

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ

**Факультет технології виробництва і переробки продукції
тваринництва, стандартизації і біотехнології**

**Кафедра генетики, годівлі
тварин та біотехнології**

ЗАГАЛЬНА ТА МОЛЕКУЛЯРНА ГЕНЕТИКА

**Методичні вказівки
для виконання лабораторних робіт
з цитогенетичних основ спадковості
для здобувачів вищої освіти
освітньої спеціальності 162 – «Біотехнології та
біоінженерія» ступеня вищої освіти «Бакалавр»**



**Миколаїв
2018**

УДК 636.082:575
3-14

Рекомендовано науково-методичною комісією факультету
ТВШТСБ Миколаївського НАУ, протокол № 4 від «24» грудня
2018 р.

Укладач: Гиль Михайло Іванович

Відповідальний за випуск: Луговий Сергій Іванович, докт. с.-г.
наук, доцент, в.о. завідувача кафедри генетики, годівлі тварин та
біотехнології Миколаївського НАУ

Редактор: Гиль Михайло Іванович

Рецензенти: декан факультету біотехнології та біотехніки
Національного технічного університету «Київський
політехнічний інститут», доктор біол. наук, професор
Дуган Олексій Мартемянович;
професор кафедри генетики, годівлі тварин та
біотехнології і Миколаївського НАУ, професор, академік
НІАН США Горбатенко Ігор Юрійович.

©Миколаївський національний
аграрний університет, 2018 р.

Зміст

Передмова	4
1. Будова клітин. Органели, що є носіями спадкової інформації	5
2. Будова хромосом. Сегрегаційна функція хромосом. Морфометричний аналіз хромосом	25
3. Життєвий цикл клітини і мітоз	46
4. Мейоз і гаметогенез	50
5. Технології аналізу позаядерної спадковості організмів	54
Питання для самоперевірки	56
Література	57

Передмова

Досвід розвитку близьких біологічних наук – цитології та генетики дав можливість вже у першому десятиріччі ХХ ст. створити цитогенетику – науку про матеріальну основу спадковості.

Цитогенетичний шлях розв'язання низки кардинальних загальногенетичних і загальнобіологічних проблем був основним і дозволив дати відповіді на такі явища, як природа мутацій і механізм їх виникнення, каріотипічні мінливості у природніх популяціях та вивчення її ролі в забезпеченні адаптації на популяційно-му рівні, про закономірності еволюції каріотипу при видоутворенні та ін.

Разом з тим, у програмній літературі при підготовці біотехнологів відчувається нестача інформації щодо характеристики процесів генетичного контролю сегрегації хромосом та методики вивчення їх морфометричних особливостей, що у компактному вигляді наведено в цій розробці.

У відповідності до навчального плану для спеціальності 162 – «Біотехнології та біоінженерія» курс дисципліни «Загальна та молекулярна генетика» вивчається студентами протягом другого і третього семестрів (перший-другий курс).

1. БУДОВА КЛІТИН. ОРГАНЕЛИ, ЩО Є НОСІЯМИ СПАДКОВОЇ ІНФОРМАЦІЇ

Клітина — основна структурна і функціональна одиниця живого (всі живі організми побудовані лише з клітин та всі явища й процеси забезпечення існування живих істот відбуваються тільки в клітині). Клітина одноклітинної істоти є одночасно й самостійним організмом, адже вона виконує всі ті самі функції, що й багатоклітинний організм. У багатоклітинних істот організм функціонує завдяки взаємодії клітин між собою. Залежно від наявності справжнього сформованого ядра, всі клітинні організми поділяються на дві групи: прокаріоти і еукаріоти.

Прокаріоти (без'ядерні організми) — примітивні організми, що не мають чітко сформованого ядра. У таких клітинах виділяється лише ядерна зона, що містить молекулу ДНК. Крім цього, у клітинах прокаріотів немає багато органел. У них є тільки зовнішня клітинна мембрана і рибосоми. До прокаріот відносяться бактерії та синьо-зелені водорості (ціанеї).

Еукаріоти — справжні ядерні організми, клітини яких мають чітко сформоване ядро і всі основні структурні компоненти клітини. До еукаріот відносяться рослини, тварини, гриби. Еукаріотична клітина має складну будову. Вона складається з трьох основних взаємозв'язаних частин:

- 1) зовнішньої клітинної мембрани, у деяких додатково є оболонка;
- 2) цитоплазми та її органел;
- 3) ядра.

Зовнішня клітинна мембрана (плазмолема) — двомембранна клітинна структура, що відмежовує внутрішній вміст клітин від зовнішнього середовища. Клітинна мембрана має вибіркову проникність, захищає клітину, регулює надходження речовин і обмін із зовнішнім середовищем, підтримує визначену її форму. Клітинна мембрана складається з подвійного шару фосфоліпідів, які своїми гідрофобними кінцями з радикалів вищих жирних кислот обернені один до одного; ззовні розташовуються гідрофільні залишки фосфорної кислоти та гліцерину. У біліпідний шар мембрани вкраплені молекули білків, одна частина яких пронизує наскрізь мембрану, а інша — розташовується на поверхні або частково занурена в неї. З її зовнішнього боку з білками і ліпідами з'єднані вуглеводи.

Речовини надходять до клітин різними шляхами:

- дифузно (низькомолекулярні іони);
- осмосом (вода);
- активним транспортом (через спеціальні білкові канали) із затратою енергії;
- за допомогою ендоцитозу (великі частинки).

Клітини рослинних організмів, грибів крім мембрани зовні мають ще й оболонку. Ця нежива клітинна структура будується з целюлози, що додає міцності клітині, захищає її, є «скелетом» рослин і грибів. В оболонці розміщені пори, через які речовини надходять до клітини.

У цитоплазмі, для якої характерний напіврідкий стан, знаходяться всі органели.

Ендоплазматична сітка (ЕПС) — одномембранна система каналців, трубочок, цистерн, що пронизує всю цитоплазму. Вона поділяє її на окремі відсіки, у яких проходить синтез різних речовин, забезпечує зв'язок між окремими частинами клітини і транспорт речовин. Розрізняють гладеньку і гранулярну ЕПС. На гладенькій — проходить синтез ліпідів, вуглеводів; на гранулярній — розташовуються рибосоми і синтезується білок.

Рибосоми — дрібні тільця, які мають форму гриба. Складаються з двох субодиниць — великої та малої, будуються з р-РНК та білків. Функція рибосом — синтез білка.

Апарат (комплекс) Гольджі — одномембранна структура, пов'язана з ЕПС, забезпечує упакування і виведення синтезованих речовин із клітини. Крім цього, з його структур утворюються лізосоми.

Лізосоми — сферичні тільця, що містять гідролітичні ферменти, які розщеплюють високомолекулярні речовини, тобто забезпечують внутрішньоклітинне травлення.

Мітохондрії — напівавтономні двомембранні структури подовгастої форми. Зовнішня мембрана гладенька, а внутрішня утворює складки-кристи, що збільшують її поверхню. Всередині мітохондрії заповнені матриксом, у якому знаходяться кільцева молекула ДНК, РНК, рибосоми. Кількість мітохондрій у клітинах різна, з ростом клітин чисельність їх збільшується внаслідок поділу. Мітохондрії — це «енергетичні станції» клітини. У процесі дихання в них відбувається остаточне окиснення речовин киснем повітря. Енергія, що виділяється, нагромаджується в молекулах АТФ, синтез

яких проходить у цих структурах.

Пластиди характерні тільки для рослинних клітин. Існують три види пластид:

- хлоропласти;
- лейкопласти;
- хромопласти.

Хлоропласти — напівавтономні двомембранні органели подовгастої форми, зеленого кольору. Внутрішня частина заповнена стромою, у якій занурені грани. Грани утворені з мембранних структур — тилакоїдів. У стромі є кільцева молекула ДНК, РНК, рибосоми. На мембранах розташовується фотосинтезуючий пігмент — хлорофіл. У хлоропластах відбувається процес фотосинтезу. На мембрані тилакоїда відбуваються реакції світлової фази фотосинтезу, а в стромі — темної.

Хромопласти — двомембранні органели сферичної форми, що містять червоний, жовтогарячий і жовтий пігменти. Хромопласти надають забарвлення квіткам і плодам, а утворюються з хлоропластів.

Лейкопласти — безбарвні пластиди, які знаходяться в незабарвлених частинах рослини. Містять запасні поживні речовини, можуть на світлі перетворюватися у хлоропласти.

Крім хлоропластів рослинні клітини мають ще **вакуолі** — мембранні тільця, заповнені клітинним соком і поживними речовинами.

Клітинний центр (центросома) забезпечує процес поділу клітин. Він складається з двох центріолей та центросфери, що утворюють нитки веретена поділу і сприяють рівномірному розподілу хромосом у клітині, яка ділиться. Характерні для тваринних клітин.

Ядро — центр регуляції життєдіяльності клітини. Ядро відокремлене від цитоплазми подвійною ядерною мембраною, пронизаною порами. Всередині воно заповнене каріоплазмою, у якій знаходяться молекули ДНК. Ядерний апарат регулює всі процеси життєдіяльності клітини, забезпечує передачу спадкової інформації. Тут відбувається синтез ДНК, РНК, рибосом. Часто в ядрі можна побачити одне або декілька темних округлих утворень — ядерець, в яких формуються і нагромаджуються рибосоми. Молекули ДНК несуть спадкову інформацію, що визначає ознаки даного організму, органа, тканини, клітини. У ядрі молекул ДНК не видно, тому що вони знаходяться у вигляді тонких ниток хроматину. Під час поділу клітини ДНК сильно спіралізуються, товстішають, утворюють

комплекси з білком і перетворюються в добре помітні структури — хромосоми.

Ядро виконує дві групи загальних функцій: одну, зв'язану зі зберіганням генетичної інформації, другу — з її реалізацією, тобто із забезпеченням синтезу білка.

У першу групу входять процеси, зв'язані з підтримкою спадкової інформації у вигляді незмінної структури ДНК. Завдяки наявності ферментів можуть ліквідуватися спонтанні пошкодження молекул ДНК, і таким чином зберігається практично незмінною будова молекул ДНК в ряді поколінь клітин і організмів. В ядрі відбувається відтворення, реплікація молекул ДНК, що дає можливість при поділі обом клітинам отримувати однакову за кількістю і якістю генетичну інформацію. В ядрах здійснюються процеси рекомбінації генетичного матеріалу при кросинговері під час мейозу, а також у процесі запліднення.

Друга група клітинних процесів, які реалізуються активністю ядра, пов'язана безпосередньо з синтезом білка. Це в першу чергу транскрипція на молекулах ДНК різних форм РНК: іРНК, рРНК і тРНК, а також утворення субодиниць рибосом шляхом комплексування синтезованих в ядерці рРНК з рибосомними білками, які синтезуються в цитоплазмі і переносяться в ядро.

Деякі клітини мають специфічні органели — **війки** та **джгутики**, які забезпечують рух, переважно, одноклітинних організмів. Ці структури є у деяких клітин багатоклітинних організмів (війчастий епітелій). Війки та джгутики являють собою вирости цитоплазми, оточені клітинною мембраною. В середині виростів знаходяться мікротрубочки, скорочення яких надає клітині руху.

Будова клітин прокаріотів.

Прокаріоти (від лат. *pro* — перед, замість та грец. *каріон* — ядро) — надцарство організмів, до складу якого входять царства Бактерії та Ціанобактерії (колишня назва — «синьо-зелені водорості»). Клітини прокаріотів характеризуються простою будовою (рис. 1): вони не мають ядра і багатьох органел (мітохондрій, пластид, ендоплазматичної сітки, комплексу Гольджі, лізосом, клітинного центру).

Ще однією характерною рисою клітин цих організмів є відсутність системи внутрішньоклітинних мембран. Лише у деяких

бактерій — мешканців водойм або капілярів ґрунту, заповнених водою, є особливі *газові вакуолі*. Змінюючи об'єм газів у цих вакуолях, бактерії можуть пересуватись у водному середовищі з мінімальними витратами енергії. Таким чином, клітинам прокаріотів притаманна простота будови.

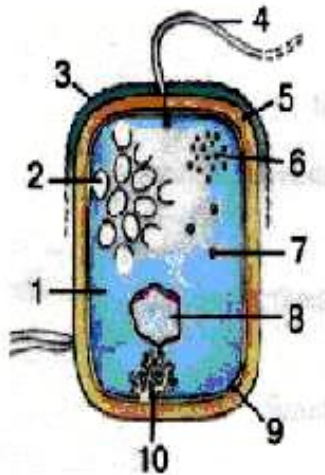


Рис. 1. Схема будови клітини бактерії:

1 – цитоплазма; 2 – фотосинтетичні мембрани; 3 – капсула; 4 – джгутик; 5 – клітинна стінка; 6 – рибосоми; 7 – запасні поживні речовини; 8 – кільцева ДНК; 9 – плазматична мембрана; 10 – складчасті впинання мембрани

У цитоплазмі прокаріотів містяться рибосоми та різноманітні включення. Але розміри рибосом дрібніші, ніж у еукаріотів.

До складу поверхневого апарату клітин прокаріотів входить плазматична мембрана, клітинна стінка, іноді слизова капсула. Плазматична мембрана може утворювати гладенькі або складчасті впинання в цитоплазму. На складчастих мембранних впинаннях можуть розташовуватись ферменти, рибосоми, а на гладеньких — **фотосинтезуючі пігменти**. В клітинах деяких бактерій (наприклад, пурпурних) фотосинтезуючі пігменти можуть міститись у кулястих замкнених структурах, утворених випинаннями плазматичної мембрани. Їх називають **хроматофорами** (від грец. *хрома* — фарба та *форос* — той, що несе).

Замість ядра, в клітинах прокаріотів є одна чи кілька **ядерних зон** зі спадковим матеріалом. Але на відміну від ядра еукаріотів, ядерні зони прокаріотів мембранами від цитоплазми не відокремлені. Спадковий матеріал прокаріотів представлений кільцевою молекулою ДНК, прикріпленою в певному місці до внутрішньої поверхні плазматичної мембрани (див. рис. 1). Отже, типові хромосоми, які в

клітинах еукаріотів розташовані в ядрі, у прокаріотів відсутні.

Клітини деяких бактерій мають органели руху — один, декілька або багато джгутиків. Джгутики можуть бути довші за саму клітину, проте їхній діаметр незначний (10-25 нм), тому у світловий мікроскоп вони не помітні. Крім джгутиків, поверхня клітин бактерій має **нитчасті** та **трубчасті утвори**, які складаються з білків чи полісахаридів. Вони забезпечують прикріплення до субстрату або беруть участь у передаванні спадкової інформації під час статевого процесу.

