

Резюме

Досліджено вплив хітозану та екзополісахариду із *Pseudomonas syringae* pv. aptata на особливості росту, продуктивність та стійкість рослин пшениці та буряку. Встановлено позитивний вплив хітозану у концентрації 500 мг/л і 1000 мг/л на насінневу продуктивність рослин ярої пшениці. Екзоцеллюлярний полісахарид із збудника бактеріальної плямистості листя буряків у концентрації 500 мкг/мл сприяв захисту рослин від фітопатогенів при штучному їх зараженні.

Исследовано влияние хитозана и экзополисахаридов из *Pseudomonas syringae* pv. aptata на особенности роста, продуктивность и устойчивость растений пшеницы и свеклы. Установлено положительное влияние хитозана в концентрации 500 мг/л и 1000 мг/л на семенную продуктивность растений яровой пшеницы. Экзоцеллюлярный полисахарид из возбудителя бактериальной пятнистости листьев свеклы в концентрации 500 мкг/мл способствовал защите растений от патогенов при искусственном их заражении.

The effect of chitosan and exopolysaccharides of *Pseudomonas syringae* pv. aptata on growth characteristics, productivity and resistance of wheat and beet has been investigated. The positive effect of chitosan in a concentration of 500 mg/l and 1000 mg/l on the seed production of plants of spring wheat were placed. Extracellular polysaccharide of the pathogen of bacterial leaf spot of beets at a concentration of 500 µg/ml contributed to the protection of plants against pathogens in artificial infecting them.

ЮДАНОВА С.С.¹, ЦАРЕВА Л.Е.², МАЛЕЦКИЙ С.И.¹

¹ *Институт цитологии и генетики СО РАН,*

Россия, 630090, Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10; e-mail: sonia_y@ngs.ru

² *Алтайский Государственный Аграрный Университет,*

Россия, 656049, Барнаул, пр. Красноармейский, 98

ВЛИЯНИЕ ЭПИМУТАГЕНА 5-АЗАЦИТИДИНА НА ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ И МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ

Эпимутаген 5-азациитидин (5-azaC) — ингибитор фермента метилтрансферазы, осуществляющего реакцию метилирования молекул ДНК. 5-azaC приводит к изменению паттерна метилирования генома (свойства метилома клеточных ядер), чему сопутствуют наследуемые эпигенетические изменения¹: размеры растений, ветвление побегов, время вступления в фазу цветения, пол цветков и др. [1, 2]. На протяжении ряда лет нами проведены исследования влияния 5-azaC на различные признаки у сахарной свеклы: миксоплоидность клеточных популяций, раздельно-сростноцветковость (РЦ–СЦ), время вступление в фазу цветения и содержание сахара в корне и др.

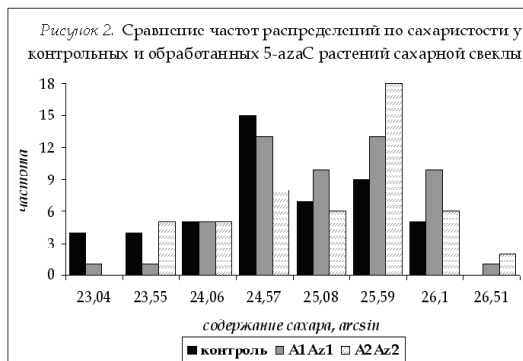
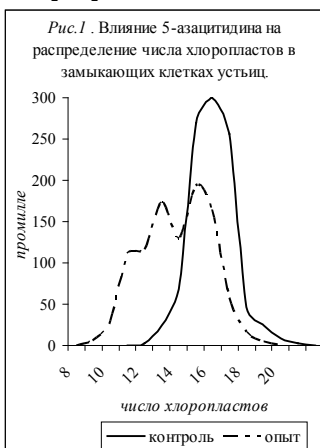
Миксоплоидия. Новое растение начинается с одной клетки, имеющей одно ядро и некоторое число внутриклеточных органелл. Если бы механизм

¹ К эпигенетическим относятся те факторы, которые не изменяют порядок нуклеотидов в молекулах ДНК, но влияют на наследственную изменчивость признаков.

