании векторов, способных реплицироваться и осуществлять экспрессию в клетках животных, чаще всего используют регуляторные генетические элементы вирусов животных или эукариотических генов домашнего хозяйства и генов, для которых характерна тканеспецифическая экспрессия.

Лабораторная работа № 9.

Обмен ДНК у бактерий. Трансформация. Трансдукция. Конъюгация.

Конъюгация (от лат. conjugatio — соединение) — однонаправленный перенос части генетического материала (плазмид или бактериальной хромосомы) при непосредственном контакте двух бактериальных клеток. Открыт в 1946 году Джошуа Ледербергом и Эдвардом Татумом. Явление конъюгации было открыто и хорошо изучено у кишечной палочки (*Escherichia coli*), но в дальнейшем конъюгация была описана у множества как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. Посредством конъюгации бактерии обмениваются генетическим материалом, поддерживая своё генетическое разнообразие.

История изучения

Существование конъюгации у бактерий было показано в 1946 году Джошуа Ледербергом и Эдвардом Татумом. Они смешали два штамма кишечной палочки *Escherichia coli*, ауксотрофных (неспособных существовать на среде без определённого вещества) по разным веществам, инкубировали полученную культуру несколько часов в среде, содержащей все необходимые питательные вещества, и выселили клетки на чашки с минимальной средой. Чтобы избежать искажения данных эксперимента реверсией некоторых мутаций, отвечающих за ауксотрофию, они использовали двойные и тройные ауксотрофы. Благодаря этому возможность появления клеток, не ауксотрофных по всем трём соединениям, за счёт реверсии мутаций была крайне низка. Когда на чашках появились колонии, исследователи заключили, что бактерии обменивались генами, которые восстанавливали нормальный фенотип. Однако Ледерберг и Татум не доказали, что ДНК передавалась между бактериями при непосредственном физическом контакте. Это удалось сделать Бернанду Дэвису в 1950 году. Он сконструировал U-образную трубку, разделённую напополам перегородкой, через которую могла проходить среда, но не бактериальные клетки. Далее Дэвис инкубировал в трубке несколько ауксотрофных штаммов, сильно перемешивая среду. После высеивания клеток на минимальную среду колоний не появилось. Таким образом, было показано, что для обмена ДНК, открытого Ледербергом и Татумом, был необходим физический контакт двух клеток. Впоследствии конъюгацию описали и у других бактерий, в том числе грамположительных, таких как *Bacillus subtilis*. Однако наиболее изучена конъюгация у *E. coli*, механизм которой детально рассматривается ниже.

Образование пары

В подавляющем большинстве случаев конъюгация возможна лишь тогда, когда у донорской клетки есть плазида, содержащая гены, обеспечивающие передачу ДНК. У *E. coli* и других грамотрицательных бактерий физический контакт между двумя клетками обеспечивается половыми пилиями - полыми белковыми структурами на поверхности клеток. Структура половых пилей сильно варьирует: пили, кодируемые F-плазмидой, длинные, тонкие и гибкие, а пили, кодируемые плазмидой RP4, — короткие, толстые и жёсткие. Пили взаимодействуют с рецепторами на поверхности клетки-реципиента, за счёт чего конъюгирующие клетки образуют пару. Механизм образования пары клеток при конъюгации очень похож на работу бактериальной

системы секретиции IV типа, с помощью которой некоторые патогенные бактерии доставляют токсины непосредственно в клетку организма-хозяина.

Передача ДНК

Передача ДНК через контакт, образуемый пилем, начинается с того, что в специфическом участке передаваемой плазмиды, называемом ориджином переноса (*oriT*), особый белок вносит одноцепочечный разрыв (ник). Хеликаза, кодируемая передаваемой плазмидой, расплетает плазмидную ДНК, и разрезанная цепь переносится в клетку-реципиент своим 5'-концом вперёд. Параллельно с этим её 3'-конец удлиняется, восполняя уходящую цепь в плазмиде-доноре по механизму репликации типа катящегося кольца. Одноцепочечная ДНК, перенесённая в клетку-реципиент, также достраивается до двуцепочечной. Таким образом, конъюгация является репликативным процессом и, строго говоря, передаётся не сама плазмида, а её копия.

Трансдукция (от лат. *transductio* — перемещение) — процесс переноса ДНК между клетками при помощи вирусов. Примером трансдукции является перенос бактериальной ДНК из одной клетки в другую бактериофагом. Общая трансдукция используется в генетике бактерий для картирования генома. К трансдукции способны как умеренные фаги, так и вирулентные, последние, однако, уничтожают популяцию бактерий, поэтому трансдукция с их помощью не имеет большого значения ни в природе, ни при проведении исследований.

Трансдукция была описана Нортоном Зиндером и Джошуа Ледербергом в 1952 году у *Salmonella*. Они наблюдали восстановление нормальных фенотипов у ауксотрофных штаммов, и доказали, что перенос генетического материала мог осуществлять только вирус.

Механизм

Трансдукция — это опосредованная фагами передача ДНК между бактериальными клетками. Ключевой этап этого процесса — упаковка переносимой ДНК в головку фага во время литической фазы его жизненного цикла, то есть когда клетка погибает, высвобождая наружу вирусные частицы. Как правило, при сборке вирусных частиц в головку фага попадает его собственная ДНК, но изредка случаются ошибки, когда в головку фага попадают фрагменты бактериальной ДНК, которые могли образоваться, например, при вызванном фагом разрушении бактериальной хромосомы. Фаговые частицы, содержащие фрагменты бактериальной ДНК, называют трансдуцирующими частицами. Они могут заражать клетки как нормальные фаги, так как имеют все необходимые для этого гены. Когда после прикрепления к клетке фаг впрыскивает в неё свою геномную ДНК, он впрыскивает и бактериальную ДНК, содержащуюся в его головке. Любопытно, что трансдукция возможна и во время литического цикла.

