

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І  
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Кафедра генетики, селекції і насінництва ім. проф. М.О. Зеленського

**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**  
Декан агробіологічного факультету  
Тонха О. Л.  
Протокол № 4 від «4» 05 2023 р.

**«СХВАЛЕНО»**  
на засіданні кафедри генетики, селекції і  
насінництва ім. проф. М.О. Зеленського  
Протокол № 10 від «4» 05 2023р.  
Завідувач кафедри Макарчук О.С.

**«РОЗГЛЯНУТО»**  
Гарант ОП Селекція і генетика  
сільськогосподарських культур  
Гарант ОП Макарчук О.С.

**РОБОЧА ПРОГРАМА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ**

**Генетика імунітету рослин проти збудників хвороб та шкідників**

спеціальність 201 «Агрономія»

освітня програма Селекція і генетика сільськогосподарських культур

факультет Агробіологічний

Розробник: професор, доктор с.-г. наук, професор Ковалишина Г.М.

Київ – 2023 р.

## 1. Опис навчальної дисципліни

### Генетика імунітету рослин проти збудників хвороб та шкідників

Галузь знань, спеціальність, освітня програма, освітній ступінь		
Освітній ступінь	<i>Магістр</i>	
Спеціальність	<i>201 Агрономія</i>	
Освітня програма	<i>Селекція і генетика с.-г. культур</i>	
Характеристика навчальної дисципліни		
Вид	<i>Обов'язкова</i>	
Загальна кількість годин	<i>180</i>	
Кількість кредитів ECTS	<i>6</i>	
Кількість змістових модулів	<i>3</i>	
Курсова робота (за наявності)		
Форма контролю	<i>Екзамен</i>	
Показники навчальної дисципліни для денної та заочної форм навчання		
	денна форма навчання	заочна форма навчання
Курс (рік підготовки)	<i>1</i>	
Семестр	<i>1</i>	
Лекційні заняття	<i>30 год.</i>	
Практичні, семінарські заняття	<i>30 год.</i>	
Лабораторні заняття		
Самостійна робота	<i>120 год.</i>	
Індивідуальні завдання		
Кількість тижневих аудиторних годин для денної форми навчання	<i>4 год.</i>	

## 2. Мета, завдання та компетентності навчальної дисципліни

Введення в практику стійких проти хвороб сортів є найбільш ефективним методом захисту рослин. Однак, певна кількість сортів із значним ступенем стійкості були створені без розуміння механізмів цієї стійкості. Одним із засобів досягнення розуміння механізмів стійкості рослин є накопичення фундаментальних знань про захисні механізми рослин – господаря і тих тактичних прийомів, які використовує патоген для подолання цих бар'єрів, а також застосування цих знань для практичного захисту від хвороб. Тому, використання в селекції на імунітет найновіших досягнень науки, що стосується взаємовідносин рослини і патогену як на біохімічному рівні, так і на рівні взаємовідносин рослини-

господаря з патогеном в умовах середовища, є першочерговим завданням, яке дозволить вирішити проблему зі створення комплексно імунних сортів проти шкідливих організмів.

*Мета* – набуття студентами знань з теоретичних основ імунітету рослин проти хвороб та шкідників та навиків з практичного їх застосування.

*Завдання* – освоєння наукових основ імунітету та вивчення методів селекції с.-г. рослин на стійкість проти хвороб та шкідників.

У результаті вивчення навчальної дисципліни студент повинен

**знати:**

1) теоретичні основи імунітету та стійкості рослин. Типи стійкості. Фізіологічні та біохімічні аспекти імунітету;

2) генетику стійкості рослин проти хвороб;

3) методи оцінки стійкості селекційного матеріалу до фітопатогенів та шкідників;

4) методи створення вихідного матеріалу, стійкого до фітопатогенів та шкідників;

**вміти:**

1) застосовувати на практиці набуті знання з теоретичних основ імунітету рослин;

2) володіти методиками визначення генетики ознаки стійкості до фітопатогенів;

3) володіти методиками обліку з ураження рослин збудниками хвороб та пошкодження їх шкідниками;

4) володіти методами створення вихідного матеріалу, стійкого проти хвороб та шкідників.

