

12. Емцев, В.Т. Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Колос, 1993. – 383с.

13. Бубина, А.Б. Использование гриба рода *Trichoderma* для ускорения процесса вермикюльтивирования методом предварительной ферментации органического субстрата / А.Б. Бубина., Н.Н. Терещенко // Матлы 2-й междуна. науч.-практ. конф. «Дождевые черви и плодородие почв». - Владимир, 2004. – С. 162.

14. Хомяков, Н.В. Реакция микроорганизмов на воздействие пищеварительной жидкости дождевых червей / Н.В. Хомяков, С.А. Харин, Т.Ю. Нечитайло, П.Н. Голышин,

А.В. Кураков, Б.А. Бызов, Д.Г. Звягинцев // Микробиология. – 2007. – № 76. – № 1. – С. 45-54.

15. Byzov, B.A. Fate of soil bacteria and fungi in the gut of earthworms / B.A. Byzov, N.V. Khomyakov, S.A. Kharin, A.V. Kurakov // European Journal of Soil Biology. – 2007. – V. 43. – P. 149-156.

16. Moody, S.A. Fate of some fungal spores associated with wheat straw decomposition on passage through the guts of *Lumbricus terrestris* and *Aporrectodea longa* / S.A. Moody, T.G. Pearce, J. Dighton // Soil Biol. Biochem. 1996. V. 28. P. 533-537.

УДК 575:581.144.2:581.133.8:582.683.2

ОСОБЕННОСТИ НАСЛЕДОВАНИЯ ФОРМЫ КОРНЕВЫХ ВОЛОСКОВ У *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) HEYNH. ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ГЕНОВ *CEN1* И *SAR1*

Хаблак Сергей Григорьевич, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Почвоведение и агрохимия»

Луганский национальный аграрный университет

e-mail: serhab_211981@rambler.ru

91008, Украина, г. Луганск, городок ЛНАУ; тел.: e-mail: serhab_211981@rambler.ru

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., корневой волосок, клеточная стенка, ген, мутация, мутантная линия, взаимодействие генов.

Представлены результаты исследования влияния взаимодействия генов *CEN1* и *SAR1* на образование формы корневых волосков у *Arabidopsis thaliana*. Установлено, что наследование формы корневых волосков у арабидопсиса при взаимодействии генов *CEN1* и *SAR1* происходит по типу комплементарного действия генов.

Введение. Корень – подземный орган растения [1]. У растений кончик корня снаружи покрыт однослойной эпиблемой (кожицей). Кожица корня всасывает воду, минеральные вещества из почвы и передает их в стебель и листья. Клетки эпиблемы способны образовывать корневые волоски. Они являются настоящими выростами внешних стенок поверхностных клеток корня, которые не ограничиваются от них перегородками [2].

Несмотря на важную роль волосков эпиблемы в поглощении воды и питательных веществ из почвы, генетический контроль их развития у растений остается практически неисследованным. Очень мало известно о молекулярно-генетических механизмах, регулирующих морфогенез выростов клеток кожицы корня.

К настоящему времени генетические исследования выявили ряд генов у *A. thaliana*, участвующих в процессе развития

корневых волосков. К ним относятся гены *CENTPEDE1 (CEN1)* [3] и *SYNAPTOBREVIN-RELATED PROTEIN1 (SAR1)* [4].

Как известно, мембрана является важнейшим селективным барьером, отделяющим содержимое клетки и ее органелл от окружающего раствора. Она играет ключевую роль как в структурной организации, так и в функционировании клетки [5]. В клетке постоянно происходит обмен веществом с внешней средой и между различными органеллами. Обычно роль переносчиков в этих процессах играют маленькие мембранные пузырьки. Они представляют собой внутриклеточные органеллы, в которых запасаются или перемещаются вещества между внутренними локациями клетки [6].

