

ХАБЛАК С.Г.

Луганский национальный аграрный университет,
Украина, 61002, г. Харьков, ул. Артема, 44,
e-mail: serhab211981@yandex.ua, (066) 442-66-08

ЭПИСТАТИЧЕСКОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГЕНОВ *GPA1* И *SLR1*, *CTR1* И *ALF3* ПРИ НАСЛЕДОВАНИИ ПРИЗНАКОВ КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ АРАБИДОПСИСА

Корневой системе принадлежит исключительно важная роль в жизни растений. Она поглощает из почвы воду, минеральные вещества и участвует в синтезе ряда органических соединений, благодаря чему определяет обмен веществ в растительном организме [1].

Несмотря на важную роль корневой системы в поглощении воды и питательных веществ из почвы, генетический контроль ее развития у растений остается недостаточно исследованным. Мало известно об молекулярно-генетических механизмах, регулирующих корнеобразование, рост корней в длину, стимулирующих их ветвление, формирование и развитие корневых волосков. Это связано с определенными техническими трудностями при изучении корневых систем растений вообще.

К настоящему времени молекулярно-генетические и физиологические исследования мутантов *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. позволили изолировать и секвенировать ряд генов, участвующих в развитии корневой системы. К ним относятся гены *GPA1*, *SLR1*, *CTR1* и *ALF3*.

Ген *GPA1* контролирует альфа-субъединицу гетеротримерных ГТФ-связывающих белков (G-белки), ответственных за передачу гормонального сигнала от рецепторов серпантинного типа к транскрипционным факторам [2, 3]. Ген *CTR1* кодирует белок CTR1 (репрессор передачи сигнала), который принадлежит к семейству широко распространенных у эукариот серин/треониновых протеинкиназ, участвующих в так называемом MAP-киназном каскаде [4]. Гены *SLR1* и *ALF3* контролируют транскрипционные факторы, регулирующие экспрессию генов [5].

В то же время, информация о наследовании признаков корневой системы *A. thaliana* при взаимодействии генов *GPA1* и *SLR1*, *CTR1* и *ALF3* отсутствует, что и послужило поводом для наших исследований.

Материалы и методы

Материалом для исследований служили растения *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. экотипа (расы) Columbia (Col-O) и мутантных линий *gpa 1-3* (*g protein alpha subunit 1-3*), *slr-1/ial14* (*solitary-root-1/indole-3-acetic acid14*), *ctr1-1* (*constitutive triple response 1-1*), *alf3-1* (*aberrant lateral root formation 3-1*). Семена мутантных линий были получены из Ноттингемского центра образцов арабидопсиса (Nottingham Arabidopsis Stock Centre (NASC), UK) и Центра биологических ресурсов *Arabidopsis* при университете штата Огайо (Arabidopsis Biological Resource Centre, USA).

Растения выращивали в лаборатории в асептической пробирочной культуре на агаризованной питательной среде Кнопа, обогащенной микроэлементами [6]. Семена к посеву готовили путем яровизации в течение 5 суток при температуре 4–6 °С и последующего односуточного проращивания при комнатной температуре. Пробирки для предохранения от нагревания и попадания света на корни растений обвертывали двумя слоями бумаги. Растения культивировали при температуре 18–20 °С, освещенность круглосуточная в пределах 4000–7000 лк.

Учет количества корней и их длины в корневых системах у растений экотипа Col-O и исследуемых мутантных линий проводили в фазе бутонизации. Длину корней измеряли с помощью электронного штангенциркуля типа ШЦЦ-1. Разграничение придаточных корней от боковых корней главного корня проводили по характеру эпидермиса (с устьицами на гипокотиле и без устьиц на главном корне).

Кастрацию и принудительную гибридизацию проводили под микроскопом типа МБС-9. Генетический анализ наследования признаков корневой системы у растений проводили в F₁, F₂. В скрещивании *ctr1-1* × *alf3-1* объем выбор-

ки во втором поколении составлял 180 растений, а в скрещивании *gpa1-3* × *slr-1* – 182 растения. Математическую обработку результатов исследований проводили по Г.Ф. Лакину [7], а также по В. Боровикову [8] с использованием компьютерной программы «Statistica».