“клеточной наследственной памяти” был безупречен, то в ряду последовательных клеточных делений число органелл в дочерних клетках было бы точно таким же, как и у прародительской клетки. Между тем отмечена изменчивость числа органелл как в меристематических (миксоплоидия), так и в специализированных популяциях клеток (полисоматия). Миксоплоидия — вариация числа гаплоидных наборов в ядрах клеток [3, 4]. Наблюдать геномные и пластомные изменения (объем клеток, массу клеточных ядер, число органелл и пр.) можно как прямым, так и косвенным методами. У сахарной свеклы существует хорошая корреляционная связь между размером ядра и числом хлоропластов в замыкающих клетках устьиц [5, 6]. Специфика замыкающих клеток устьиц состоит в том, что в этой ткани отсутствует полисоматия, устьичные клетки наследуют все свойства материнских (линейные размеры, пloidность ядер, число внутриклеточных органелл и пр.), поскольку развиваются непосредственно из верхнего слоя апикальной меристемы и в дальнейшем уже не претерпевают делений [7].

Изучение воздействия 5-azaC на уровень миксоплоидности в популяции замыкающих клеток устьиц проводили у растений межлинейного гибрида ms704-8×741-21 (рис. 1). Под влиянием 5-азацидина достоверно ($P>0,99$) снизилось число хлоропластов на клетку: контроль — $14,98\pm0,06$; опыт — $12,89\pm0,01$; изменился диапазон (контроль 11–20, опыт 8–18) и возросла дисперсия распределения (1,63 — контроль; 3,99 — опыт). Исходя из закона о ядерно-плазменных отношениях: изменение числа клеточных органелл коррелирует с изменениями объема ядра и цитоплазмы [5, 6], 5-azaC не только изменяет число органелл на клетку, но и снижает размер клеток.

Содержание сахара. На рисунке 2 представлены распределения по уровню сахаристости у линии мсСОАН-5 (A_0 , контроль) и в ряду смежных поколений однородительской репродукции² после обработки 5-azaC: A_1Az_1 и A_2Az_2 — поколения однократного и двукратного однородительского



размножения. Процентное содержание сахара определяли с помощью сахариметра СУ-4 по стандартной методике [8]. При статистической обработке для нормализации распределений проценты переводили в арксинусы: $\varphi = \arcsin \sqrt{p}$, где p — содержание сахара в корнях. Сравнение этих распределений свидетельствует о достоверности различий между вариантами ($P > 0,99$): $t=2,45$ (A_0 и A_1Az_1); $t=2,32$ (A_0 и A_2Az_2) [9]. По нашему мнению, тенденция в увеличении содержания сахара в корне связана с тем, что 5-azaC вызывает снижение объема клетки.

РЦ-СЦ признак. Цветоносный побег свеклы — совокупность сложных фитомеров: в пазухах отдельных прицветников закладывается не одна, а две и более число цветочных почек, образующих впоследствии “соцветие-клубочек”. Число цветков в соцветиях-клубочках подвержено изменчивости как в пределах отдельного растения, так и между растениями. Эта изменчивость определяется как генотипом растения, так и условиями произрастания: при неблагоприятных условиях число цветков в соцветиях несколько ниже, чем при благоприятных. У РЦ растений в пазухах прицветников закладываются одиночные цветки, формируя на цветоносных побегах простые фитомеры. Первые наблюдения по наследованию РЦ признака показали, что он является рецессивным и наследуется по моногибридной схеме. Однако в более позднее время исследователи пришли к выводу о нестабильности экспрессии РЦ признака в популяциях и в смежных поколениях. Это привело к необходимости рассмотреть парадигму эпигенетического наследования РЦ-СЦ признака [10–12]. Для описания изменчивости по признаку РЦ-СЦ идентифицируют цветковые метамеры на центральном и побегах первого порядка: 3_2-2_3 — на центральном побеге преобладает фракция метамеров с тремя цветками, но встречаются двуцветковые метамеры (3_2); на побегах первого порядка доминирует фракция метамеров с двумя цветками, а в миноре представлена фракция метамеров с тремя цветками (2_3). Растения с цветковыми метамерами 2_1-1_2 , 1_2-1_2 , 1_2-1 и $1-1$ на побегах относили к РЦ фенотипам, а растения с большим числом цветков в метамерах к СЦ фенотипам.

В таблице 1 представлены результаты наблюдений за признаком РЦ-СЦ у линии СОАН-5 в поколениях A_0 (исходные растения), A_0Az_0 (растения A_0 , обработанные 5-azaC), A_1 (апозиготическое поколение A_0 растений) и A_1Az_1 (апозиготическое поколение растений A_0Az_0). На цветоносных побегах у исходных растений наблюдалась изменчивость по типам цветковых метамеров: от 3_4-3_2 до 2_1-2_1 (СЦ-фенотип). Обработка эпимутагеном (поколение A_0Az_0) снизила уровень сростноцветковости у опытных растений (A_0Az_0) и привела к появлению четырех растений РЦ фенотипа (2_1-1_2 и 1_2-1_2). Статистическое сравнение распределения фенотипов с помощью G-критерия [13] в поколениях A_0 и A_0Az_0 свидетельствует о достоверности различий ($G=21,592$, $P > 0,99$). Отметим, что в течение многолетнего наблюдения за

² Семенная репродукция, при которой завязывание семян происходит без участия пыльцевого родителя называют одноподительским, агамоспермным или апозиготическим.