Набуття компетентностей:

***інтегральна компетентність (ІК):***

Здатність розв'язувати складні задачі і проблеми у сфері агрономії під час здійснення професійної діяльності або у процесі навчання, що передбачає проведення досліджень та/або здійснення інновацій та характеризується комплексністю та невизначеністю умов.

***загальні компетентності (ЗК):***

ЗК3 здатність виявляти, ставити та вирішувати проблеми;

ЗК5 здатність розробляти проекти та управляти ними;

ЗК6 прагнення до збереження навколишнього середовища.

***фахові (спеціальні) компетентності (ФК):***

ФК2 здатність аналізувати та оцінювати сучасні проблеми, перспективи розвитку та науково-технічну політику в сфері агрономії;

ФК7 здатність самостійно організовувати та проводити наукові дослідження з використанням загальноприйнятих методів і стандартів ґрунтових і рослинних зразків.

***Програмні результати навчання (ПРН):***

ПРН1. Використовувати методологію наукових досліджень, спеціальні методи та інструменти експериментальних досліджень, сучасні методи обробки даних для розв'язання складних задач агрономії.

ПРН2. Інтегрувати знання з різних галузей для розв'язання складних теоретичних та/або практичних задач і проблем агрономії.

ПРН4. Здійснювати пошук необхідної інформації та оцінювати її в науково-технічній літературі, аналізувати, обробляти та оцінювати цю інформацію.

ПРН5. Планувати і виконувати наукові і прикладні дослідження в сфері агрономії, аналізувати результати, обґрунтовувати висновки.

ПРН7. Розробляти та реалізовувати проекти екологічно безпечних прийомів і технологій виробництва високоякісної продукції рослинництва з урахуванням особливостей агроландшафтів та економічної ефективності.

### 3. Програма та структура навчальної дисципліни для:

– повного терміну денної форми навчання

Назви змістових модулів і тем	Кількість годин													
	денна форма							Заочна форма						
	тижні	усього	у тому числі					усього	у тому числі					
			л	п	лаб	інд	с.р.		л	п	лаб	інд	с.р.	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
<b>Змістовий модуль 1. Імунітет рослин щодо хвороб та генетичні основи стійкості.</b>														
Тема 1. Стан вивчення проблеми імунітету.	1	12	2	2			8							
Тема 2. Взаємодія рослин із шкідливими організмами.	2	12	2	2			8							
Тема 3. Типи стійкості рослин	3	12	2	2			8							
Тема 4. Генетичні основи стійкості с.-г. культур проти фітопатогенів.	4	12	2	2			8							
Тема 5. Генетика патогенності збудників хвороб.	5	12	2	2			8							
		60	10	10			40							
<b>Змістовий модуль 2. Імунітет рослин щодо шкідників та оцінка селекційного матеріалу на стійкість проти хвороб та шкідників.</b>														
Тема 6. Імунітет рослин проти шкідників.	6	12	2	2			8							

Тема 7. Генетика стійкості рослин проти шкідників	7	12	2	2			8						
Тема 8. Оцінка селекційного матеріалу на стійкість проти хвороб та шкідників	8	12	2	2			8						
Тема 9. Лабораторні методи вивчення стійкості рослин.	9	12	2	2			8						
Тема 10. Створення і використання інфекційних фонів для випробування стійкості зразків проти хвороб та шкідників.	10	12	2	2			8						
Разом за змістовим модулем 2	60		10	10			40						
Змістовий модуль 3. Методи створення вихідного селекційного матеріалу на стійкість проти збудників хвороб та шкідників.													
Тема 11. Вихідний матеріал на стійкість проти збудників хвороб і шкідників.	11	12	2	2			8						
Тема 12. Методи створення вихідного матеріалу, стійкого проти збудників хвороб та шкідників	12	12	2	2			8						
Тема 13. Експериментальний мутагенез. Методи біотехнології.	13	12	2	2			8						
Тема 14. Сорт – основа ефективного захисту рослин від хвороб та шкідників.	14	12	2	2			8						
	15	12	2	2			8						
Разом за змістовим модулем 3	60		10	10			40						
Усього годин	180		30	30			120						