Прокаріоти — мікроскопічні організми. Розміри їхніх клітин не перевищують 30 мкм, а в деяких видів діаметр клітин становить лише 0,2 мкм. Більшість прокаріотів — одноклітинні організми, серед них є і колоніальні форми. Скупчення клітин прокаріотів можуть мати вигляд ниток, грон тощо. Іноді вони оточені спільною слизовою оболонкою — **капсулою**. При цьому контакти між сусідніми клітинами, що мають вигляд мікроскопічних каналців, заповнених цитоплазмою, відомі лише для деяких колоніальних ціанобактерій.

Форма клітин прокаріотів різноманітна:

- куляста (коки),
- паличкоподібна (бацили),
- у вигляді вигнутої (вібріони) або спірально закрученої (спірили) палички тощо (рис. 2).

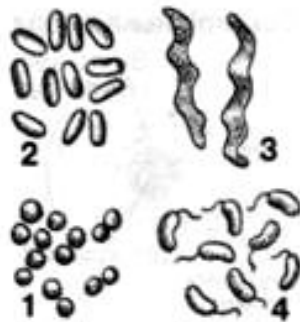


Рис. 2. Різні форми бактерій:

1 – коки; 2 – бацили; 3 – спірили; 4 – вібріони

Прокаріоти розмножуються нестатевим способом — поділом навпіл. Перед поділом клітина збільшується в розмірах, її спадковий матеріал (молекула ДНК) подвоюється. Таким чином, кожна з дочірніх клітин, які утворилися внаслідок поділу материнської, отримує подібну спадкову інформацію (рис. 3).



Рис. 3. Поділ бактеріальної клітини

У прокаріотів спостерігається і статевий процес — **кон'югація** (від лат. *conjugatio* — сполучення). Під час кон'югації дві клітини обмінюються спадковою інформацією (у вигляді фрагментів молекули ДНК) через цитоплазматичний місток, що на певний час утворився між ними.

За несприятливих умов у деяких прокаріотів утворюються **спори**. В одних видів спори утворюються всередині материнської клітини: цитоплазма майбутньої спори вкривається багат шаровою оболонкою. Такі спори дуже стійкі до дії високої температури (в деяких випадках вони можуть витримувати кип'ятіння протягом кількох годин), іонізуючого опромінення, хімічних сполук тощо. Потрапивши у сприятливі умови, спори проростають. У вигляді спор бактерії можуть тривалий час зберігати життєздатність у несприятливих умовах (рис. 4).



Рис. 4. Утворення спори і цисти

У ґрунті, що прилип до коренів засушених рослин з одного гербарію у Великобританії, було виявлено життєздатні спори, вік яких перевищував 300 років. Учені припускають, що життєздатність спор може зберігатися до 1000 років. У деяких бактерій спори можуть утворюватися не всередині материнської клітини, а в результаті брунькування. Деякі прокаріоти здатні до *інцистування* (від лат. *in* — в, всередині та грец. *кистіс* — міхур). При цьому щільною оболонкою вкривається вся клітина. Цисти прокаріотів стійкі до дії радіації, висушування, але нездатні витримувати високі температури.

Будова клітини рослини.

Рослинна клітина складається з целюлозної оболонки, клітинної мембрани, цитоплазми з клітинними включеннями, ядра, пластид, вакуолів з клітинним соком, мітохондрій, рибосом, ендоплазматичної сітки з диктіосомами (рис. 5).



Рис. 5. Будова рослиної клітини

Органели — це постійні структури клітини, які виконують відповідні функції (ядро, рибосоми, мітохондрії, пластиди, вакуолі, ендоплазматична сітка тощо).

Клітинні включення — тимчасові утвори з різноманітними речовинами, що відкладаються у вигляді кристалів солей, краплин жиру, зерен крохмалю тощо, які то виникають унаслідок процесів життєдіяльності клітини, то зникають.

Клітинна оболонка — зовнішня оболонка рослиної клітини (рис. 6).

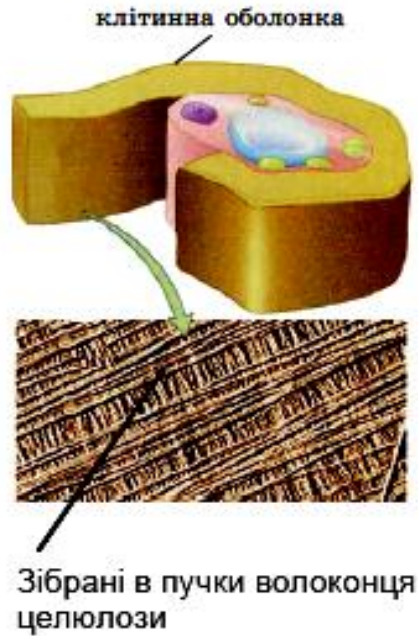


Рис. 6. Будова клітинної оболонки

До складу щільної і пружної оболонки входять волокна вуглеводу целюлози, зібрані в пучки, оболонка у 20-1000 разів товща за клітинну мембрану, і тому добре помітна в світловий оптичний мікроскоп.

Значення клітинної оболонки: підтримує форму клітини.

Клітинна мембрана — постійна структура, що оточує будь-яку клітину, дуже тонка і непомітна у світловий мікроскоп. Мембрани є і в цитоплазмі: вони оточують різні органели, зокрема вакуолі, пластиди. Усі клітинні мембрани складаються із білків та ліпідів (рис. 7).

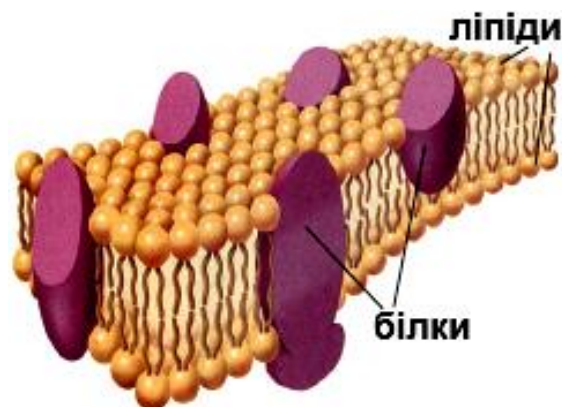


Рис. 7. Будова клітинної мембрани

Складові	Значення
Плівка жирових молекул, складається зі зовнішнього і внутрішнього шару ліпідів, або жирів.	Жироподібні молекули роблять мембрану непроникною, адже жири не розчиняються у воді.
У жири занурено молекули білків, які розташовані у вигляді мозаїки: одні знаходяться на внутрішній поверхні мембрани, інші — на зовнішній, а деякі молекули білків перетинають обидва шари молекул ліпідів.	Білки визначають, які речовини пропустити всередину, а які — випустити назовні.

Функції клітинної мембрани:

- оточує та відмежовує клітину від зовнішнього середовища;
- захищає внутрішній вміст від несприятливих зовнішніх впливів, від проникнення хвороботворних мікроорганізмів, вірусів;
- у багатоклітинних організмах в мембранах є ділянки, що забезпечують зв'язок між клітинами, через ці ділянки проходять так звані цитоплазматичні містки.
- забезпечує транспорт різних речовин крізь неї (розпізнає та за допомогою дифузії пропускає в клітину сировину для її роботи, забезпечуючи процес живлення клітини, та видаляє з клітини непотрібні речовини).

Відмінності між клітинною оболонкою та клітинною мембраною:

Клітинна оболонка	Клітинна мембрана
Клітинну оболонку мають клітини рослин	Клітинну мембрану мають усі клітини
Каркас утворює складний вуглевод – целюлоза	Утворена плівкою жироподібних молекул
Міцна й пружна	Дуже тонка
Не пропускає у клітину молекули органічних речовин	Забезпечує крізь неї транспорт молекул органічних речовин

Цитоплазма (від грец. *цитос*, або *цито* — клітина і *плазма* —

оформлене) — внутрішнє середовище у клітині, яке перебуває в постійному русі (рис. 8). За хімічним складом цитоплазма — це розчин неорганічних (вода, гази, мінеральні солі) та простих органічних речовин (білки, вуглеводи, жири).

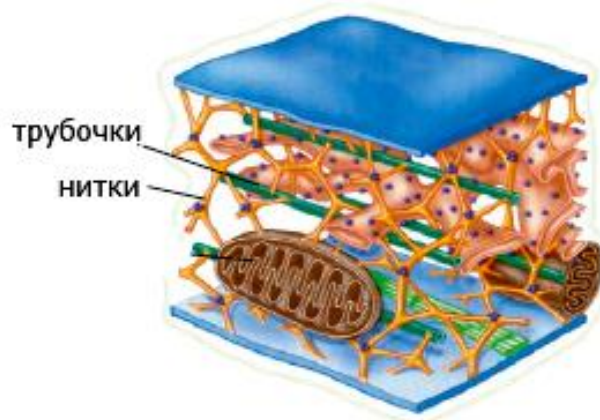


Рис. 8. Будова цитоплазми

Функції цитоплазми:

- як внутрішнє середовище клітини об'єднує в одне ціле всі клітинні структури і забезпечує їхню взаємодію;
- відбувається транспорт різних речовин, обмін, при якому розпадаються одні речовини і створюються інші.

Складові	Значення
Скелет цитоплазми — це система мікроскопічних тоненьких білкових волокон: трубочок і ниток, його видно лише за допомогою електронного мікроскопа.	Допомагає клітині зберігати форму, закріплює у певному положенні органели.
Розчини речовин, які постійно рухаються.	Постійний рух цитоплазми: речовини рухаються всередині самої клітини, а також з клітини в клітину.

Включення в цитоплазмі:

- відкладені про запас білки, вуглеводи і ліпіди, які відкладаються у великій кількості і використовуються клітиною не відразу, наприклад, білкові зерна в клітинах насіння пшениці, зерна крохмалю в клітинах бульб картоплі, краплини ліпідів у клітинах насіння соняшнику;
- утворюють непостійні структури клітини (то з'являються, то

зникають у процесі життєдіяльності клітини)

- накопичуються в розчиненому або твердому стані (можуть мати вигляд зерен, краплин).

Ядро — це органела, яка відмежована від цитоплазми ядерною оболонкою з двома мембранами і містить молекули ДНК, його можна роздивитись у світловий мікроскоп (рис. 9).



Рис. 9. Будова ядра

Складові	Характеристика
Ядерна оболонка.	Має пори, через які здійснюється транспорт різних речовин із цитоплазми всередину і навпаки — з ядра в цитоплазму.
Ядерний сік — внутрішнє середовище з розчинами, структурами з білків та ДНК (щільні тільця — ядерця, що містять білки та ДНК, які під час поділу клітини ущільнюються та утворюють хромосоми).	Ядерця утворюють складові рибосом, які згодом через ядерну оболонку виходять у цитоплазму і залишають ядро; ДНК містять спадкову інформацію.

Функції ядра:

- центр керування процесами життєдіяльності клітини, зокрема, регулює процеси утворення білків;
- зберігає спадкову інформацію щодо будови та функцій як самої клітини, так і всього організму завдяки молекулам ДНК.

Молекула ДНК — це довга молекула, що є носієм інформації про виробництво всіх необхідних клітині білків.

При кожному поділі дочірні клітини у спадок отримують копію ДНК материнської клітини.

Ген — ділянка ДНК, яка містить інформацію про один білок, має назву ген.

Клітинний центр — дві центріолі з центросферою. Містить білки, ліпіди, вуглеводи, ДНК і РНК.

Значення: бере участь у поділі клітини.

Мітохондрія (від грец. *мітос* — нитка і *хондріон* — зернятко) — це органели, які забезпечують клітину енергією, що витрачається на ріст клітини, утворення складних речовин з більш простих, транспорт речовин по клітині тощо (їх ще називають енергетичними станціями клітини (рис. 10).

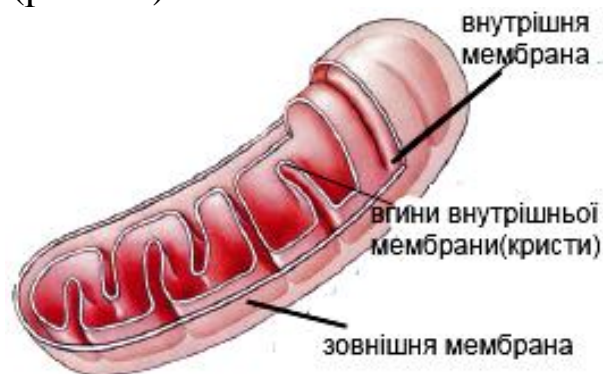


Рис. 10. Будова мітохондрії

Кількість мітохондрій у клітині може бути від 1 до 100 000 і більше, помітні лише під електронним мікроскопом.

Значення мітохондрій: виробляють енергію для забезпечення клітинних процесів.

Процес дихання в мітохондрії: глюкоза взаємодіє з киснем з утворенням води та вуглекислого газу (цей процес називають внутрішнім диханням), частина енергії, що виділяється при цьому, акумулюється в особливих молекулах АТФ, залишок хімічної енергії розсіюється у вигляді тепла.

Пластиди — органели рослинних клітин: лейкопласти, хлоропласти, хромопласти.

Лейкопласти (від грец. *левкос* — білий і *пластос* — виліплений) — безбарвні пластиди, що запасують вуглеводи, білки, олії.

Хромопласти (від грец. *хрома* — фарба і *пластос* — виліплений) забарвлені в різні кольори, крім зеленого: жовтий, червоний, фіолетовий тощо; ці пластиди надають різного забарвлення пелюсткам квіток, плодам, осінньому листю тощо.

Хлоропласти (від грец. *хлорос* — зелений і *пластос* — виліплений) — великі органели рослинних клітин, які містять хлорофіл, що забарвлює рослини у зелений колір, у яких відбуваються процеси фотосинтезу, добре помітні в світловий мікроскоп (рис. 11).

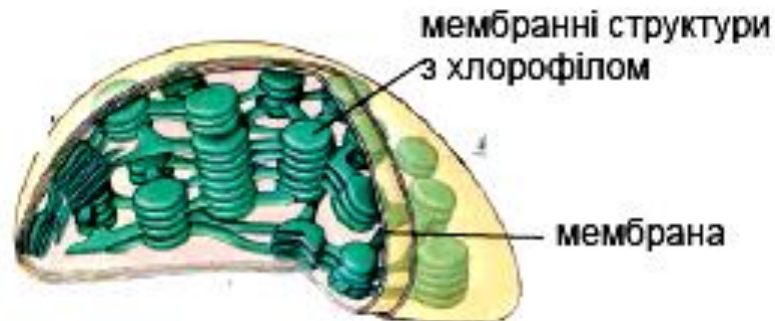


Рис. 11. Будова хлоропластів

Складові	Значення
Мембрана подвійна.	Оточує органелу.
Мембранні структури з хлорофілом — органічна речовина зеленого кольору.	Хлорофіл в процесі фотосинтезу уловлює сонячне світло та перетворює його в хімічну енергію, завдяки якій з вуглекислого газу та води утворюється глюкоза.

