

Л.Е. КОЗЕКО

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, Киев

E-mail: kozeko@optima.com.ua

**ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ
ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ПРОРОСТКОВ
ARABIDOPSIS THALIANA
КАК РЕЗУЛЬТАТ ИНГИБИРОВАНИЯ
ШАПЕРОНОВ Hsp90**



Исследовано влияние ингибитора шаперонов Hsp90 гелданамицина (ГДА) на рост и морфогенез проростков Arabidopsis thaliana. Показано дозозависимое усиление варибельности темпов роста и фенотипов проростков в результате обработки ингибитором семян экотипа Col. Обработка ГДА генетически полиморфных семян природных популяций A. thaliana и семян Col, облученных УФ-В, приводила к значительному увеличению процента проростков с морфологическими отклонениями и процента непроросших семян. Полученные данные свидетельствуют об участии Hsp90 в «канализации» развития растительного организма при действии стохастических процессов, сокращения генетических изменений и поддержании жизнеспособности клеток.

© Л.Е. КОЗЕКО, 2013

Введение. Фенотипическая пластичность растительных организмов определяется главным образом способностью генотипа изменять свою экспрессию в ответ на внешние влияния в рамках нормы реакции [1]. Вместе с тем определенный вклад в варибельность фенотипов могут вносить как внутренние стохастические процессы, так и генетический полиморфизм (в случае совокупности особей одного вида, например популяции) [2, 3]. В последнее десятилетие активно исследуется вопрос об участии в контроле фенотипической варибельности шаперонов семейства Hsp90 [4, 5]. Основой такого предположения послужило то, что Hsp90 в отличие от других шаперонов характеризуются субстратной специфичностью. Они обеспечивают фолдинг и конформационную регуляцию ряда белков различных путей сигналинга, факторов транскрипции, клеточного цикла и т. д., контролируют их функциональную активность, связывание с лигандами, ассоциацию с белками-партнерами, локализацию в клетке и тем самым участвуют в регуляции процессов роста и развития [6, 7]. При действии стохастических процессов стабилизация шапероном структуры белков-«клиентов» должна приводить к стабилизации развития в целом [8, 9]. При генетической изменчивости существует возможность того, что шаперон, взаимодействуя с белком-«клиентом», имеющим частично измененную аминокислотную последовательность, будет поддерживать его в нормальной функциональной конформации, способствуя тем самым сокрытию генетических изменений и формированию нормального фенотипа [4]. Нарушение функционирования Hsp90 в обоих случаях должно приводить к усилению фенотипической варибельности организмов. Для проверки этого предположения могут быть использованы специфические ингибиторы Hsp90. Блокируя АТФ-связывающие сайты димера Hsp90, они приводят к нарушению его функционирования и, как следствие, к дестабилизации и последующей деградации субстратов [10, 11].

Цель настоящей работы — проверка предположения об участии Hsp90 в контроле проявления на уровне фенотипа внутренних стохастических процессов и генетических изменений с помощью ингибиторного анализа.

В исследовании использовали *Arabidopsis thaliana*, самоопыляемое растение, изолированные экотипы которого являются в высокой степени генетически мономорфными и характеризуются выравненностью темпов роста [5, 12]. Габитус растения удобен при морфометрических исследованиях. Для получения генетически полиморфного материала использовали: 1) облучение семян ультрафиолетом В (УФ-В), наиболее чувствительными мишенями которого являются ДНК и белки, что приводит к возникновению мутаций и нарушению структуры белков [13]; 2) семена, собранные с растений *A. thaliana* природных популяций (уровень генетического полиморфизма у природных популяций составляет около 0,3 % [14]). Использование для анализа фенотипов 12-суточных проростков *A. thaliana* обусловлено тем, что у проростков этого возраста сформированы корневая и стеблевая системы, имеются развернутые семядоли и первые листья розетки, в связи с чем выявление морфологических отклонений еще не составляет особых трудностей.

