

5. Ермаков И.П., Баранцева Л.М., Матвеева Н.П. Цитохимическое изучение ДНК в процессе созревания яйцеклетки и в раннем эмбриогенезе у *Pinus sibirica* Du Tour // Онтогенез. - 1981. - т. 12, № 4. - С. 339–345.
6. Морозова Е.М. Дополнительная ядерная ДНК в клетках зародышевых мешков *Haemanthus albiflos* и *Ornithogalum caudatum*. Известия АН. Серия биологическая. - 2002. - № 2. - С. 238–242.
7. Kojima A., Nagato Y. Diplosporous embryo-sac formation and the degree of diplospory in *Allium tuberosum* // Biomedical and Life Sciences. - 1992. - v. 5, № 1. - P. 72–78.
8. Mericle L.W., Mericle R.P. Nuclear DNA complement in young proembryos of barley // Mutat. Res. - 1970. - vol. 10, № 10. - P. 508–518.
9. Hasitchka-Jenschke G. Die Entwicklung der Samenanlage von *Allium ursinum* mit besonderer Berücksichtigung der endopolyploiden Kerne in Synergiden und Antipoden // Oesterr. Bot. Z. - 1957. - V. 104, № 1/2. - P. 1–24.
10. Nagl W. The polytenic antipodal cells of *Scilla bifolia*; DNA replication pattern and possibility of nuclear DNA amplification // Cytobiol. - 1976. - v. 14, № 1. - P. 165–170.
11. Rasch E.M., Wyngaard, G.A. Analysis of DNA levels during gonemery in early cleavage divisions of the freshwater copepod *Mesocyclops edax*. // Microsc. Microanal. - 1997. - v. 3. - P. 191-192.
12. Гришанин А.К., Акифьев А.П. Межпопуляционная дифференциация внутри *C.kolensis* and *C. strenuus strenuus* (Crustacea: Copepoda): доказательство на основе цитогенетических методов // Гидробиология. - 1999. - т. 417. - С. 37–42.
13. Levites E.V. Redetermination: an interesting epigenetic phenomenon associated with mitotic agamospermy in sugar beet // Sugar Tech. - 2002. - v. 4, № 3/4. - P. 137–141.
14. Levites E.V., Kirikovich S.S. Epigenetic variability of unlinked enzyme genes in agamospermous progeny of sugarbeet // Sugar Tech. - 2003. - v. 5, № 1/2. - P. 57–59.
15. Levites E.V., Kirikovich S.S., Denisova F.Sh. Expression of enzyme genes in agamospermous progenies of reciprocal hybrids of sugar beet // Sugar Tech. - 2001. - vol. 3, № 4. - P. 160–165.
16. McClintock B. The Significance of Responses of the genome to challenge // Science. - 1984. - v. 226. - P. 792–801.
17. Durrent A., Timmis J.N. Genetic control of environmentally induced changes in *Linum* // Heredity. - 1973. - v. 30, № 3. - P. 369–379.
18. Богданова Е.Д. Эпигенетическая изменчивость, индуцированная никотиновой кислотой у *Triticum aestivum* L. // Генетика. - 2003. - т. 39, № 9. - С. 1221–1227.
19. Levites E.V., Denisova F.Sh., Kirikovich S.S., Judanova S.S. (*Maletskaya S.S.*) Ratios of phenotypes at the *Adh1* locus in the apozygotic offspring in sugarbeet (C_1 generation) // Sugar Tech. - 2000. - vol. 2, № 4. - P. 26-30.
20. Riou-Khamlichi C., Menges M., Healy J.M.S., Murray J.A.H. Sugar control of the plant cell cycle: differential regulation of *Arabidopsis* D-type cyclin gene expression // Molec. Cell. Biol. - 2000. - v. 20, № 13. - P. 4513-4521.