Процес фотосинтезу у хлоропластах: на світлі з води та вуглекислого газу утворюються молекули вуглеводів та кисень.

При фотосинтезі в хлоропласт надходять вуглекислий газ і вода, хлорофіл уловлює сонячне світло та перетворює його в хімічну енергію, завдяки якій з вуглекислого газу та води утворюється глюкоза.

При цьому вивільняється кисень, який виводиться в атмосферу.

Глюкоза може бути використана для утворення складних вуглеводів (наприклад, запасна речовина крохмаль); перетворення на інші прості органічні речовини, з яких згодом утворюються білки, жири, ДНК тощо; виробництва необхідної клітині енергії у мітохондріях.

Хромопласти на пластиди інших типів не перетворюються.

Лейкопласти за певних умов здатні перетворюватися на хлоропласти (це спостерігається у бульбах картоплі, які тривалий час

перебували на світлі) або хромопласти. Під час старіння листків, стебел, дозрівання плодів у хлоропластах може руйнуватися хлорофіл, і вони перетворюються на хромопласти (рис. 12).

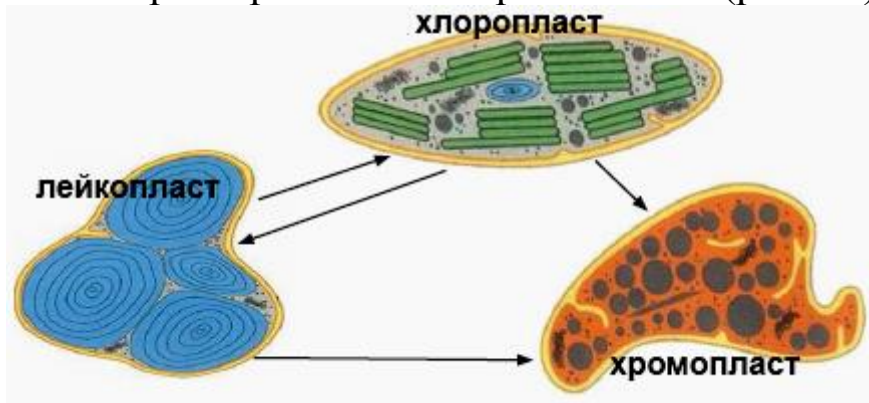


Рис. 12. Схема перетворення пластид

Порівняння мітохондрій та хлоропластів

Мітохондрія	Хлоропласт
<i>Відмінності</i>	
Бере участь у процесі дихання: глюкоза взаємодіє з киснем, розкладається на воду і вуглекислий газ, при цьому виробляє хімічну енергію.	Бере участь у процесі фотосинтезу.
Процес дихання безперервний.	Процес фотосинтезу відбувається на світлі.
Органела, що забезпечує клітину енергією в процесі дихання.	Органела, що в процесі фотосинтезу забезпечує клітину киснем для виробництва енергії у мітохондріях.
Помітна лише під електронним мікроскопом.	Добре помітні в оптичний мікроскоп.
Наявна в кожній клітині.	Наявна в рослинній клітині.
<i>Подібності</i>	
Органели клітини. Беруть участь у процесах клітини.	

Вакуоля (від лат. *вакуум* — порожнина) — одна з найбільших органел рослинної клітини, добре помітна в оптичний мікроскоп. У рослинній клітині сік міститься у вакуолі (рис. 13).



Рис. 13. Будова вакуолі

Відмежована від рідини цитоплазми мембраною, наповнена прозорим або забарвленим клітинним соком — водним розчином органічних і неорганічних речовин. Утворюються із пухирців, які відокремлюються від ендоплазматичної сітки, дрібні пухирці можуть зливатися в більші

Значення вакуолей:

- забезпечують збереження форми клітини (від тиску клітинна мембрана не розривається, бо над нею є міцна клітинна оболонка);
- надає пружності рослинній клітині (коли при посухах запас води втрачається, відбувається в'янення рослин);
- запасуються прості цукри та органічні кислоти — лимонна, яблучна, щавельна (фрукти та овочі мають кисло-солодкий смак);
- у клітинному соку можуть міститися речовини, забарвлені в різні кольори — червоні, сині, жовті (вони зумовлюють забарвлення квіток, плодів);
- частково виконує функції клітинного смітника (накопичує непотрібні клітині речовини).

Ендоплазматична сітка — розгалужена сукупність з'єднаних між собою тонких каналів та трубочок руху різних органічних речовин, які помітні під електронним мікроскопом (рис. 14).

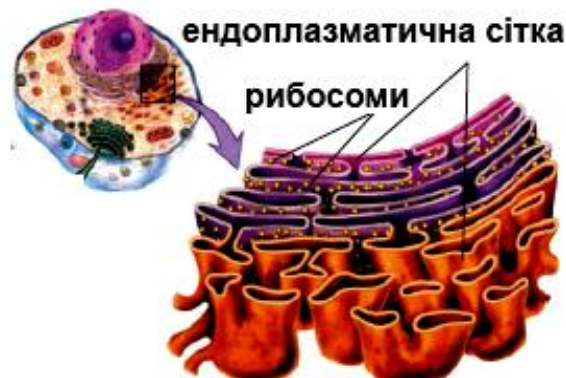


Рис. 14. Будова ЕПС

Значення ендоплазматичної сітки:

- зв'язує між собою основні органели клітини;
- шорсткі (грануляні) зовнішні стінки (мембрани) каналів ендоплазматичної сітки є місцем прикріплення рибосом, які синтезують білки;
- на мембранах гладенької ендоплазматичної сітки відбувається синтез ліпідів та вуглеводів;
- місце розміщення диктіосом — органел, які отримують речовини від ендоплазматичної сітки, сортують, готують до відправлення та «пакують» у маленькі мембранні пухирці, які відправляються до інших частин клітини, або до клітинної мембрани, звідки виводяться назовні (помітні під оптичним мікроскопом, але їх будову можна вивчити лише з допомогою електронного мікроскопа);
- забезпечує транспорт речовин у клітині.

Рибосоми — дрібні кулясті органели на канальцях ендоплазматичної сітки, у яких відбувається синтез білків, помітні лише під електронним мікроскопом (рис. 15).

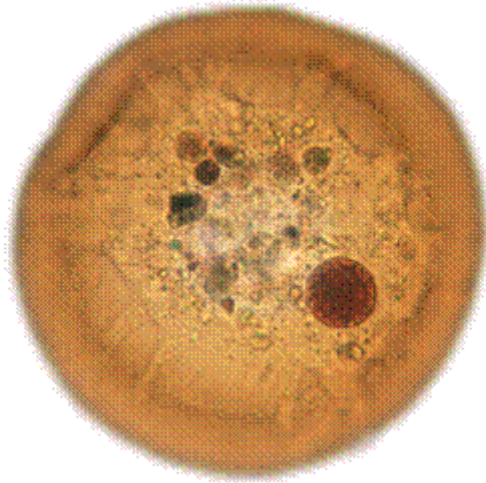


Рис. 15. Будова рибосом

Значення рибосом: забезпечують синтез білків.

Синтез — це процес з'єднання простих розрізнених частин у складне ціле.

Синтез білків — це процес, при якому прості речовини (амінокислоти), з'єднуючись одна з одною у певній послідовності, утворюють складну сполуку — білок.

Диктіосоми — органели, які отримують речовини від ендоплазматичної сітки, сортують, готують до відправлення та

«пакують» у маленькі мембранні пухирці, які відправляються до інших частин клітини, або доклітинної мембрани, звідки виводяться назовні. Помітні під оптичним мікроскопом, але їх будову можна вивчити лише з допомогою електронного мікроскопа.

Клітинна будова тварин та особливості клітин тварин.

Як і всі живі організми, тварини ростуть, розвиваються, розмножуються. Умовою їх життя є обмін речовинами, а разом із ними і енергією, з навколишнім середовищем.

Одні речовини надходять до організму тварини, інші виділяються. Речовини, що надходять ззовні, потрапляють до клітин — «цеглин», із яких складається організм. У клітинах вони беруть участь у безлічі хімічних перетворень.

Клітину часто порівнюють із хімічним заводом — у ній безперервно відбуваються численні реакції, за перебіг яких «відповідають» складові клітини.

Важливою складовою будь-якої клітини є оболонка. Пригадаймо: оболонка рослинної клітини складається зі щільної клітинної стінки, встеленої плазматичною мембраною. У клітині тварини внутрішній вміст відокремлений від навколишнього середовища лише плазматичною мембраною (рис. 16).

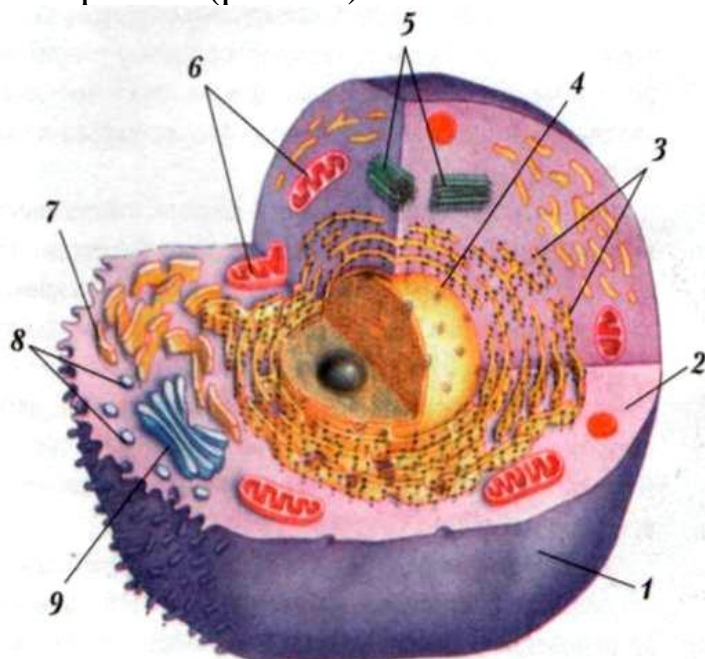


Рис. 16. Будова клітини тварини

*1 – плазматична мембрана; 2 – цитоплазма; 3 – рибосоми; 4 – ядро;
5 – клітинний центр; 6 – мітохондрії; 7 – ендоплазматична сітка; 8 – лізосоми;
9 – апарат Гольджі*

Товщина мембрани становить 0,000007 мм, і цей якнайтонший бар'єр не лише відмежовує клітину від навколишнього середовища, але й забезпечує зв'язок із ним.

Плазматична мембрана не є перепорою для малих молекул неорганічних речовин. Так, через усю мембрану до клітини дифундують молекули кисню і води, а з неї — молекули вуглекислого газу. З великими органічними молекулами справа складніша: щоб їх захопити, плазматична мембрана утворює впщини і вирости. Коли їх краї стуляються, виникає оточений мембраною пухирець, що разом зі своїм «вантажем» опиняється всередині клітини. Цей процес називається *ендоцитозом*.

У пухирцях, утворених у результаті ендоситозу, великі органічні молекули розщеплюються на молекули такого розміру, що здатні подолати мембрану. За допомогою мембранних пухирців речовини можуть виділятися із клітини. Навколо їх молекул утворюється пухирець, який рухається до плазматичної мембрани. Коли з нею зливається мембрана пухирця, його «вантаж» опиняється за межами клітини. Цей процес називається *екзоцитозом*.

Внутрішній вміст тваринної клітини — це цитоплазма з численними органелами і ядро. Майже всі вони є і в рослинній клітині. Проте у тваринній клітині немає не тільки пластид, але й вакуолей із клітинним соком. Цитоплазма на 80–90% складається з води, решта — це молекули та іони різних органічних та неорганічних сполук. Цитоплазма схожа на густий кисіль, де постійно відбуваються хімічні реакції: одні речовини розщеплюються, інші утворюються. Цитоплазма постійно рухається, тому весь час переміщуються і деякі органели, що в ній розташовані. Більшість хімічних реакцій «розподілена» між органелами клітини.

У *рибосомах* відбувається синтез білків. Унаслідок хімічних перетворень в *апараті Гольджі* молекули певних речовин упаковуються в спеціальні пухирці: саме за їх допомогою ці речовини виводяться з клітини. Апарат Гольджі «виготовляє» також і *лізосоми*. Ці органели необхідні клітині для розщеплення органічних молекул.

Як і в рослин, у тварин дихання відбувається за участю *мітохондрій*. Саме в них проходять хімічні реакції, що забезпечують клітину енергією. Один із реагентів у них — кисень, а продуктами цих реакцій є вода і вуглекислий газ, що виділяється з клітини.

Як і в рослинній клітині, за здійснення програми

життєдіяльності тваринної клітини відповідає **ядро**. У ньому зберігаються довгі (до 1 мм) молекули речовини, в якій закодована «програма життя» організму. Щоб займати менше місця, ці довгі молекули згортаються декілька разів і утворюють **хромосоми**.

Коли клітина ділиться, хромосоми мають бути розподілені між дочірніми клітинами так, щоб кожна з них отримала від материнської клітини цілісну «програму життя». Тому перед поділом клітини кількість хромосом подвоюється. За те, щоб кожна дочірня клітина отримала під час розподілу повний набір хромосом, відповідає **клітинний центр**.

Це єдина органела тваринної клітини, яка відсутня в рослинній клітині.

2. БУДОВА ХРОМОСОМ. СЕГРЕГАЦІЙНА ФУНКЦІЯ ХРОМОСОМ. МОРФОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ ХРОМОСОМ

Будова хромосом.

Хромосоми — це основні функціональні ауто репродуктивні структури ядра, в яких концентрується ДНК і з якими зв'язана функція ядра. Хромосоми отримали назву від того, що в період мітотичного поділу, коли вони конденсуються, — добре забарвлюються основними барвниками (від грец. *Chromos* — забарвлений, *soma* — тіло). В інтерфазному ядрі хромосоми частково деконденсовані і тому їх звичайно сумарно називають хроматином, як відзначалося вище.

Хромосоми є дезоксирибонуклеопротеїдами (ДНП), тобто вони складаються з ДНК і білків, на які приходить 60–70% від сухої маси хромосом. ДНК — це біополімер, мономерами якого є нуклеотиди, які складаються з трьох компонентів:

- азотиста основа (пуринова або піримідинова);
- вуглевод пентоза (дезоксирибоза);
- фосфатна група.

Азотисті основи з'єднуються одна з одною не випадково, а точно визначеним чином — шляхом так званого комплементарного спарування азотистих основ: пуринова основа (аденін) завжди спаровується з піримідиною основою (тиміном), а цитозин (піримідинова основа) — з гуаніном (пуриною основою).