Материалы и методы. В работе использовали *Arabidopsis thaliana* (L.) Heunh экотипа Columbia (Col) и растений, полученных из семян природных популяций. Проводили три серии экспериментов. Общая схема подготовки и анализа растительного материала во всех экспериментах состояла в следующем. Семена стерилизовали с поверхности 70%-ным этанолом в течение 2 мин, а затем в растворе гипохлорита (5 % Cl) в течение 10 мин, после чего отмывали в стерильной дистиллированной воде пять раз по 5 мин. Для синхронизации прорастания стерилизованные семена выдерживали во влажных стерильных условиях в темноте при 4 °С в течение 48 ч, затем инкубировали с раствором ингибитора соответствующей концентрации в темноте при комнатной температуре в течение 24 ч. В контроле вместо раствора антибиотика семена выдерживали в стерильной дистиллированной воде. Специфические особенности каждого эксперимента описаны ниже. Далее семена высаживали в чашки Петри (12 × 12 см) на среду, которая содержала 0,5 комплекса минеральных солей Мурасиге—Скуга, 1 % сахарозы, 0,8 % агара, равномер-

но распределяя по поверхности чашки около 60 семян. Чашки с семенами выдерживали при 24 ± 1 °С и режиме освещения 16 ч света/8 ч темноты. У 12-суточных проростков регистрировали стадии роста и описывали морфологические отклонения в стеблевой части проростка. Корневую систему, как правило, не анализировали из-за сложности полной идентификации в среде корней каждого проростка. На 13-е сутки проростки фотографировали. Каждый эксперимент проводили не менее двух раз.

Стадии роста проростков *A. thaliana* ([12])

Коды	Описание
0	Семя
0.1	Появление зародышевого корня
0.5	Рост зародышевого корня
0.7	Появление гипокотилия и семядолей
1.00	Полное раскрытие семядолей
1.01	Появление 1-го листа розетки > 1 мм
1.02	Появление 2-го листа розетки > 1 мм
1.03	Появление 3-го листа розетки > 1 мм
1.04	Появление 4-го листа розетки > 1 мм
1.05	Появление 5-го листа розетки > 1 мм
1.06	Появление 6-го листа розетки > 1 мм

В качестве ингибитора Hsp90 использовали гелданамицин (ГДА, geldanamycin), относящийся к бензохиноновым ансамицинам. В известных работах антибиотик вносили в среду для выращивания растений, однако установлено, что на свету он довольно быстро теряет свою активность [5]. Поэтому в настоящей работе семена инкубировали 24 ч с раствором антибиотика в темноте перед высаживанием их на среду. Для определения эффективных при таком способе обработки концентраций в первом эксперименте изучали действие антибиотика в интервале концентраций 0,1–50 мкмоль (константа диссоциации ГДА К_д = 1,2 мкмоль/л [15]). Для этого использовали семена *A. thaliana* Col, которые после стратификации инкубировали в микропробирках с 0,5 мл раствора ГДА (0,1; 0,5; 1; 5; 10; 50 мкмоль) в стерильных условиях.

Во втором эксперименте стратифицированные семена Col облучали УФ-В на влажной фильтровальной бумаге с помощью лампы Philips TL20W. Дозы облучения при интенсивности 2,35 Вт/м² составляли 0,017; 1,7;

Таблица 1
Влияние ГДА на жизнеспособность семян и возникновение морфологических отклонений у проростков *A. thaliana*

Показатель	Всхожесть семян, %	Доля проростков с отклонениями, %
Экотип Col		
Концентрация ГДА, мкмоль/л		
контроль	97,4	6,1
0,1	97,4	10,3
0,5	96,5	17,4
1	99,1	19,8
5	98,2	23,2
10	98,3	40,8
50	99,1	39,3
Семена Col, облученные УФ-В		
Контроль		
без обработки ГДА	97,4	4,4
с обработкой ГДА	99,1	17,0
0,017 кДж/м ²		
без обработки ГДА	98,9	17,6
с обработкой ГДА	98,4	40,0
1,7 кДж/м ²		
без обработки ГДА	98,1	16,3
с обработкой ГДА	99,2	42,9
4,1 кДж/м ²		
без обработки ГДА	93,2	17,2
с обработкой ГДА	86,7	30,3
Семена, собранные с природных популяций <i>A. thaliana</i>		
Экотип Col		
без обработки ГДА	99,2	5,0
с обработкой ГДА	99,3	14,6
Популяция 1		
без обработки ГДА	82,8	6,7
с обработкой ГДА	76,4	19,7
Популяция 2		
без обработки ГДА	61,1	12,4
с обработкой ГДА	51,3	20,5
Популяция 3		
без обработки ГДА	89,9	7,7
с обработкой ГДА	82,7	18,0
Популяция 4		
без обработки ГДА	63,7	7,4
с обработкой ГДА	52,9	20,0
Популяция 5		
без обработки ГДА	72,0	7,4
с обработкой ГДА	64,3	20,0