#### 4. Теми семінарських занять

№ з/п	Назва теми	Кількість годин
1	Не передбачено	

#### 5. Теми практичних занять

№ з/п	Назва теми	Кількість годин
1	Категорії імунітету рослин	2
2	Методика вивчення расового складу збудників хвороб.	2
3	Генетичний аналіз вірулентності.	2
4	Банк генів стійкості. Джерела та донори стійкості.	2
5	Ідентифікація генів стійкості проти грибних хвороб.	2
6	Статистичний обробіток даних гібридологічного аналізу.	2
7	Методи створення стійких сортів проти хвороб.	2
8	Методи створення стійких сортів проти шкідників	2
9	Методи обліку шкідників на сортах польових культур.	2
10	Методи обліку хвороб на різних сортах польових культур.	2
11	Методи оцінювання стійкості сортів проти шкідників.	2
12	Методи оцінювання стійкості сортів проти хвороб.	2
13	Методи створення штучних інфекційних і інвазійних фонів	2
14	Науково-методичні основи селекції польових культур на стійкість проти хвороб і шкідників	2
15	Методика і техніка селекційного процесу зі створення стійких сортів.	2
	Разом	30

#### 6. Теми лабораторних занять

№ з/п	Назва теми	Кількість годин
1	Не передбачено	

#### 7. Теми самостійної роботи

№ з/п	Назва теми	Кількість годин
1	Імуногенетика. Підготовка до практичних занять.	8
2	Генотип, фенотип, середовище. Підготовка до практичних занять.	8
3	Спеціалізація мікроорганізмів за способом і характером харчування. Підготовка до практичних занять.	8
4	Біологічна спеціалізація паразитів і типи стійкості рослин. Підготовка до практичних занять.	8
5	Методичні підходи з виявлення расового складу паразитів у селекційній практиці.	8

	Підготовка до практичних занять.	
6	Система захисних механізмів у рослин. Підготовка до практичних занять.	8
7	Полеві випробування у інфекційних розсадниках. Підготовка до практичних занять.	8
8	Методи обліків у полі і лабораторних умовах. Підготовка до практичних занять.	8
9	Особливості взаємовідносин між рослинами і фітофагами. Підготовка до практичних занять.	8
10	Антропогенні порушення навколишнього середовища і імунітет у рослин. Підготовка до практичних занять.	8
11	Принципи і методи виявлення стійкості у рослин. Підготовка до практичних занять.	8
12	Селекція рослин на імунітет. Підготовка до практичних занять.	8
13	Імунітет і його вплив на чисельність і ареал шкідливих організмів. Підготовка до практичних занять.	8
14	Шляхи підвищення імунітету рослин в онтогенезі	8
15	Значення сорту у становленні агроecosystem і інтегрованої системи захисту рослин. Підготовка до практичних занять.	8
	Разом	120

## 8. Зразки контрольних питань, тестів для визначення рівня засвоєння знань студентами.

1. Дайте визначення імунітету рослин.
2. Чим відрізняються біотрофи від некротрофів?
3. Що таке пасивний і активний імунітет?
4. Дайте визначення донора і джерела стійкості. Вкажіть на їхні відмінності.
5. Назвіть та охарактеризуйте різні типи стійкості рослин до збудників хвороб.
6. Які особливості селекції на вертикальну і горизонтальну стійкість?
7. Назвіть основні чинники стійкості рослин проти пошкодження шкідниками.
8. Назвіть систему імунних бар'єрів у рослинах проти заселення і пошкодження шкідниками.
9. Назвіть фони на яких здійснюють оцінку селекційних зразків на стійкість проти хвороб і шкідників.
10. Назвіть основні селекційні методи, які застосовують при створенні стійких проти хвороб і шкідників сортів.
11. Назвіть основні хвороби пшениці.
12. Назвіть основних шкідників пшениці.
13. Назвіть основні хвороби кукурудзи.
14. Назвіть основних шкідників кукурудзи.
15. Що таке витривалість?
16. Що таке патогенність?