Резюме

На основании собственных и имеющихся в литературе данных обсуждаются соотношения фенотипических классов маркерного фермента в гамоспермных (половых) потомствах сахарной свеклы и гипотеза о многомерности кодирования наследственной информации у растений.

On the base of previously published and literature data it has been discussed marker enzyme phenotype ratios in gamospermous (sexual) sugar-beet progenies and a concept of multidimensional encoding of inherited information in plants.

Е.И. МАЛЕЦКАЯ, С.С. ЮДАНОВА

НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИЗНАКА РАЗДЕЛЬНО-СРОСТНОЦВЕТКОВОСТИ У САХАРНОЙ СВЕКЛЫ (*BETA VULGARIS* L.) ПРИ ЭПИМУТАГЕНЕЗЕ

. Признак раздельноцветковости и природа его наследования в семенных поколениях у сахарной свеклы до последнего времени остается все еще недостаточно изученным. Впервые задача по созданию одностростковых сортов в СССР была поставлена и решена в 30-х годах XX в. в связи с необходимостью снижения затрат ручного труда при возделывании фабричных посевов свеклы. В популяциях многостростковой свеклы были найдены раздельноцветковые растения (РЦ), которые послужили исходным материалом для селекции одностростковых сортов. При первом генетическом изучении РЦ признака было установлено, что этот признак наследуется в поколении F_2 по рецессивному типу [1, 2]. Однако в последующее время как в селекционных, так и в генетических экспериментах было показано, что признак – число цветков в соцветиях – характеризуется фенотипической нестабильностью и зачастую не подчиняется правилам менделеевского моногенного наследования. Некоторые исследователи в конце 1960-х годов полагали, что применение инбридинга позволит выделить из сортов популяций гомозиготные генотипы с константным РЦ признаком. Однако частота возникновения стростноцветковых (СЦ) растений в отдельных РЦ потомствах была столь высока, что говорить об их мутационном происхождении было невозможно. Далее оказалось, что нестабильность экспрессии РЦ признака присуща не только сортам-популяциям, но и инбредным линиям сахарной свеклы, а также и растениям, репродуцируемым клонально [3,4]. Рассматривая эту проблему с точки зрения сегодняшнего понимания теории наследственности, можно сделать вывод об эпигенетической природе наследования РЦ-СЦ признака у свеклы [5].

Целью данной работы было – изучение признака РЦ-СЦ у линии мсСОАН-5, обработанной 5-azaC в ряду апозиготических поколений. Под апозиготией понимается развитие эмбриона из генеративных или соматических клеток семязачатка без участия генетического материала пыльцевого родителя [8].

Материал и методы

В опыт была взята пыльцестерильная СЦ линия мсСОАН-5 селекции лаборатории популяционной генетики СО РАН, склонная к партеногенетическому (апозиготическому) способу репродукции семян. Многолетние наблюдения (с 1969 года) за этой линией не зафиксировали ни одного случая появления в ее потомствах растений РЦ фенотипа. В нашей работе для получения апозиготических семян был использован стерильный аналог линии мсСОАН-5 (ЦМС), растения которого выращивали на изолированном участке в беспыльцовом режиме. Линия мсСОАН-5, использованная в опытах для получения эпимутантов, в последние 4 поколения размножалась апозиготическим способом.

В качестве эпимутагена использовали раствор 5-азациитидина (5-azaC), ингибирующий процесс метилирования ДНК клеточными метилазами. Перед посевом семена линии мсСОАН-5 промывали в течение двух суток в проточной воде, далее их помещали в термостат и проращивали при температуре +28°C. Затем наклонившиеся семена помещали в 0,5 мМ раствор 5-azaC на 24 часа, а контрольные семена оставляли в воде. Штеклинги выращивали в теплице, и до весны (три месяца) оставляли на яровизацию при температуре 0,+3°C, после чего высаживали в поле.