4,1 кДж/м². После облучения семена инкубировали с раствором ГДА (5 мкмоль/л). Контролем служили необлученные семена.

Для третьего эксперимента семена *A. thaliana* отбирали из пяти природных популяций на территории г. Киева и Киевской обл. Контролем служили семена Col. Для обработки семян использовали ГДА в концентрации 2 мкмоль/л.

Статистический анализ данных осуществляли с применением пакета STATISTICA 6.0 (StatSoft–Russia, 1999). В каждом варианте анализировали от 100 до 200 проростков. Для описания распределения проростков по стадиям роста в каждом варианте приведены центральная тенденция (Me) и рассеяние проростков по стадиям роста в виде нижней и верхней квартилей [25 и 75 %] и минимума–максимума. Описание морфологического разнообразия проростков дано в виде абсолютных и относительных частот проростков с определенными морфологическими отклонениями.

Результаты исследований. Влияние разных концентраций ГДА на рост и фенотипическую вариабельность проростков *A. thaliana* Col. Эффективность действия ингибитора оценивали по двум критериям: отсутствие существенного тормозящего эффекта на рост проростков и максимальное проявление фенотипической вариабельности (пространственное расположение, форма и относительные размеры органов) проростков без аномалий в развитии.

Установлено, что во всех проанализированных концентрациях ГДА не влиял на жизнеспособность семян Col (табл. 1). В контрольном варианте рост проходил достаточно синхронно: все 12-суточные проростки находились на стадиях роста 1.03–1.05 (рис. 1). Под влиянием ГДА наблюдали как задержку роста части проростков (стадии 1.00–1.02), так и ускорение (1.06). Вариабельность темпов роста проростков повышалась с увеличением концентрации антибиотика и достигала максимума при 1 и 5 мкмоль/л. Применение ГДА в концентрациях 10 и 50 мкмоль/л приводило к заметному торможению роста проростков.

Проростки Col в контрольном варианте слегка различались между собой размерами

и взаиморасположением отдельных органов в рамках нормального фенотипа вида (рис. 2, а). Вместе с тем у небольшого процента проростков наблюдали S-образные или эпинастичные семядоли (рис. 2, б, в). Обработка ингибитором приводила к дозозависимому увеличению числа проростков с морфологическими отклонениями (табл. 2). Эти отклонения затрагивали форму, размеры, взаимное расположение и цвет семядольных и розеточных листьев; форму, длину, ориентацию и цвет гипокотиля; размеры проростка (рис. 2). Следует отметить, что высокие концентрации ГДА (10 и 50 мкмоль/л) вызывали не только задержку роста проростков, но и резкое увеличение числа морфологических отклонений, в том числе появление таких значительных нарушений, как бесхлорофильные проростки, проростки с антоциановой окраской, утолщенные листовые черешки, неразвитые листья.

Как показали исследования, наиболее эффективными для обработки семян *A. thaliana*

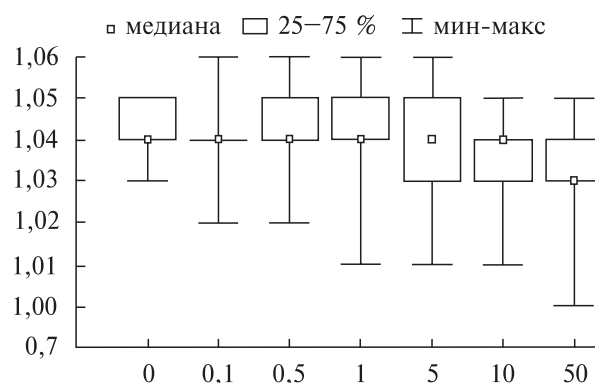


Рис. 1. Диаграмма размаха стадий роста (по вертикали) 12-суточных проростков *A. thaliana* (Col) после обработки ГДА в разных концентрациях (по горизонтали, мкмоль/л)