17. Що таке вірулентність?
18. Що таке агресивність?
19. На основні будь-якої з хвороб колосових культур опишіть процес створення штучного інфекційного фону і оцінки стійкості на ньому.
20. Розкажіть про особливості визначення стійкості зернових колосових культур до найбільш поширених і шкідливих комах.
21. Розкажіть про гени стійкості до бурої іржі пшениці і їх походження.
22. Які особливості селекції пшениці на стійкість проти сажкових хвороб?
23. Які особливості селекції пшениці на стійкість проти іржастих хвороб?
24. Назвіть сорти пшениці озимої з груповою стійкістю проти хвороб.
24. Назвіть селекційні установи у яких ведеться селекційна робота зі створення сортів зі стійкістю проти хвороб.
25. Як ведеться селекція на стійкість проти вірусних захворювань?
26. Чи є сорти пшениці з груповою стійкістю проти хвороб?
27. Хто сформував концепцію поєднання еволюції господаря і патогена на їх спільній батьківщині?
28. Хто висунув ідею взаємопов'язаної еволюції рослин і їх паразитів на їх спільній батьківщині?
29. Наведіть приклади стійких сортів пшениці, ячменю та тритикале.
30. Що таке толерантність? Використання її в селекції.
31. Назвіть основні методи селекції рослин на стійкість проти хвороб та шкідників.
32. Що таке віддалена гібридизація? Її значення в селекції стійких сортів.
33. Які сучасні методи біотехнології використовують для створення стійкого вихідного матеріалу пшениці?
34. Чому використовують насичуючі схрещування у селекції на імунітет?
35. Ефективність використання мутагенезу в селекції.
36. Тривалість вивчення зразків на інфекційних фонах.
36. Як створюють провокаційні фони збудника борошнистої роси пшениці?
37. Які фони необхідно використовувати для виявлення джерел стійкості?
38. Чи залежить ефективність генів стійкості від температури?
39. Яким вимогам повинні відповідати донори стійкості?
40. Як створюють інфекційний фон збудника твердої сажки пшениці?
41. Як створюють інфекційний фон бурої іржі пшениці?
42. Які шкали використовують для оцінки селекційного матеріалу до листових хвороб пшениці?
43. Які шкали використовують для оцінки селекційного матеріалу до листогризучих шкідників пшениці?
44. Які існують методи обліку пошкодженості рослин кукурудзи стебловим метеликом?
45. Що таке репелентна і атрактантна дія речовини?
46. Що таке антофілія і фітофагія?
47. Що таке антиксеноз?
48. Чим зумовлена енергетична уразливість шкідників?



49. Що таке поширення та інтенсивність розвитку хвороби? Як їх визначають?
50. Чи всі види комах в процесі еволюції перейшли на харчування культурними рослинами?
51. Назвіть основні типи пошкоджень рослин шкідливими комахами.
52. Розкажіть про систему імунологічних бар'єрів у рослин.
53. Назвіть традиційні методи селекції у створенні генотипів, стійких проти хвороб та шкідників.
54. Поясніть що таке індивідуальний і масовий добір. Вкажіть на подібність і відмінність.
55. Поясніть теорію Флора «ген-проти-гену».
56. Що таке моногенна і полігенна стійкість?
57. Назвіть типи успадкування стійкості.
58. Що таке трансгресія?
59. Для чого використовують конвергентні схрещування?
60. Що таке негативний добір?
61. Що таке модифікація і коли вона виникає?
62. Які схрещування використовують для вивчення характеру успадкування ознак стійкості проти шкідливих організмів?
63. Для якої культури вперше застосований метод міжвидових схрещувань?
64. Які сорти пшениці містять пшенично-житню транслокацію 1AL/1RS?
65. Які сорти пшениці створені за допомогою експериментального мутагенезу?
66. Назвіть переваги вертикальної стійкості.
67. Назвіть переваги горизонтальної стійкості.
68. Що таке ефект «Вертифолії»?
69. Що таке багатолінійні сорти?
70. Що обумовлює стійкість сорту проти шкідників?

### ПРИКЛАД ЕКЗАМЕНАЦІЙНОГО БІЛЕТУ

#### Дисципліни «Генетика імунітету рослин проти збудників хвороб та шкідників»

##### НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

<b>ОС Магістр</b> Спеціальність 201 Агрономія	Кафедра генетики, селекції і насінництва ім. проф. М.О. Зеленського 2023-2024 навч. рік	<b>ЕКЗАМЕНАЦІЙНИЙ</b> <b>БІЛЕТ № 1</b> з дисципліни Генетика імунітету рослин проти збудників хвороб і шкідників	Затверджую Зав. кафедри _____ (підпис) Макарчук О.С. «__» _____ 2023 р.
---	---	---	--

#### Екзаменаційні запитання

1. Типи імунітету: природний і набутий.