К трансдукции способны не все фаги. К ней способны лишь те фаги, которые вызывают фрагментацию бактериальной геномной ДНК на фрагменты нужного размера, чтобы они поместились в капсид. Иногда в вирион попадает не геномная ДНК бактерии, а плазмида, которая после попадания в следующую заражённую клетку продолжит удваиваться. Фрагменты генома, переносимые фагами, напротив, к репликации неспособны; их удвоение возможно лишь в том случае, если они смогут интегрироваться в хромосому бактерии-реципиента. Если фрагмент бактериального генома так и останется свободным, он в течение нескольких поколений будет попадать в одну из дочерних клеток при делении; такую трансдукцию называют абортивной.

Когда фаги переходят от лизогенной к литической фазе жизненного цикла и вырезаются из генома хозяина, они иногда захватывают с собой небольшие участки бактериальной ДНК. Поскольку в этих случаях количество бактериальной ДНК, попавшей в вирусную частицу, очень мало и ограничивается одним или несколькими генами, то такую трансдукцию называют специализированной. Так, фаг λ кишечной палочки *Escherichia coli* может трансдуцировать лишь два гена: *gal*, отвечающий за усвоение галактозы, и *bio*, участвующий в синтезе биотина. Изредка могут возникать так называемые гетерогеноты — клетки, у которых ген, переносимый некоторым фагом, есть и в свободном виде, и в составе генома.

Трансформация (англ. transformation) — процесс поглощения бактериальной клеткой молекулы ДНК из внешней среды. Для того, чтобы быть способной к трансформации, клетка должна быть компетентной, то есть молекулы ДНК должны иметь возможность проникнуть в неё через клеточные покровы. Трансформация активно используется в молекулярной биологии и генетической инженерии.

Стоит отметить, что термин «трансформация» относится только к бактериальным клеткам. Поступление инородной ДНК в эукариотические клетки называют трансфекцией

История изучения

Впервые явление трансформации наблюдал в 1928 году Фредерик Гриффит, работавший с пневмококками (*Streptococcus pneumoniae*). Он обнаружил, что авирулентные штаммы, лишённые капсулы, могут получать нечто даже от мёртвых вирулентных клеток, имеющих капсулу, и в результате также становятся вирулентными. Через 16 лет Эвери, Маклеод и Маккарти показали, что этим самым агентом была ДНК, содержащая гены, необходимые для формирования капсулы. Они выделили ДНК из вирулентного штамма *S. pneumoniae* и показали, что введение одной только этой ДНК в клетки авирулентного штамма превращает их в болезнетворные. Результаты Эвери и коллег поначалу были встречены скептически, и окончательно они были признаны достоверными после описания явления генетического переноса Джошуа Ледербергом — конъюгации (в 1947 году) и трансдукции (в 1953 году).

В 1970 году было экспериментально показано, что клетки кишечной палочки *Escherichia coli* могут захватывать ДНК бактериофага λ без вспомогательного фага^[en] после обработки раствором хлорида кальция. Через два года была показана возможность захвата клетками в аналогичных условиях плазмидной ДНК. Так была изобретена химическая трансформация. В конце 1980-х годов для трансформации бактериальных клеток начали использовать электропорацию, которая оказалась во многих случаях эффективнее химической трансформации и была применима для большего числа штаммов.

Механизм

К трансформации способны многие бактерии, например, *Streptococcus*, *Haemophilus*, *Bacillus*, актиномицеты, цианобактерии и другие бактерии. Так, антигенная вариация, наблюдаемая у возбудителя гонореи *Neisseria gonorrhoeae*, обеспечивается за счёт трансформации, при которой клетки передают друг другу гены различных вариантов пилей, за счёт которых прикрепляются к клеткам организма-хозяина. В нормальном состоянии проникновению крупных молекул ДНК внутрь бактериальных клеток мешают плотные покровы, поэтому, чтобы быть способной к трансформации, клетка должна войти в так называемое состояние компетентности. В естественных условиях компетентность приобретает часть культуры в логарифмической фазе роста под действием некоторых белков (факторов компетентности), действующих через двухкомпонентную систему. Хлорамфеникол, блокирующий синтез белка, не даёт образовываться и компетентным клеткам. Возможно также, что свою роль в развитие компетентности вносит плотность бактериальной культуры, поскольку при этом повышается концентрация факторов компетентности. У *Streptococcus mutans* и у других видов рода *Streptococcus* трансформация часто происходит при формировании биоплёнок. У *Bacillus subtilis* некоторые гены, вовлечённые в развитие компетентности, также задействованы в споруляции. Развитие компетентности в лог-фазе обусловлено нехваткой питательных веществ и накоплением значительного количества факторов компетентности. Трансформацию могут провоцировать бактериофаги, вызывающие выход ДНК из погибающих клеток, а также повреждения бактериальной ДНК. Приобретение компетентности — чрезвычайно сложный физиологический процесс, у *Bacillus subtilis* он требует экспрессии около 40 генов.

Сначала компетентные клетки связывают ДНК своей поверхностью с помощью особых рецепторов, причём линейными фрагментами клетка трансформируется гораздо легче, чем кольцевыми. ДНК расщепляется нуклеазами до фрагментов с массой до 4—5 миллионов Да, причём в клетку поступает лишь одна из двух цепей фрагментов. Некоторые бактерии, такие как

пневмококки и *Bacillus subtilis*, могут поглощать ДНК из разнообразных источников, а другие, такие как *Haemophilus*, могут поглощать только ДНК клеток своего вида. Фрагменты, имеющие массу менее 500 кДа, в клетку не попадают.

