

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ЗАХИСТУ РОСЛИН

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор Інституту
захисту рослин НААН
Олександр БОРЗИХ
«16» вересня 2024р.



РОБОЧА ПРОГРАМА
ВИБІРКОВОЇ НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

БК 3.6. «Молекулярні основи стійкості рослин до збудників хвороб та
методи селекції на стійкість»

Рівень вищої освіти – третій (освітньо-науковий) рівень
Галузь знань 20 «Аграрні науки та продовольство»
Спеціальність 202 «Захист і карантин рослин»

Розробники: Козуб Наталія Олександрівна, д.б.н., с.н.с.
Лісова Галина Михайлівна, к.б.н., с.н.с.

Схвалено рішенням Вченої ради Інституту захисту рослин НААН

протокол № 13 від «16» вересня 2024р.

1. Опис навчальної дисципліни

Галузь знань, спеціальність, освітній ступінь	
Галузь знань	20 «Аграрні науки та продовольство»
Спеціальність	202 «Захист і карантин рослин»
Освітній ступінь	Доктор філософії
Характеристика навчальної дисципліни	
Вид	вибіркова
Загальна кількість годин	120
Кількість кредитів ECTS	4
Кількість змістовних модулів	2
Форма контролю	залік

Показники навчальної дисципліни для денної та заочної форми навчання

	денна форма навчання	заочна форма навчання
Рік підготовки (курс)	2	2
Семестр	4	4
Лекційні заняття	12 год	12 год
Практичні заняття	18 год.	18 год.
Самостійна робота	90 год	90 год.
Кількість тижневих аудиторних годин	відповідно до навчального плану	

2. Мета та завдання навчальної дисципліни

Мета полягає у формуванні у аспірантів знань і розуміння особливостей основ імунітету рослин до хвороб, специфіки його формування, знань теорії імунітету рослин, генетичної теорії гена на ген та інших, ризиків втрати стійкості створених сортів, важливості проведення селекції на стійкість і основних її методів, значення стійкого сорту в системі захисту рослин, молекулярних основ стійкості рослин до збудників хвороб, проблеми тривалої стійкості рослин до збудників хвороб різної природи у сільськогосподарських культур, можливостей генетичної трансформації та геномного редагування для створення с.-г. рослин з тривалою стійкістю до збудників хвороб, поглибленні знань про застосування молекулярно-генетичних підходів у фітопатології.

Основними завданнями є здобуття аспірантами відповідного обсягу теоретичних і методологічних знань з таких питань: особливості стійкості рослин до хвороб; види стійкості; теорія вертикальної і горизонтальної стійкості; причини втрати сортами стійкості; принципи селекції на стійкість рослин до патогенів; основні методи селекції класичні і сучасні; типи генів стійкості до збудників хвороб, сучасні уявлення про молекулярні механізми стійкості до фітопатогенів, моделі імунітету рослин, особливості тривалості стійкості рослин до різних груп фітопатогенів, залежно від способу живлення та кола господарів, деякі відомі гени тривалої стійкості до збудників хвороб у сільськогосподарських культур (на прикладі пшениці і картоплі), сучасні підходи до створення рослин з тривалою стійкістю.

У результаті вивчення навчальної дисципліни потрібно

знати:

- історію формування теорії імунітету рослин, напрямки трофічної еволюції збудників хвороб, основи теорії «ген на ген», що таке гени стійкості рослин-господарів та гени вірулентності патогенів, особливості проведення досліджень із збудниками хвороб різної трофіки, типи еволюції патогенів;
- типи стійкості рослин і причини втрати сортами стійкості, принципи селекції на стійкість рослин до патогенів та основні методи селекції класичні і сучасні;
- сучасні уявлення про молекулярні механізми стійкості до фітопатогенів; еліситори (патоген-асоційовані молекулярні патерни) та їх рецептори (рецептори розпізнавання патернів на поверхні клітин), базальний імунітет (імунітет, що запускається патернами); ефектори (расоспецифічні еліситори) та внутрішньоклітинні рецептори (NB-LRR-білки), імунітет, що запускається ефекторами. Основні відмінності механізмів для біотрофних і некротрофних патогенів;
- особливості тривалості стійкості рослин до різних груп фітопатогенів, залежно від способу живлення та кола господарів, найбільш відомі гени тривалої стійкості до біотрофних патогенів у сільськогосподарських культур (на прикладі пшениці і картоплі – гени дорослої стійкості до іржастих хвороб у пшениці, екстремальної стійкості до вірусів у картоплі);
- сучасні підходи до створення рослин з тривалою стійкістю до збудників хвороб (генетична трансформація та геномне редагування);

