

3. Galmes J., Pou A., Alsina M.M., Tomas M., Medrano H., Flexas J. Aquaporin expression in response to different water stress intensities and recovery in Richter-110 (*Vitis* sp.): relationship with ecophysiological status.— *Planta*.— 2007.— V.226.— P. 671–681.

4. Aroca R., Ferrante A., Vernieri P., Chispeels M.J. Drought, abscisic acid and transpiration rate effects on the regulation of PIP aquaporin gene expression and abundance in *Phaseolus vulgaris* plants.— *Ann. Bot.*— 2006.— V.98.— P. 1301–1310.

5. Lian H.-L., Yu X., Ye Q., Ding X.-S., Kitagawa Y., Kwak S.-S., Su W.-A, Tang Z.-C. The role of aquaporin RWC3 in drought avoidance in rice.— *Plant Cell Physiol.*— 2004.— V.45.— P. 481–489.

6. Chaumont F., Barrieu F., Wojcik E., Chrispeels M.J., Jung R. Aquaporins constitute a large and highly divergent protein family in maize.— *Plant Physiol.*— 2001.— V.125.— P. 1206–1215.

7. Steudle E, Peterson C.A How Does Water Get Through Roos? — *J Exp Bot.*— 1998.— V.49.— P. 775–788.

8. Suga S., Komatsu S., Maeshima M. Aquaporin isoforms responsive to salt and water stresses and phytohormones in radish seedlings.— *Plant Cell Physiol.*— 2002.— V.43.— P. 1229–1237.

9. Шакирова Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа: Гилем, 2001.— 160 с.

10. Henzler T., Ye Q., Steudle E. Oxidative gating of water channels (aquaporins) in *Chara* by hydroxyl radicals.— *Plant Cell Environ.*— 2004.— V.27.— P. 1184–1195.

11. Fetter K., Van Wilder V., Moshelion M., Chaumont F. Interactions between plasma membrane aquaporins modulate their water channel activity.— *Plant Cell.*— 2004.— V.16.— P. 215–228.

12. Bogeat-Triboulot M.-B et al. Gradual soil water depletion results in reversible changes of gene expression, protein profiles, ecophysiology, and growth performance in *Populus euphratica*, a Poplar growing in arid regions.— *Plant Physiology.*— 2007.— V.143.— P. 876–892.

Резюме

Повышенный уровень экспрессии генов аквапоринов обеспечивал сохранение содержания водных каналов в мембранах на уровне, не уступающем контрольному, в условиях стресса. Увеличение активности водных каналов способствует поддержанию транспирационного потока у растений.

In stress conditions high level of aquaporin gene expression contributed the level of water channel in membranes not low that in control plants. Increasing of water channel activity promote the maintenance of plant transpiration.

ВИНИЧЕНКО Н.А., КИРИКОВИЧ С.С., ЛЕВИТЕС Е.В.

Институт цитологии и генетики СО РАН,

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

ВЛИЯНИЕ ТРИТОНА X-100 НА БЕЛКОВЫЕ ПРОФИЛИ И ДИНАМИКУ ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН САХАРНОЙ СВЕКЛЫ

Известно, что обработка растений детергентом “Тритон X-100” вызывает появление наследуемых морфо-физиологических изменений в ряду клеточных и половых поколений у растений пшеницы и сахарной свеклы

[1, 2]. Также было показано влияние TX-100 на структуру ДНК, в частности, на организацию локуса *Adh1* сахарной свеклы [3]. Поскольку в этих экспериментах обработка растений TX-100 проводилась на стадии набухания семян, можно предположить, что обнаруженные нами изменения закладываются именно на этой стадии.

С момента начала набухания до начала проклевывания семян в них проходит ряд физиологических процессов, изменяющих состояние зародышей. Происходит образование новых ферментов и активизация имевшихся, повышается интенсивность дыхания, распадаются запасные вещества, питательные вещества перемещаются к точкам роста, начинается деление и растяжение клеток, приводящее к образованию новых тканей и органов [4]. Все процессы проходят в определенной очередности, но новые начинаются еще до завершения прежних.

