

13. *Sutka J., Worland A.J., Maystrenko O.J.* Slight effect of cytoplasm on frost resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Cer. Res. Com.* – 1991. – N. 19. – P. 311-317.
14. *Палилова А.Н., Силкова Т.А.* Эффекты чужеродных цитоплазм на зимостойкость ярово-озимых гибридов F₁ пшеницы // *Изогенные линии и генет. коллекции.* – Новосибирск, 1993. – С. 53-55.
15. *Давыденко О.Г.* Экспрессия и трансмиссия признака мужская стерильность в цитоплазмах *Aegilops* и *Triticum* // *Биологич. основы повышения прод-ти зерн. к-р: Сб. науч. тр. Мироновский НИИ сел. и семен. пшен.* – 1985. – С. 45-48.
16. *Кохметова А.М.* Генетические аспекты адаптивности пшеницы. – Алматы, 2005. – 226 с.
17. *Panayotov I.* New wheat hybrids, created by (k)-cms // *Abstracts of 6th Int. Wheat Conf., 5-9 June 2000, Budapest, Hungary.* – Hungary: LENIA DTP Studio, 2000. – P. 294.
18. *Sagi L., Barnabas B.* Evidence for cytoplasmic control of in vitro microspore embryogenesis in the anther culture of wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Theor. Appl. Genet.* – 1989. – 78. – P. 867-872.
19. *Danon T., Eyal Z.* Inheritance of resistance to two *Septoria tritici* isolates in spring and winter bread wheat cultivars // *Euphytica.* – 1990. – 47 (3). – P. 203-214.
20. *Силкова Т.А.* Влияние чужеродных цитоплазм на формирование хозяйственно ценных признаков у аллоплазматических линий мягкой пшеницы: Автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.15 / Ин-т генетики и цитологии АН БССР.–Минск,1988.–18с.
21. *Доснехов Б.А.* Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.

На серіях створених алоплазматичних ліній пшениці м'якої озимої (5 генотипів з 15 цитоплазмами) виявлено значну перевагу впливу ядерних генетичних компонентів над цитоплазматичними на мінливість висоти рослин. Проте істотне зниження висоти рослин відбувається за участі в схрещуваннях генотипів з цитоплазмою *Ae. sharonensis*, а підвищення – *T. dicocum* та *Ae. juvenalis*.

На созданных сериях аллоплазматических линий пшеницы мягкой озимой (5 генотипов на 15 цитоплазмах) выявлено значительное преимущество влияния ядерных генетических компонентов над цитоплазматическими на изменчивость высоты растений. Однако существенное снижение высоты растений происходит при участии в скрещиваниях генотипов с цитоплазмой *Ae. sharonensis*, а повышение – *T. dicocum* и *Ae. juvenalis*.

On the created series of alloplasmatic lines of winter bread wheat (5 genotypes on 15 cytoplasms) considerable advantage of influence of nuclear genetic components over cytoplasmic on the variability of plant height was revealed. However, the substantial reduction of plant height takes place when crossing genotypes with the cytoplasm of *Ae. sharonensis* and increase – *T. dicocum* and *Ae. juvenalis*.

КИРИКОВИЧ С.С., ЛЕВИТЕС Е.В.

Институт цитологии и генетики СО РАН,

Россия, 630090, Новосибирск, пр-т Лаврентьева, 10, e-mail: svetak@bionet.nsc.ru

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ У САХАРНОЙ СВЕКЛЫ (*Beta vulgaris* L.), ИНДУЦИРОВАННАЯ ТРИТОНОМ X-100

К эпигенетическим относят наследуемые в ряду клеточных и половых поколений изменения признаков, не связанные с изменением последовательности нуклеотидов в ДНК генов [1]. Огромное внимание исследователей к эпигенетической изменчивости делает актуальным поиск эпимутагенов. Наиболее известным в настоящее время эпимутагеном является 5-азациитидин, вызывающий деметилирование ДНК хромосом и активирующий

метилованные ранее гены [2-5]. Деметилированное состояние генов сохраняется в ряду последовательных поколений, обуславливая стойкие изменения различных морфологических признаков. На сахарной свекле обнаружены изменения степени стерильности пыльцы, ветвления цветоносных побегов и признака раздельно- и сростноцветковости [4, 5].