вміти:

- проводити дослідження із збудниками хвороб різної трофіки;
- створювати лабораторні колекції збудників хвороб, проводити дослідження в умовах теплиці і кліматичних камер;
- аналізувати інформацію щодо молекулярних маркерів генів стійкості до хвороб та молекулярних маркерів для ідентифікації патогенів, підбирати умови для ПЛР за допомогою програм;
- аналізувати інформацію щодо молекулярних маркерів генів стійкості до хвороб для маркерної селекції, проводити електрофорез ДНК (продуктів ПЛР) в поліакриламідному гелі;
- працювати з базою даних нуклеотидних послідовностей NCBI, проводити BLAST-аналіз, перевіряти наявність в науковій літературі праймери, розробляти праймери на основі поліморфізмів з використанням програми NCBI PrimerBlast.

3. Структура навчальної дисципліни

Назви тем лекцій/практичних занять	Кількість годин							
	денна форма				заочна форма			
	усьо го	у тому числі			усьо го	у тому числі		
		л	пр	ср		л	пр	ср
Модуль 1								
Тема 1. Генетичні особливості стійкості рослин. Теорія «ген на ген». Гени стійкості рослин-господарів. Гени вірулентності патогенів / Підбір сортів за ознакою стійкості. Гени стійкості до збудників хвороб. Визначення вірулентності збудника	20	2	3	15	20	2	3	15
Тема 2. Стійкість рослин до хвороб. Роботи Я. Ван Дер Планка. Види стійкості рослин до патогенів. Теорії вертикальної і горизонтальної стійкості. Втрата рослинами стійкості і її причини / Колекції рас патогенів їх створення і зберігання – на прикладі збудника бурої іржі пшениці та колекції видів збудника фузаріозу колоса	20	2	3	15	20	2	3	15
Модуль 2								
Тема 1. Молекулярні механізми стійкості до фітопатогенів. Типи генів стійкості до збудників хвороб / Застосування молекулярно-генетичних підходів у фітопатології. Оптимізація умов ПЛР	22	4	3	15	22	4	3	15
Тема 2. Проблема тривалої стійкості до збудників хвороб. Гени тривалої стійкості до збудників хвороб у сільськогосподарських культур (на прикладі пшениці і картоплі) / Маркерна селекція. Електрофорез ДНК у поліакриламідному гелі	21	3	3	15	21	3	3	15
Тема 3. Використання генетичної трансформації та геномного редагування для створення рослин з тривалою стійкістю до збудників хвороб / Біоінформатичні підходи до розробки маркерів. Знайомство з базою даних нуклеотидних послідовностей NCBI. BLAST-аналіз, перевірка праймерів, розробка праймерів, вирівнювання послідовностей	37	1	6	30	37	1	6	30
Всього годин	120	12	18	90	120	12	18	90

Примітка: Самостійна робота виконується за темами лекцій і практичних занять

4. Методи навчання.

Програмою навчання передбачено читання лекцій і проведення практичних занять.

5. Форми контролю

Поточний контроль знань та умінь здобувачів здійснюють шляхом усного опитування.

Контроль самостійної роботи проводиться у формі співбесіди.

Підсумковий контроль знань відбувається на заліку в усній формі.