Результаты и обсуждение

Учитывая неясность вопроса о взаимодействии генов *GPA1* и *SLR1*, *CTR1* и *ALF3* при наследовании признаков корневой системы, нами были проведены скрещивания между растениями мутантных линий арабидопсиса (*ctr1-1* × *alf3-1*, *gpa1-3* × *slr-1*), имеющих в своем генотипе мутации этих генов.

У арабидопсиса растения мутантной линии *ctr1-1* обладают уменьшенной степенью ветвления корней, а растения мутантной линии *alf3-1* не имеют придаточных и боковых корней главного корня, то есть формируют только главный корень. Аллель *CTR1*, обуславливающий нормальную длину боковых корней, доминирует над аллелем *ctr1-1*, который определяет укороченную их величину. Другая аллельная пара, находящаяся в иной паре гомологичных хромосом, определяет наличие придаточных и боковых корней главного корня. Это особенность регулируется доминантным аллелем *ALF3*. Рецессивный аллель *alf3-1* определяет их отсутствие.

При скрещивании растений мутантных линий *ctr1-1* и *alf3-1* у гибридов первого поколения *CTR1 ctr1-1* и *ALF3 alf3-1* развиваются нормальные боковые корни главного корня и придаточные корни. Во втором поколении от самоопыления таких растений происходит расщепление на три фенотипических класса в соотношении 105 с типичными придаточными и боковыми корнями главного корня, 31 с укороченной их длиной, 44 без придаточных и боковых корней главного корня.

Проведенная статистическая оценка различий между экспериментально полученными и теоретически ожидаемыми результатами расщепления в поколении F_2 с помощью критерия соответствия χ^2 показала, что гипотеза о расщеплении по схеме 9:3:4 подтверждается (табл. 1).

Эти результаты можно объяснить рецессивным эпистазом типа *alf3-1 alf3-1* > *CTR1_*, когда рецессивный аллель одного гена – *ALF3* – в гомозиготном состоянии подавляет влияние доминантной аллели другого гена – *CTR1* – в гомо- или гетерозиготном состоянии.

Таблица 1

Расщепление в поколении F_2 по генам *CTR1* и *ALF3*

Расщепление	<i>CTR1_</i> <i>ALF3_</i>	<i>ctr1-1</i> <i>ctr1-1</i> <i>ALF3_</i>	<i>CTR1_ alf3-1</i> <i>alf3-1; ctr1-1</i> <i>ctr1-1 alf3-1</i> <i>alf3-1</i>	χ^2
наблюдаемое	105	31	44	0,44
ожидаемое	9	3	4	

Подобным образом происходит наследование признаков корневой системы у арабидопсиса при скрещивании растений мутантных линий *gpa1-3* × *slr-1*.

У *A. thaliana* рецессивный аллель *gpa1-3* гена *GPA1* в гомозиготном состоянии блокирует в корневой системе развитие придаточных корней, а рецессивный аллель *slr-1* другого гена – *SLR1* – также в гомозиготном состоянии подавляет образование придаточных и боковых корней главного корня. От скрещивания растений мутантных линий *gpa1-3* × *slr-1* все гибриды первого поколения оказываются дикого типа, то есть имеют боковые корни главного корня и придаточные корни. Во втором поколении от самоопыления гибридов F_1 наблюдается расщепление растений на три фенотипических класса в отношении 9/16 с боковыми корнями главного корня и придаточными корнями (*GPA1_ SLR1_*) : 3/16 с боковыми корнями главного корня, но без придаточных корней (*gpa1-3 gpa1-3 SLR1_*) : 4/16 без боковых корней главного корня и придаточных корней (*GPA1_ slr-1 slr-1*, *gpa1-3 gpa1-3 slr-1 slr-1*) (табл. 2).

Таблица 2

Расщепление в поколении F_2 по генам *GPA1* и *SLR1*

Расщепление	<i>GPA1_</i> <i>SLR1_</i>	<i>gpa1-3</i> <i>gpa1-3</i> <i>SLR1_</i>	<i>GPA1_ slr-1</i> <i>slr-1; gpa1-3</i> <i>gpa1-3 slr-1</i> <i>slr-1</i>	χ^2
наблюдаемое	107	30	45	0,74
ожидаемое	9	3	4	