Физическая фаза прорастания состоит в поглощении воды и набухании семени, биохимическая — в превращении нерастворимых запасных веществ в растворимые и подвижные, морфологическая — в росте органов проростка (прободение корешком семенной оболочки). Ранее было показано, что TX-100 изменяет динамику прорастания семян сахарной свеклы [2]. Это, по-видимому, обусловлено тем, что детергент TX-100, может оказывать влияние на липидные оболочки, солубилизацию запасных жиров и липофильных групп белков. В связи с этим представляло интерес изучение влияния TX-100 на динамику прорастания семян сахарной свеклы и на возникающие при этом изменения профилей растворимых белков.

Материалы и методы

Растительный материал. Для исследования были взяты гибридные семена, полученные от опыления растения сахарной свеклы пыльцой одного растения красной столовой свеклы (урожаем 2008 года). Контрольные семена сахарной свеклы замачивали в дистиллированной воде в термостате при 29 °С, а опытные замачивали в 0,1% растворе TX-100 в течение 18 часов при 29 °С, затем отмывали водой и снова помещали в термостат на проращивание. Взятие образцов на анализ проводили через 18, 42, 66 и 90 часов проращивания.

Экстракция и электрофорез белков. Экстракцию белков осуществляли, растирая проростки в пробирках при 4 °С в 40–100 мкл экстракционной смеси, представляющей собой 0,1М трис-НСl (рН 8,3), 0,3% динатриевой соли ЭДТА, 3,6% сахарозы и 0,3% дитиотрейтола. Электрофорез суммарного белка проводили в 7,5% полиакриламидном геле с последующей окраской Coomassie R250 [5]. Сканирование белковых спектров проводили на приборе Biodoc.

Результаты и обсуждение

Влияние TX-100 на динамику прорастания семян сахарной свеклы. Как в контрольных, так и в опытных партиях выявились нормально развивающиеся (нормальные) и поздно развивающиеся (поздние) проростки. Но в опытной группе выявились также непрорастающие семена (табл.). Через

Таблица

Характеристика и динамика прорастания контрольных и обработанных ТХ-100 семян сахарной свеклы

Время проращивания	Контрольные семена			Обработанные семена			
	размер нормальных проростков	% нормальных проростков	% поздних проростков	размер нормальных проростков	% нормальных проростков	% поздних проростков	% непрорастающих семян
18 ч	0,5 см	73	27	0,3 см	50	14	36
42 ч	2 см	90	10	0,5 см	50	14	36
66 ч	6–7 см	97	3	3 см	50	14	36
90 ч	8–10 см	100	0	5–6 см	50	18	32

90 часов проращивания все контрольные семена проклюнулись и размеры проростков выровнились. В опытной группе 32% семян не проклюнулось вообще, а 18% проростков были поздними, т.е. отставали в своем развитии от нормы. Следует отметить, что и нормальные проростки опытных семян отставали в развитии от нормальных контрольных проростков примерно на сутки. Таким образом, мы видим, что обработка ТХ-100 снижает скорость и на энергию прорастания семян, а также приводит к полной потере способности к прорастанию у части семян.

Влияние ТХ-100 на белковые профили семян сахарной свеклы. Для выявления различий в биохимических процессах, обеспечивающих прорастание семян, мы использовали электрофорез суммарного белка проростка. Белковые профили контрольных и опытных проростков содержат два характерных блока: блок А — запасные белки, блок Б — белки, которые первыми начинают синтезироваться при прорастании. Кроме этих блоков в профилях присутствуют белки, характерные для каждого дня прорастания.

При сравнении белковых профилей нормальных проростков мы видим, что через 18 часов после замачивания в контрольной группе блок А выражен намного слабее, чем у проростков семян, обработанных ТХ-100 (рис. 1). Видимо, ТХ-100 ускоряет переход запасных белков в водорастворимую форму. Через 42 часа блок А у контрольных проростков становится чуть ярче, тогда как у обработанных — почти исчезает. Через 66 часов блок А у нормальных проростков обеих групп отсутствует, что позволяет предположить, что все запасные белки этого блока израсходованы.