6. Контрольні питання для визначення рівня засвоєння знань здобувачами

1. Основні принципи гіпотези Флора "ген на ген" (ген проти гена).
2. Поняття стійкості рослин до патогенів. Гени стійкості рослини-господаря.
3. Поняття вірулентності патогенів. Гени вірулентності патогена.
4. Значення патогенності, вірулентності і агресивності у втраті сортами стійкості.
5. Типи стійкості рослин до грибних хвороб.
6. Вертикальна стійкість – переваги і недоліки.
7. Горизонтальна стійкість – переваги і недоліки.
8. Причини втрати сортами стійкості.
9. Стійкий сорт і його значення в системі захисту рослин.
10. Що може бути первинним бар'єром проти патогенів у рослин?
11. На які групи поділяються фітопатогени за типом живлення?
12. Патогени-генералісти і патогени-спеціалісти.
13. Базовий неспецифічний імунітет рослин.
14. Що таке еліситор?
15. Патоген-асоційовані молекулярні патерни.
16. Рецептори розпізнавання патернів на поверхні клітин.
17. Що таке ефектор?
18. Внутрішньоклітинні рецептори ефекторів.
19. NB-LRR-білки.
20. Найбільш поширені типи генів стійкості.
21. Основні домени у білках типу NB-LRR
22. Coiled-coil (CC)-NB-LRR (CNLs).
23. Toll/interleukin 1 receptor (TIR)-NB-LRR (TNLs).
24. Специфічний імунітет, що запускається ефекторами.
25. Надчутлива реакція.
26. Програмована клітинна смерть.
27. Чи базовий неспецифічний імунітет рослин пов'язаний з програмованою клітинною смертю?
28. Чи специфічний імунітет, що запускається ефекторами, пов'язаний з програмованою клітинною смертю?
29. До якої групи патогенів (за типом живлення) забезпечує стійкість специфічний імунітет, що запускається ефекторами?
30. Відмінності у ролі програмованої клітинної смерті як реакції рослини на біотрофні та некротрофні патогени?
31. У захисних реакціях до яких груп патогенів (за типом живлення) відіграє основну роль саліцилова кислота?
32. Які основні фітогормони задіяні у відповіді на ураження некротрофними патогенами?
33. Токсини некротрофних патогенів як еквіваленти ефекторів.
34. Які білки є продуктами класичних R-генів?
35. Поняття вертикальної стійкості, якісної стійкості, расоспецифічної стійкості.

36. Визначення тривалої стійкості.
37. Чи є зазвичай тривалою стійкість до біотрофних та гемібіотрофних патогенів, що забезпечуються R-генами?
38. Горизонтальна стійкість, кількісна стійкість, расонеспецифічна стійкість.
39. До яких видів стійкість є більш тривалою – до генералістів, чи спеціалістів?
40. Гени ювенільної стійкості та гени дорослої стійкості до збудників іржастих хвороб у злаків
41. Гени екстремальної стійкості до вірусів у картоплі.
42. Що таке інтрогресія?
43. Гени чутливості (S-гени).
44. Генетична модифікація і геномне редагування, у якому випадку вводиться чужинний ген в геном рослини?

7. Розподіл балів.

Загальну оцінку знань проводять сумарно за усним поточним контролем, захистом результатів самостійної роботи (співбесіда), підсумковим заліком. За 5-бальною шкалою та за Європейською системою ECTS.

ОЦІНЮВАННЯ ТА СТРУКТУРА ОЦІНКИ	
Усний поточний контроль	30 балів
Захист результатів самостійної роботи у формі співбесіди	30 балів
Підсумковий залік в усній формі	40 балів
Разом	100 балів

Шкала оцінювання: національна та ECTS

Сума балів за всі види навчальної діяльності		Оцінка національна за результатами складання	
		екзамену	заліків
90-100	A	відмінно	зараховано
82-89	B	добре	
75-81	C		
66-74	D	задовільно	
60-65	E		
35-59	FX	незадовільно з можливістю повторного складання	не зараховано з можливістю повторного складання
0-35	F	незадовільно з обов'язковим повторним вивченням дисципліни	не зараховано обов'язковим повторним вивченням дисципліни