Во время цветения дважды описывали изменчивость цветоносных побегов по числу цветков в частных соцветиях – в начале периода цветения и в конце. Отмечали изменения в структуре цветочных метамеров на побегах первого и второго порядков. Число цветков в соцветиях всегда больше на ветвях первого порядка и уменьшается на

побегах второго и третьего порядков. Для описания растений по РЦ-СЦ признаку использовали следующие обозначения: если на ветвях первого порядка преобладает фракция метамеров с двумя цветками, но одновременно встречаются и одиночные цветки на побеге, то запись будет – 2₁; на этом же растении на побегах второго порядка доминируют простые метамеры с одиночными цветками, но в небольшом количестве встречаются и двуцветковые соцветия, то запись будет – 1₂. В итоге фенотип описываемого растения определяется как 2₁ - 1₂. На основе изложенного принципа классификации цветonoсных побегов производится идентификация цветковых метамеров на ветвях первого и второго порядка по всей выборочной совокупности по РЦ-СЦ признаку. Растения, которые имеют цветки 2₁ - 1₂; 1₂ - 1₂; 1₂ - 1; 1 - 1 на побегах, относятся к РЦ фенотипам, а растения, у которых на цветonoсных побегах встречаются метамеры с числом цветков 2 – 2; 2₁ – 2₁ и более относятся к СЦ фенотипам [3, 4]. Распределение растений по фенотипам описывали с помощью статистического критерия G для многопольных таблиц.

Поколения апозиготической репродукции семян в настоящей статье обозначены буквой «А» с нижнем индексом, который указывает номер поколения репродукции. Обработанные 5-азациитидином материалы обозначаются буквами “Az” с нижним индексом, обозначающим номер поколения репродукции. Так, контрольные растения не обработанные азациитидином, записывали – А₀; опытные растения, семена которых обрабатывали эпимутагеном 5- азациитидином, – А₀Аz₀. А₁- первое апозиготическое поколение контрольных растений; А₁Аz₁ – первое апозиготическое поколение, обработанное эпимутагеном и т. д. Следующие поколения экспериментальных растений репродуцировали апозиготическим способом без дальнейшей обработки 5-azaC.

Результаты и обсуждение

Опыты с 5-azaC показали, что препарат ускоряет вступление растений свеклы в фазу цветения, снижает число цветков в метамерах и повышает долю РЦ растений в СЦ материалах. У возникающих РЦ растений резко увеличивается степень ветвления побегов. У СЦ линии СОАН-5 ранее в соцветиях наблюдали до пяти цветков в клубочке, теперь же после обработки 5-azaC, при репродукции возникают РЦ-формы и число цветков в метамерах существенно снизилось [6, 7].

В таблице 1 показаны результаты идентификации контрольных и опытных растений по типам метамеров побегов и по РЦ-СЦ фенотипам.

Таблица 1.

Морфогенетическое описание цветonoсных побегов по РЦ-СЦ признаку в смежных поколениях однородительской репродукции (2005-2008 гг.)

Поколение*	Фенотипы метамеров цветonoсных побегов (число растений)									Итого
	СЦ**						РЦ**			
	3 ₄ -3 ₂	3 ₂ -3 ₂	3 ₂ -2 ₃	2 ₃ -2 ₃	2 ₃ -2 ₁	2 ₁ -2 ₁	2 ₁ -1 ₂	1 ₂ -1 ₂	1 ₂ -1	
А ₀	2	8	27	0	16	15	0	0	0	68
А ₁	3	10	23	9	15	19	0	0	0	79
А ₀ Аz ₀	0	2	12	0	10	27	1	3	0	55
А ₁ Аz ₁	0	0	1	0	9	25	10	10	15	70
А ₂ Аz ₂	0	1	1	0	10	17	3	4	2	38
А ₃ Аz ₃	6	0	1	1	5	46	2	1	3	65

* А₀ – исходный материал; А₀Аz₀ – исходные растения, обработанные 5-azaC (опыт); А₁ – первое апозиготическое поколение; А₁Аz₁, А₂Аz₂, А₃Аz₃ – первое, второе и третье поколение (опыт).