После попадания в клетку одноцепочечный фрагмент встраивается в геномную ДНК клетки-реципиента. Трансформация длится от 10 до 30 минут и у разных бактерий происходит с частотой около 1 %.

Лабораторная работа № 10.

Горизонтальный перенос генов у бактерий. Модельные лабораторные и полевые эксперименты для изучения переноса генов. Мигрирующие генетические элементы. IS-элементы. Транспозоны. Конъюгативные транспозоны.

Горизонтальный перенос генов у бактерий.

Горизонтальный перенос генов — это процесс, в результате которого бактерии обмениваются генами. Для этого есть разные механизмы. Например, может быть вирус, который заражает несколько видов бактерий и который случайно с собой перетаскивает гены. Это пассивный в каком-то смысле механизм. А есть, по-видимому, более интересный механизм, активный, когда популяция бактерий попадает в неблагоприятные условия. Например, они съели все, что можно было съесть. Включаются специальные механизмы, когда бактерии начинают затаскивать внутрь клетки ДНК, которая плавает в среде. А всегда же кто-то плавает. Кто-то умер, соответственно, его ДНК, которая была его геномом, оказалась снаружи. И они затаскивают эту ДНК не для того, чтобы ее съесть.

Что такое гены? Это гены, благодаря которым бактерии избегают действия на них антибиотиков. Антибиотики, которые мы делаем, как правило, полусинтетические. То есть берется какое-то природное вещество, которое продуцирует какая-то бактерия, и модифицируется немножко, чтобы стать более эффективным. А исторически антибиотики существовали всегда. Не надо думать, что Флеминг изобрел пенициллин. Он его не изобрел, он его открыл. Это совершенно разные вещи. И в почве особенно, в любых местах, где много разнообразных бактерий, происходит химическая война между этими бактериями. И она происходит за счет антибиотиков. Одни бактерии продуцируют антибиотики, чтобы убить других, соответственно, избавиться от конкурентов и, может быть, когда они их убили, использовать вещества, которые от них остались.

Если патогенный штамм путем горизонтального переноса получит гены лекарственной устойчивости, то наши антибиотики перестанут на него действовать. Он перестанет быть наивным. И это то, что массово происходит. Первая лекарственная устойчивость была обнаружена спустя буквально несколько лет после того, как начали массово применять пенициллин. И это происходит все больше и больше. На самом деле, с нашей точки зрения, горизонтальные переносы — это такое абсолютно фундаментальное, так сказать, явление, с такими совершенно очевидными практическими для здоровья человечества выходами.

Мигрирующие генетические элементы.

Мигрирующие генетические элементы - отдельные участки ДНК, способные определять свой перенос между хромосомами или хромосомой и плазмидой с помощью фермента рекомбинации транспозазы. Простейшим их типом являются инсерционные последовательности (IS-элементы) или вставочные элементы, несущие только один ген транспозазы, с помощью которой IS-элементы могут встраиваться в различные участки хромосомы. Их функции- координация взаимодействия плазмид, умеренных фагов, транспозонов и генофора для обеспечения репродукции, регуляция активности генов, индукция мутаций. Величина IS-элементов не превышает 1500 пар оснований.

IS-элемент

Инсерционная последовательность (IS, IS-элемент, англ. Insertion sequence) — короткий фрагмент ДНК, простой мобильный генетический элемент.

Инсерционные последовательности обладают двумя важными характеристиками — они мало похожи на другие мобильные элементы (около 700—2500 нуклеотидов) и кодируют лишь белки, вовлечённые в процесс транспозиции (в отличие от транспозонов, кодирующих ещё и некоторые вспомогательные гены, например, гены резистентности к антибиотикам). Эти белки обычно представлены транспозазой, которая катализирует ферментативную реакцию, позволяющую IS элементу перемещаться, а также регуляторный белок, который стимулирует или ингибирует активность транспозиции.

Кодирующий район в IS элементе обычно фланкирован обращёнными повторами.

IS-элементы могут быть частью сложных транспозонов (см. например, Tn10), в которых два IS фланкируют вспомогательные гены (например, гены резистентности к антибиотикам).

Транспозоны (англ. transposable element, transposon) — участки ДНК организмов, способные к передвижению (транспозиции) и размножению в пределах генома. Транспозоны также известны под названием «прыгающие гены» и являются примерами мобильных генетических элементов.

Транспозоны в регуляции активности генов, инактивируя их или активируя.

- Осуществляет перенос генов, например, вирулентности или резистентности, обуславливая распространение устойчивости к антибиотикам среди микроорганизмов
- Перемещение подвижных генетических элементов по репликону или между репликонами

Транспозоны формально относятся к так называемой некодирующей части генома — той, которая в последовательности пар оснований ДНК не несёт информацию об аминокислотных последовательностях белков, хотя некоторые классы мобильных элементов содержат в своей последовательности информацию о ферментах, транскрибируются и катализируют передвижения; например, ДНК-транспозоны и ДДП-1 кодируют белки транспозаза, BORC1 и BORC2. У разных видов транспозоны распространены в разной степени: так, у человека транспозоны составляют до 45 % всей последовательности ДНК, у плодовой мухи *Drosophila melanogaster* часть мобильных элементов составляет лишь 15—20 % всего генома. У растений транспозоны могут занимать основную часть генома — так, у кукурузы (*Zea mays*) с размером генома в 2,3 миллиарда пар оснований по крайней мере 85 % составляют различные мобильные элементы

История открытия

Барбара Макклинток исследовала вариации окраски зерна и листьев кукурузы, и в 1948 году путём цитологических и генетических исследований пришла к выводу, что мобильные участки ДНК, Ac/Ds-элементы, приводят к соматическому мозаицизму растений. Она была первой, кто доказал, что геном эукариот не статичен, а содержит участки, которые могут передвигаться. В 1983 году за эту работу Барбара Макклинток получила Нобелевскую премию.

