

26. Pecaloza-Vobzquez A., Fakhr M.K., Bailey A.M., Bender C.L. AlgR functions in algC expression and virulence in *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* // *Microbiology*.— 2004.— 150.— P. 2727–2737.

27. Баснакьян И.А., Бондаренко В.М., Мельникова В.А., Белявская В.А. Стрессор-индуцибельные бактериальные белки и вирулентность // *Журн. микробиол.*— 2001.— №5.— С. 101–108.

28. McClellan J.A., Boublikova P., Palecek E., Lilley D.M.J. Superhelical torsion in cellular DNA Responds directly to environmental and genetic factors // *Proc. Nat. Acad. Sci.*— 1990.— 87.— P. 8373–8377.

29. Снитковский Д. М. Концепция действия малых доз ионизирующих излучений на клетки и ее возможные приложения к трактовке медико-биологических последствий // *Радиобиология*.— 1992.— Т.32, №3.— С. 383–400.

30. Martinez J.L., Baquero F. Mutation frequencies and antibiotic resistance // *Antimicrob. Agents. Chemotherapy*.— 2000.— 44, 7.— P. 1771–1777.

Резюме

Розглянуто неспецифічні механізми регуляції експресії факторів патогенності з точки зору адаптивної відповіді бактерій. В якості прикладів показано роль SOS-системи репарації та глобального регулятора RpoS в цих процесах.

Рассмотрены неспецифические механизмы регуляции экспрессии факторов патогенности с точки зрения адаптивного ответа бактерий. В качестве примеров показана роль SOS-системы репарации и глобального регулятора RpoS в этих процессах.

The unspecific mechanisms of pathogenicity factors expression are considered from the point of view the adaptive answer of bacteria. As examples the role of SOS-repair and global regulator RpoS are examined in these processes.

ШИМКО В.Е., ГОРДЕЙ И.А.

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси

Беларусь, 220027, Минск, ул. Академическая, 27, e-mail:shymko@mail.ru

МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЦМС ФОРМ В СЕЛЕКЦИИ НА ГЕТЕРОЗИС ОЗИМОЙ РЖИ (*SECALE CEREALE* L.)

Исследования, связанные с использованием эффекта гетерозиса, проводятся практически у всех культур. С точки зрения практического использования эффекта гетерозиса, рожь занимает в настоящее время лидирующее положение среди злаков. Новым подходом в гетерозисной селекции озимой ржи является использование цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС). Современные гибриды F₁ озимой ржи с использованием ЦМС превышают по урожайности традиционные популяционные сорта на 15–20% (Geiger, 1985). Использование цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС) даёт возможность проведения контролируемых скрещиваний у ржи.

ЦМС обусловлена специфической мутацией плазмогенов и наследуется по материнской линии. Восстановление фертильности осуществляется при взаимодействии такой цитоплазмы (цит-*s*) с ядерными генами (*Rf*) восстановления фертильности [1, 2]. Типы ЦМС *P* и *G*, открытые в свое время Гейгером (*P*-тип, 1970), Адольфом и Винклером (*G*-тип, 1985), различаются между собой по генетическому контролю [3]. Установлено, что *G*-ЦМС контролируется митохондриальным геномом и одним основным ядерным ms_1 (*rf*) геном, локализованным на хромосоме 4RL; также описаны гены-модификаторы на хромосомах 3R (ms_2) и 6R (ms_3). *P*-ЦМС имеет более сложный контроль, который до конца не изучен. По одним данным этот тип контролируется «стерильной» цитоплазмой и двумя ядерными генами. Другие исследователи утверждают, что *ms* генов не два, а четыре [4]. Согласно результатам исследований с использованием технологии ПДРФ, *P*-ЦМС контролируется двумя основными ядерными *ms* генами, локализованными на хромосомах 1R и 4R, а также тремя *ms* генами с меньшим эффектом, локализованными на хромосомах 3R, 5R и 6R [8]. Однако, до конца не выяснено, доминантными либо рецессивными генами контролируется *P*-ЦМС. Результаты исследований Гейгера показали, что в закреплении стерильности участвуют рецессивные гены, доминантные восстанавливают фертильность пыльцы. В одной из последних публикаций Мельца [2] отмечено, что закрепление стерильности контролируется доминантными генами. В настоящее время недостаточно изучен генетический контроль используемых систем ЦМС. Слабо изучены особенности взаимодействия генетических систем ЦМС и самофертильности. Использование молекулярно-генетических методов исследований позволило локализовать ряд генов самофертильности: Sf_1 (1R); Sf_2 (2R); Sf_3 (4R); Sf_5 (5R); Sf_4 (6R) [8]. Картированы 3 мутации, определяющие самофертильность в локусах *S*, *Z* и *S5* самонесовместимости на хромосомах 1R; 2R и 5R соответственно. Определены один белковый и три ДНК-маркера для этих локусов [5, 6]. В настоящее время также проводятся исследования по поиску и использованию белковых маркеров в генетическом анализе ржи, тритикале, пшеницы [5–7]. Исследования, направленные на изучение механизмов взаимодействия систем ЦМС (*S/msms*) и самофертильности (*Sf*, *Zf*), а также изучение особенностей генетического контроля различных типов ЦМС (*P*- и *G*-типов) позволят повысить эффективность создания гетерозисных гибридов F_1 озимой ржи.

