**Лабораторне заняття № 10**

***Тема: Поліплоїди***

**Мета:** розглянути особливості процесу поліплоїдізації, вивчити методи отримання поліплоїдів у рослин, навчитися розв’язувати задачі.

***Питання для самопідготовки:***

1. Сутність поняття «поліплоїдізація».
2. Види поліплоїдів.
3. Методи отримання поліплоїдів.
4. Особливості утворення гамет у поліплоїдів.
5. Використання поліплоїдів.

**Хід роботи:**

*Завдання 1. Поліплоїдія*

Кожному виду живих організмів властива своя, визначена кількість хромосом. Однак у результаті порушення клітинного поділу кількість хромосом може змінюватись. Явище зміни кількості хромосом в клітині має назву поліплоїдія, а отримані рослини – поліплоїди. Якщо набір хромосом збільшується кратно в порівнянні з гаплоїдною кількістю, то таке явище має назву аутополіплоїдія. Наприклад, аутоплоліплоїдом буде тетраплоїдне жито (4п=28), тетраплоїдна гречка (4п=32), триплоїдний цукровий буряк (3п=27).

Алополіплоїдом називають поліплоїдний організм, який було отримано у результаті збільшення надорів хромосом міжвидових або міжрожових гібридів. Якщо подвоєнню піддається гаплоїдний набор хромосом двох видів або родів, то такі алополіплоїди називають амфідиплоїдами (АД). Наприклад, житньо-пшеничний амфідиплоїд (АД) має 56 хромосом: 42 хромосоми м’якої пшениці (21 × 2) та 14 хромосом жита (7 × 2).

Рослини, у яких кількість хромосом не кратна гаплоїдній кількості, називають анеуплоїдами або гетероплоїдами; в їх клітинах міститься на 1,2,3 хромосом більше або менше ніж у диплоїдному наборі.

Зміна кількості хромосом викликає у рослин зміну морфологічних ознак та біологічних властивостей.

*Завдання 2. Методи отримання поліплоїдів*

Методів отримання поліплоїдів рослин дуже багато. Переважна більшість методів заснована на використанні колхіцину – речовини з групи алкалоїдів. Його видобувають з рослини *Colchicum autumnale* L. Слабкі розчини цієї речовини паралізують процес утворення ниток веретена поділу. Тому, в мітозі хромосоми не розходяться до полюсів, клітини не ділиться і утворюється ядро з подвоєною кількістю хромосом. Якщо на виниклі тетраплоїдни клітини продовжувати впливати колхіцином, то можуть виникнути октоплоїдні клітини. Але зазвичай таке збільшення кількості хромосом знижує життєздатність клітин та може привести до їх загибелі.

Для отримання поліплоїдів використовують 0,1-0,25% водний розчин колхіцину.

Також поліплоїди можна отримувати за допомогою аценафтена. Він має слабшу дію, але й більш м’яко впливає на рослини не викликаючи в них такої затримки в рості. Аценафтен погано розчиняється у воді, а тому для обробки насіння його накривають вологим фільтрувальним папером на який зверху насипають порошок аценафтену. насіння витримують таким чином 2-4 дні, а потім висаджують. Також можна накрити молоді сіянці, що були вирощені у горшиках зверху хімічними стаканами всередині змазаними ланоліном на який насипано 2-4 г аценафтену та залишають на добу.