Хотя транспозоны были открыты в 1940-х годах, только через полвека стало понятно, насколько велика их доля в геноме организмов. Так, получение первой нуклеотидной последовательности (секвенирование) генома человека показало, что мобильных элементов в последовательности ДНК не менее 50 %. Точную оценку получить трудно, поскольку некоторые транспозонные участки со временем настолько изменились, что их нельзя уверенно идентифицировать.

Поскольку транспозоны потенциально способны вызывать вредные мутации и поломки хроматина, с начала открытия мобильных элементов считалось, что их действие сводится к геномному паразитизму. Но в начале XXI столетия появляется всё больше данных о возможных благоприятных эффектах транспозонов для организмов, об эволюционном влиянии ретротранспозонов на геном плацентарных млекопитающих. Идентифицируют случаи использования транспозонов организмами. Например, РНК ретротранспозона ДДП-1 участвует в образовании гетерохроматина во время инактивации X-хромосомы. Плодовая муха не имеет теломеразы, а вместо этого использует обратную транскриптазу ретротранспозонов для продления теломерных участков, которые у *Drosophila melanogaster* представлены повторами транспозонов.

Типы транспозонов и механизмы их передвижения

Мобильные генетические элементы относятся к повторяющимся элементам генома — тем, которые имеют несколько копий в последовательности ДНК клетки. Повторяющиеся элементы генома могут располагаться в тандеме (микросателлиты, теломеры и т. д.) и могут быть рассеяны по геному (мобильные элементы, псевдогены и т. д.).

Мобильные генетические элементы по типу транспозиции можно разделить на два класса: ДНК-транспозоны, которые применяют метод «вырезать и вставить», и ретротранспозоны, передвижение которых имеет в своем алгоритме синтез РНК из ДНК с последующим обратным синтезом ДНК из молекулы РНК, то есть метод «копировать и вставить».

Транспозоны также можно разделить по степени автономности. Как ДНК-транспозоны, так и ретротранспозоны имеют автономные и неавтономные элементы. Неавтономные элементы для транспозиции нуждаются в ферментах, которые кодируются автономными элементами, которые часто содержат значительно изменённые участки транспозонов и дополнительные последовательности. Количество неавтономных транспозонов в геноме может значительно превышать количество автономных.

ДНК-транспозоны

Основная статья: ДНК-транспозоны

ДНК-транспозоны передвигаются по геному способом «вырезать и вставить» благодаря комплексу ферментов под названием транспозаза. Информация об аминокислотной последовательности белка транспозазы закодирована в последовательности транспозона. Кроме того, этот участок ДНК может содержать другие, связанные с транспозоном последовательности, например гены или их части. Большинство ДНК-транспозонов имеют неполную последовательность. Такие транспозоны не являются автономными и передвигаются по геному благодаря транспозазе, которая закодирована другим, полным, ДНК-транспозоном.

На концах участков ДНК-транспозона расположены инвертированные повторы, которые являются особыми участками узнавания транспозазы, таким образом отличая эту часть генома от остальных. Транспозаза способна делать двухцепочные разрезы ДНК, вырезать и вставлять в ДНК-мишень транспозон.

К ДНК-транспозонам принадлежат Ac/Ds-элементы растений, которые были впервые открыты Барбарой Макклиток в кукурузе. Ac-элемент (англ. Activator) является автономным и кодирует транспозазу. Есть несколько типов Ds-элементов, которые способны к формированию разрывов хромосом и которые перемещаются по геному благодаря Ac-элементам.

Гелитроны (англ. Helitron) — тип транспозонов, который есть у растений, животных и грибов, но который широко представлен в геноме кукурузы, где он, в отличие от других организмов, находится в частях ДНК, богатых генами. Гелитроны транспозируются по механизму «катящегося кольца» (англ. rolling circle). Процесс начинается с разрыва одной цепи ДНК-транспозоны. Высвобожденный участок ДНК вторгается в последовательность-мишень, где формируется гетеродуплекс. С помощью ДНК-репликации завершается внедрение транспозона в новый участок¹.

Гелитроны могут захватывать соседние последовательности при транспозиции.

Конъюгативные транспозоны

Конъюгативные транспозоны представляют собой интегрированные элементы ДНК, которые удаляются, образуя ковалентно замкнутый кольцевой промежуточный продукт. Этот кольцевой промежуточный продукт может либо реинтегрироваться в одной и той же клетке (внутриклеточная транспозиция), либо передаваться путем конъюгации реципиенту и интегрироваться в геном реципиента (межклеточная транспозиция). Конъюгативные транспозоны были впервые обнаружены в грамположительных кокках, но теперь известно, что они присутствуют также в различных грамположительных и грамотрицательных бактериях. Конъюгативные транспозоны имеют удивительно широкий спектр хозяев, и они, вероятно, вносят такой же вклад, как и плазмиды, в распространение генов устойчивости к антибиотикам у

некоторых родов болезнетворных бактерий. Для переноса на конъюгативном транспозоне не обязательно переносить гены устойчивости. Многие конъюгативные транспозоны могут мобилизовывать центрально-зависимые плазмиды, а конъюгативные транспозоны *Bacteroides* могут даже удалять и мобилизовывать несвязанные интегрированные элементы. Конъюгативные транспозоны *Bacteroides* также необычны тем, что их активность в переносе регулируется тетрациклином через сложную регуляторную сеть.