На гаплоїдний набір в ядрі діаметром близько 5 мкм приходить 170 см ДНК, упакованої у вигляді фібрил 20 нм завтовшки. У сперматозоїдах морського їжака молекула ДНК хромосоми має довжину від 1 м до 22 м. Довжина молекули ДНК в одній хромосомі першої пари людини складає 73 мм. Як бачимо, в такому малому об'ємі ДНК ядра міститься така велика інформація на синтез всіх видів білка організму, а також закодована диференціація. У хромосомах відібрані в процесі філогенезу лише ті структури, які забезпечують необхідні функції.

Під електронним мікроскопом в хромосомі виявляються елементарні **хромосомні фібрили**, побудовані з ДНК і білка. У хромосомах розрізняють різні рівні їх організації.

Нуклеосомний рівень.

Нуклеосома — структурна одиниця хромосоми в

неконденсованому хроматині містить октамер гістонів, який складає її стержень. Навколо октамера накручені два витки ДНК. Гістони мають фізіологічно позитивний заряд завдяки наявності в них великої кількості амінокислот лізину та аргініну, а присутність фосфатних груп в нуклеотидах надає ДНК негативного заряду. Іонна взаємодія між позитивними зарядами гістонів і негативними ДНК, очевидно, є важливою силою стабілізації нуклеосом. До складу нуклеосоми входить від 10 до 60 нуклеотидних пар, які разом з молекулами гістонів складають утвори завтовшки 10 нм (за іншими даними 11 нм). ДНК між двома нуклеосомами має назву *лінкерної* і товщину 2 нм.

Нуклеомерний рівень — більш конденсована ділянка хроматину — суперспіраль — діаметром 30 нм займає від 140–166 нуклеотидних пар. Дальша конденсація (компактизація) ДНП здійснюється за допомогою ДНК-зв'язуючого гістона, веде до утворення хромонем, або хромонемних фібрил завтовшки від 300 до 700 нм.

Найвищий — *хромомерний і хромосомний рівень організації хромосом* (остаточна їх конденсація). Кожна мітотична хромосома утворює бічні петлі, сформовані ділянкою ДНП завтовшки близько 400 нм (типова хромосома людини може містити до 400 таких петель). Ці так звані *петлеві домени ДНК* мають середній розмір приблизно 86 тисяч пар нуклеотидів (т.п.н.) і прикріплюються у своїй основі до білкових скелетних структур ядра, а саме до *ядерного матриксу* або *остову хромосом*.

Ядерний матрикс забезпечує структурні властивості ядра як клітинної органели та зазнає структурних модифікацій, пов'язаних з проліферацією, диференціацією та змінами, необхідними для забезпечення експресії необхідного набору генів. Регуляторні функції матриксу включають (але не обмежуються цим) просторову локалізацію генів, накладення фізичної напруженості на структуру хроматину внаслідок формування петлевих доменів, концентрацію та націлювання транскрипційних та реплікаційних факторів, процесинг та транспорт РНК та ін.

Доменний розподіл ДНК зберігається протягом клітинного циклу та в термінально диференційованих клітинах. Петлева будова хроматину складає основу для просторової організації генетичного матеріалу в клітинному ядрі і забезпечує належне функціонування геному. У результаті остаточного ущільнення метафазна хромосома має товщину 1400 нм.

Розглядаючи будову хромосоми, у першу чергу слід зауважити, що за масою розрізняють два типи хромосом:

- *s-хромосоми*, побудовані з однієї хроматини;
- *d-хромосоми*, що мають у своєму складі 2 хроматиди.

Після поділу клітини в дочірніх клітинах є *s-хромосоми*, а в інтерфазі відбувається дуплікація (подвоєння) ДНК і хромосоми набувають подвійної маси, перетворюються в *d-хромосоми*.

Морфологію хромосом прийнято описувати на прикладі метафазної хромосоми, коли вона найбільш конденсована і складається з двох хроматид. Така хромосома є паличкоподібною структурою, утвореною з двох субодиниць конденсованої ДНК разом з білковими глобулами. Розміщені хроматиди одна поряд з другою і з'єднані лише в одній ділянці, названій *первинною*, або *центричною перетяжкою*, яка ділить хромосому на два плеча. На центричній перетяжці *d-хромосоми* знаходиться *центромера* (центромер), з обох сторін якої містяться дископодібні структури — *кінетохори* (від грец. *kinetos* — рухомий, *chora* — простір). У метафазі кінетохори ініціюють формування хромосомних (кінетохорних) мікротубул мітотичного веретена.

На деяких хромосомах є ще *вторинні перетяжки*, які забарвлюються слабо основними барвниками. Розміщення їх і глибина різні в різних хромосомах, але постійні для кожної з них (їх у людини 5 пар). Називаються такі хромосоми *організаторами ядерця*, оскільки вони утворюють ядерця після мітотичного поділу клітини, під час якого ядерця зникають.

Теломери — це кінцеві ділянки хромосом, що мають специфічні особливості — полярність (монополярність). При хромосомних абераціях (перебудовах), коли хромосоми розриваються, окремі їх ділянки ніколи не з'єднуються з кінцем теломера.

Супутники (трабанти, або сателіти) є в окремих хромосомах (*sat-хромосомах*), мають різні розміри і форму; це круглі або видовжені тільця, з'єднані з рештою хромосоми тонкою хроматиною ниткою.

Необхідно ще раз підкреслити про безперервність існування хромосом, ніякої деградації, ніякого демонтування хромосом немає, є лише два основні стани:

- конденсований — при мітозі,
- деконденсований (тою, чи іншою мірою) — в інтерфазі.

Ділянки хромосом, які конденсуються при мітозі і

деконденсуються в інтерфазі, називаються *еухроматиновими районами* хромосом, а такі ділянки, що залишаються конденсованими в інтерфазі, носять назву *гетерохроматинових районів*. Еухроматинові райони є активними ділянками хромосом, вони містять активні гени, їх у клітині від 0,0001 до 0,001 від усієї кількості генів.

Зауваження! Вивчаючи хромосоми, слід пам'ятати, що інформація в ДНК хромосом дублюється. Так, кожний тяж ДНК має дві ідентичні (такі самі) половини, обернені в протилежну сторону. Таким чином кожен ген, кожна інформація в ДНК продубльовані. Крім цього, в хромосомі є дві хроматиди (дві молекули ДНК), і тут маємо ще одне подвоєння інформації. Коли клітина готується до поділу (в S-періоді) і редує хромосоми до диплоїдного набору (тетради хроматид — 4 стрічки ДНК), відбувається дальша дуплікація інформації (генів). У диплоїдному наборі є по дві гомологічні (рівнозначні) хромосоми, так що перед мітозом інформація є ще раз подвоєною. Дві гомологічні хромосоми не обов'язково містять ідентичні гени, вони радше можуть бути видозмінами даного гена, і тому в генетиці їх називають *алелями*.

В інтерфазному ядрі, коли частина хромосом більшою чи меншою мірою деконденсована, окремих хромосом розрізнити неможливо навіть у найкращому електронному мікроскопі. Однак, вдалося виявити, що розміщення їх в ядрі має певну закономірність: центромери і теломери розташовані маргінально під каріолемою, з одного боку ядра містяться теломери, з іншого — центромери.

В інтерфазі у самок в активному стані знаходиться лише одна X-хромосома, друга не бере участі в синтетичних процесах, залишаючись конденсованою, неактивною. Її можна бачити в ядрі (біля ядерця або при каріолемі) у вигляді малого хроматинового тільця — *тільця Бара*, або статевого хроматину. Дослідження статевого хроматину використовується для визначення статі і виявлення генетичної патології.

Довжина хромосом у різних видів коливається від 0,2 до 50 мкм, а діаметр від 0,2 до 3 мкм, у Людини довжина хромосом в середньому 4–6 мкм. У різних видів кількість хромосом різна, в диплоїдному наборі людини є 46 хромосом, собаки — 22, щура — 42, дрозофіли — 8, кукурудзи — 20, цибулі — 16, жита — 14.

Класифікувати хромосоми можна по-різному: за розмірами, формою. Найчастіше розрізняють хромосоми за стадіями мітозу і

залежно від розміщення первинної перетяжки. Зокрема, за розміщенням первинної перетяжки хромосоми поділяють на:

- **метацентричні** з медіанним розміщенням первинної перетяжки, які мають однакові плечі;
- **субметацентричні** з субмедіанною локалізацією перетяжки — з одним плечем довшим, а другим — коротшим;
- **ахроцентричні** — з субтермінально розташованою первинною перетяжкою, мають одне плече дуже коротке, а друге значно довше,
- **тілоцентричні** — з розміщенням первинної перетяжки у ділянці тіла міри хромосоми,
- **ацентричні** — з відсутньою первинною перетяжкою (тимчасові, патологічні випадки, рідкісно помітні), не утворюють кінетохорних мікротубул, у зв'язку з тим не можуть переміщатися до полюсів і тому губляться.

Атипові хромосоми можуть виникати внаслідок хромосомних аберацій (перебудов) частіше при мейозі.

Дицентричні хромосоми мають дві центромери, які появляються при з'єднанні двох центромерних ділянок після їх відриву від хроматид.

За стадіями мітозу хромосоми поділяються на:

- **профазні**;
- **метафазні** (це *d*-хромосоми);
- **анафазні**;
- **телофазні** (*s*-хромосоми).

При чому метафазні хромосоми мають вигляд ікса або циркуля (ахроцентричні), проте як анафазні наполовину тонші, а телофазні починають деконденсуватися.

Розрізняють також **соматичні** (в людини їх 22 пари) і **статеві** (одна пара) хромосоми. Останні в жінок однакові (XX-хромосоми), у чоловіків різні (XY-хромосоми).

Існують окремі види хромосом, які трапляються лише в певних клітинах і мають деякі особливості будови. Це політенні і хромосоми типу лампових щіток.

Політенні (від грец. *Poly* — багато і *tenia* — нитка), або **багато ниткові** (гігантські) хромосоми, які мають по декілька сотень хромонем, що виникли внаслідок **ендомітозної поліплоїдії**, коли число хромосом (і відповідно ДНК) збільшується, а хроматиди (дочірні хромосоми) не розщеплюються і, значно потовщуючись,

набувають гігантських розмірів (довжина 100–250 мкм і ширина 15–25 мкм). Наприклад, хромосоми в клітинах слинних залоз деяких двокрилих.

Хромосоми типу *лампових щіток* — дуже довгі, тонкі, сильно деспіралізовані хромосоми, характерні тим, що в них чергуються конденсовані ділянки з деконденсованими подвійними петлями. Спостерігаються в овоцитах хребетних на стадії диплонеми мейозу. Хромонеми в бічних петлях інтенсивно синтезують РНК, що пов'язано з активацією процесів росту і жовткоутворення.

У клітинах окремих видів, наприклад у жита й кукурудзи, зустрічаються форми, які поряд з основними постійними компонентами каріотипу (так званими *A-хромосомами*) містять ще додаткові, або *B-хромосоми*. Кількість їх може варіювати. *B-хромосоми* складаються з гетерохроматину і виявляються генетично інертними. У процесі поділу ядра вони розподіляються хаотично. Декотрі спеціалізовані, а також ракові клітини, можуть мати нетиповий хромосомний комплекс.

Залежно від кількості хромосом — структурних одиниць хромосом — визначають їх плоїдність. Існує *диплоїдний* набір, характерний для соматичних клітин, коли хромосоми виступають в гомологічних парах (позначається $2n$). У людини диплоїдний набір дорівнює 46 хромосомам.

Гаплоїдний набір характерний для зрілих статевих клітин, хромосоми тут виступають поодинокі (n), для людини — 23 хромосоми. Трапляються випадки наявності у клітинах іншої кількості хромосом. Кратне збільшення числа хромосом відносно до гаплоїдного носить назву *поліплоїдії*, зокрема розрізняють тетраплоїдний ($4n$), пентаплоїдний ($5n$) та інші набори хромосом.

В основі подвоєння маси хромосом лежить *аутосинтез ДНК* (реплікація). При реплікації ДНК подвійний її ланцюг розплітається і до кожної його половини приєднуються нуклеотиди за принципом комплементарного спарювання азотистих основ: аденін з'єднується з тиміном (А–Т), а гуанін з цитозином (Г–Ц). Таким чином, у кожній молекулі ДНК після реплікації буде половина старої молекули, а половина нової. Такий шлях реплікації називається *напівконсервативним* (рис. 17).

Коли ДНК реплікувала таким чином, але утворені ланцюги розплітаються і нова половина однієї молекули сполучається з новою другої, а одна старої — з другою старої, то це буде *консервативний*

шлях реплікації ДНК.

Буває ще **дисперсний** шлях, коли чергуються ділянки по-різному реплікованої ДНК. Для синтезу ДНК потрібні ферменти: ДНК-полімераза синтезує фрагменти ДНК, ДНК-лігаза — зшиває їх, ендонуклеаза здійснює розриви в поліпептидному ланцюгу при необхідності заміни зіпсутої частини ДНК.

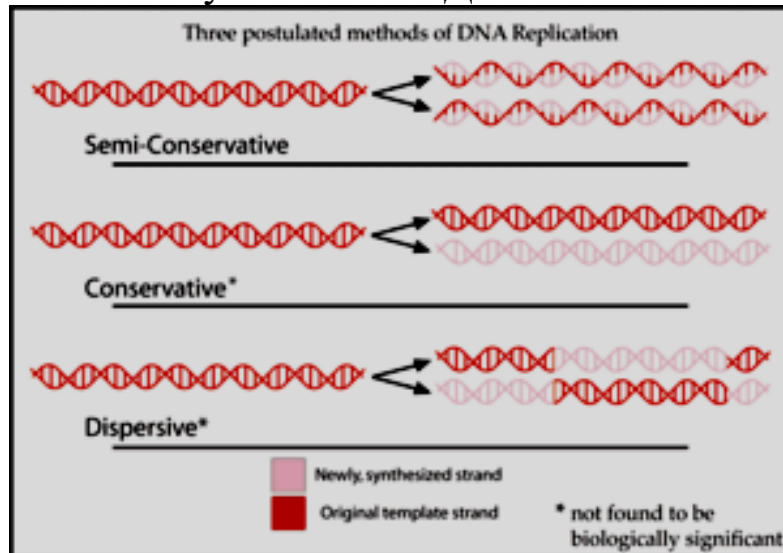


Рис. 17. Схема релікацій ДНК

Хромосоми несуть генетичну інформацію про синтез білка, виконують головну «командну» роль у визначеності специфічності білка. Не можна забувати, що інформація про синтез білка закодована в ядрі, у ДНК, а синтез білка відбувається в цитоплазмі. Як же потрапляє інформація про синтез білка з ядра в цитоплазму? Вона передається через інформаційну РНК, синтезовану в ядрі на половині ДНК і передану через порові комплекси каріолеми в цитоплазму.