Наряду с 5-азациитидином, модифицирующим нуклеотиды в молекуле ДНК, выявлен принципиально новый тип эпимутагена, который действует на процесс взаимодействия белков с биологическими мембранами. Такое действие обнаружено у известного детергента Тритон X-100 [6]. Установлено, что Тритон X-100 вызывает наследуемые изменения морфологических признаков при воздействии на семена пшеницы в момент их прорастания [6]. В основе таких изменений может лежать способность Тритона X-100 не только изменять структуру мембран и отделять от мембран белки, но и изменять взаимодействие нуклеопротеидов с ядерной мембраной и ядерным матриксом. Такое воздействие Тритона X-100 хорошо согласуется с моделью многомерного кодирования наследственной информации у растений. Согласно этой модели наследственная информация кодируется не только последовательностью нуклеотидов, но и дифференциальной степенью эндоредупликации отдельных участков хромосом [7, 8]. В этой модели существенная роль отведена процессам взаимодействия ДНК хромосом с ядерной мембраной и ядерным матриксом. В связи с этим представляло интерес изучить воздействие Тритона X-100 на сахарную свеклу и тем самым выявить дополнительные доказательства гипотезы о многомерности кодирования наследственной информации. В пользу предложенной модели могут свидетельствовать любые изменения морфологических признаков и физиологических процессов у экспериментальных растений. Целью настоящего исследования было изучение влияния Тритона X-100 на прорастание семян и на морфологические признаки у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.).

Материалы и методы

В исследование были взяты семена, полученные путем саморепродукции от способного к агамоспермному размножению растения сахарной свеклы № 8-3 (урожай 1998 г.), а также были использованы семена предоставленной нам А.В. Мглинцом (ИЦиГ СО РАН) популяции однолетней сахарной свеклы (урожай 1989 г.). Контрольные растения были выращены из семян, которые замачивали в проточной воде в чашках Петри в термостате при 29⁰С. Опытные растения были выращены из семян, замоченных в 0.1 % растворе Тритона X-100 в течение 18 часов при температуре 29⁰С. Проростки высаживали весной 2008 года в гидропонную теплицу, а 11 июня 2008 года из теплицы в открытый грунт, где растения росли до 10 октября 2008 года. Учет признаков у растений проводили в два периода: в день пересадки и в день уборки.

Результаты и обсуждение

Обнаружено, что воздействие Тритоном X-100 оказывает влияние, как на процессы прорастания семян, так и на проявление морфологических признаков листа и корня у растений сахарной свеклы. Так, из 300 контрольных семян от растения сахарной свеклы № 8-3 (8-3к) проросло 133 семени (44.3 %), а из 510 семян этого же растения, обработанных Тритоном X-100 (8-3тр), проросло 355 семян (69.6 %). Оценка с помощью критерия G [9] показала достоверность различий между контролем и опытом (G=13.312). Различия наблюдались не только в количестве проросших семян, но и в динамике прорастания (рис. 1).

Из рисунка 1 видно, что срок прорастания семян 8-3тр продолжительнее срока прорастания семян 8-3к на 5 дней, причем у опытных семян пик прорастания приходится на 9-й день, тогда как у контрольных - на 4-й день. Растянутасть срока прорастания у опытных семян говорит о том, что Тритон X-100 уменьшает энергию прорастания, хотя способность к прорастанию у семян данного генотипа увеличивается.

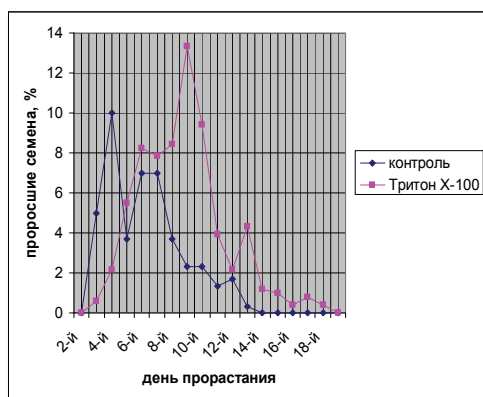


Рис. 1. Динамика прорастания контрольных и обработанных 0.1 % раствором Тритона X-100 семян растения 8-3.

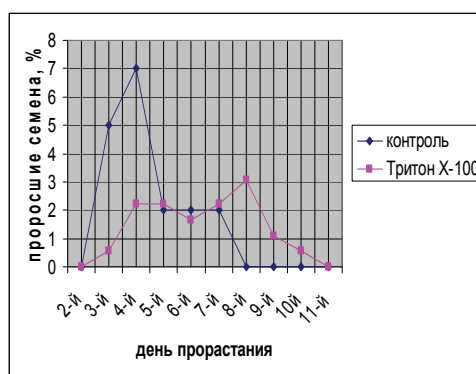


Рис. 2. Динамика прорастания семян контрольных и обработанных 0.1 % раствором Тритона X-100 семян однолетней сахарной свеклы

Снижение энергии прорастания под воздействием Тритона X-100 обнаружилось и в опыте с однолетней популяцией сахарной свеклы (рис. 2). В эксперимент было взято 100 шт контрольных семян и 360 шт опытных. Из контрольных проросло 18 семян (18 %), а из опытных семян – 49 (13.6 %). Различия по способности к прорастанию между контролем и опытом в данном случае недостоверны ($G=0.852$). Пик прорастания у опытных семян приходится на 8-й день, тогда как у контрольных – на 4-й день (рис. 2).