ВОПРОСЫ К ЭКЗАМЕНУ

1. Селекция как наука, ее содержание и задачи. Основные разделы селекции, связь селекции с другими науками. Генетика - теоретическая основа селекции. Проблемы генетики и селекции культурных растений. Достижения и перспективы селекции культурных растений. Зарождение и развитие селекции культурных растений.
2. История селекции, работы первых селекционеров. Современное состояние селекции. Задачи частной генетики и селекции растений.
3. Учение о сорте. Понятие об аналитической и синтетической селекции. Основные принципы создания новых сортов. Виды и способы получения исходного материала. Современное представление о сорте.
4. Классификация сортов по происхождению и способам выведения. Сорт как элемент интенсивной технологии возделывания зерновых культур. Признаки и свойства растений. Генетические коллекции растений.
5. Исходный материал и принципы создания. Исходный материал, его сохранение и использование в селекции. Современные методы создания исходного материала. Центры происхождения культурных растений.
6. Мировые генцентры. Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости. Создание национального генофонда (банка) растительных ресурсов. Формирование банка данных о генофонде исходного материала.
7. Рекомбинационная селекция как метод создания исходного материала. Принципы и методы селекции растений. Внутривидовая гибридизация.
8. Генетические особенности селекции растений-самоопылителей, перекрестноопыляемых и вегетативноразмножаемых растений. Принципы подбора родительских пар.
9. Типы скрещиваний. Разновидности простых и сложных скрещиваний.
10. Отдаленная гибридизация. Филогения и система рода *Triticum*, кариотипы, гомеология хромосом. Межвидовая и межродовая гибридизация. Виды несовместимости и способы преодоления нескрещиваемости.
11. Базовые и новые методы синтеза тритикале. Создание секалотритикум нового типа ржано-пшеничных амфидиплоидов. Пшенично-пырейные гибриды. Синтез и ресинтез видов. Отдаленные гибриды в культуре ткани.
12. Отдаленная гибридизация, её теоретическое и практическое значение
13. Использование метода экспериментального мутагенеза в селекции растений. Мутации - основа генетической изменчивости. Типы мутаций. Спонтанный мутагенез. Виды индуцированного мутагенеза -физический, химический, возникновение мутаций при старении семян.
14. Характеристика физических и химических мутагенов. Факторы, влияющие на частоту возникновения индуцированных мутаций. Выделение и сохранение мутаций. Классификация мутаций по количественным и качественным признакам.

15. Эффективность применения различных мутагенов для получения новых форм. Использование мутационной и комбинационной изменчивости для расширения границ отбора.
16. Гетерозис и инбридинг. Понятие и типы гетерозиса. Особенности проявления гетерозиса. Закрепление гетерозиса. Теории, объясняющие механизм гетерозиса.
17. Промышленное применение гетерозиса у различных видов растений. Мужская стерильность, типы: ядерная, цитоплазматическая. Эффективность использования мужской стерильности при создании исходного материала.
18. Методы расчета эффекта гетерозиса по различным признакам. Повышение уровня гомозиготности с помощью инбридинга. Использование инбридинга в селекции.
19. Полиплоидия. Значение полиплоидии в селекции. Методы получения полиплоидных форм. Типы и идентификация полиплоидов. Способы получения и обнаружения автополиплоидов. Хозяйственно ценные свойства и признаки полиплоидов. Способы получения полиплоидов у различных видов растений.
20. Гибридизация и отбор как методы повышения плодovitости и улучшения хозяйственно-ценных свойств автополиплоидов. Триплоиды в селекции. Получение и использование их в зависимости от способа размножения культур.
21. Получение гаплоидов и их использование в селекции. Сорты (гибриды), полученные путём использования полиплоидии.
22. Новые генетические подходы и решения в селекции. Цитоплазматическая мужская стерильность и ее использование в селекционной практике для создания гетерозисных двойных межлинейных гибридов.
23. Анеуплоидия. Гаметная и зиготная селекция. Практическая реализация указанных методов.
24. Теория и методы отбора в селекции растений. Этапы селекционного процесса, виды питомников, оцениваемые признаки и свойства, принципы и методы оптимизации селекционного процесса.
25. Критерии патентоспособности сорта растений - новизна, отличимость, однородность, стабильность.
26. Генетические карты культурных растений и их использование в селекции. Принципы и методы молекулярно-генетического маркирования сортов и гибридов растений.
27. Естественный и искусственный отбор и их значение в селекции. Творческая роль отбора.
28. Нетрадиционные и новые методы создания исходного материала. Методы селекционных биотехнологий *in vitro*: фундаментальные основы селекционных биотехнологий. Генетические основы новых селекционных технологий.
29. Типы апомиксиса: партеногенез, апоспория, адвентивная эмбриония, апогамия. Культура изолированных клеток и тканей. Растительные протопласты, соматическая гибридизация.
30. Методы генетической и клеточной инженерии. Генная инженерия, результативность использования в создании новых форм.
31. Использование для клонирования генов Ti-плазмид из *Agrobacterium tumefaciens*. Методы изучения экспрессии клонированной ДНК в растительных клетках. Практические аспекты реализации генных технологий в сельском хозяйстве.
32. Перспективы развития селекции в связи с развитием технологии рекомбинантных ДНК и клонирования. Значение и распространение трансгенных растений.
33. Методы аналитической и синтетической селекции. Индивидуальный и массовый отбор и их разновидности. Отбор при скрещиваниях по доминантным и рецессивным признакам. Отбор у само- и перекрестноопыляющихся видов растений.
34. Метод Педигри. Бекроссная селекция. Создание замещенных линий (скрещивание с ограниченной ответственностью). Сравнение методов селекции растений.
35. Оценка исходного материала по главнейшим признакам. Методы оценки селекционного материала. Методы оценки материала. Прямые, косвенные, провокационные оценки. Длина вегетационного периода. Качество продукции.