Таблица 1

Наследование типов метамеров цветоносных побегов у сахарной свеклы после обработки 5-azaC (2003–2004 гг.)

Варианты	Фенотипы метамеров цветоносных побегов (число растений)									Итого
	СЦ фенотипы						РЦ фенотипы			
	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	
A ₀	2	8	27	0	16	15	0	0	0	
A ₀ Az ₀	0	2	12	0	10	27	1	3	0	55
A ₁	3	10	23	9	15	19	0	0	0	79
A ₁ Az ₁	0	0	1	0	5	3	8	10	15	42

репродукцией линии СОАН-5 и ее стерильного аналога мсСОАН-5 (с 1969 года) не было зафиксировано ни одного случая появления растений РЦ фенотипов. Наметившаяся тенденция снижения числа цветков в метамерах в поколении $A_{\sigma}Az_0$ сохранилась и в дочернем поколении (A_fAz_1). Если в поколении $A_{\sigma}Az_0$ доля растений РЦ фенотипа составила 7,69% (4 из 52), то в поколении A_fAz_1 — 76,2% (32 из 42), т.е. доля растений РЦ фенотипов в дочернем поколении возросла десятикратно по сравнению с родительским поколением $A_{\sigma}Az_0$ ($G = 66,75$, $P > 0,999$). Различия в характере метамеризации имеют место и в двух популяциях — A_1 и A_fAz_1 ($G = 112,2286$, $P > 0,999$). Таким образом, 5-azaC изменяет морфогенетические процессы ветвления и формирования соцветий на побегах.

Динамика цветения и формирования цветоносных побегов. Наблюдения показали, что растения, обработанные 5-azaC (опыт) на 30–40 суток зацветали раньше, чем контрольные (табл. 2). Статистическая оценка различий [13] подтвердила, что 5-azaC достоверно ускоряет время вступления растений в фазу цветения ($G=5,488$; $G_{0,95}=3,8$, $df=1$). Во всех вариантах опыта, встречаются три типа растений: “цветущие” (на цветоносных побегах закладывается множество цветков), “холостяки” (развивается цветоносный

Таблица 2

Влияние обработки растений 5-azaC на динамику цветения и формирование цветоносных побегов

Вариант	Начало цветения		Типы растений*			Всего раст.
	18.06–17.07	18.07–16.08	“Цветущие”*	“Холостяки”*	“Упрямыцы”*	
Контроль	—	3	3	4	5	12
Опыт	5	2	7	1	2	10

* “Цветущие” — растения формируют цветоносный побег, на котором закладывается множество цветков.

“Холостяки” — растения формируют цветоносный побег, но цветки на нем не закладываются.

“Упрямыцы” — растения формируют только розетку листьев без цветоносного побега.

побег, но цветы на побеге не закладываются) и “упрямцы” (формируется только розетка листьев без цветоносного побега). В опыте наблюдается тенденция увеличения доли цветущих растений, но статистическая проверка свидетельствует о недостоверности различий ($G=4,718$, $0,90 < P < 0,95$).

Как следует из приведенных фактов, 5-azaC оказывает достоверное влияние на долю цветущих растений в выборке и ускоряет время вступления растений в фазу цветения. Кроме ускорения сроков начала цветения и формирование цветоносных побегов, 5-azaC приводит к увеличению побегообразования — ветвление побегов второго порядка у опытных растений выражено в гораздо большей степени, чем в контроле [14]. В итоге у растений с обильным ветвлением резко возрастает число цветков на растениях.

Благодарности. Настоящая работа выполнена при поддержке Интеграционного гранта СО РАН №99 и гранта РФФИ 10-04-00697.