Такое поведение признаков в наследовании можно объяснить рецессивным эпистазом типа *slr-1 slr-1* > *GPA1_*, когда рецессивная аллель одного гена – *SLR1* – в гомозиготном состоянии подавляет действие доминантной аллели другого гена – *GPA1* – в гомо- или гетерозиготном состоянии. Причем растения генотипа *slr-1 slr-1 GPA1_* оказываются без боковых корней главного корня и придаточных корней, как и двойной гомозиготный рецессив *slr-1 slr-1 gpa1-3 gpa1-3*, поскольку рецессивный ген *slr-1* в гомозиготном состоянии вызывает формирование только главного

корня, который не разветвляется на боковые корни, тем самым не дает возможности проявиться доминантному гену *GPA1* в гомо- или гетерозиготном состоянии, обуславливающему развитие в корневой системе придаточных и боковых корней главного корня.

Выводы

Результаты анализа проведенных скрещиваний между растениями мутантных линий арабидопсиса (*ctr1-1* × *alf3-1*, *gpa1-3* × *slr-1*) показали, что наследование признаков корневой системы при взаимодействии генов *GPA1* и *SLR1*, *CTR1* и *ALF3* происходит по типу эпистатического действия генов. При этом расщепление по фенотипу в поколении F₂ идет в отношении 9:3:4.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тарановская М.Г. Методы изучения корневых систем. – М.: Сельхозиздат, 1957. – 215 с.
2. Ma H., Yanofsky M.F., Meyerowitz E.M. Molecular cloning and characterization of *GPA1*, a G protein alpha subunit gene from *Arabidopsis thaliana* // Proc Natl. Acad. Sci. USA. – 1990. – 87, № 10. – P. 3821–3825.
3. Okamoto H., Matsui M., Deng X.W. Overexpression of the heterotrimeric G-protein alpha-subunit enhances phytochrome-mediated inhibition of hypocotyl elongation in *Arabidopsis* // Plant Cell. – 2001. – 13, № 7. – P. 1639–1652.
4. An F., Zhao Q., Ji Y., Li W. Ethylene-induced stabilization of ETHYLENE INSENSITIVE3 and EIN3-LIKE1 is mediated by proteasomal degradation of EIN3 binding F-box 1 and 2 that requires EIN2 in *Arabidopsis* // Plant Cell. – 2010. – 7, № 1. – P. 284–301.
5. Di Donato R.J., Arbuckle E., Buker S. *Arabidopsis* ALF4 encodes a nuclear-localized protein required for lateral root formation // Plant J. – 2004. – 37, № 3. – P. 3400–3453.
6. Рубина Б.А., Чернавина И.А., Потапов Н.Г. и др. Большой практикум по физиологии растений: учебн. пособие для студентов биол. спец. вузов. – М.: Высш. шк., 1978. – 408 с.
7. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высш. шк., 1990. – 352 с.
8. Боровиков В. STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере: для профессионалов. – С.-Петербург: Питер, 2003. – 688 с.

НАВЛАК S.G.

Lugansk National Agrarian University,

Ukraine, 61002, Kharkov, Artem str., 44, e-mail: serhab211981@yandex.ua

EPISTATIC GENE INTERACTIONS *GPA1* AND *SLR1*, *CTR1* AND *ALF3* IN INHERITANCE OF TRAITS *ARABIDOPSIS* ROOT SYSTEM

Aim. The aim of research is the study of inheritance the root system of *A. thaliana* in the interaction the genes *GPA1* and *SLR1*, *CTR1* and *ALF3*. **Methods.** Comparative morphology – to compare the similarities and differences in the structure of the root systems plants, hybridological analysis crossing mutant lines and genetic analysis of inheritance of characteristics of the root system. **Results.** In crosses between plants of the mutant lines *gpa 1-3* × *slr-1* and *ctr1-1* × *alf3-1* in the F₂ generation recessive epistasis occurs (*slr-1 slr-1* > *GPA1* _; *alf3-1 alf3-1* > *CTR1* _). In this case, the segregation in F₂ is 9:3:4. **Conclusions.** The results of the analysis of crosses between plants of *Arabidopsis* mutant lines (*ctr1-1* × *alf3-1*, *gpa1-3* × *slr-1*) showed that the inheritance of characteristics the root system in the interaction of genes *GPA1* and *SLR1*, *CTR1* and *ALF3* occurs by the recessive epistasis action of genes. The segregation for the phenotype in generation the F₂ fits a ratio of 9:3:4.

Keywords: *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., root system, gene, mutation, gene interactions.