2. Джерела та донори стійкості.

3. Тестові завдання **Рівність** несприйнятливості рослин до шкідливого організму

	я терміну «Імунітет» :	2) неможливість патогену проникнути в рослину 3) несприйнятливість рослин до шкідливого організму за наявності умов, необхідних для ураження 4) відсутність реакції рослин при проникненні патогену 5) виділення клітинами великої кількості фітонцидів			
2.	Автором гіпотези «ген проти гена» є:	1) Флор 2) Ван-дер-Планк 3) Вавилов 4) Мічурін 5) Лисенко			
3.	Яким символом позначають гени стійкості проти стеблової іржі:	1) Yr 2) Lr 3) Sr 4) Pr 5) Vr			
4.	Найбільш повна характеристика агресивності може бути одержана в:	1) теплиці 2) клімокамері 3) in vitro 4) полі 5) лабораторії			
5.	Здатність викликати епіфітотії це:	1) вірулентність 2) патогенність 3) толерантність 4) агресивність			
6.	Яке розщеплення за фенотипом відповідає взаємодії двох дуплікатних домінантних генів:	1) 7:9 2) 13:3 3) 15:1 4) 9:7 5) 1:15			
7.	За кількох фенотипових класів число ступенів свободи дорівнює 1:	1) 5 2) 7 3) 3 4) 2 5) 1			
8.	Для створення донорів використовують (виберіть всі правильні відповіді):	1) віддалену гібридизацію 2) діалельний аналіз 3) експериментальний мутагенез 4) полікрос 5) методи біотехнології та генної інженерії			
9.	Хто вперше дав визначення терміну «донор»:	1) Кривченко 2) Жуковський 3) Зарубайло 4) Мережко 5) Гешеле			
10.	Чи повинні донори легко схрещуватися із сортами і давати високофертильних нащадків:	1) так 2) ні			

## 9. Методи навчання

### 1. Методи навчання за джерелом знань:

1.1. *Словесні*: читання лекцій з елементами дискусій, пояснення, інструктаж, робота з книгою (читання, конспектування, виготовлення таблиць, графіків, опорних конспектів тощо).

1.2. *Наочні*: демонстрація, ілюстрація, спостереження.

1.3. *Практичні*: практична робота, виробничо-практичні завдання.

**2. Активні методи навчання** (використання технічних засобів навчання, мозкова атака, диспути, круглі столи, використання проблемних ситуацій, екскурсії, групові дослідження, самооцінка знань, імітаційні методи навчання (побудовані на імітації майбутньої професійної діяльності), використання навчальних та контролюючих тестів, використання опорних конспектів лекцій та інші).

**3. Інтерактивні технології навчання** (використання мультимедійних технологій, інтерактивних електронних таблиць, відеоматеріалів, виконання комп'ютерних тестів та інші).

Частина матеріалу, що добре освітлена в літературі, додатково виноситься на самостійне вивчення. Окрім підручників та посібників студентам пропонується також опрацювати свіжі наукові статті в періодичних виданнях – для набуття навичок роботи з літературою за фахом. При цьому використовуються пошукові, інструктивно-практичні, аналітико-синтетичні, частково-пошукові методи.

## 10. Форми контролю

Рівень знань студентів денної форми навчання з даної дисципліни буде оцінюватись із застосуванням поточного контролю (здача 3-х змістових модулів) та підсумкової атестації (здача іспиту). За активну і сумлінну роботу протягом семестру, написання рефератів, створення презентацій можливе підвищення рейтингу з дисципліни за допомогою додаткових балів.