**Таблиця 1. – Методи отримання поліплоїдів за допомогою колхіцину.**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Метод** | **Проведення обробки** | **Примітка** |
| Пророщування насіння в розчині колхіцину 0,05 – 0,3% | Сухе або попередньо замочене насіння пророщують у розчині колхіцину протягом 3 – 10 діб (сухе) або 4-48 годин (замочене). Потім насіння промивають у воді та висаджують у ґрунт. | Дуже пошкоджуються зародкові корені. Метод використовують за наявності великої кількості насіння. |
| Обробка проростків розчином колхіцину у концентрації 0,01 – 0,25% | Проростки занурюють верхівками у розчин колхіцину на 0,5 – 4 години. Оброблені проростки промивають водою та висаджують. | Забезпечується добра виживаємість рослин. Вдало застосовують при поліплоїдізації віддалених гібридів. |
| Обробка конусу наростання пагону розчином колхіцину у концентрації 0,2 – 0,5% | На верхівкову бруньку пагону наносять піпеткою розчин колхіцину через кожні 5-7 годин. Можна покласти ватний тампон змочений у розчині колхіцину на 3-5 діб періодично оновлюючи на ньому розчин. | Вдало застосовують при роботі з картоплею, багаторічними дводольними рослинами. |
| Трансплантаційний метод з використанням розчину колхіцину у концентрації 0,1 - 0,2% | Пагін зрізають та вміщують у судину з розчином колхіцину на 2 – 5 діб. Потім цей пагін прищеплюють на підщепу, яку не було оброблено колхіцином. | Використовуюь для бобових та інших культур. Підщепа забезпечує нормальний розвиток та ріст обробленого колхіцином пагону. |
| Вплив колхіцином у концентрації 0,01 – 0,2% на корені рослин | Молоді рослини викопують, корені відмивають та вміщують у розчин колхиціну на 12 годин, писля цього на 6-12 годин під проточну воду і таким чином чергують обробки протягом 3 – 7 діб. Потім рослини висаджують у ґрунт. | Вдало застосовують для злакових, гречки, томатів та іншіх культур |
| Вплив колхіцином у концентрації 0,01 – 0,025% на зрізані суцвіття | Пагони зрізають у період закладання спорогенної тканини, стебло розщеплюють та вміщують у розчин колхіцину на 5 -7 діб після чого основу пагону ретельно відмивають та вміщують у розчин поживних речовин. | Буряк, хрестоцвіті та інші культури |
| Инєкція розчином колхіцину у концентрації 0,025 – 0,1% | Медичним шприцем роблять інєкцію розчином колхіцину у вузол кущення або кореневу шийку. Обробку повторюють декілька раз протягом кількох діб. | Вдало застосовують при роботі зі злаковими та іншими культурами |

*Завдання 3. Вирішення задач на поліплоїди*

Задача 1. Види щавлю (*Rumex acetosa*) складають поліплоїдний ряд з основним числом хромосом х+10. Користуючись ознаками х і n, позначте диплоїдне число: а) диплоїдного; б) тетраплоїдного; в) гексаплоїдного; г) октаплоїдного видів.

Задача 2. Встановлено, що вид сливи (*Prunus*) виникає від спонтанного схрещування терну (*Prunus spinosa*, 2n=32) з аличею (*Prunus cerasifera*, 2n=16), шляхом злиття не редукованих гамет цих видів. Скільки хромосом має слива, якщо відомо, що вона є гексаплоїдом?

Задача 3. Топінамбур або земляна груша (*Helianthus tuberosus*) гексаплоїдний вид (2 n= 102). Визначте гаплоїдне (n), основне або базове (х) число хромосом.

Задача 4. Яке співвідношення фенотипів буде одержано при схрещувані автотетраплоїда ААаа з диплоїдом Аа при умові повного домінування і випадкового хромосомного розщеплення?

Задача 5. Автотетраплоїд триплекс схрещується з автотетраплоїдом симплекс (аааА). Яке співвідношення фенотипів буде у покоління, якщо має лише кумулятивна дія гена і випадкове хромосомне розщеплення?

*Завдання 4. Завдання для вирішення вдома*

Задача 1. У тетраплоїда (триплекс) має лише повне хроматичне розщеплення. Яке розщеплення одержимо при аналізую чому схрещуванні при умові повного домінування?

Задача 2. При схрещуванні двох тетраплоїдних рослин дурману (*Datura stromonium*) з пурпуровими квітками одержали 3226 рослин з пурпуровими і 107 з білими. Визначте генотипи вихідних рослин і поясніть розщеплення.

Задача 3. Від схрещування двох тетраплоїдів дурману з пурпуровими квітками одержали в F1 396 рослин з пурпуровими і 40 – з білими квітками. Визначте генотипи вихідних форм і характер розщеплення.

Задача 4. Яке покоління за кольором плодів одержали при самозапиленні тетраплоїди рослин томату (дуплекс) з рожевими плодами, якщо має місце випадкове хромосомне розщеплення, а успадкування кольору плодів має кумулятивний характер (квадриплекс – темночервоні, триплекс – червоні, дуплекс – рожеві, симплекс – світло-рожеві, нулліплекс – білі).

Задача 5. У дрозофіли зустрічаються життєздатні трисоміки за IV-ю хромосомою. Самка дрозофіли з нормально розвиненими очима має три IV хромосоми з генами ААа, безокий самець має дві IV хромосоми з генами аа. Яке покоління одержимо від схрещування цих мух?