Везикулы образуются на поверхности органелл или плазматической мембраны клетки в процессе эндоцитоза либо экзоцитоза. В последние годы появились данные о специализированных белках, принимающих участие в первоначальной инвагинации поверхности мембраны (эпсины), формировании самих везикул (клатрин, кавеолин, COP-комплексы), их транспортировке (*SEC1*), а также сливании с наружной цитоплазматической мембраной (синаптобrevин) [7]. В частности, ген *SAR1* кодирует белок (синаптобrevин), участвующий в соединении внутриклеточных везикул с внешней клеточной мембраной [8]. Белковый продукт гена *CEN1* до конца еще не установлен [9].

Наследование формы волосков эпibleмы в корневой системе у *A. thaliana* является одним из мало изученных вопросов генетики его морфогенеза. Этот факт заставляет решать вопрос об исследовании совместного влияния генов *CEN1* и *SAR1* на форму корневых волосков.

Материалы и методы исследований.

Объектом исследований служили растения *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. экотипа (расы) Columbia (Col-0) и мутантных линий *centipede-1 (cen-1)*, *synaptobrevin-related protein-1 (sar-1)*. Семена мутантных линий были получены из Ноттингемского центра образцов арабидопсиса (Nottingham Arabidopsis Stock Centre (NASC), UK). Растения

выращивали в 2008 г. в лаборатории охраны почв в асептической пробирочной культуре на агаризованной питательной среде Кнопа, обогащенной микроэлементами [10]. Питательную смесь разливали в химические пробирки размером 14x120 мм и закрывали их плотными ватными пробками.

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 обертывали двумя слоями бумаги. После посадки пробирки накрывали полиэтиленовой пленкой. Снимали полиэтиленовую пленку по достижении семядольными листьями ее поверхности. Растения культивировали при температуре 18–20°С, освещенность круглосуточная в пределах 4000–7000 лк.

Кастрацию и принудительную гибридизацию проводили под микроскопом типа МБС-9 («Модуль Плюс», Украина). Генетический анализ наследования формы корневых волосков у растений проводили в F_1 , F_2 . Объем выборки в F_2 составлял 196 растений. Математическую обработку результатов исследований проводили по Г.Ф. Лакину [11], а также по В. Боровикову [12] с использованием компьютерной программы «Statistica».

Результаты исследований. У *A. thaliana* дикого типа на корнях развиваются корневые волоски трубчатой (цилиндрической) формы. Растения мутантной линии *cen1-1* образуют крючкообразные корневые волоски. Для растений мутантной линии *sar-1* характерны расширенные в верхней части (головчатые) выросты клеток кожицы корня.

Результаты скрещивания растения мутантной линии *cen1-1*, обладающего крючкообразными корневыми волосками *cen1-1 cen1-1 SAR1 SAR1*, с растением мутантной линии *sar-1*, имеющим расширенные в верхней части (головчатые) корневые волоски *CEN1 CEN1 sar-1 sar-1*, приведены на рисунке 1.

У гибридных растений F_1 волоски эпibleмы оказываются цилиндрической формы. Это объясняется комплементарным