Материалы и методы

В качестве исходного материала использовали самостерильный сорт озимой ржи Калинка, самофертильные линии (I_6-I_{16}), включающие высоко- и среднестебельные линии, линии с доминантным контролем короткостебельности. Объектами исследований являлись гибриды F_1 озимой диплоидной ржи с цитоплазматической мужской стерильностью (ЦМС) *P*- и *G*-типов. Исследование и идентификацию форм ржи проводили методом электрофоретического анализа белков эндосперма семян, разработанным в отделе молекулярной биологии ВИР [8], в нашей модификации, и стандартным

арбитражным методом, включенным в Международные правила анализа семян. Хромосомный анализ исследуемого материала проводили путем дифференциального окрашивания хромосом по методике, разработанной в Институте молекулярной биологии РАН[9]. Основным методом создания и изучения новых линий и гибридов F₁ являлась парная изоляция и топ-кросс МС-тестеров и самофертильных линий. В полевых условиях растения выращивали мелкоделяночным способом на опытном поле Института генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси (ИГЦ НАН Беларуси).

Результаты и обсуждение

Результаты генетического анализа у ржи все больше основываются на изучении качественного состава различных ферментных систем; расположения генов в определенных хромосомах и выявлении совместного наследования. Информация о локализации и сцеплении генов у ржи обобщена в работах Мельца и Шлегеля [2, 6]. Наибольший интерес представляют различающиеся по рисунку дифференциальной окраски хромосомом гомозиготные, инбредные линии ржи, у которых отмечается стабильное наследование С-блоков в потомстве.

В цитогенетическом исследовании использованы мужски стерильные (МС) формы и инбредные линии озимой ржи из генетической коллекции ИГЦ НАН Беларуси. В кариотипе МС-форм выявлено уменьшение гетерохроматиновых блоков по сравнению со стандартом (Sybenga, 1983). Линия 51-16 имела мелкие блоки гетерохроматина в спутнике ядрышкообразующей хромосомы 1R и на теломере короткого плеча хромосомы 6R. У линии 168 кариотип не отличался от стандарта. А линии 37-10 и 37-13 характеризовались увеличенным блоком теломерного гетерохроматина на длинном плече хромосомы 7R/2R (рис. 1).

Проведен электрофоретический анализ секалина для оценки функциональной активности хромосом генома ржи (рис. 2).

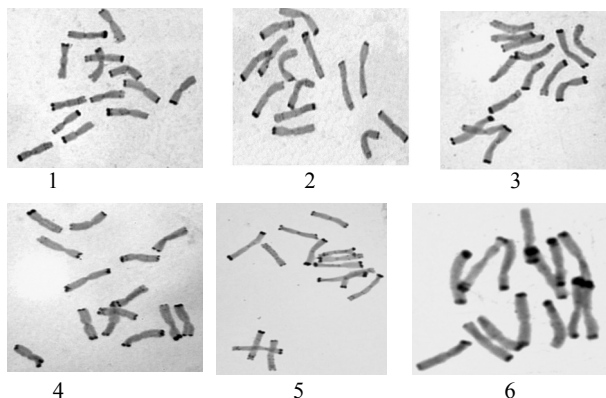


Рис. 1. Кариотипы мужски стерильных форм и инбредных линий озимой ржи: 1 — MS-2, 2 — ЗС-2, 3 — Л51-16, 4 — Л168, 5 — Л 37-13, 6 — Л37-10