** Обозначение: 3₂-2₃ означает, что на центральном побеге преобладает фракция метамеров с 3^{мя} цветками, но встречаются метамеры с 2^{мя} цветками (3₂); на побегах первого порядка доминирует фракция метамеров с 2^{мя} цветками, а в миноре представлена фракция метамеров с 3^{мя} цветками (2₃).

Изучение опытных растений проводили в течении 3 поколений однородительской репродукции. Однократная обработка 5-azaC привела к достоверному повышению уровня раздельноцветковости (табл. 2).

Таблица 2.

Статистические различия по РЦ-СЦ признаку в смежных поколениях однородительской репродукции (критерий G)

Сравниваемые поколения	G _{эсп.}	G _{табл.}	df
A ₀ и A ₀ Az ₀	21,592	16,8 (P > 0,99)	6
A ₀ Az ₀ и A ₁ Az ₁	174,756	22,5 (P > 0,999)	7
A ₁ и A ₁ Az ₁	107,898	26,1 (P > 0,999)	8
A ₁ Az ₁ и A ₂ Az ₂	11,3	14.1 (P > 0,95)	7
A ₁ Az ₁ и A ₃ Az ₃	12,2,	15.5 (P > 0,95)	8

В опыте (A₀Az₀) появилось четыре РЦ-растения. Отметим, что за 40-летний период наблюдений за этой СЦ-линией у нее ни разу не было выявлено рц-растений. Для дальнейшего размножения отбирались семена только с рц-растений. Любопытным фактом оказалось то, что после однократного однородительского размножения (A₁Az₁) доля РЦ-растений не только сохранилась, но даже увеличилась (табл. 1). Статистическое сравнение свидетельствует о достоверности различий (табл. 2). Однако при дальнейшей однородительской репродукции доля РЦ-растений падает. После двукратного и трехкратного однородительского размножения в исследуемом материале сохранялись РЦ-формы, хотя доля их постепенно снижается: 23,7% после двукратной и 9,2% после трехкратной апозиготической репродукции (табл. 1). Различия между вариантами опытов статистически достоверны (табл. 2).

Как показывают наши экспериментальные данные, 5-azaC снижает число цветков в метамерах у всех растений, что приводит к появлению в поколении Az₀ растений РЦ-фенотипов (2₁-1₂; и 1₂-1₂; 1₂-1). Спонтанное возникновение РЦ фенотипа возможно и без применения эпимутагенов, но оно реализуется с очень низкой частотой – 5×10^{-6} [1]. Тенденция снижения числа цветков в соцветиях в поколении A₀Az₀ сохраняется и в последующих поколениях, хотя этот показатель определяется условиями выращивания. Получаемые апозиготическим способом семена имеют относительно высокий уровень однородности и всхожести. Несмотря на то, что многие исследуемые растения квалифицировали как СЦ фенотипы, но завязываемые на растениях плоды по своим технологическим свойствам ближе к однородным, чем к многократным.

Нами проведен подсчет абсолютной массы плодов в потомствах, полученных от одного растения. линии (мсСОАН 5)_{az}-35А фенотипа 2₁ – 2₁, репродуцируемых в течение 4-х лет (2004-2008 гг.). Всего было выращено 67 растений, значительная часть которых имела СЦ фенотип. У каждого из 67 растений была определена абсолютная масса плодов. Как показали подсчеты, значения абсолютной массы варьировали в выборке эпимутантных растений от 6г до 24г, составив в среднем $10,2 \pm 0,19$ г. Столь невысокое среднее значение абсолютной массы плодов свидетельствует, что эпимутантные растения линии (мсСОАН 5)_{aza}-35А по абсолютной массе плодов ближе к растениям РЦ, чем СЦ фенотипа. С технологической точки зрения многие СЦ растения являются скорее однородными, чем многократными.