8. Методичне забезпечення

1. Roelfs AP, Singh RP, Saari EE. Rust Diseases of Wheat: Concepts and methods of disease management. Mexico, D.F.:CIMMYT. 1992. 81 p. <http://hdl.handle.net/10883/1153>
2. Бабаянц О.В., Бабаянц Л.Т. Основы селекции и методология оценок устойчивости пшеницы к возбудителям болезней. Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноведения и сортоизучения. Одесса, 2014. 401 с.
3. Using DNA Barcodes to Identify and Classify Living Things
<https://dnabarcoding101.org/lab/planning-prep.html>

4. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>
5. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. — М.: Мир, 1984
6. Карелов А.В., Козуб Н.О., Созінов І.О., Янсе Л.А., Созінова О.І., Блюм Я.Б., Борзих О.І. Біотехнологічне визначення помірної стійкості до некротрофних патогенних грибів у пшениці м'якої. Київ: Аграрна наука, 2020. 31 с.
7. Polymerase Chain Reaction Protocol <https://asm.org/ASM/media/Protocol-Images/Polymerase-Chain-Reaction-Protocol.pdf?ext=.pdf>
8. PCR Applications Manual 3 rd edition <https://www.gene-quantification.de/ras-pcr-application-manual-3rd-ed.pdf>

9. Рекомендована література

1. Peter N. Dodds. From Gene-for-Gene to Resistosomes: Flor's Enduring Legacy *Molecular Plant-Microbe Interactions*. Vol.36. N8. 2023. P. 461-464/
<https://doi.org/10.1094/MPMI-06-23-0081-NH>
2. Бабаянц О.В., Бабаянц Л.Т. Основы селекции и методология оценок устойчивости пшеницы к возбудителям болезней. Селекционно-генетический институт — Национальный центр семеноведения и сортоизучения. Одесса, 2014. 401 с.
3. Lisova H.M. Expression of wheat resistance genes to the leaf rust pathogen in the conditions of Forest-Steep zone in Ukraine in 2000-2010. *Protection and Plant Quarantine*. 2012. V. 58. P. 97-106.
4. Kovalyshyna H., Dmytrenko Y., Tonkha O., Makarchuk O., Demydov O., Humeniuk O., Kozub N., Karelov A., Sozinov I., Mushtruk M. Diversity of winter common wheat varieties for resistance to leaf rust created in the V.M. Remeslo Myronivka Institute of Wheat. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Science*. 2020. V.14. P. 1001-1007. URL: <https://doi.org/10.5219/1447>.
5. Лісовий М.П., Лісова Г.М. Наукові основи генетичного захисту рослин в Україні. *Захист і карантин рослин*. 2013. Вип. 59. С. 168-175.
6. Bhardwaj SC, Kumar S, Gangwar OP, Prasad P, et al. Physiologic specialization and genetic differentiation of *Puccinia triticina* causing leaf rust of wheat on the Indian subcontinent during 2016 to 2019. *Plant Disease*. 2021;105:1992-2000. DOI: 10.1094/PDIS-06-20-1382-RE
7. Лісовий М.П., Лісова Г.М. Причини втрати сортами стійкості до збудників хвороб та шляхи її попередження. *Захист і карантин рослин*. Міжвідомчий тематичний науковий збірник. — К., 2009. — Вип. 55. — С. 145-157.
8. Bruno Pok Man Ngou, Pingtao Ding, Jonathan D G Jones, Thirty years of resistance: Zig-zag through the plant immune system, *The Plant Cell*, Volume 34, Issue 5, May 2022, Pages 1447–1478, <https://doi.org/10.1093/plcell/koac041>
9. Natalia Kozub, Oksana Sozinova, Igor Sozinov, Anatolii Karelov, Liliya Janse, Lidiya Mishchenko, Oleksandr Borzykh, Yaroslav Blume. Advances in durable resistance to diseases in staple food crops: a review. *Open Agriculture Journal*, 2022, V. 16(1), e187433152208250. <http://dx.doi.org/10.2174/18743315-v16-e220922-2022-HT14-3623-2>
10. Spielmeyer, W., Mago, R., Wellings, C. et al. *Lr67* and *Lr34* rust resistance genes have much in common – they confer broad spectrum resistance to multiple pathogens in wheat. *BMC Plant Biol* 13, 96 (2013). <https://doi.org/10.1186/1471-2229-13-96>