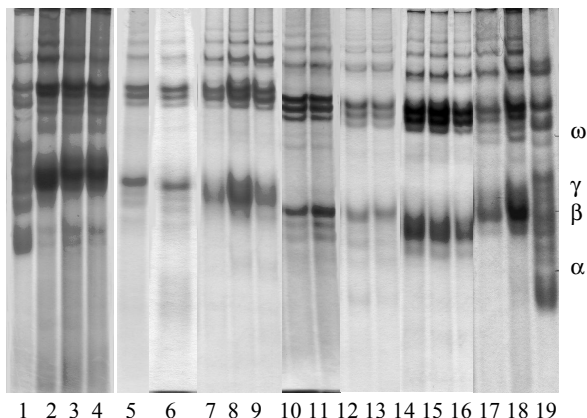


Рис. 2. Электрофоретические спектры секалина ржи сорта-анализатора Кавказ (1,19) и мужски стерильных форм: МС — Р-типа (2–4, 7–9), МС — G-типа (5, 6), ЗС — G-типа (10–13), ЗС — Р-типа (14–18)

Общим для спектра секалина мужски стерильных форм являлось наличие фракций, характерных для проламинов ржи — β , γ , и ω с четким расположением компонентов в пределах каждой фракции. МС-формы G-типа отличались от МС-форм Р-типа по составу компонентов, кодируемых локусом *Sec1* (табл.). В первом случае это компоненты $\omega 234\gamma 5$, а во втором — $\omega 234$, что связано с различным генетическим происхождением МС-форм (табл.). Показана изменчивость спектра секалина в β и γ зонах у изучаемых форм. Компонент $\gamma 1$ встречается у 63% растений МС-линий G-типа. Компоненты $\beta 3$, $\beta 4_1 4$ встречались у МС-линий Р-типа от 19 до 33% растений. Компоненты $\beta 1$ $\gamma 1$ встречались у закрепителей стерильности (ЗС) G-типа от 55–82% растений. Компоненты $\beta 3$ $\gamma 2$ $\gamma 4$ встречались у ЗС Р-типа от 9 до 75% растений. Таким образом анализ спектров секалина показал, что мужски стерильные формы генетически не однородны.

Проведены скрещивания доноров ЦМС и самофертильных линий озимой ржи, что позволило выделить высокопродуктивные гибриды, а также закрепители стерильности (S/rf) и восстановители фертильности (N/Rf). Как показали результаты наших исследований, создание гетерозисных гибридов F_1 с использованием ЦМС Р- и G-типов, и современных популяционных сортов и самофертильных линий позволило достичь высокого уровня восстановления фертильности пыльцы и эффекта гетерозиса по зерновой продуктивности.

При простом скрещивании ЦМС-форм Р- и G-типа с самофертильными линиями не выявлено гибридов, превышающих стандарт по зерновой продуктивности. Двойные межлинейные и линейнопопуляционные гибриды на основе ЦМС-форм Р- и G-типа, превышали стандарт по изучаемым признакам. Двойные линейнопопуляционные гибриды с участием самофертиль-

Белковые формулы суммарных спектров запасных белков секалинов сорта-анализатора Кавказ и мужски стерильных форм озимой ржи

NN	Белковая формула			
	α	β	γ	ω
Пшеница Кавказ	5 6 7	<u>2 3 4 5</u>	<u>2 3 5</u>	<u>2 3 4</u> <u>5 6</u> <u>8 9</u>
МС –G типа		<u>1 2 3 4 5</u>	<u>1</u> <u>4 5</u>	<u>2 3 4</u> <u>7 8</u> 10 <u>12</u>
МС –P типа		<u>3 4</u> 4 5	1 <u>4</u>	<u>2 3 4 5</u> <u>7 8</u> <u>10</u> <u>12</u>
ЗС –G типа		2 3 ₁ 4 ₁ 5	1 4 5	<u>2 3 4</u> <u>7 8</u> <u>10</u> 12
ЗС –P типа		3 4 ₁ 4 5	1 4	1 <u>2 3 4 5</u> <u>7 8</u> 10 12