36. Пути ускорения селекционного процесса. Фоны для оценки исходного материала (провокационные, инфекционные, селективные и др.). Оценка существующих сортов на различные виды устойчивости (к полеганию, зимостойкости, засухоустойчивости). Генетические основы селекции растений на болезнеустойчивость и качество продукции. Доноры и источники для селекции.
37. Статистические методы в селекции.
38. Эффективность использования селекционно-генетических методов при выведении новых сортов в Российской Федерации. Состояние селекции сельскохозяйственных растений.
39. Достижения, основные направления современной селекции сельскохозяйственных культур в Российской Федерации. Выдающиеся сорта полевых, овощных, плодовых, ягодных и декоративных культур Ставропольского края.
40. Введение в селекцию животных. Понятие селекция, задачи селекции основных видов с.-х. животных. Роль отечественных ученых в развитии селекции. Достижения селекции в России. Происхождение домашних животных. Теоретические и прикладные аспекты сохранения биоразнообразия животных. Современное понятие породы и популяции. Классификация пород и категории популяции.
41. Развитие исследований по частной генетике животных. Признаки качественные и количественные. Генетический анализ сложных признаков.
42. Основные селекционные признаки у разных видов с.-х. животных. Цитологическая характеристика разных видов с.-х. животных.
43. Вредные и летальные гены у с.-х. животных. Применение современных методов в селекционной работе.
44. Использование популяционно-генетических и математических методов в селекции с.-х. животных. Наследуемость и повторяемость основных хозяйственно-полезных признаков у животных разного направления продуктивности.
45. Зависимость генетических параметров от внешних факторов и уровня селекции. Использование иммунологических, биохимических маркеров в селекции.
46. Определение происхождения животных, генетического родства пород. Поиски коррелятивных связей интерьерных показателей крови с продуктивностью.
47. Возможности использования методов генетической инженерии в животноводстве. Регуляция пола у животных.
48. Использование методов трансплантации и клонирования зигот в племенном животноводстве. Замораживание спермы, яйцеклеток и зигот, как способ сохранения генофонда исчезающих пород и видов животных.
49. Основы геномной оценки. Геномная селекция – метод современной селекции животных. Повышение точности геномных племенных оценок путем объединения референсных популяций.
50. Международный проект «Геном человека». Содержание, организация и реализация геномной информации.
51. Создание референтных групп животных. Оценка племенной ценности с использованием методов геномного сканирования (genomic breeding values – GEBV).
52. SNP-маркеры – основа геномной селекции. Предсказание генотипов отсутствующих SNP на основе чипов с более низкой плотностью маркеров. Предсказание генотипов у негенотипированных животных по генотипам родственников.
53. Использование геномных данных в селекции птицы. Регистрация фенотипической и молекулярной эволюции. Макро- и микрохромосомы в геномной оценке. Точность прогноза в геномной селекции.
54. Импутация. Геномная оценка куриц и петухов. Геномная селекция в свиноводстве. Изучение генома свиней с использованием ДНКмаркеров.
55. Геномная селекция в овцеводстве, коневодстве и других отраслях животноводства. Прогресс ДНК-технологий в коневодстве.
56. Генетический аппарат бактерий.

57. Мутагенез.
58. Типы хромосомных и генных мутаций.
59. Генетическая рекомбинация: Гомологичная рекомбинация. сайт-специфическая рекомбинация. транспозиция.
60. Обмен ДНК у бактерий. Трансформация.
61. Трансдукция.
62. Конъюгация.
63. Горизонтальный перенос генов у бактерий. Модельные лабораторные и полевые эксперименты для изучения переноса генов.
64. Мигрирующие генетические элементы. IS-элементы. Транспозоны. Конъюгативные транспозоны.

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
по выполнению самостоятельных работ по дисциплине
«Селекция растений, животных и микроорганизмов»

Направление подготовки	06.03.01 Биология
Направленность (профиль)	Генетика, селекция и биоинформатика

Вопросы для самостоятельной подготовки.

1. Что такое селекция?
2. Что такое генетика?
3. Напишите названия основных центров происхождения культурных растений, открытых Н.И. Вавиловым.
4. Перечислите основные разделы селекции
5. Какие основные методы селекции использовал И.В. Мичурин?
6. Что объединяет термины сорт, порода и штамм?
7. Какому академику 50-х годов XX века удалось создать межродовой гибрид пшеницы и пырея?
8. Как называется гибрид пшеницы с рожью?
9. Кто создал сорта озимой пшеницы (Мироновская-808, Юбилейная-50)?
10. Назовите учёных, внесших вклад в развитие селекции и генетики
11. Понятие об аналитической и синтетической селекции.
12. Понятие о сорте.
13. Что такое гибрид?
14. Что используют для получения гибридов?
15. Что такое гибридизация?
16. На какие группы подразделяются сорта сельскохозяйственных культур по своему происхождению?
17. На какие группы подразделяются гибриды в зависимости от способа получения ?
18. В чем отличия перспективных, районированных, дефицитных и стандартных. сортов и гибридов?
19. В чем ценность дикорастущих форм в получении исходного материала в селекции?
20. Дать определение физиологическим, биохимическим и технологическим особенностям растений
21. Кто ввел понятие гомологические ряды в наследственной изменчивости?
22. Центры происхождения культурных растений.
23. Когда возникло растениеводство впервые?
24. Дайте определение термину "Центры происхождения культурных растений "
25. Какой из центров происхождения культурных растений имеет больший процент от общего числа видов?
26. Какой из центров происхождения культурных растений имеет меньший процент от общего числа видов?
27. Какие исследователи продолжили работы Н. И. Вавилова?
28. Какой из центров происхождения культурных растений имеет меньший процент от общего числа видов?
29. Какие исследователи продолжили работы Н. И. Вавилова?
30. Каким путем установлена закономерности в полиморфизме у растений?
31. Для чего применяют массовый отбор?
32. Для чего используют инбридинг?
33. Что такое чистая линия у растений?
34. Какой межродовой гибрид был получен Г.Д. Карпеченко?
35. Что такое внутривидовая гибридизация?
36. Основная причина гетерозиса.
37. Дайте определение аутбридинг.
38. Где применяется аутбридинг?
39. Что использовал в своей работе И.В.Мичурин?