Увеличение сроков прорастания свидетельствует о том, что обработка Тритоном X-100 изменяет функционирование генома растения.

Подтверждением этого служат данные о характере изменчивости морфологических признаков листа и корня у растений сахарной свеклы. В контрольных и обработанных Тритоном X-100 растениях выявлен полиморфизм по ряду морфологических признаков листа и корня. Наиболее четко идентифицируемые признаки были следующие: *загиб листа*, *загиб корня*, *глазки на головке корня*, *облиственность головки корня*, *короткий корень* и *мелкий корень*. Признак *облиственность головки корня* характеризуется наличием большого числа мелких листочков у оснований черешков крупных листьев. Признак *короткий корень* характерен для корней диаметром не более 4 см и длиной 7 см и не имеющих сужения в нижней части. Признак *мелкий корень* был присущ корнеплодам, которые можно было рассматривать как неразвившиеся; они имели диаметр не более 2 см.

Всего было пересажено в грунт 102 контрольных растения (8-3к) и 199 – опытных (8-3тр). К моменту уборки сохранились и были учтены при анализе 96 контрольных растений (8-3к) и 189 – опытных (8-3тр).

Характерно, что степень проявления ряда признаков зависела от времени наблюдения (табл. 1), поэтому учет признаков проводили в два срока (табл. 1).

Различия между контрольными и опытными растениями по признаку *загиб листа* были достоверны лишь в момент высадки в грунт ($P < 0.05$), а к моменту осенней уборки различия стали недостоверны (табл. 1).

Таблица 1

Влияние 0.1 % раствора Тритона X-100 на морфологические признаки растения сахарной свеклы № 8-3

| Признак | Дата учета | 8-3 к, шт (%) | 8-3 тр, шт (%) | G-тест | P |
|--------------------|------------|---------------|----------------|---------------|--------|
| <i>Загиб листа</i> | 11.06.2008 | 23 (22.5) | 80 (40) | 5.0008 | < 0.05 |
| | 10.10.2008 | 42 (43.8) | 100 (52.9) | 0.7368 | |
| <i>Загиб корня</i> | 11.06.2008 | 11 (11) | 21 (10.5) | 0.003 | |
| | 10.10.2008 | 26 (27.1) | 99 (52.4) | 7.1952 | < 0.01 |

| | | | | | |
|-------------------------------------|------------|-----------|------------|----------------|--------|
| <i>Облиственность головки корня</i> | 11.06.2008 | 7 (6.9) | 22 (11.05) | 1.1852 | |
| | 10.10.2008 | 20 (20.8) | 79 (41.8) | 6.676 | < 0.01 |
| <i>Мелкий корень</i> | 11.06.2008 | 19 (18.6) | 49 (24.6) | 0.9006 | |
| | 10.10.2008 | 13 (13.5) | 10 (5.3) | 4.616 | < 0.05 |
| <i>Короткий корень</i> | 11.06.2008 | 10 (9.8) | 11 (5.5) | 1.5668 | |
| | 10.10.2008 | 10 (10.4) | 4 (2.1) | 7.8786 | < 0.01 |
| <i>Глазки</i> | 10.10.2008 | 4 (4.2) | 62 (32.8) | 25.0975 | < 0.01 |
| <i>Щавелево-видный лист</i> | 10.10.2008 | 7 (7.3) | 35 (18.5) | 5.4316 | < 0.05 |

Различия между контрольной и опытной группами растений по признакам *загиб корня*, *облиственность головки корня*, *короткий корень*, *мелкий корень*, *глазки* на головке корня и *щавелево-видный лист* были достоверными в момент осенней уборки (табл. 1).

Таким образом, все взятые в исследование признаки изменяли и усиливали свое проявление под влиянием Тритона X-100, причем наиболее сильные различия между контролем и опытом накапливались к моменту осенней оценки. Возникающие под действием Тритона X-100 изменения очень разнообразны. Так, например, если *загиб листа* и *загиб корня* можно рассматривать как результат разной скорости деления клеток на разных сторонах данного органа, то увеличенный процент *глазков* на корнях обработанных Тритоном X-100 растений говорит о том, что здесь затронуты процессы дифференцировки, процессы качественной перестройки работы генома. Более того, большое число разнообразных изменений говорит о том, что воздействию Тритона X-100 подвергается не отдельный ген, а значительная часть генома. Выявленные изменения морфологических признаков наблюдаются не только на начальных, но и на более поздних стадиях развития, отделенных от момента воздействия Тритоном X-100 большим промежутком времени и большим числом клеточных поколений. Это позволяет предположить, что измененные состояния мембран способны сохраняться в ряду клеточных поколений. Таким образом, полученные данные говорят о том, что Тритон X-100 можно рассматривать как эпимутаген.