РНК синтезується на деконденсованих ділянках ДНК — еухроматинових районах, де містяться активні гени (їх у клітині від 0,0001 до 0,001 від загальної кількості). Слід нагадати, що еухроматиновими районами хромосом називають ділянки ДНК, які деконденсуються в інтерфазі і конденсуються під час мітозу, гетерохроматинові райони не деконденсуються в інтерфазі. Факультативний гетерохроматин може деконденсуватися в інтерфазі, а структурний — залишається конденсованим весь клітинний цикл. Одна з X-хромосом у жіночому наборі є постійно конденсованою і її виявляють у ядрі як статевий хроматин.

Сегрегаційна функція хромосом.

Однією з найважливіших функцій, яку виконують у клітинах

хромосоми є забезпечення регулярного, впорядкованого розподілу, сегрегації генетичного матеріалу під час мітотичного ділення, а також при мейозі та гаметогенезі. Сегрегаційна функція хромосом контролюється складними генетичними системами, для порозуміння яких використовують метод створення генетичних і цитогенетичних моделей. Підставою останніх є виявлення мінливості за генами, що контролюють процеси в ядрі та цитоплазмі клітини при мітотичних та мейотичних діленнях.

Матеріали про генетичний контроль процесів мейотичного і мітотичного кросинговера свідчать про детермінацію цих процесів різними системами генів. Основні положення теорії мейотичного кросинговеру належать науковій школі Т.Х. Моргана, це:

- 1) Кросинговер відбувається тоді, коли триває кон'югація гомологічних хромосом і кожна хромосома у біваленті (тетраді) складається з двох хроматид (діад);
- 2) У кожному місці до обміну допускаються лише дві хроматиди з чотирьох;
- 3) Вздовж всього біваленту обміни можуть відбуватися багаторазово;
- 4) Кросинговер — це матеріальний обмін ділянками між хроматидами;
- 5) Кросинговер пов'язаний із хіазмами, які починаються у бівалентах зі стадії диплотени профазі I.

Хроматидна природа кросинговеру під час мейозу була доведена С. Bridges (1919), Е. Anderson (1925) на дрозофілі та М. Rhoades (1933) на кукурудзі, проте як під час мітозу — С. Stern (1936) на дрозофілі.

Частота виникнення кросинговеру та правило аддитивності дозволили виявляти локалізацію генів на хромосомах і відстань між ними.

Генетична відстань, на якій кросинговер виникав з вірогідністю 1% одержало назву *сантіморган (сМ)* чи *морганіда (М)* на честь Т.Х. Моргана. Разом з тим, між сусідніми ділянками був виявлений взаємовплив, який окреслили *хромосомною*, або *хіазменною інтерференцією (І)*.

Її величину за пропозицією Н. Muller (1916) оцінюють за допомогою *коінциденції (С)* (від англ. *to coincide* — співпадати):

$$C = \frac{\text{практично одержані множинні обміни (\%)}}{\text{теоретично очікувані множинні обміни (\%)}} \cdot$$

Якщо $C < 1$, то I позитивна, тобто одинарний обмін блокує обміни на сусідніх ділянках хромосом.

Якщо $C > 1$, то I негативна, тобто спонукаються чисельні обміни.

У загальному вигляді залежність частоти рекомбінант від реальної відстані при врахуванні множинних обмінів характеризує функція Дж. Холдейна:

$$rf(d) = 0,5 (1 - e^{-2d}),$$

де rf — картуюча функція, d — реальна відстань на якій відбуваються обміни, e — основа натурального логарифму.

Іншими словами функція Дж. Холдейна свідчить, що при збільшенні відстані rf наближується до 0,5, тобто між генами розташованими досить далеко налічується біля 50 одиниць рекомбінації.

При множинному маркуванні досить довгої ділянки хромосоми частота рекомбінації на ньому може бути врахована досить точно. На підставі цього стали складати *цитологічні карти хромосом* — схематичні відображення з визначенням місць локалізації генів, а розмірність оцінювалась у фізичних одиницях. Для цього хромосоми нумеруються римськими цифрами починаючи з самої великої за розмірами; на них виділяються відділи заголовними літерами латинської абетки, а диски нумеруються арабськими цифрами.

Важливим моментом вивчення структури хромосом є те явище, що при повному співпаданні порядку розташування генів на генетичних і цитологічних картах хромосом відносні дистанції між генами є специфічно модифікованими: близько розташовані гени проміж собою на генетичних картах у прицентромірних і тіломірних ділянках фактично знаходяться на відносно великих відстанях у мітотичних хромосомах або у політенних хромосомах, як це і встановив Ф.Г. Добжанський (1930, 1932).

При вивченні сегрегації хромосом прийнято вести комплексну оцінку всіх можливих впливових факторів на перебіг цих процесів.

Так, оцінку мутацій, що впливають на будь-які етапи мітозу, здійснюють лише у випадку її фенотипового прояву. На підставі таких досліджень комплектують генетичні колекції мутацій, як це здійснив G. Simchen (1978) на пойкилотермних дріджах при визначенні генів **cdc** (від *cell division cycle*), що контролюють етапи клітинного циклу (рис.18).

Клітинний цикл

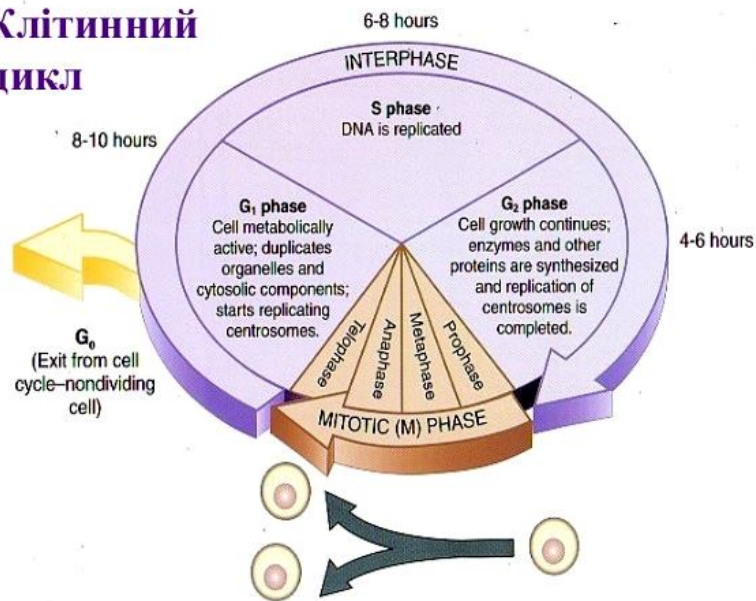


Рис. 18. Етапи клітинного циклу

Це дозволило сподіватись на можливість розподілення кожного з наведених етапів на ланцюг послідовних подій (як це було зроблено із генами **cdc 28**, **cdc 4** і **cdc 7**), або виявити взаємовпливи компонентів всієї системи, що забезпечує перебіг конкретного етапу клітинного циклу.

Мейоз — один з важливіших процесів у життєвому циклі організмів із статевим розмноженням, оскільки тільки характерна для цього процесу редукція числа хромосом здатна компенсувати у кожній генерації подвоєння кількості хромосом при злитті статевих клітин.

Серед них основні — редукція кількості хромосом та здійснення із достатньою частотністю процесу регулярної внутрішньохромосомної рекомбінації — **мейотичного кросинговера**. Обидві особливості тісно пов'язані і навіть взаємозумовлені, оскільки і для редукції, і для кросинговеру необхідна кон'югація гомологічних хромосом, а утворення хіазм у бівалентах, як результат кросинговера, у більшості організмів забезпечує чіткість розходження хромосом при редукційному діленні.

Здійснення редукції при мейозі характеризується багатьма характерними рисами цього специфічного типу клітинного поділу:

1. Один цикл реплікації хромосом на два ділення (відсутність реплікації перед другим мейотичним діленням).
2. Коректна кон'югація гомологічних хромосом у профазі першого ділення мейозу.

3. Збереження зв'язку між сестринськими хроматидами у районі центромір впритул до анафази другого мейотичного ділення.
4. У більшості випадків кон'югація гомологічних хромосом пов'язана з формуванням структур синаптонемного комплексу (СК).

У багатьох видів рослин, мікроорганізмів та деяких тварин відкриті чисельні мутації, які є впливовими на різні етапи мейозу і при цьому життєздатність носіїв не знижувалась. Сталим залишився їх ріст через мітотичні ділення. Все це свідчить про специфічність системи генів щодо контролю процесу мейозу і не впливаючих, одночасно, на мітоз.

Ця система генів детермінує різні етапи мейозу, навіть ті функції, які підставно було очікувати ідентичними до відповідних функцій у мітозі.

Крім того, дослідження мейотичних мутацій (мей-мутації) у *D.melanogaster* свідчать, що генетичний контроль мейозу здійснюється неоднаково в ово- і сперматогенезі, оскільки більшість вивчених мей-мутацій у самців не має прояву.

При дослідженні мей-мутацій було виявлено, що багато з них характеризується цілим спектром аномалій мейозу у порівнянні до дикого типу. Більш за все виявлено мутацій, які впливають на кон'югацію хромосом. На жаль, найчастіше вплив на кон'югацію мав реєстрацію у діакінезі профазі 1 чи у метафазі 1. Відсутність таких спостережень на пахитенній стадії не дозволяє встановити конкретний ефект багатьох мутацій — асінапсис чи десінапсис. Значна частина плейотропного ефекту була наслідком першого, найбільш раннього порушення у ланцюгу подій процесу мейоза, як *ameotic* мутація кукурудзи (ген *am*), *mi* мутація ячменю та ін.

До мей-мутацій відносять асиноптичні мутанти *C(3)G* *D.melanogaste* (M. Gowen, J. Gowen, 1922), *mei 1* у жита, *as1* і *as 4* у томатів, *dsy* та *dsy 2* у кукурудзи, а також десинаптичні мутації, як було виявлено на гороху W. Gottschalk, H. Klien (1976). Можливим наслідком таких процесів є незбалансований розподіл хромосом із наступною високою стерильністю продуктів мейозу. Множинність генів, ефект яких залежний від детермінації нормальної кон'югації хромосом у одного виду, мабуть, обумовлений складною багатокомпонентною системою у клітині, що забезпечує сам процес кон'югації. До цієї системи, можливо, належать ферменти синтезу білків — компонентів СК ядра, структурні гени цих білків, гени контролю пересування цих білків з ядра до міст призначення. Ця

система може мати гени контролю реплікації зигДНК і ліпопротеїни комплексу, що необхідні для цієї реплікації.

Значно менше відомо про те, за рахунок яких причин може передчасно порушуватися кон'югація, проте саме такий ефект досягається при мутаціях особливо великої кількості генів.

Відсутність бівалентів у діакінезі — метафазі 1 асінаптических та десінаптических мутантів часто визначають як наслідок передчасного розподілу сестринських хроматид у центромірній ділянці поза в анафазі 1, як це відомо для мутантів **as1** та **as3** у *Brassica campestris*. Тому перший поділ мейозу є скоріше екваційним, ніж редуційним, а другого поділу просто не відбувається, хоча продуктом поділу все ж є спори і тому цей поділ класифікують мейотичним. В іншому випадку зустрічається процес створення ядер із незбалансованим набором хромосом з наступною високою стерильністю спор (мутанти **afd**, **as1**, **dsy**, **dsy2**).

До мей-мутацій відносять ефект *sticky*-асоціація хромосом у щільну пікнотичну масу (*st*, *Mei025* за кукурудзою, *st* за твердою пшеницею, *Cst* за *Collinsia tinctoria*), ефект відсутності другого ділення (*dy* у *Datura stiamonium*), ефект раннього розподілу центромір сестринських хроматид (*ord* і *mei-S332* у дрозофіли), аномалії веретена (*dv-divergent spindle*, *cand* у *D.melanogaster*) та ін.

У рослин відомим є ще один клас мутацій, коли ділення у мікроспорах настає незабаром після завершення другого мейотичного ділення. Припускають, що через певну причину настає термінація мейозу і поділ відбувається із нереплікованими хромосомами гаплоїдного набору. До генів контролю цього явища відносять ген *po* (polymiotic) кукурудзи та гени **tm 1** та **tm 2** (tetrad mitosis) жита.

Встановлена якісна залежність різних мей-мутацій на кросинговер. Так, мутації **mei 9** дрозофіли та у лінії «X» у *Crepis capillaris* викликають пропорційне пригнічення частоти кросинговеру у порівнянні до розподілу цих частот у різних районах хромосом у організмів дикого типу. У той як мутації **mei 218**, **mei 41**, **mei 352** у дрозофіли мають неоднорідний вплив явища у прицентромірних і дистальних сайтах хромосом.

Таким чином, вивчення мей-мутацій дозволило обґрунтовано стверджувати про наявність генетичного контролю не тільки загального рівня реконбінаційного процесу у хромосомах, але і властиву виду неоднорідність ймовірних обмінів на різних ділянках хромосом. Мутації деяких генів змінюють саме характер такої

неоднорідності.

Мейотичні мутації, вірогідно, мали суттєву роль у виникненні видів рослин з апоміктичним розмноженням і тварин з регулярним партеногенезом. За наявності селективних переваг такі форми широко розповсюджувалися коли генетична рекомбінація за рахунок кросинговеру і комбінація хромосом при розходженні у редукційному діленні були неможливими.

Особливий клас хромосом спостерігав одним із перших E. Wilson (1905) у *Matopodius Terminalis*. Їх наявність у каріотипі у невеличких дозах на фенотип не проявляється і тому однією з перших назв цих структур було «*зверх чисельні*» (*supernumerary*), у той час як нині це за трактовкою L. Randolph (1928) є В-хромосоми, а решта хромосом, що складають каріом організму – А-хромосоми.

В-хромосоми не гомологічні жодній з А-хромосом; у них, мабуть, не накопичено будь-якого специфічного генетичного матеріалу, не має генів із експресією на суттєві життєві функції організму; це гетеропікнотичні щільні компактні блоки гетерохроматину з реплікацією у кінці S-фази з дуже малими розмірами (*m-chromosomes, diminutive chromosomes, minute accessories* або *fragment chromosomes*). В-хромосомам притаманна соматична елімінація, збільшення чисельності у послідовних генераціях при статевому розмноженні з утворенням головного гаметофіту, регуляція на зменшення плодючості і навіть виникнення стерильності, виклик хромосомних аберацій у А-хромосом, регуляція процесу кросинговеру та ін.