Блок Б после 18 часов проращивания более ярк у контрольных растений, но уже через 42 часа интенсивность этого блока в белковых профилях контрольных и опытных проростков одинакова. Еще одно отличие профилей контрольных и опытных проростков состоит в том, что быстромигрирующие белки, расположенные на геле ниже блока Б, у опытной группы появляются уже через 18 часов после замачивания, тогда как у контрольной только после 42 часов. На рисунке 1 можно также видеть, что белковые профили нормальных проростков контрольных и опытных групп после 66 и 90 часов не имеют ни внутри- ни межгрупповых отличий.

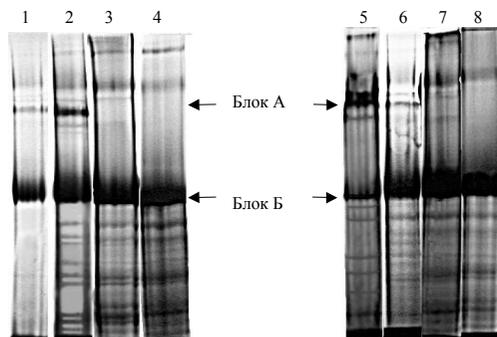


Рис 1. Белковые профили нормальных проростков сахарной свеклы
 Контроль: 1 дорожка — через 18 ч, 2 — через 42 ч, 3 — через 66 ч, 4 — через 90 ч прорастания. Опыт: 5 дорожка — через 18 ч, 6 — через 42 ч, 7 — через 66 ч, 8 — через 90 ч прорастания. Блок А — запасные белки, блок Б — новосинтезированные белки проростка

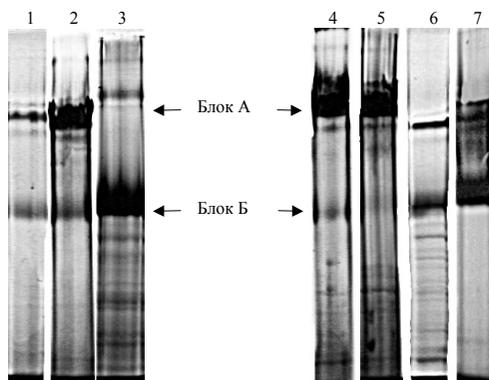


Рис 2. Белковые профили поздно развивающихся проростков сахарной свеклы
 Контроль: 1 дорожка — через 18 ч, 2 — через 42 ч, 3 — через 66 ч прорастания. Опыт: 4 дорожка — через 18 ч, 5 — 42 ч, 6 — через 66 ч прорастания, 7 — непроросшее семя через 90 ч проращивания. Блок А — запасные белки, Блок Б — новосинтезированные белки проростка

Большой интерес представляют профили поздно развивающихся проростков (рис. 2). В контрольной группе у поздних проростков блок А после 18 ч прорастания лишь немного интенсивнее, чем у нормальных проростков, но через 42 ч он сильно увеличивается, причем намного сильнее, чем у нормальных. После 66 ч прорастания блок А в этой группе исчезает. В опытной группе у поздно развивающихся проростков после 18 ч и 42 ч проращивания блок А тоже намного интенсивнее, чем у нормальных проростков, а после 66 ч тоже исчезает. Блок Б после 18 ч и 42 ч сильно ослаблен

у поздно развивающихся проростков контрольных и опытных групп. Интересно, что у поздних проростков количество быстромигрирующих белков, расположенных на электрофореграмме ниже блока Б, после 18 и 42 ч проращивания у опытной группы больше, чем у контрольной. На 7-й дорожке представлен белковый профиль обработанного ТХ-100 непроросшего зародыша после 90 ч проращивания. В этом профиле очень интенсивны белки блоков А и Б, но почти отсутствуют остальные белки.

Выводы

Обработка семян Тритоном Х-100 уменьшает скорость и энергию прорастания, а также полностью подавляет способность к прорастанию у части семян. Показано, что Тритон Х-100 меняет динамику изменения белкового профиля у нормально развивающихся проростков, и вносит качественные изменения в белковые профили семян, потерявших способность к прорастанию.