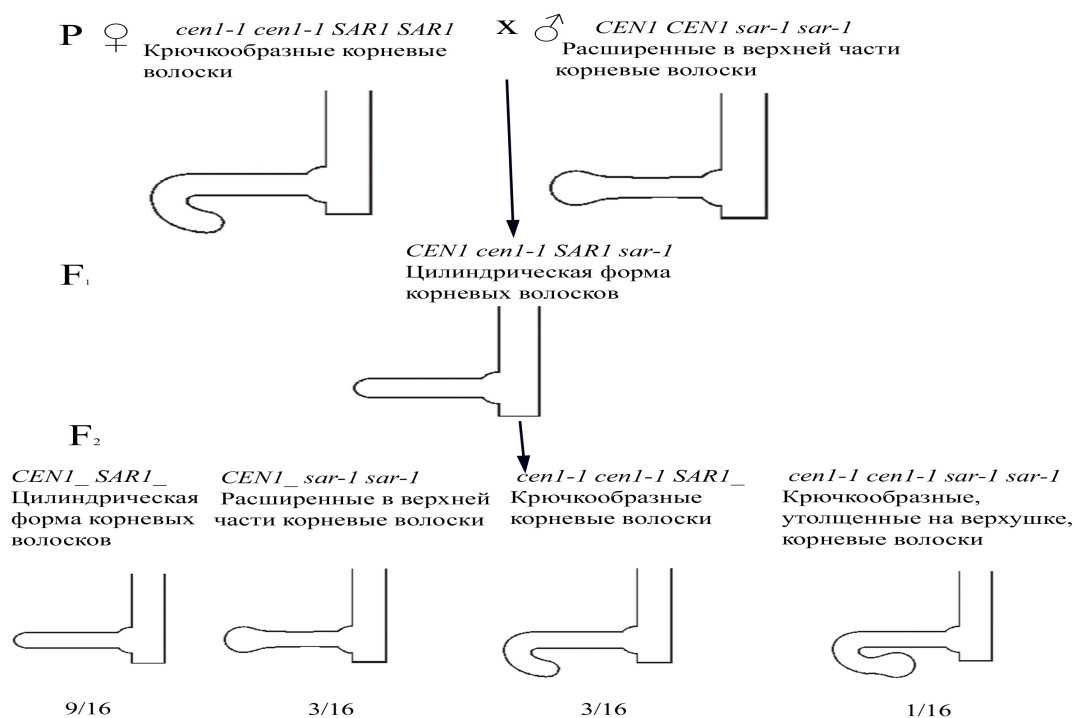


Рис. 1 – Наследование формы корневых волосков у *A. thaliana* при комплементарном взаимодействии двух пар генов *CEN1* и *SAR1*: *CEN1* – цилиндрическая форма корневых волосков, *cen1-1* – крючкообразные корневые волоски, *SAR1* – цилиндрическая форма корневых волосков, *sar-1* – расширенные в верхней части корневые волоски.

Таблица 1

Расщепление в поколении F₂ по генам *CEN1* и *SAR1*

Обозначение	<i>CEN1</i> __ <i>SAR1</i> __	<i>CEN1</i> __ <i>sar-1 sar-1</i>	<i>cen1-1 cen1-1</i> <i>SAR1</i> __	<i>cen1-1 cen1-1</i> <i>sar-1 sar-1</i>	Всего
<i>f</i>	109	35	34	8	186
<i>fⁱ</i>	104	35	35	12	186
<i>d</i>	5	0	-1	-4	
<i>d²</i>	25	0	1	16	
$\chi^2 = \frac{d^2}{f^i}$	0,24	0	0,03	1,33	1,6

взаимодействием у гетерозигот *CEN1 cen1-1 SAR1 sar-1* доминантных аллелей двух разных генов *CEN1* и *SAR1*.

При самоопылении растений F₁ в F₂ наблюдается расщепление по форме корневых волосков в отношении 9/16 *CEN1* __ *SAR1* __ : 3/16 *CEN1* __ *sar-1 sar-1* : 3/16 *cen1-1 cen1-1 SAR1* __ : 1/16 *cen1-1 cen1-1 sar-1 sar-1*.

Первый фенотипический класс (9/16) имеет такие же корневые волоски, как и у гибридов первого поколения, второй (3/16) – расширенные в верхней части (головчатые)

волоски эпibleмы, сходные с материнской формой, третий (3/16) – крючкообразные выросты клеток кожицы корня, подобные отцовской форме, а четвертый (1/16) – крючкообразные, утолщенные на верхушке, корневые волоски, которые отсутствуют у родительских растений. Эти результаты указывают на то, что взаимно дополняющее влияние двух рецессивных генов *cen1-1* и *sar-1* в генотипе в гомозиготном состоянии (*cen1-1 cen1-1 sar-1 sar-1*) обуславливает у растений развитие нового признака

(крючкообразных, расширенных в верхней части, волосков эпиблемы).