ных линий (♂37–10, 51–16) превосходили стандарт по всем анализируемым признакам зерновой продуктивности. Уровень конкурсного гетерозиса составлял в отдельных комбинациях 40–93%. Для гибридов на основе ЦМС G-типа характерна низкая частота генов закрепления стерильности [2]. Результаты наших исследований показали, что наиболее высокий эффект гетерозиса по признакам продуктивности растений проявлялся у простых межлинейных гибридов с использованием ЦМС G-типа и самофертильных линий. Уровень конкурсного гетерозиса составлял 7–59%, и зависел от характера взаимодействия отцовского и материнского компонента скрещивания. Между гибридами F_1 на основе ЦМС P- и ЦМС G-типов выявлены достоверные различия по всем изучаемым признакам продуктивности растений.

Выводы

Показано, что мужски стерильные формы и самофертильные линии различаются по рисунку С-бэндинга хромосом. Мужски стерильные формы идентифицированы по наличию определенных типов спектра, частоте встречаемости и особенности экспрессии генов запасных белков семян в геноме ржи.

Изменчивость спектра секалина связана в основном с компонентами β и γ зон что связано с различным генетическим происхождением. В ω зоне четко представлены компоненты $\omega 234$, $\omega 234g5$, кодируемые транслоцированным локусом хромосомы 1R. Мужски стерильные формы генетически не однородны.

Создание гетерозисных гибридов F_1 с использованием как ЦМС P- и G-типа и самофертильных линий озимой ржи позволило достичь уровня конкурсного гетерозиса (20–40%) по зерновой продуктивности.

Литература

1. *Rafalski A.* The genetic diversity of components of rye hybrids. / A. Rafalski, L. Madej, I. Wisniewska, M. Gawel // Cellular&Molecular biology letters.— 2002.— V.7.— P. 471–475.
2. *Melz Gi.* Genetics of a male-sterile rye of “G-type” with results of the first F₁ hybrids / Gi. Melz, Gu. Melz, F. Hartmann // In proc. Int. Symp. on rye breed. and gen. EUCARPIA.— 2001.— P. 43–50.
3. *Steinborn R.* A new type of cytoplasmic male sterility in rye (*Secale cereale* L.): analysis of mitochondrial DNA / R. Steinborn, W. Schwabe, A. Weihe, K. Adolf I, G. Melz, and T. Berner // Theor Appl Genet.— 1993.— V.85.— P. 822–824.
4. *Madej L.* Ocena plodnosci mieszanow zyta / L. Madej, R. Osinski, J. Jagodinski // Biuletyn Inst. Hodowli i Aklimat. Roslin., Radzikow, Poland.— 1995.— N195/196.— P. 283–290.
5. Теоретические основы селекции зерновых культур на продуктивность / Л.В. Хотылева [и др.]; под общ. ред. Д.Ф. Санько.— Минск: Наука и техника, 1987.— 279 с.
6. *Schlegel R.* Genes, marker and linkage data of rye (*Secale cereale* L.): 5th updated inventory / R. Schlegel, G. Melz, V. Korzun // Euphytica.— 1998.— N101.— P. 23–67.
7. *Егорова И.А.* Анализ сцепления биохимических и морфологических маркеров 1R-, 2R-, и 5R-хромосом ржи с мутациями автофертильности в основных локусах несовместимости / И.А. Егорова, Т.И. Пенева, О.А. Баранова, А.В. Войлоков // Генетика.— 2000.— Т.36, №12.— С. 1688–1696.
8. *Пенева Т.И.* Анализ и регистрация сортов и линий ржи по секалину методом электрофореза (методические указания) / Т.И. Пенева, Н.М. Мартыненко, В.Г. Конарев.— Л.— 1989.— 52 с.
9. *Бадаев Н.С.* Идентификация хромосом А и D геномов пшеницы с использованием замещений и перестроек между гомеологами у пшениц и тритикале / Н.С. Бадаев, Е.Д. Бадаева, Н.Л. Большева, А.В. Зеленин // Докл. АН СССР.— 1983.— Т.273, №4.— С. 994–996.