Данная работа выполнена при поддержке Интеграционного гранта СО РАН №99 и гранта РФФИ 09-04-00092.

Литература

1. Бордонос М.Г. Характер расщепления и некоторые особенности свекловичных посадок с одноцветковыми семенами. Селекция и семеноводство, -1938.- 6: 24-27.
2. Savitsky V.F. A genetic study of monogerm characters in beet // Proc. Amer. Soc. Sugar Beet Technol., 1952. Vol.7. P.331-338.

3. *Малецкий С.И., Шавруков Ю.Н., Мглинец А.В.* Наследование признака раздельно-сростноцветковости. В кн.: Одноростковость свеклы. Эмбриология, генетика, селекция. Новосибирск: «Наука» Сибирское отделение, 1988.- С. 79 – 131.
4. *Малецкий С.И., Шавруков Ю.Н.* Генетический контроль раздельно-сростноцветковости. В кн.: Генетический контроль размножения сахарной свёклы. Новосибирск: «Наука» Сибирское отделение, 1991.- С. 50–113
5. *Малецкий С.И.* Эпигенетическая изменчивость признака раздельно-сростноцветковости у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.). В кн.: Идентифицированный генофонд растений и селекция, СПб: ВИР, 2005.- С. 179–189.
6. *Малецкая Е.И., Юданова С.С., Малецкий С.И.* Влияние эпимутагена 5-азациитидина на метамерное строение цветonoсных побегов сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.). // Генетика. - 2006.- Т.42, № 7 с.939 –946.
7. *Малецкая Е.И., Юданова С.С., Малецкий С.И.* Влияние 5-азациитидина на ветвление цветonoсных побегов сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.). // Цитология и генетика.- 2006.- Т.40, № 6 с.15–20.
8. *Хохлов С.С.* Апомиксис: классификация и распространение у покрытосеменных растений. В кн.: Успехи современной генетики. М.: «Наука», - 1967.- Т.1. с.43–105

Резюме

Результаты исследования показали, что обработка сростноцветковых форм растений сахарной свеклы эпимутагеном 5-azaC достоверно снижает число цветков в метамерах цветonoсных побегов. Снижение уровня сростноцветковости у исследуемой линии обнаружено нами впервые за более чем 40-летний период наблюдений. На основе линии мсСОАН-5 были получены полностью раздельноцветковые растения. После двукратного и трехкратного однородительского размножения в исследуемом материале сохранялись РЦ-формы, хотя доля их постепенно снижается.

A results of investigation showed, that 5-azaC reduce a flower number in metamere of flower stalk. A decrease of synanthy (polygerm) in this line for the first time was found during the 40 year of observation.

МАЛЕЦКИЙ С.И.

Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10, e-mail: stas@bionet.nsc.ru

ГЕНОМНЫЕ СТРЕССЫ И ПРИРОДА НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ У ПОЛИПЛОИДНЫХ РАСТЕНИЙ.

Под полиплоидией понимается кратное (эуплоидия) или некратное (анэуплоидия) основному геному изменение числа хромосом в ядрах клеток. Среди цветковых растений полиплоидные виды составляют более 70 %, а во многих систематических группах описаны полиплоидные серии – число хромосом в соматических клетках кратно 2, 3, 4 и большему числу гаплоидных наборов. Столь широкое распространение естественных полиплоидов в природе свидетельствует, что их распространенность в природе обязана универсальному механизму, меняющему структуру геномов («геномный стресс»). Подобное понимание феномена полиплоидии позволяет рассматривать эту проблему за пределы менделеевской парадигмы наследственности. Понятие «стресс», используемое в статье, отлично от определения, введенного в научную лексику физиологом Г. Селье в 1936 г.: «стресс как состояние напряжения, возникающее у человека или животного под влиянием сильных воздействий (общая неспецифическая реакция организмов)». Понятие «стресс» в современной биологии