11. Periyannan S, Milne RJ, Figueroa M, Lagudah ES, Dodds PN. An overview of genetic rust resistance: From broad to specific mechanisms. *PLoS Pathog.* 2017 Jul 13;13(7):e1006380. doi: 10.1371/journal.ppat.1006380.
12. Figueroa M, Hammond-Kosack KE, Solomon PS. A review of wheat diseases-a field perspective. *Mol Plant Pathol.* 2018 Jun;19(6):1523-1536. doi: 10.1111/mpp.12618.
13. Pandolfi V, Neto JRCE, da Silva MD, Amorim LLB, Wanderley-Nogueira AC, de Oliveira Silva RL, Kido EA, Crovella S, Iseppon AMB. Resistance (R) Genes: Applications and Prospects for Plant Biotechnology and Breeding. *Curr Protein Pept Sci.* 2017;18(4):323-334. doi: 10.2174/1389203717666160724195248.
14. Ross BT, Zidack NK, Flenniken ML. Extreme Resistance to Viruses in Potato and Soybean. *Front Plant Sci.* 2021 Apr 6;12:658981. doi: 10.3389/fpls.2021.658981. PMID: 33889169; PMCID: PMC8056081.
15. Torrance L, Talianksy ME. Potato Virus Y Emergence and Evolution from the Andes of South America to Become a Major Destructive Pathogen of Potato and Other Solanaceous Crops Worldwide. *Viruses.* 2020 Dec 12;12(12):1430. doi: 10.3390/v12121430.
16. Kushalappa, A. C., Yogendra, K. N., & Karre, S. (2016). Plant Innate Immune Response: Qualitative and Quantitative Resistance. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 35(1), 38–55. <https://doi.org/10.1080/07352689.2016.1148980>
17. Andersen EJ, Ali S, Byamukama E, Yen Y, Nepal MP. Disease Resistance Mechanisms in Plants. *Genes (Basel).* 2018 Jul 4;9(7):339. doi: 10.3390/genes9070339.
18. Paul NC, Park SW, Liu H, Choi S, Ma J, MacCready JS, Chilvers MI, Sang H. Plant and Fungal Genome Editing to Enhance Plant Disease Resistance Using the CRISPR/Cas9 System. *Front Plant Sci.* 2021 Aug 10;12:700925. doi: 10.3389/fpls.2021.700925.
19. Erdoğan İ, Cevher-Keskin B, Bilir Ö, Hong Y, Tör M. Recent Developments in CRISPR/Cas9 Genome-Editing Technology Related to Plant Disease Resistance and Abiotic Stress Tolerance. *Biology (Basel).* 2023 Jul 22;12(7):1037. doi: 10.3390/biology12071037.
20. Schenke D, Cai D. Applications of CRISPR/Cas to Improve Crop Disease Resistance: Beyond Inactivation of Susceptibility Factors. *iScience.* 2020 Aug 20;23(9):101478. doi: 10.1016/j.isci.2020.101478.

Інформаційні ресурси

1. Журнал: Карантин і захист рослин – режим доступу: http://archive.nbu.gov.ua/Portal/chem_biol/Kizr/
2. Журнал: European Journal of Plant Pathology – режим доступу: <https://www.springer.com/journal/10658>
3. EPPO (2016) EPPO Global Database [Electronic resource]. Mode of access: <https://gd.eppo.int>.
4. NCBI database <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
5. Database on quarantine pests <https://qbank.eppo.int/>
6. Національна наукова сільськогосподарська бібліотека Національної академії аграрних наук. – режим доступу: dnsgb.com.ua
7. Наукова бібліотека Національного університету біоресурсів і природокористування України. – режим доступу: <https://nubip.edu.ua/structure/library>
8. Навчально-інформаційний портал Національного університету біоресурсів і природокористування України. – режим доступу: <https://elearn.nubip.edu.ua/?redirect=0>
9. <https://www.syngenta.ua/products/search/crop-protection>