На думку багатьох вчених для правильної сегрегації хромосом важливе місце займає центромір, який або активно забезпечує, або є місцем дії сил, які забезпечують:

- 1) розподіл хромосом у екваторіальній площині до стадії метафази;
- 2) орієнтацію хромосом на веретені відносно полюсів ділення;
- 3) пересування хромосом чи хроматид до полюсів ділення.

Сутєвий момент у забезпеченні сегрегаційної функції хромосом у мітозі й мейозі — повздовжній розподіл хроматид на ділянці центромір у чітко визначений момент — на початку анафази мітоза чи на початку анафази 2 мейоза.

Передчасний розподіл сестринських хроматид за центромірами призводить до різкого порушення розподілу хромосом у мейозі.

У деяких організмів була виявлена так звана нецентромірна активність, що пов'язано гетерохроматиновими вузелками (*knods*) і

проявляється на думку M. Rhoades, H. Vilkomerson (1942) при наявності хромосоми 10. Вона відображалась у формі «*пріоритетного розчеплення*» (preferential segregation) та характерна для маркерів хромосом (A. Longley, 1945). Таке розчеплення потребує наявності наступних умов:

- 1) гетерозіготність за алелем піддослідного гену;
- 2) гетерозіготність за наявністю *knobs* у тій хромосомі, де локалізован піддослідний ген;
- 3) присутність надзвичайної хромосоми 10;
- 4) дослідження результатів мейозу при мегаспорогенезі.

Дослідами M. Rhoades (1952) встановлено наявність діад-пар хроматид, як наслідок кросинговера з такою залежністю, що чим більше до *knobs* буде обраний ген-маркер, тим більше вірогідність знаходження на такій хромосомі вихідного алелю цього гену, що і забезпечується нецентромірною активністю.

Одже, всі вище сформульовані явища збільшують обсяг знань щодо генетичного контролю сегрегації хромосом і складають основу для вивчення системності в організації функціонування каріома і, притаманних йому, гетерохроматинових ділянок.

Морфометричний аналіз хромосом.

Аналіз хромосом у клітинах тварин і рослин різних видів дає змогу з'ясувати ряд загальних закономірностей, що мають важливе значення при вивченні явищ спадковості і мінливості, здійснювати паспортизацію видів і порід.

Прийнято сукупність кількісних і структурних особливостей диплоїдного набору хромосом ($2n$) одного виду називати **каріотипом**. Саме у ньому накопичена генетична інформація особини, зміна якої спричиняє зміну ознак і функції. Своєчасне виявлення генетичних порушень дозволяє запобігти подальшому їх розповсюдженні в популяції.

Каріотипування — діагностичне дослідження для оцінки каріотипу, визначення метафазних хромосом окремих зручних для дослідження клітин цього організму. Таким методом можна визначити каріотип виду чи індивіда, а також хромосомні аномалії організму.

Каріотип — це група ознак (число, форма, розміри) набору хромосом певного виду (тварин чи рослин) чи індивіда.

Визначають каріотип шляхом вивчення хромосомного набору

представників відповідного виду. В основу класифікації хромосом покладена їх довжина, відношення розмірів довгого і короткого плеча, а також наявність вторинної перетяжки і сателітів. Зазначеними характеристиками користуються для ідентифікації хромосом у хромосомних наборах.

При каріотипуванні користуються культурою тканин. На тканинну культуру, клітини якої діляться мітозом, діють колхіцином, алкалоїдом, який руйнує мітотичне веретено і мітоз зупиняється на метафазі. З розчавленого препарату клітини виготовляють мікрофотографію, яку збільшують, хромосоми вирізають і соматичні вишиковують парами від найдовших до найкоротших. Потім виділяють групи подібних хромосом і позначають їх латинським алфавітом. Статеві хромосоми розташовують в кінці каріотипу. Для визначення каріотипу певного виду користуються ідіограмою.

Ідіограма — це схема каріотипу, його графічний запис. Для ідіограми достатньо зобразити по одній соматичній хромосомі з кожної пари і пару статевих хромосом.

Дані про будову хромосомного комплексу використовуються **каріосистематикою**, яка вивчає структуру клітинного ядра у різних груп організмів. Таксономічне значення мають не тільки кількість і морфологія хромосом; враховуються такі показники, як кількість ДНК в ядрі, нуклеотидний склад ДНК, розподіл гетеро- і еухроматину, характер поперечної смугастості хромосом, який виникає при диференціальному забарвлюванні тощо. Для багатьох груп каріосистематика використовує найповнішу характеристику ядерного апарату. Завдяки цьому виявляють ступінь філогенетичної спорідненості окремих видів, оцінюють шляхи еволюції каріотипу, встановлюють походження домашніх тварин і культурних рослин, передбачають, якими будуть наслідки віддаленої гібридизації.

Для визначення локалізації генів та побудови генетичних карт застосовують диференціальне забарвлювання хромосом у поєднанні з біохімічними методами та методом соматичної гібридизації.

При застосуванні основних барвників інтенсивність забарвлення окремих ділянок хромосом варіює. Ділянки з високим вмістом ДНК, які дуже спіралізовані, забарвлюються інтенсивно, а деспіралізовані — мають світле забарвлення. Це чітко видно в гігантських хромосомах. У звичайних хромосомах поперечна диференціація менш виражена і виявляється переважно в ранній профазі, коли розпізнати хромосоми дуже важко.

В останні десятиріччя почали використовувати ряд нових барвників і методів, які забезпечують диференціальне забарвлення сегментів метафазних хромосом на основі специфічної взаємодії барвників з окремими ділянками ДНК та білками.

Рисунок поперечної смугастості, який виникає внаслідок диференціального забарвлення, специфічний для кожної хромосоми. Чорні смуги на рисунку — це ділянки, які інтенсивно забарвлюються флуоресцентним барвником типу хінакрину, білі — незабарвлені смуги, а крапками позначені ділянки, які в хромосомах різних індивідів забарвлюються неоднаково.

Методи диференціального забарвлення мають важливе практичне значення. Вони дають змогу розпізнати кожну хромосому навіть у близьких видів. Завдяки розробці цих методів збільшилася вирішальна здатність цитогенетичного методу. Безпомилково ідентифікують навіть незначні структурні зміни хромосом. Це має важливе значення для діагностики хромосомних захворювань людини.

У ссавців для каріотипу індивідів чоловічої статі характерна наявність різних за формою і величиною статевих X- і Y-хромосом, у всіх клітинах самок є по дві X-хромосоми. У птахів співвідношення протилежні: самці мають однакові ZZ-хромосоми, а самки — Z- і W-хромосоми.

У каріотипі людини виділені такі групи хромосом (рис. 19):

- A 1–3 пари метацентричні;
- B 4–5 пари субметацентричні;
- C 6–12 пари субметацентричні коротші;
- D 13–15 пари акроцентричні з вторинною перетяжкою і сателітом;
- E 16–18 пари субметацентричні;
- F 19–20 пари субметацентричні, коротші;
- G 21–22 пари акроцентричні з вторинною перетяжкою.

Y-хромосома в чоловічому наборі подібна до 21–22 G-групи, X-хромосома подібна до хромосоми C-групи.

Вторинні перетяжки і сателіти мають 5 пар хромосом, які називають організаторами ядерця (13–15 та 21 і 22 пари).

Вивчення хромосом стало основою нового напрямку генетичної науки — соматичної генетики.

Відомо, що кожна хромосома складається з двох хроматид — унікальних послідовностей нуклеотидних пар (п.н.) та їй властива

певна морфологія.

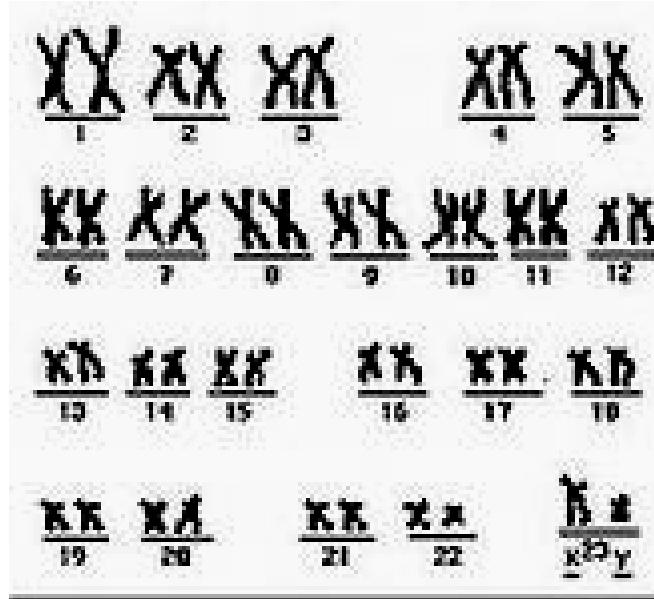


Рис. 19. Групи хромосом *Homo sapiens*

Найкраще вивчення будови хромосоми здійснювати на стадії метафазної пластинки. На хромосомі виділяють первинний центромір (нуклеоларний організатор), хромосоми p і q , тіломірні ділянки, сателіт.

Згідно Денвірівської класифікації хромосом за принципом місця розташування кінетохору всі хромосоми поділяються на: метацентричні, субметацентричні, акроцентричні, тілоцентричні й ацентричні. У деяких організмів центромір дифузно розташований вздовж хромосоми і тому їх називають «дифузні», а за наявності сателіта на хромосомі — «супутничні».

Різна спіралізація хроматид при фарбуванні каріоса дає смугастість хромосом, що одержало відносно ділянок хромосом назви «гетерохроматин» (щільна спіралізація) та «еухроматин» (слаба спіралізація). Як правило, гетерохроматин нагромаджується біля центроміра.

Звичайні хромосоми, які локалізовані у каріосі еукаріот бувають різними за формою — схожі на палички різних конфігурацій і довжин та кулькові, проте як кільцеподібні хромосоми притаманні прокаріотам. Відомі і гігантські хромосоми, які у 100–200 разів більше у довжину звичайних і у 1000 разів мають більше хромонем. Їх знайшов італієць, вчений Є. Бальбіані у ядрах клітин слиних залоз личинок хірономуса у 1881 р.

Утворення гігантських хромосом пов'язано з відсутністю поділу клітин при одноразовому збільшенні у розмірах. Ядро залишається на

стадії інтерфази, а гомологічні хромосоми об'єднуються. Оскільки хромонеми хромосоми мають репродукцію без наступного розходження, вони набувають вигляд пучка і називаються «політеними». Це політенія за рахунок ендомітозу.

Інший тип гігантських хромосом — «лампові щітки», що одержали таку назву за рахунок кон'югуючих хромосом в одному комплексі. Вони побудовані з хромомір (4-е нитки) та петель (2-і нитки ДНК). Останні, крім ДНК, мають гістон та РНК. Слід зауважити, що «лампові щітки» не можна класифікувати політеними, оскільки вони мають сильно деспіралізовані хромонеми.

Парні хромосоми, що збігаються за формою, розміром і спадковими задатками є гомологічні, решта — негомологічні. Слід зазначити, що парні хромосоми утворюють групу аутосом, а одна негомологічна пара хромосом є статевою, хоча жіноча гоносомна пара у самок сільськогосподарських тварин теж є гомологічна. Ці особливості у купі створюють внутрішньовидові та міжвидові відмінності.

Кожний вид має в соматичній клітині характерний для цього виду набір хромосом (правило постійності кількості хромосом), який у купі зі структурними особливостями хромосом нині називають *каріотипом*. Цитогенетичні дослідження останнього дозволяють створювати каріограми, будувати ідіограми та на їх основі — чисельні дослідження спадкових властивостей.

Об'єктом для вивчення каріотипу є культури клітин периферійної крові, шкіри та кісткового мозку, з яких виготовляються препарати. Їх одержують з крові після стимуляції ФГА (фітогемаглютинін) і культивування впродовж 72 годин у спеціальних середовищах. З метою одержання більшої кількості метафазних пластинок проводять інкубацію клітин із колхіцином. Під мікроскопом на виготовлених препаратах вибирають найбільш чітко видимі метафазні пластинки та їх фотографують. Вивчення лінійних характеристик хромосом виконують на мікрофотографії та їх ксерокопіях за такими параметрами:

1. Індекс спіралізації

$$I^s = \frac{\text{загальна довжина двох коротких хромосом}}{\text{загальна довжина двох довгих хромосом}}$$

2. Абсолютна довжина кожної хромосоми, мкм

$$L^a = \frac{\text{довжина хромосоми на фотокартці}}{\text{кратність збільшення}}$$

3. Відносна довжина кожної хромосоми, %

$$L^r = \frac{\text{довжина конкретної хромосоми} \times 100}{\text{довжина всіх хромосом разом}} .$$

4. Плечовий індекс

$$I^b = \frac{\text{довжина довгого плеча (q)}}{\text{довжина короткого плеча (p)}} .$$

5. Центромірний індекс, %

$$I^c = \frac{\text{довжина короткого плеча (p)} \times 100}{\text{довжина всієї хромосоми}} .$$

6. Основне число

NF – кількість плечь аутосом та двох X-хромосом.

Слід зазначити, що для дослідження придатні метафазні пластинки із однаковим I^s , а за I^b нині виділяють такі морфометричні типи хромосом:

- А) $I^b = 1.0-1.7 \rightarrow$ метацентричні
- Б) $I^b = 1.8-3.0 \rightarrow$ субметацентричні
- В) $I^b = 3.1-4.9 \rightarrow$ субтілоцентричні
- Г) $I^b = 5.0-7.0 \rightarrow$ акроцентричні
- Д) $I^b > 7.0 \rightarrow$ тілоцентричні

Алгоритм цитогенетичного дослідження морфометричного аналізу хромосом складається з таких етапів:

1. Виготовлення препаратів хромосом.
2. Їх фарбування та фіксація.
3. Розгляд препаратів під мікроскопом.
4. Фотографування метафазних пластинок.
5. Визначення лінійних характеристик хромосом та їх класифікація.

Наприклад: найбільша вимірена мікрометром мікроскопу хромосома має довжину 15 мкм. На фотографії її довжина становить 20 мм. ($20 \times 1000 = 20000$).

Таким чином, усі хромосоми метафазної пластини збільшені по відношенню до своєї фактичної довжини у 1333,3 разів ($20000 \div 15$). Для вірності метричного аналізу виготовляють декілька фотокарток з різних метафазних пластин і визначають індекс спиралізації.

Наведена методика оцінки хромосом використовується при

вивчені еволюції каріотипу тварин, вивчені статі та хромосомних аномалій ембріонів, для визначення кількісних і структурних мутацій каріотипу в породах, лініях та родинях, при вивченні зв'язку хромосомних порушень з репродуктивними функціями, продуктивністю, життєздатністю і хворобами тварин, для побудови карт хромосом, при аналізі плідників і маток-донорів при трансплантації ембріонів, при встановленні фримартинізму тварин (за химеризмом статевих клітин), при клонуванні тварин і маніпуляціях з клітинами.