## 11. Розподіл балів, які отримують студенти.

Оцінювання знань студента відбувається за 100-бальною шкалою і переводиться в національні оцінки згідно з табл. 1. «Положення про екзамени та заліки у НУБіП України» (наказ про уведення в дію від 26.04.2023 р., протокол № 10)

Рейтинг студента, бали	Оцінка національна за результатами складання	
	екзаменів	заліків
90-100	Відмінно	Зараховано
74-89	Добре	
60-73	Задовільно	
0-59	Незадовільно	Не зараховано

Для визначення рейтингу студента (слухача) із засвоєння дисципліни  $R_{\text{дис}}$  (до 100 балів) одержаний рейтинг з атестації (до 30 балів) додається до рейтингу студента (слухача) з навчальної роботи  $R_{\text{НР}}$  (до 70 балів):  $R_{\text{дис}} = R_{\text{НР}} + R_{\text{АТ}}$

## 12. Навчально-методичне забезпечення

1. Генетика імунітету рослин проти хвороб і шкідників. Навчальний посібник. Ковалишина Г.М., Дмитренко Ю.М., Макарчук О.С. Київ: НУБіП України. 2021. 181 с.

2. Генетика імунітету рослин проти збудників хвороб та шкідників. Методичні рекомендації до виконання практичних робіт та самостійної роботи студентів ОС «Магістр» спеціальності 201 «Агрономія» ОПП «Селекція і генетика сільськогосподарських культур» агробіологічного факультету. Г.М. Ковалишина, Ю.М. Дмитренко, О.С. Макарчук. 2021. 36 с.

3. Методичні рекомендації з обліку чисельності шкідників на посівах зернових колосових культур. В.П. Петренкова, Т.Ю. Маркова, І.М. Черняєва та ін. Харків, 2011. 52 с.

4. Методологія оцінювання стійкості сортів пшениці проти шкідників і збудників хвороб С.О.Трибель, М.В. Гетьман, О.О. Стригун, Г.М. Ковалишина, А.В. Андрющенко. К.: Колобіг, 2010. 392 с.

5. Методичні рекомендації з обліку чисельності шкідників і розповсюдженості хвороб у посівах кукурудзи. В.П. Петренкова, І.Ю. Боровська, В.В. Баранова, І.М. Ниска, С.В. Чугаєв, А.В. Бубнікович. Харків, 2014. 63 с.

6. Генетика імунітету рослин проти збудників хвороб та шкідників. Методичні рекомендації. Г.М. Ковалишина, В.Л. Жемойда. 2017. 24 с.

### **13. Рекомендовані джерела інформації**

#### **Основна**

1. Генетика імунітету рослин проти хвороб і шкідників: навчальний посібник/Г.М. Ковалишина, Ю.М. Дмитренко, О.С. Макарчук. Київ: НУБіП України. 2021. 181 с.

2. Основи селекції польових культур на стійкість до шкідливих організмів: навчальний посібник, за ред. В.В. Кириченка, В.П. Петренкової. НААН, Ін-т рослинництва ім. В.Я. Юр'єва. Х.: Ін-т рослинництва ім. В.Я. Юр'єва, 2012. 320 с.

3. Теоретичні основи селекції зернобобових культур на стійкість до шкідливих організмів/ В.П. Петренкова, Т.В. Сокол, І.С. Лучна. Харків: Колегіум. 2013. 200 с .

#### **Допоміжна**

1. McIntosh R.A. Wheat Rusts. An Atlas of Resistance Genes. – CSIRO Australia, 1995-2021.

#### **Інформаційні ресурси**

1. Періодичні наукові видання:

- ж. Селекція і насінництво;
- ж. Захист і карантин рослин;
- ж. Генетичні ресурси рослин;
- ж. Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів.

2. Інтернет-ресурси:

- <http://www.degruyter.com/view/j/plass> (The Journal of Plant Breeding and Acclimatization Institute – National Research Institute);
- <http://journals.cambridge.org/action> ( Journal Citation Reports);
- <http://www.fao.org/agriculture/crops/thematic-sitemap/theme/seeds-pgr/en> (Seeds and Plant Genetic Resources);
- [http://www.leksika.com.ua/15951124/ure/imunitet\\_roslin](http://www.leksika.com.ua/15951124/ure/imunitet_roslin) (Українська Радянська Енциклопедія);
- <http://www.nature.com/subjects/plant-immunity>;
- <http://www.springer.com/life+sciences/plant+sciences> (Methods and Protocols. Series: Methods in Molecular Biology).