40. Кем были предложены многие методы селекции растений?
41. Что такое отдаленная гибридизация?
42. Дайте определение отдаленная гибридизация.
43. Дайте определение синтез видов.
44. Дайте определение ресинтез видов
45. Опишите семейства где известны межродовые гибриды.
46. Где наблюдается межвидовая гибридизация?
47. Кем был получен известный экспериментальный гибрид Рафанобрассика при скрещивании редьки с капустой?
48. Что представляет собой синтез с точки зрения теории?
49. В каком году был осуществлен ресинтез?
50. В каком году и кто осуществил ресинтез сливы?
51. Кто ввел термин «мутация»?
52. Перечислите типы мутаций.
53. Что такое мутагенез?
54. Вследствии чего происходит естественный или спонтанный мутагенез?
55. Дайте определение индуцированный мутагенез.
56. Перечислите виды индуцированного мутагенеза.
57. Перечислите физические мутагены.
58. Перечислите химические мутагены.
59. Дайте определение геномные мутации.
60. Дайте определение хромосомные мутации.
61. Перечислите типы гетерозиса и дайте их определение.
62. В чем измеряется уровень инбридинга?
63. Дайте определение мужская стерильность.
64. Сколько существуют типов генетической обусловленной мужской стерильности?
65. Использование инбридинга в селекции.
66. Дайте определение цитоплазматическая мужская стерильность (цмс).
67. Для чего используется ЦМС?
68. Что предложил А. Густафсон?
69. Что является противоположностью инбридинга?
70. Какой тип стерильности пригоден для селекции растений?
71. Классификация полиплоидии.
72. Для чего она нужна?
73. Какой ученый использовал в своих исследованиях полиплоидию?
74. Оптимальные условия для роста опытных растений.
75. Что такое гаплоидия?
76. Перечислите особенности гаплоидных организмов.
77. В чем состоит метод «межвидовые скрещивания»?
78. Методы получения полиплоидных форм
79. Среди полиплоидов оказываются какие основные продовольственные культуры?
80. Какие по ряду признаков выделяют полиплоидные растения?
81. Что такое анеуплоидия?
82. Когда может возникнуть врожденная анеуплоидия?
83. Из-за чего формируется патологический фенотип при анеуплоидии?
84. Сколько типов различает анеуплоидия? Перечислите их.
85. Дайте определение моносомия.
86. В чем измеряли длину пыльцевых трубок?

87. Как определяли устойчивость пыльцы к тяжелым металлам?
88. Какие последствия моносомии?
89. Какому синдрому приводит моносомия по X-хромосоме у женщин?
90. Дайте определение трисомия.
91. Опишите процесс создания сорта.
92. Какова роль эколог сортоиспыт?
93. Дайте определение термин «сорт».
94. Роль генетической карты в экологии.
95. Разница между естественного и искусственного отбора.
96. Формы естественного отбора.
97. Что предполагал Дарвин в естественном отборе?
98. Опишите методы искусственного отбора.
99. Где применяется массовый отбор?
100. Опишите примеры однократного массового отбора.
101. В каком году зародилась генная инженерия?
102. Дайте определение трансформация.
103. Дайте определение соматическая гибридизация.
104. Какие этапы включает соматическая гибридизация растений. Перечислите их.
105. Сколько видов существуют культуру клеток и тканей. Перечислите их.
106. Какое самое крупное достижение генной инженерии?
107. Методы слияние протопластов. Перечислите их.
108. Достижения генетической инженерии.
109. Сколько групп используют для селекции растений биотехнологических методов? Перечислите их.
110. Что позволяет преодолевать гибридизация соматических клеток?
111. Дать определение термину клеточная инженерия?
112. Какой ученый сформулировал клеточную теорию?
113. Какую роль в развитии генной инженерии сыграли Стенли Коэн и Энли Чанг?
114. К какой патологии приводят агробактерии у двудольных(некоторых однодольных) и голосеменных растений?
115. Роль Ti плазмид в патогенности агробактерий?
116. На чем основана генная инженерия?
117. В каком году шотландским ученым из Эдинбурга в первые удалось получить овцу из энуклеированной яйцеклетки?
118. В каких отраслях генная инженерия находит практическое применение ?
119. Назовите вес Ti-плазмиды в вирулентных штаммы *Agrobacterium tumefaciens*
120. Какая функция кодируется двумя хромосомными генами - Chva и Chvb и рядом генов vir-области, находящихся на Ti-плазмиде.
121. Дайте определение качество продукции.
122. Перечислите факторы внешней среды.
123. Внутренние факторы предприятия. Перечислите их.
124. Пути ускорения селекционного процесса.
125. Для чего применяются провокационные фоны?
126. Дина вегетационного периода.
127. Основные факторы, влияющие на качество продукции
128. Как определяется качество?
129. Инфекционные и инвазионные фоны.
130. Селективные фоны.