Достоверность расщепления по критерию χ^2 представлена в таблице 1. Для данного скрещивания между фактически полученными и теоретически вычисленными данными нет достоверных различий.

Таким образом, появление у растений в F_2 крючкообразных, утолщенных на верхушке, корневых волосков является результатом комплементарного взаимодействия двух рецессивных аллелей *cen1-1* и *sar-1* в гомозиготном состоянии.

Необходимо отметить, что подобные примеры наследования встречаются и у других растений, животных и насекомых. В этих случаях комплементарное взаимодействие рецессивных аллелей обуславливает развитие пластинчатого, или листовидного, гребня у кур, белых глаз у дрозофилы, желто-оранжевой окраски плодов у томатов [13].

Выводы. 1. Наследование формы корневых волосков у *A. thaliana* при взаимодействии генов *CEN1* и *SAR1* происходит по типу комплементарного действия генов, при котором каждый из генов характеризуется собственным специфическим эффектом.

2. Комплементарное взаимодействие рецессивных генов *cen1-1* и *sar-1* обуславливает развитие у растений крючкообразных, утолщенных на верхушке, волосков эпиблемы.

Библиографический список

1. Жизнь растений : в 6 т. / под ред. А.Л. Тахтаджяна. – М. : Просвещение, 1980. – Т. 5, Ч. 1: Цветковые растения. – 430 с.
2. Хржановский, В. Г. Курс общей ботаники (цитология, гистология, органография, размножение) / В. Г. Хржановский. – М. : Высш. шк., 1982. – 384 с.
3. Haupt, W. The *CENTROMERE1* (*CEN1*)

region of *Arabidopsis thaliana*: architecture and functional impact of chromatin / W. Haupt, T. C. Fischer, S. Winderl // Plant Journal. – 2001. – V. 27, № 4. – P. 285 – 296.

4. Duarte, P. Processing and trafficking of a single isoform of the aspartic proteinase cardosin a on the vacuolar pathway / P. Duarte, J. Pissarra, I. Moore // Plant Journal. – 2008. – Vol. 227, №1. – P. 1255–1268.

5. Kwon, C. Co-option of a default secretory pathway for plant immune responses / C. Kwon, C. Neu, C. Pajonk // Nature. – 2008. – V. 451(7180). – P. 835–840.

6. Wang, W. Expression of the membrane-associated resistance protein *RPW8* enhances basal defense against biotrophic pathogens / W. Wang, A. Devoto, J. G. Turner, S. Xiao // Mol Plant Microbe Interact. – 2007. – V. 20(8), № 1. – P. 966–976.

7. Sparkes, I. A. AtPEX2 and AtPEX10 are targeted to peroxisomes independently of known endoplasmic reticulum trafficking routes / I. A. Sparkes, C. Hawes, A. Baker // Plant Physiol. – 2005. – V. 139(2). – P. 690–700.

8. Ono, E. Localization of a flavonoid biosynthetic polyphenol oxidase in vacuoles / E. Ono, M. Hatayama, Y. Isono // Plant J. – 2006. – V. 45(2). – P. 133–143.

9. Park, M. Identification of the protein storage vacuole and protein targeting to the vacuole in leaf cells of three plant species / M. Park, S. J. Kim, A. Vitale, I. Hwang // Plant Physiol. – 2004. – V. 134(2). – P. 625–639.

10. Большой практикум по физиологии растений / Б.А. Рубин и [и шк.]. – М. : Высш. Шк., 1978. – 408 с.

11. Лакин, Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М. : Высш. шк., 1990. – 352 с.

12. Боровиков, В. STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере : для профессионалов / В. Боровиков. – С. – Петербург. : Питер, 2003. – 688 с.

13. Лобашев, М. Е. Генетика / М. Е. Лобашев. – Л. : Изд-во ЛГУ, 1985. – 485 с.