можно считать концентрации ГДА в интервале 1–5 мкмоль/л, приводящие к максимальному разнообразию фенотипов и вместе с тем не вызывающие торможения роста и значительных нарушений морфогенеза. Нужно отме-

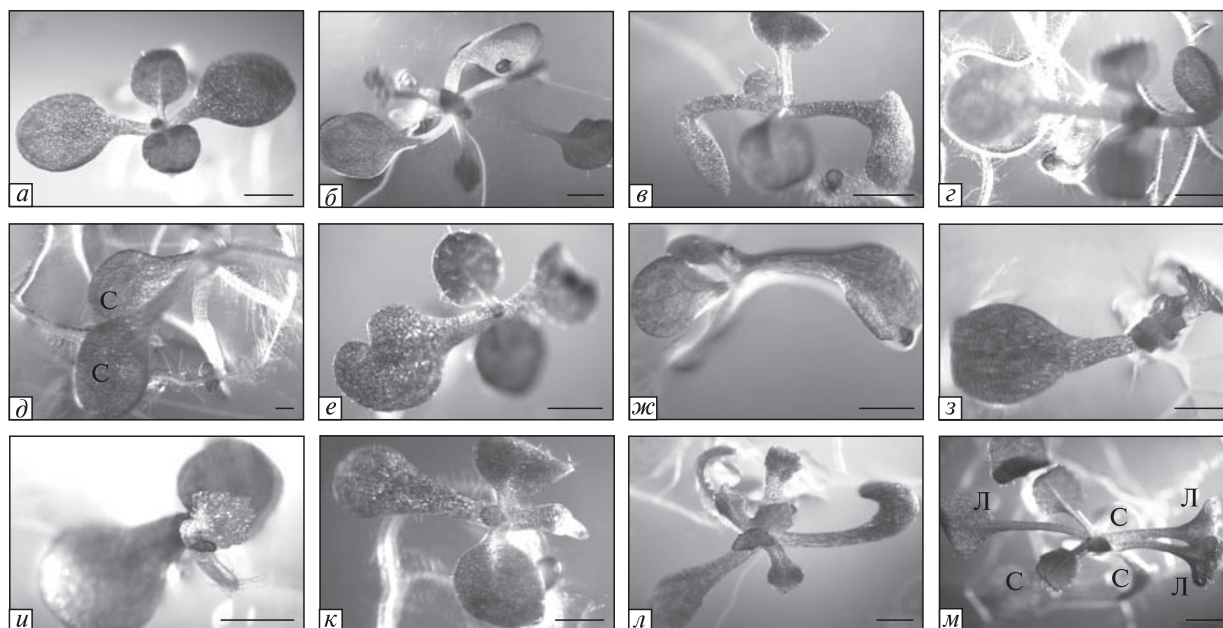


Рис. 2. Фенотипы проростков *A. thaliana* с морфологическими отклонениями: а – нормальный проросток экотипа Col; б – S-образные семядоли; в – эпинастичные семядоли; г – одна S-образная вертикально ориентированная семядоля; д – угол между семядолями (С) меньше 90 °; е – семядольная пластинка с дефектом края; ж – черешок одной семядоли короткий; з – проросток с неразвитыми листьями; и – проросток состоит из двух семядолей, вместо гипокотиля и корня калусный нарост; к – одна из семядолей редуцирована; л – семядоли и листья аномальной формы; м – проросток с тремя семядолями (С) и тремя первичными листьями (Л). Масштабная линейка – 2 мм

Частота формирования фенотипов с морфологическими отклонениями у 12-суточных проростков *A. thaliana* (Col) после обработки ГДА в разных концентрациях