Цитогенетична характеристика каріотипів сільськогосподарських тварин птиці і риби.

Каріотип великої рогатої худоби: в соматичних клітинах тварини 60 хромосом, 58 з яких — аутосоми та 2 статеві хромосоми (♂-ХУ, ♀-ХХ). Всі аутосоми є акроцентриками і поступово зменшуються в розмірі, а статеві — субметацентрики. Х-хромосоми великі за розмірами і позбавлені гетерохроматину, а У-хромосоми є самим малим елементом і складається з гетерохроматину.

Каріотип коней: в соматичних клітинах тварин 64 хромосоми (62А+ХХ або ХУ). 36 аутосом і У-хромосома є акроцентриками, 20 аутосом і Х-хромосома є субметацентриками та 6 аутосом — метацентрики.

Каріотип свиней: в соматичних клітинах тварин 38 хромосом, з яких 5 (1-5) аутосом субметацентрики, 2 (6-7) — субтілоцентрики, 5 (8-12) — метацентрики, 6 (13-18) — акроцентрики. Гоносома Х є метацентриком, а У — найменшим метацентриком. 8-ма та 10-та пари хромосом мають нуклеоллярні організатори. У 73% диких свиней нараховується 36 хромосом, а у 27% — 37. За свідченням Інституту свинарства УААН (м. Полтава) 82% свиней великої білої породи мають 38 хромосом, в той час як миргородська — 77,1%, ландрас — 75.5%, п'єтрен — 96,2%.

Каріотип овець: в соматичних клітинах тварин 54 хромосоми (52А+ХХ або ХУ), серед яких 3 пари великих метацентриків і 23 пари акроцентриків. Х-хромосома є найбільший акроцентрик, а У-хромосома — найменший субметацентрик.

Каріотип кіз: в соматичних клітинах тварин 60 хромосом, з яких аутосоми і гоносоми є акроцентриками, при чому на Х-хромосомі не виявлено гетерохроматину, а У-хромосома повністю гетерохроматична.

Каріотип кролів: в соматичних клітинах тварин 44 хромосоми (42A+XX або XY). Аутосоми поділені на 17 пар двоплечих та 4 пари акроцентриків. X-хромосома — субметацентрик середніх розмірів, а Y-хромосома — малих розмірів субметацентрик.

Каріотип хутрових звірів: американська норка — 28A+XX або XY, європейська норка — 36A+XX або XY, соболь — 36A+XX або XY, песець — 48-50 хромосом, лисиця — 32A+XX або XY та 0-8 додаткових хромосом, тхір фіуро — 38A+XX або XY, єнот далекосхідний — 54A+XX або XY, єнот японський — 36A+XX або XY та 0-4 додаткових хромосом, нутрія — 40A+XX або XY.

Каріотип курей: в соматичному наборі птиці 78 хромосом (76A+ZZ або ZW), з яких 2 пари — субметацентрики, 4 пари — акроцентрики, 2 пари — метацентрики, гоносоми X та Y є метацентрики і решта — мікрохромосоми у кількості до 79.

Каріотип бджіл: медоносна та середня індійська бджоли мають у ♀ — $2n = 32$, ♂ — $2n = 16$, тоді як у гігантських та карликових індійських бджіл ♀ має $2n = 16$, а ♂ — $2n = 8$.

Каріотип риб: стерлядь — 188 ± 2 , севрюга — 118 ± 2 , осетр російський — 250 ± 8 , оселедець океанський — 52-54, форель радужна — 58-62, лосось — 54-60, кета — 74, горбуша — 52-54, лящ — 50, плотва — 50, линь, білий амур і товстолобик — по 48, сазан (короп) — 100-104, сріблястий карась двостатевий — 100, тріска — 46, щука — 50, сом — 60, окунь і камбала по — 48.

3. ЖИТТЄВИЙ ЦИКЛ КЛІТИНИ І МІТОЗ

Клітини організму зазнають дії різних шкідливих факторів, зношуються і старіють. Тому кожна окрема клітина в кінцевому результаті повинна загинути. Щоб організм продовжував жити, він повинен продукувати нові клітини з тією ж швидкістю, з якою гинуть старі. Тому *поділ клітини* — це обов'язкова умова життя для всіх живих організмів.

Одним з основних типів поділу клітин є мітоз.

Мітоз — це такий поділ ядра і клітини, коли утворюються дві дочірні клітини з набором хромосом, який має материнська клітина. За поділом ядра проходить поділ цитоплазми. Мітотичний поділ призводить до збільшення числа клітин, що забезпечує процеси росту, регенерації і заміщення клітин у всіх вищих тварин і рослин. В одноклітинних організмів мітоз є механізмом безстатевого розмноження.

Хромосоми виконують головну роль у процесі поділу клітин, оскільки забезпечують передачу спадкової інформації і беруть участь у регуляції метаболізму клітин.

Послідовність процесів, які перебігають між утворенням клітини та її поділом на дочірні клітини називають клітинним циклом. В інтерфазі циклу подвоюється кількість ДНК у хромосомах.

Мітоз забезпечує генетичну стабільність наступних поколінь клітин.

У житті клітини розрізняють життєвий цикл і клітинний цикл. Життєвий цикл значно довший — це період від утворення клітини внаслідок поділу материнської клітини і до наступного поділу або до загибелі клітини. Впродовж життя клітини ростуть, диференціюються, виконують специфічні функції.

Клітинний цикл значно коротший. Це власне процес підготовки до поділу (інтерфаза) і сам поділ (мітоз). Тому цей цикл називають ще мітотичним.

Така періодизація (на життєвий і мітотичний цикл) досить умовна, оскільки життя клітини — безперервний, неподільний процес. Так, в ембріональний період, коли клітини швидко діляться, життєвий цикл співпадає з клітинним (мітотичним). Після диференціювання клітин, коли кожна з них виконує специфічну функцію, життєвий цикл триваліший від мітотичного.

Клітинний цикл складається з інтерфази, мітозу і цитокінезу

(рис. 20). Тривалість клітинного циклу в різних організмів різна.

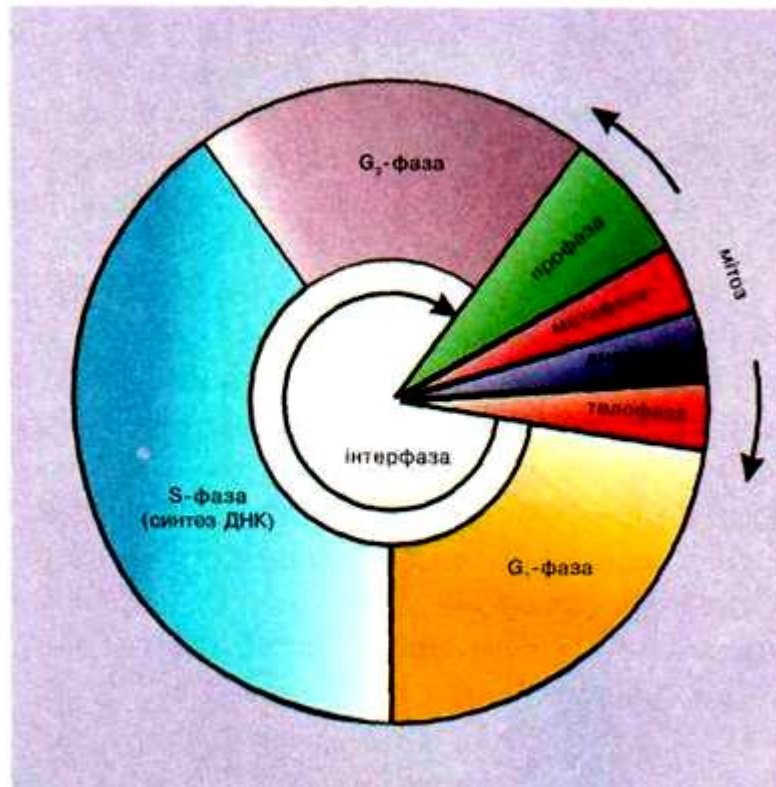


Рис. 20. Клітинний цикл

Інтерфаза — це підготовка клітини до поділу, на її частку припадає 90% всього клітинного циклу. На цій стадії відбуваються найбільш активні метаболічні процеси. Ядро має гомогенний вигляд — воно заповнено тонкою сіткою, яка складається з переплетених між собою досить довгих і тонких ниток — хромонем. Ядро відповідної форми, оточене двошаровою ядерною мембраною з порами діаметром близько 40 мкм. В інтерфазному ядрі проходить підготовка до поділу. Інтерфазу поділяють на певні періоди:

G_1 — період, який передує реплікації ДНК;

S — період реплікації ДНК;

G_2 — період з моменту закінчення реплікації до початку мітозу.

Тривалість кожного періоду можна визначити, скориставшись методом радіоавтографії.

Пресинтетичний період (G_1 — від. англ. *Gap* — інтервал) настає зразу за поділом. Тут відбуваються такі біохімічні процеси: синтез макромолекулярних сполук, необхідних для побудови хромосом і ахроматинового апарату (ДНК, РНК, гістонів та інших білків), зростає кількість рибосом і мітохондрій, відбувається накопичення енергетичного матеріалу для здійснення структурних перебудов і складних рухів під час поділу. Клітина інтенсивно росте і

може виконувати свою функцію. Набір генетичного матеріалу буде $2n2c$.

У **синтетичному періоді** (S) подвоюється ДНК, кожна хромосома внаслідок реплікації створює собі подібну структуру. Проходить синтез РНК і білків, мітотичного апарату і точно подвоєння центріоль. Вони розходяться в різні боки, утворюючи два полюси. Набір генетичного матеріалу складає $2n4c$.

Далі настає **післясинтетичний період** (G_2) — клітина запасається енергією. Синтезуються білки ахроматинового веретена, йде підготовка до мітозу. Генетичний матеріал складає $2n4c$.

Після досягнення клітиною певного стану: накопичення білків, подвоєння кількості ДНК та ін. вона готова до поділу — мітозу.

Мітоз (від грец. *mitos* — нитка) — основний спосіб поділу еукаріотичних клітин. В результаті мітозу кожна з утворених дочірніх клітин отримує такий самий набір хромосом, який був у материнській клітині. Розрізняють чотири фази мітозу: профазу, метафазу, анафазу, телофазу (рис. 21).

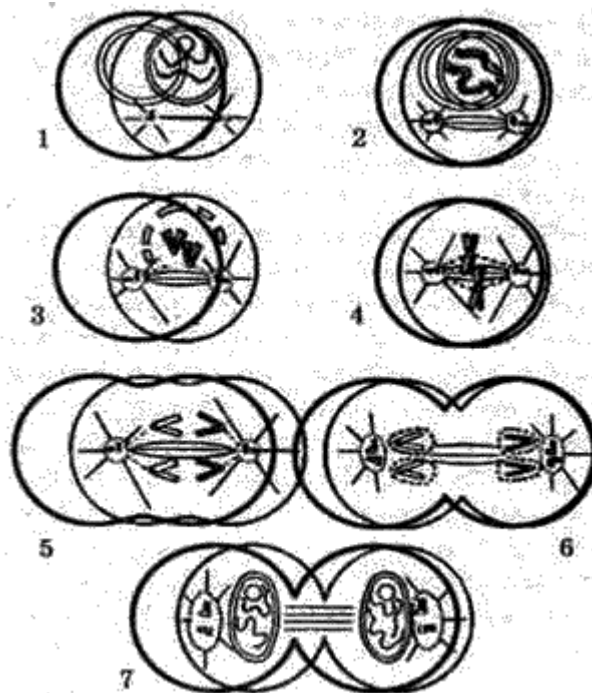


Рис. 21. Схема мітозу:

1, 2 – профазу; 3, 4 – метафазу; 5 – анафазу; 6, 7 – телофазу

У профазі стають помітні центріолі (у клітинах тварин), які відходять до полюсів клітини, утворюються нитки веретена поділу. У кінці профазу руйнується ядерна оболонка, поступово зникає ядерце, спіралізуються хромосоми і стає помітним, що кожна з них

складається з двох хроматид.

У метафазі хромосоми розміщені по екватору клітини; стають помітні центромери хромосом, до яких прикріплюються нитки веретена поділу.

В анафазі хромосоми розриваються веретенем поділу, і хроматиди (дочірні хромосоми) за допомогою ниток веретена поділу розходяться до полюсів клітини.

У телофазі хромосоми знов деспіралізуються і набувають вигляду довгих тонких ниток. Навколо них виникає ядерна оболонка, формується ядрце, в якому синтезуються рибосоми. Відбувається поділ цитоплазми, під час якого всі органели більш-менш рівномірно розподіляються між дочірніми клітинами.

Процес мітозу займає в середньому 1–2 години. Тривалість мітозу залежить від виду клітин, а також від умов зовнішнього середовища — температури, світлового режиму тощо.

Біологічне значення мітозу полягає в підтримуванні сталої кількості хромосом в усіх клітинних поколіннях завдяки рівному розподілу ДНК між дочірніми клітинами. Усі соматичні клітини утворюються внаслідок мітотичного поділу, що забезпечує ріст організму. Мітоз забезпечує також відновлення органів та тканин після ушкодження.

4. МЕЙОЗ І ГАМЕТОГЕНЕЗ

Мейоз — це спосіб поділу еукаріотичних клітин, унаслідок якого з однієї материнської утворюються 4 дочірні клітини з удвічі меншим набором хромосом.

Цей тип поділу включає 2 послідовних поділи, кожний з яких складається з 4 фаз: *профази*, *метафази*, *анафази* і *телофази*.

Набір хромосом перед поділом у материнських клітинах диплоїдний, а в дочірніх клітинах — гаплоїдний. Стан спадкової інформації після поділу видозмінений завдяки процесам кон'югації і кросинговеру. Мейоз вперше описав німецький біолог О. Гертріг у 1876 році на прикладі яєць морських їжаків. Проте важливість мейозу в спадковості була описана лише в 1890 році німецьким біологом А. Вайсманом.

I етап — редуційний поділ, або Мейоз I:

Профаза I — фаза спіралізації (конденсації) двохроматидних хромосом. Вона є найтривалішою за часом у мейозі, під час неї відбувається ряд процесів.

- **Спіралізація** двохроматидних хромосом. Хромосоми вкорочуються й ущільнюються та набувають вигляду паличкоподібних структур. Після цього гомологічні хромосоми зближуються і кон'югують (тісно прилягають одна до одної по всій довжині, обвиваються, перехрещуються).