131. Что такое селекция?
132. Дайте определение эволюционной теории Чарльза Дарвина.
133. Перечислите селекционные процессы и опишите их.
134. В чем был самый главный плюс одомашнивания животных?
135. Опишите основные причины сохранения биоразнообразия животных.
136. Что такое популяция?
137. Отличительная особенность популяций.
138. Какой вклад в развитие селекции растений внес И. В. Мичурин?
139. Когда началось одомашнивание диких предков современных сельскохозяйственных животных началось?
140. Кто ввел термин датский «популяция»?
Чем отличается качественный признак от количественный?
141. Что такое генетический анализ?
142. Какой метод используется в селекции животных в отличие от селекции растений?
143. Что лежит в основе создания новых пород сельскохозяйственных животных?
144. Какова причина вредные и летальные гены у с.-х. животных?
145. Перечислите современные методы селекционной работы.
146. Какие понятия используют для характеристики популяции по качественным признакам?
147. Что подразумевается под словосочетанием "селекция животных"?
148. К каким последствиям приводит переход в гомозиготное состояние мутантных рецессивных генов?
149. Какие группы мутагенов используют для искусственного получения мутаций?
В чем разница между популяционно-генетическими и математическими методами?
150. Дайте определение термину «наследственность».
151. Дайте определение термину «повторяемость».
152. Что означает генетические параметры селекции?
153. Для чего используются иммунологические и биохимические маркеры в селекции?
154. Что такое порода?
155. Что подразумевается под термином "зональный тип" в зоотехнике?
156. Что подразумевается под термином "заводской тип" в зоотехнике?
157. Что оказывает влияние на состав крови?
158. В чем суть учения об интерьере сельскохозяйственных животных в зоотехнике?
Какие известны формы генетического нарушения развития пола у разных видов животных?
159. Дайте определение трансген.
160. Что такое ген?
161. Какие есть способы регуляции пола животных?
162. Какие есть способы для сохранения пород и видов животных?
163. Расскажите об основных методах создания новых и совершенствования существующих пород.
164. Охарактеризуйте основные факторы, обуславливающие формирование и изменчивость пород.
165. Назовите этапы получения трансгенного животного методом микроинъекции новой ДНК в эмбрион
166. Назовите методы направленного эмбриогенеза сельскохозяйственных животных.
167. Какие существуют способы регуляции пола животных?
168. Дайте определение геномной селекции
169. Перечислите основные задачи современной селекции.
170. Какие исследования проводились в проекте «Геном человека»?
171. Какие направления включает в себя проект «Геном человека»?
172. Как создаются референтные группы животных?

173. Геном каких организмов помимо человека изучали в проекте «Геном человека»?
174. Кто был главой Национального центра исследований человеческого генома с 1988 года?
175. Какое событие помешало советским учёным исследовать структуру 3-ю19-й хромосоме в рамках проекта «Геном человека»?
176. В какой стране и году была проведена оценка племенной ценности на основе геномного анализа?
177. В каком году было достигнуто полное секвенирование генома человека? Какой метод используется для получения бройлерных цыплят? На каком явлении он основан?
178. Какова роль фенотипической и молекулярной эволюции?
179. Дайте определение макрохромосомы?
180. Дайте определение микрохромосомы?
181. Как определить точность прогноза в геномной селекции?
182. Дайте определение термину и «импутация»?
183. В чем разведение кур и петухов?
184. Какой вклад носит мультилокусные взаимодействия?
185. Дайте определение термин «импутация»?
186. В чем различие разведение кур и петухов?
187. Что представляет собой генетика микроорганизмов?
188. С помощью какого микроскопа изучали микроорганизмы?
189. Дайте определение генетический аппарат бактерий.
190. Какую информацию несут структурные гены?
191. Какими молекулами представлен генетический аппарат бактерий?
192. Дайте определение трансляция и транскрипция.
193. Функции гена.
194. Каким бывает мутагенез? Опишите.
195. Опишите суть Мутационной теории Де Фриза и Коржинского
196. Какими бывают мутации?
197. Какие функции выполняет хромосом?
198. Дайте определение генетической рекомбинации.
199. Перечислите и опишите два основных типа генетической рекомбинации.
200. Что означает преобразование генов?
201. Какова роль сайт-специфическая рекомбинация?
202. Что означает транспозиция?
203. Механизмы транспозиция.
204. Перечислите основные механизмы транспозиций.
205. Что представляет собой эукариотический вектор?
206. Какова роль подвижных элементов?
207. Когда могут происходить генетические рекомбинации?
208. Дайте определение конъюгация.
209. История изучения конъюгации.
210. Как образуется пара конъюгации?
211. Дайте определение трансдукции.
212. Какие фаги способны к трансдукции?
213. Функции ДНК.
214. Перечислите виды трансдукции.
215. Дайте определение трансформация
216. Почему молекулу ДНК называют главной молекулой жизни?
217. Механизмы передачи генетического материала у бактерий
218. Дайте определение горизонтальный перенос генов?
219. Функция мигрирующих генетических элементов.

- 220. Что означает IS-элементы?
- 221. Дайте определение транспозона.
- 222. Функция транспозона.
- 223. Какими способами перемещение транспозонов происходит?
- 224. Типы транспозонов и механизмы их передвижения.
- 225. Какова роль ДНК-транспозона?
- 226. Дайте определение конъюгативные транспозоны.
- 227. Характеристика транспозонов.