Литература

1. Janousek, B., Siroky Ju., Vyskot B. Epigenetic control of sexual phenotype in dioecious plant, *Melandrium album* // Mol. Gen. Genet. 1996. v.250. p. 483–490.
2. Fields M.A., Amyot L.M. Evaluating the potential of using 5 — azacytidine as an epimutagen // Can. J. Bot. 1999. v.77. p. 1617–1622
3. Ризер Р., Михаэлис А. Генетический и цитогенетический словарь. М.: “Колос”, 1968. 230 с.
4. Кунах В.А. Геномная изменчивость соматических клеток растений. 1. Изменчивость в онтогенезе // Биополимеры и клетка. 1994. т.10. №6. с. 5–35.
5. Панин В.А., Панина Е.Б., Зосимович В.П., Лутков А.Н. Методика массового получения и отборов тетраплоидных форм сахарной свеклы // Киев: изд-во АН УССР.— 1962.— 41 с.
6. Savitsky H.I. Effectiveness of selection for tetraploids plants in C0 generation on the basis of the number of chloroplasts in stomata // Am. Soc. of Sugar Beet Technologists. 1966. v.13. no.8, p. 655–661
7. Хржановский В.С. Система покровных тканей // В кн. Курс общей ботаники.— М.: “Высшая школа”, 1976, с. 81–88.
8. Петербургский А.В. Практикум по агрономической химии. М.: Колос, 1968.— 496 с.
9. Плохинский Н.А. Биометрия. Новосибирск. СО АН СССР — 1961.— 365 с.
10. Мельцер Р. Наследование признака раздельноплодности у сахарной свеклы. В кн.: Генетика сахарной свеклы. Новосибирск: Наука, Сибирское отделение, 1984.— С. 60–65.
11. Малецкий С.И., Шавруков Ю.Н., Мглинец А.В. Наследование признака раздельно-сростноцветковости // Одноростковость свеклы. Эмбриология, генетика, эмбриология. Новосибирск: Наука Сибирское отделение, 1988.— С. 79–131.
12. Малецкий С.И. Эпигенетическая изменчивость признака раздельно-сростноцветковости у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Эпигенетика растений. Новосибирск, ИЦиГ СО РАН, 2005.— С. 195–207.
13. Weber E. Test zum Prüfen der Unabhängigkeit diskreter Zufallgrößen // Grundriss der Biologischen Statistik. Stuttgart: Gustav Fisher Verlag, 1986.— P. 200–219.
14. Малецкая Е.И., Юданова С.С., Малецкий С.И. Влияние 5-азациитидина на ветвление цветоносных побегов сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Цитология и Генетика, 2006 т.40, №6.— С. 15–20.

Резюме

В работе представлены данные влияния изменения паттерна метилирования генома на различные признаки растений. Обработка 5-azaC индуцирует наследуемые эпигенетические и эпипластомные изменения у сахарной свеклы по следующим признакам: миксплоидность клеточных популяций, содержание сахара в корне, раздельно-сростноцветковость (РЦ-СЦ), время вступление в фазу цветения.

The paper presents a data of influence of genome methylation pattern on different characters of sugar beet. 5-azaC treatment induce inherited epigenetic and epiplastom changes: it influences on the number of sub-cellular organelles in cytoplasm, on sugar content in roots, on choriflowered-symflowered (mono- and polygerm) character, hastens the early flowering of sugar beet, decreases the amount of not-flowering plants (flowerless, stemless).

ЯНЧУК В.І., МАМАЛИГА В.С.

*Вінницький національний аграрний університет,
Україна, 21008, Вінниця, вул. Сонячна, 3, yanvlad@rambler.ru*

КОРЕЛЯЦІЙНО-РЕГРЕСІЙНИЙ АНАЛІЗ ОЗНАК НАСІННЕВОЇ ПРОДУКТИВНОСТІ *MEDICAGO SATIVA* L.

Вивчення структури популяцій за кількісними ознаками передбачає встановлення між ними зв'язків. Такий аналіз має важливе значення в селекційній роботі. Він дає можливість використати його для вирішення задач практичної селекції, пов'язаних з:

- а) виявленням відмінностей між сортами чи групами сортів;
- б) аналізом структури спряженої мінливості корелюючих ознак;
- в) вивченням впливу різних факторів на величину і напрямок зв'язку корелюючих ознак.

Коефіцієнти фенотипових кореляцій мають, як відомо, не тільки складну генотипову, але й паратипову обумовленість [1]. Значний практичний інтерес має виявлення кореляцій між морфологічними і господарсько — цінними ознаками [2], що дає можливість проводити непрямий добір. Наявність тісних негативних зв'язків між ознаками може створювати і певні ускладнення в селекції. В цих ситуаціях при поліпшенні однієї ознаки іде погіршення іншої. У цукрових буряків, наприклад, добір за масою коренеплоду супроводжується зниженням вмісту цукру [2].

Багатьма дослідниками [1, 2] відмічається значна мінливість коефіцієнтів кореляції в залежності від сортових особливостей та умов зовнішнього середовища. Багаточисельні дані показують, що між двома ознаками може існувати від'ємна генотипова кореляція, тоді як фенотипова може бути позитивною. В більшості випадків кореляції між ознаками виникають на основі плейотропного ефекту не одного, а багатьох генів, які складають генні системи, сформовані в процесі еволюції.