Работа частично 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. Махмудова К.Х., Богданова Е.Д., Левитес Е.В. Индукция Тритоном Х-100 наследуемых изменений морфологических признаков у *Triticum aestivum* L. // Генетика. 2009.— Т.45, №4.— С. 564–567.
2. Кирикович С.С., Левитес Е.В. Эпигенетическая изменчивость у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.), индуцированная Тритоном Х-100 // Фактори експериментальної еволюції організмів (Збірник наукових праць). Київ: “Логос”.— 2009.— Т.7.— С. 95–99.
3. Виниченко Н.А., Кирикович С.С., Левитес Е.В. Влияние обработки эпиму-тагеном “Тритон Х-100” на организацию локуса *Adh1* сахарной свеклы // Фактори експериментальної еволюції організмів (Збірник наукових праць). Київ: “Логос”.— 2009.— Т.7.— С. 5–9.
4. Якушкина Н.И. Физиология растений.— Москва: Просвещение, 1980.— 303 с.
5. http://www.molbiol.ru/protocol/17_01.html.

Резюме

Показано влияние Тритона Х-100 на динамику прорастания и всхожесть семян сахарной свеклы. Белковые профили, полученные на проростках обработанных и контрольных семян различались. Предполагено, что снижение скорости и энергии прорастания семян, а также подавление их способности к прорастанию обусловлено качественными и количественными изменениями белкового профиля.

In this study, Triton X-100 influence on germination dynamics and viability of seeds was demonstrated. Protein profiles obtained from seedlings of controlled and treated seeds were different. The reduction of germinating rate and viability of seeds is assumed to be caused by means of qualitative and quantitative changes in protein profiles.

ГЕРАЩЕНКОВ Г.А.¹, РОЖНОВА Н.А.¹, АБРАМОВ С.Н.², ГОРБУНОВА В.Ю.²

¹ *Институт биохимии и генетики УНЦ РАН,*

Россия, 450054, Уфа, проспект Октября, 71, e-mail: apomixis@anrb.ru

² *ГОУ ВПО “Башкирский государственный педагогический университет”,*

Россия, 450000, Уфа, проспект Октябрьской революции, 3а,

e-mail: obg_bspu@mail.ru

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МАРКЕРОВ АПОМИКСИСА У ФОРМ *BOECHERA* И БЛИЖАЙШИХ РОДСТВЕННИКОВ ИЗ СЕМЕЙСТВА *BRASSICACEAE*

Исследования в области генетики апомиксиса у цветковых растений обоснованно относят к числу прорывных исследований (Ozias-Akins and van Dijk, 2007). Тем не менее, возможное участие МГЭ в манифестации апомиксиса выпало из поля зрения исследователей. Как правило, роль МГЭ в бесполом размножении растений более трудно установить, нежели у животных, в связи со сложной организацией репродуктивных процессов (чередование поколений гаметофита и спорофита в жизненном цикле, двойное оплодотворение и т.д.), а также отсутствием подходящего материала. Все это делает проблемным анализ эпигенетической регуляции апомиксиса у растений. Возможно по этой причине, начиная с первых экспериментов Грегора Менделя на *Hieracium* и вплоть до настоящего времени, молекулярные механизмы, контролирующие апомиксис у растений, остаются слабо понятными. В настоящее время ведется активный поиск биохимических и молекулярно-генетических маркеров апомиксиса у различных видов цветковых растений, и в том числе у *Boechea* (Naumova et al, 2001; Gerashchenkov et al, 2007). Цель исследования: анализ особенностей наследования маркеров диплоспорического апомиксиса у представителей рода и родственных форм из семейства *Brassicaceae*.

Материалы и методы

Диплоспорический вид *Boechea holboellii* характеризуется рядом особенностей, позволяющих рассматривать его в качестве перспективного модельного объекта при исследованиях морфо-физиологической и молекулярной регуляции апомиксиса. Это близкий родственник *Arabidopsis thaliana*, для которого доступны обширные молекулярно-генетические ресурсы (полностью секвенированный геном, мутанты), что облегчает поиск участвующих в контроле апомиксиса генов. Вид *Boechea holboellii* высоко полиморфен, включает половые и апомиктичные формы различной пloidности из ряда изолированных друг от друга географически популяций. Развитие зародышевых мешков характеризуется: при апомейозе диплоспорическим образованием диад (*Taraxacum*-тип) и при мейозе мейотическим образованием тетрад (*Polygonum*-тип) (Naumova et al, 2001). Наконец, это единственный описанный апомикт в семействе *Brassicaceae*, содержащем ряд важных для сельского хозяйства видов. В исследовании сравнивали апомик-