Так утворюються комплекси з 4 хроматид, сполучених між собою в певних місцях, так звані **тетради**, або **біваленти** (рис. 22).

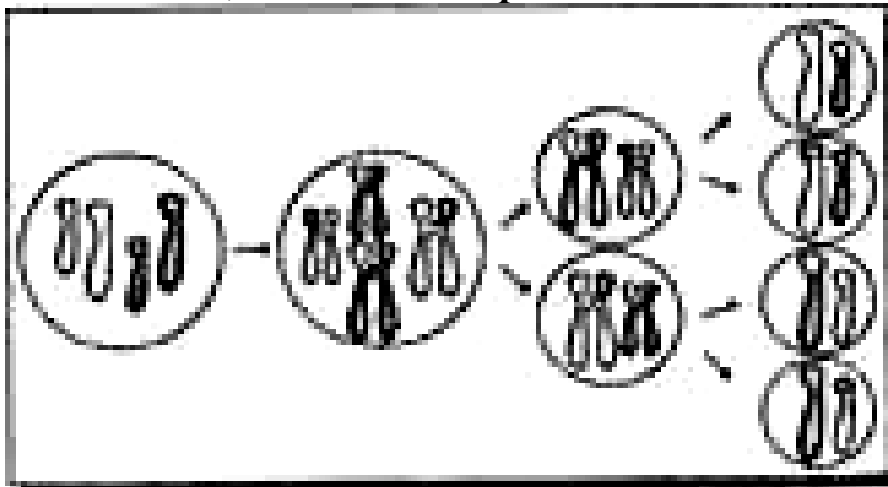


Рис. 22. Схема утворення тетрад та бівалентів

- **Кон'югація** (зближення і злиття ділянок гомологічних хромосом) і **кросинговер** (обмін певними ділянками між гомологічними хромосомами). У результаті кросинговеру утворюються нові комбінації спадкового матеріалу. Таким чином, кросинговер є одним із джерел спадкової мінливості. Через певний час гомологічні хромосоми починають відходити одна від одної. При цьому стає помітним, що кожна з них складається з двох хроматид.

- **Розходження центріолей** до полюсів.
- **Зникнення ядерець.**
- **Розпад ядерної оболонки** на фрагменти.
- **Формування веретена поділу.**

Метафаза I — фаза розташування тетрад на екваторі:

- короткі нитки прикріплюються до центромер лише з одного боку і хромосоми розташовуються двома лініями;
- на екваторі клітини розташовуються тетради.

Анафаза I — фаза розходження двохроматидних гомологічних хромосом.

- кожна тетрада розділюється на двохроматидні хромосоми;
- нитки веретена поділу скорочуються і розтягують двохроматидні хромосоми до полюсів. Наприкінці анафази біля кожного з полюсів клітини опиняється гаплоїдний (половинний) набір хромосом. Розходження хромосом кожної пари є подією випадковою, що є ще одним джерелом спадкової мінливості.

Телофаза I — фаза деспіралізації двохроматидних хромосом:

- утворення двох клітин з гаплоїдним набором двохроматидних хромосом;
- у клітинах тварин та деяких рослин хромосоми деспіралізуються і поділяється цитоплазма материнської клітини, але в клітинах більшості видів рослин цитоплазма не ділиться.

Результатом Мейозу I є утворення з однієї материнської клітини двох дочірніх клітин з гаплоїдним набором двохроматидних хромосом.

Інтерфаза між поділами мейозу коротка або відсутня, оскільки синтез ДНК не відбувається. Проте інколи буває явище **інтеркінезу** — короткого спокою клітини.

II етап — мітотичний (екваційний), або Мейоз II:

Профаза II — фаза спіралізації двохроматидних хромосом.

Метафаза II — фаза розташування двохроматидних хромосом на екваторі:

- короткі нитки прикріплюються до центромер;
- на екваторі клітини в один ряд розташовуються двохроматидні хромосоми.

Анафаза II — фаза розходження однохроматидних хромосом до полюсів клітин:

- кожна хромосома розділюється на хроматиди;
- нитки веретена поділу скорочуються і розтягують хроматиди до полюсів.

Телофаза II — фаза деспіралізації однохроматидних хромосом:

- утворення двох клітин з гаплоїдним набором однохроматидних хромосом.

Отже, загальним результатом мейозу є утворення з однієї материнської клітини 4 дочірніх клітин з гаплоїдним набором однохроматидних хромосом.

Біологічне значення мейозу:

- 1) забезпечує видозміну спадкового матеріалу;
- 2) підтримує сталість каріотипу при статевому розмноженні;
- 3) лежить в основі статевого розмноження.

Крім мітозу, клітини еукаріотів можуть ділитися й іншими способами поділу. Це амітоз й ендомітоз.

Амітоз (прямий поділ) — поділ, що відбувається без спіралізації хромосом і без утворення веретена поділу. Здійснюється перешнуровуванням ядра, утворенням перегородки тощо. Основними ознаками амітозу є такі:

а) ядро ділиться шляхом перетяжки на дві або декілька рівних або нерівних частин;

б) точного розподілу ДНК і хромосом між двома або декількома частинами ядра не буває;

в) ядерце і ядерна мембрана не зникають. Амітоз, зазвичай, спостерігається у приречених на загибель клітинах, в опромінених клітинах тощо.

Порівняльна характеристика мітозу і мейозу

Ознаки	Мітоз	Мейоз
Кількість поділів	Один	Два
Кількість утворених клітин з однієї	Дві	Чотири
Набір хромосом перед поділом у клітинах	Диплоїдний	Диплоїдний
Набір хромосом у дочірніх клітинах	Диплоїдний ($2n1c$)	Гаплоїдний ($1n1c$)
Стан спадкової інформації в клітинах	Незмінений	Видозмінений
Відмінності процесів у профазі мітозу і профазі I мейозу	Відсутність кон'югації і кросинговеру	Наявність кон'югації і кросинговеру
Відмінності процесів у метафазі мітозу і метафазі I мейозу	На екваторі хромосоми розташовуються в один ряд	На екваторі хромосоми розташовуються в два ряди у вигляді тетрад
Відмінності процесів у анафазі мітозу і анафазі I мейозу	Розходяться однохроматидні хромосоми	Розходяться двохроматидні хромосоми
Відмінності процесів у телофазі мітозу і телофазі I мейозу	Утворюються дві диплоїдні клітини з однохроматидними хромосомами	Утворюються дві гаплоїдні клітини з двохроматидними хромосомами

Ендомітоз — поділ, що супроводжується репродукцією хромосом без утворення веретена поділу при збереженні ядерної оболонки. Усі фази мітотичного поділу відбуваються всередині ядра. Зустрічається ендомітоз в клітинах різних тканин, які інтенсивно функціонують, і результатом такого поділу може бути:

а) багаторазове збільшення числа хромосом у клітині (наприклад, у клітинах печінки, м'язових волокнах);

б) збільшення плоїдності клітини при збереженні в ній постійної кількості політенних (багатохроматидних) хромосом (наприклад, у клітинах амеб, інфузорій, евглен, слинних залоз двокрилих комах, зародкового мішка деяких рослин).

5. ТЕХНОЛОГІЇ АНАЛІЗУ ПОЗАЯДЕРНОЇ СПАДКОВОСТІ ОРГАНІЗМІВ

Позаядерна (цитоплазматична) спадковість — спадковість за рахунок ДНК, розміщеної у мітохондріях, пластидах та клітинному центрі. При позаядерній спадковості не зберігаються закономірності, відкриті Г.І. Менделем і Т.Х. Морганом.

Пластиди в рослинній клітині мають свій генетичний апарат, білоксинтезувальну систему і розмножуються поділом, що свідчить про їх напівавтономність. Відомі мутації ДНК хлоропластів, що призводять до плямистості листків. Існують сорти ротиків, нічної красуні та деяких інших рослин, у яких поряд із зеленими листками трапляються строкаті з білими плямами — ділянками, позбавленими хлорофілу. Ознака строкатості передається тільки через яйцеклітину, тобто по материнській лінії.

Мітохондрії передаються також через яйцеклітину. Мутації в ДНК мітохондрій знайдені в найпростіших та дріжджів. Генетичний апарат мітохондрій не є самодостатнім, оскільки вони можуть синтезувати лише частину білків, необхідних для життєдіяльності.

У кукурудзи існують сорти з чоловічою стерильністю, яка передається через цитоплазму яйцеклітин; такі сорти широко використовуються в сільському господарстві при лінійних схрещуваннях; через відсутність власного пилку в цих ліній неможливе самозапилення, завдяки чому досягається перехресне запилення й отримання гібридів з підвищеною врожайністю.

Плазмід (позахромосомні фактори спадковості) — генетичні елементи, здатні стабільно існувати в клітині в автономному, не зв'язаному з хромосомами, стані. Плазмиду, здатну об'єднуватися з хромосомою, називають **епісомою**.

До плазмід відносять генетичний апарат клітинних органел (мітохондрій, пластид), а також групи зчеплення, які не є життєво важливими для клітин, що їх містять. Із груп зчеплення найбільш вивченими є бактеріальні плазмід, такі як фактор фертильності (*F*-фактор), коліциногенні фактори (*Col*-фактори), фактори стійкості до лікарських речовин (*R*-фактори), профаги тощо.

Багато плазмід є кільцевими дволанцюжковими молекулами ДНК з молекулярною масою 10^6 – 10^8 . Плазмід часто надають клітинам, які їх містять, нові властивості, напр. *F*-фактор, деякі *Col*- і *R*-фактори — здатність до передачі генів при кон'югації, *Col*-фактори

продукують бактеріоцини, *R*-фактори забезпечують стійкість клітин до сульфаніламідних препаратів і антибіотиків. Плазмідні в генній інженерії використовують як вектори, тобто молекули ДНК, які здатні переносити в клітини чужі гени забезпечувати там їх розмноження.

Епісоми (від грец. *epi-* і *soma* — тіло) — генетичні елементи, які можуть існувати в клітині або незалежно від хромосоми, або вбудовуватися в неї. Деякі епісоми при перенесенні в клітини інших видів мікроорганізмів втрачають здатність до взаємодії з хромосомами і стають типовими плазмідами, а деякі плазмідні в певних умовах набувають властивостей епісом. Тому всі позахромосомні фактори спадковості часто об'єднують терміном ***плазмідні***.

Питання для самоперевірки

1. Через дію колхіцину протягом одного мітотичного ділення одержані клітини жита з 28 хромосомами. Чому дорівнює гаплоїдний набір хромосом жита?
2. Як буде вести себе діцентрична хромосома в анафазі I мейоза?
3. Як визначити гомологічність хромосом?
4. Внаслідок яких подій в мейозі з однієї клітини $2n$ може утворитись чотири генетично неіdentичні клітини n ?
5. Що таке крапка “старту” в клітинному циклі?
6. Яка роль генів *cdc* у клітинному циклі?
7. Що забезпечує чіткість розходження хромосом при редукційному діленні?
8. Чи є комплекси генів контролю мітозу та мейозу іdentичними?
9. Яка роль мей-мутацій сегреції хромосом?
10. Яка роль притаманна В-хромосомам каріосів?
11. Як впливає на клітину надлишок В-хромосом?
12. На підставі чого було визначено неоцентромірну активність хромосом?
13. Що є каріотипом?
14. Де розташовані тіломіри хромосом та їх різниця від хромомір?
15. Які хромосоми є «супутничними»?
16. В яких організмах переважно існують кільцеві форми хромосом?
17. З чим пов'язано явище гетерохроматину та еухроматину?
18. Чим утворюються гігантські хромосоми?
19. Яка різниця між аутосомами та гоносомами?
20. Що є суттєвістю поняття «лінійні характеристики хромосом»?
21. Яке практичне значення цитогенетики та морфометричного аналізу, зокрема у тваринництві?
22. У якого з сільськогосподарських тваринницьких об'єктів каріотип має некратну характеристику і чому?

Література

1. Молекулярна генетика та технології дослідження генома / [М. І. Гиль, О. Ю. Сметана, О. І. Юлевич та ін.] ; за ред. професора М. І. Гиль. – Миколаїв : МНАУ, 2014. – 280 с.
2. Генетика / [Б. Гутман, Э. Гриффитс, Д. Сузуки, О. Куллист] ; Пер. с англ. О. Перфилова. – М. : ФАИР-ПРЕСС, 2004. – 448 с.
3. Генетика з основами селекції / [С. І. Стрельчук, С. В. Демідов, Г. Д. Бердишев, Д. М. Голда]. – К. : Фітосоціоцентр, 2000. – 291 с.
4. Генетика сільськогосподарських тварин / [В. С. Коновалов, В. П. Коваленко, М. М. Недвига та ін.]. – К. : Урожай, 1996. – 432 с.
5. Основы современной генетики / С. М. Гершензон. – К. : Наукова думка, 1983. – 558 с.
6. Загальна і молекулярна генетика : Практикум / [С. В. Демідов, В. Ф. Безруков, А. В. Сиволоб та ін.]. – К. : Фітосоціоцентр, 2005. – 239 с.
7. Практикум по генетике / С. Х. Ларцева, М. К. Муксинов. – М. : Агропромиздат, 1985. – 288 с.
8. Генетика / [Е. К. Меркурьева, З. В. Абрамова, А. В. Бакай и др.]. – М. : Агропромиздат, 1991. – 446 с.
9. Общая генетика / Н. П. Дубинин. – М. : Наука, 1986. – 559 с.
10. Генетика с основами селекции / С. Г. Инге-Вечтомов. – М. : Высш. шк., 1989. – 591 с.
11. Цитогенетика / В. Г. Смирнов. – М. : Высш. шк., 1991. – 247 с.
12. Общая и молекулярная генетика : Учеб. пособие / И. Ф. Жимулев. – Новосибирск, 2003. – 479 с.
13. Генетична інженерія / В. І. Ніколайчук, І. Ю. Горбатенко. – Ужгород, 1999. – 189 с.
14. Структура и экспрессия гена / Дж. Хоукинс. – К. : Наукова думка, 1991. – 168 с.
15. Ветеринарна генетика з основами варіаційної статистики / В. Л. Петухов, А. Н. Жигачов, Г. А. Назарова. – М. : Агропромиздат, 1985.

Навчальне видання

**ЗАГАЛЬНА ТА МОЛЕКУЛЯРНА
ГЕНЕТИКА.
Цитогенетичні основи спадковості**

Методичні вказівки

Укладач:
Гиль Михайло Іванович

Формат 64×84 1/8. Ум. друк. арк. ____
Тираж 120 прим. Зам. № _____

Надруковано у видавничому відділі
Миколаївського національного аграрного університету
54020, м. Миколаїв, вул. Георгія Гонгадзе, 9

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4490 від 20.02.2013 р.