Резюме

Показано, что мужски стерильные формы и самофертильные линии различаются по рисунку С-бэндинга хромосом. Мужски стерильные формы идентифицированы по наличию определенных типов спектра, частоте встречаемости и особенности экспрессии генов запасных белков семян в геноме ржи. Изменчивость спектра секалина связана в основном с компонентами β и γ зон. Создание гетерозисных гибридов F₁ с использованием как ЦМСП- и G-типа и самофертильных линий озимой ржи позволило достичь эффекта гетерозиса по зерновой продуктивности.

Male-sterile forms and self-fertile lines differ in C-banding of chromosomes. Male-sterile forms are identified by the presence of certain types of spectrum, their occurrence frequency and the feature of gene expression of reserve proteins in rye. Variability of secaline spectrum is related basically to components of β and γ zones. Development of heterotic hybrids F₁ using CMS P- and G-type and self-fertile lines differ of winter rye has allowed us to reach heterosis effect for grain productivity.

ЮДАНОВА¹ С.С., ПОЗНЯК^{1,2} С.И., МАЛЕЦКАЯ¹ Е.И.

¹ *Институт цитологии и генетики СО РАН,*

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

² *Новосибирский Государственный Аграрный Университет, МСХ РФ,*

Россия, 630039, Новосибирск, ул. Добролюбова, 160

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ГОДА НА ЗАВЯЗЫВАЕМОСТЬ АГАМОСПЕРМНЫХ СЕМЯН И ПАРТЕНОКАРПИЧЕСКИХ ПЛОДОВ У САХАРНОЙ СВЕКЛЫ

Возникновение семян без участия пыльцевых зерен обозначают терминами “однородительская”, “апозиготическая” или “агамоспермая” репродукция. На цветоносных побегах свеклы образуется огромное, исчисляемое тысячами, число цветков (или соцветий-клубочков). Развитие плода (плодоили карпогенез) из тканей неоплодотворенного цветка называют партенокарпией. Эмбриогенез семени как при однородительской, так и двуродительской репродукции схожи. Цитоэмбриологические механизмы репродукции семян при апозиготии у свеклы включают: а) соматическую (нуцеллярную) эмбрионию — развитие зародыша из соматических клеток цветка; б) генеративную эмбрионию — развитие зародыша в закрытом цветке из клеток зародышевого мешка [1, 2, 3].

Как показали наблюдения, уровень семенной продуктивности пыльцестерильных растений при выращивании без опылителей сильно варьирует, однако в среднем этот уровень вполне сравним с пыльцефертильными растениями [3, 4, 5]. Внутривидовая вариабельность числа плодов (и семян) на растениях амбивалентный признак: он детерминируется генотипом растений, а также автономными процессами самоорганизации, происходящими в тканях растений при морфогенезе в ходе вегетации растений (эпигенетическая изменчивость), которые напрямую от генотипа не зависят.

Цель настоящей работы — провести сравнительный анализ изменчивости долей агамоспермных семян и партенокарпических плодов, получаемых при однородительском размножении сахарной свеклы в различные годы и в смежных поколениях.

Материал и методы

Материалом для исследования послужили: 1) подлинная, созданная на основе пыльцестерильной линии мсСОАН-5 с S-типом цитоплазмы селекции лаборатории популяционной генетики ИЦиГ СО РАН (мсСОАН-5-А-пА6)_{аз}-35А и 2) потомство этой подлинной, полученное при однородительской репродукции — (мсСОАН-5-А-пА6)_{аз}-35А-34А. В дальнейшем при описании результатов наблюдений будем использовать сокращенное обозначение “35А” и “35А-34А” соответственно.

Методика апозиготической семенной репродукции заключается в выращивании пыльцестерильных растений на изолированном участке [3,4]. У таких растений во время цветения нередко наблюдается мультивидуальная¹

¹ “мультивидуум” — полисистема, составленная из множества повторяющихся единиц, реализующих собственные программы индивидуального развития. Растительный организм состоит из множества фито- или метамеров (субиндивидов), каждый из которых реализует собственную программу индивидуального развития [6].