Выводы

Неионный детергент Тритон X-100 вызывает четко идентифицируемые изменения морфологических и физиологических признаков у растений сахарной свеклы. Это свидетельствует о том, что биологические мембраны, и в первую очередь мембраны ядра клетки, являются важным элементом структурной организации генома, определяющим не только его функциональное состояние, но и его изменчивость.

Работа финансировалась грантом № 99 по интеграционному проекту СО РАН 2009-2011 гг. «Индукция эпигенетических изменений как новый эффективный метод создания исходных селекционных форм растений».

Литература

1. *Bird A.* DNA methylation patterns and epigenetic memory // *Genes and Development*. - 2002. - vol. 16, № 1. - P. 6-21.
2. *Jones P.A.* Alternating gene expression with 5-azacytidine // *Cell*. - 1985. - vol. 40. - P. 485–486.
3. *Jablonka E., Lamb M.J.* The inheritance of acquired epigenetic variations // *J. Theor. Biol.* - 1989. - vol. 139. - P. 69–83.
4. *Малецкая Е.И., Юданова С.С., Малецкий С.И.* Влияние эпимутагена 5-азациитидина на строение метамеров цветоносных побегов у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // *Генетика*. - 2006. - т. 42, № 7. - С. 895–904.
5. *Maletskaya E.I., Yudanov S.S., Maletskii S.I.* Epigenetic and epiplastome variability in apozygotic progenies of Sugar beet with 5-azacytidine // *Sugar Tech*. - 2002. - vol. 4, № 1-2. - P. 52–56.

6. Махмудова К.Х., Богданова Е.Д., Левитес Е.В. Способ индукции эпигенетической изменчивости у мягкой пшеницы. Патент на изобретение №2322801. Оpubл. Бюл. № 12. 27.04.2008.
7. Levites E.V. Sugarbeet plants produced by agamospermy as a model for studying genome structure and function in higher plants // Sugar Tech. - 2005. - vol. 7, № 2-3. - P. 67–70.
8. Levites E.V. Marker enzyme phenotype ratios in agamospermous sugarbeet progenies as a demonstration of multidimensional encoding of inherited information in plants // on-line: <http://arxiv.org/abs/q-bio/0701027>
9. Weber E. Grundriss der biologischen statistic. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag. - 1986. -652 p.

Резюме

Выявлено влияние неионного детергента Тритон X-100 на морфо-физиологические признаки у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.). Полученные результаты и известные свойства Тритона X-100 как детергента свидетельствуют о роли взаимодействия хромосом с ядерной мембраной и ядерным матриксом в функционировании генома, а также позволяют рассматривать Тритон X-100 как эпимутаген нового типа. Появление индуцированных изменений у сахарной свеклы можно рассматривать как результат воздействия Тритона X-100 на многомерную систему кодирования наследственной информации.

The effect of non-ion detergent Triton X-100 was revealed in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) morpho-physiological traits. The obtained results a Triton X-100 properties, known as a detergent, are indicative of chromosome-nuclear membrane and -nuclear matrix interaction in genome functioning, and they also allow us to consider Triton X-100 as a new type epimutagen. Appearance of induced variabilities in sugar beet can be considered as a result of Triton X-100 effect on the multi-dimensional coding system of inherited information.

КРИНИЦЫНА А.А.^{1,2}, СПЕРАНСКАЯ А.С.², ПОЛЬТРОНИЕРИ П.³, САНТИНО А.³, ШЕВЕЛЕВ А.Б.⁴

¹ ГНУ Всероссийский Научно-Исследовательский Институт Сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН

Россия, 127550, Москва, ул. Тимирязевская, д. 42, e-mail: krinitsina@mail.ru

² Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д1, стр. 12

³ National Research Council of Italy, ISPA-CNR
Italy, 73100, Lecce, via Monteroni

⁴ Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН

Россия, 119071, Москва, Ленинский проспект, д.33, стр. 2

ГЕНЫ БЕЛКОВЫХ ИНГИБИТОРОВ ПРОТЕИНАЗ ТИПА КУНИТЦА ГРУППЫ А (PKPI-A) ИЗ *SOLANUM BREVIDENS* PHIL

Ингибиторы, принадлежащие к семейству соевого ингибитора трипсина Кунитца (PKPI), широко распространены среди растений различных систематических групп. Белки этого семейства в большом количестве обнаруживают в семенах и запасующих органах растений, а также в механически поврежденных или пораженных фитопатогенами органах растений. При этом PKPI участвуют в защите растений от патогенных микроорганизмов и насекомых вредителей, поскольку могут воздействовать на секретируемые экстрацеллюлярные протеиназы фитопатогенов, разрушающие растительную ткань и на протеиназы желудочно-кишечного тракта насекомых (Мосолов, Валуева, 2005). Поэтому