Морфологические отклонения в развитии проростков	Концентрация ГДА, мкмоль/л						
	Конт- роль	0,1	0,5	1	5	10	50
Одна семядоля S-образная	$\frac{0,9}{1/114}$	$\frac{1,7}{2/116}$	—	—	—	$\frac{0,8}{1/118}$	—
семядольная пластинка ориентирована вертикально	—	—	$\frac{0,9}{1/115}$	—	—	—	—
Семядоли S-образные	$\frac{1,8}{2/114}$	$\frac{1,7}{2/116}$	$\frac{3,5}{4/115}$	$\frac{1,7}{2/116}$	$\frac{1,8}{2/112}$	$\frac{6,8}{8/118}$	$\frac{3,6}{4/112}$
одна семядольная пластинка ориентирована вертикально	—	$\frac{0,9}{1/116}$	—	—	—	—	—
семядольные пластинки ориентированы вертикально	—	—	$\frac{0,9}{1/115}$	$\frac{0,9}{1/116}$	—	—	—
черешки первичных листьев с плоскими крыльями	—	—	—	$\frac{0,9}{1/116}$	—	—	—
первичные листья S-образные	—	—	$\frac{0,9}{1/115}$	—	—	—	—
первичные листья эпинастичные	—	—	—	—	—	—	$\frac{0,9}{1/112}$
Угол между семядолями меньше 90 °	—	$\frac{0,9}{1/116}$	$\frac{0,9}{1/115}$	$\frac{1,7}{2/116}$	—	—	—
Семядоли прижаты к гипокотилу	$\frac{0,9}{1/114}$	—	—	$\frac{2,6}{3/116}$	$\frac{1,8}{2/112}$	—	$\frac{0,9}{1/112}$
Одна семядоля эпинастичная	$\frac{0,9}{1/114}$	$\frac{1,7}{2/116}$	$\frac{3,5}{4/115}$	$\frac{1,7}{2/116}$	$\frac{4,5}{5/112}$	$\frac{3,4}{4/118}$	$\frac{5,4}{6/112}$
другая семядоля S-образная	—	—	—	—	—	$\frac{1,7}{2/118}$	—
другая семядоля и первичные листья S-образные	—	—	$\frac{0,9}{1/115}$	—	—	—	—
Семядоли эпинастичные	$\frac{0,9}{1/114}$	$\frac{1,7}{2/116}$	$\frac{0,9}{1/115}$	$\frac{3,4}{4/116}$	$\frac{2,7}{3/112}$	$\frac{4,2}{5/118}$	$\frac{8,0}{9/112}$
эпинастия разной степени выраженности	$\frac{0,9}{1/114}$	—	$\frac{1,7}{2/115}$	$\frac{1,7}{2/116}$	$\frac{1,8}{2/112}$	$\frac{0,8}{1/118}$	$\frac{1,8}{2/112}$
одна семядольная пластинка ориентирована вертикально	—	$\frac{0,9}{1/116}$	—	—	—	—	—
семядольные пластинки выпуклые	—	—	—	—	—	—	$\frac{2,7}{3/112}$
один первичный лист неразвитый	—	—	—	—	$\frac{0,9}{1/112}$	—	—
один первичный лист неразвитый, гипокотиль изогнутый	—	—	—	—	—	—	$\frac{0,9}{1/112}$
два первичных листа неразвитые	—	—	$\frac{0,9}{1/115}$	—	—	$\frac{0,8}{1/118}$	—
гипокотиль короткий	—	—	—	$\frac{0,9}{1/116}$	$\frac{0,9}{1/112}$	—	—
гипокотиль лежит на среде	—	—	—	—	$\frac{0,9}{1/112}$	—	$\frac{0,9}{1/112}$
два первичных листа неразвитые, гипокотиль короткий, проросток лежит	—	—	—	—	—	$\frac{1,7}{2/118}$	—
первичные листья эпинастичные	—	—	—	—	$\frac{0,9}{1/112}$	—	$\frac{2,7}{3/112}$

Морфологические отклонения в развитии проростков	Концентрация ГДА, мкмоль/л						
	Конт- роль	0,1	0,5	1	5	10	50
первичные листья S-образные	—	—	—	—	—	—	$\frac{0,9}{1/112}$
первичные листья S-образные, гипокотиль короткий	—	—	—	—	—	—	$\frac{0,9}{1/112}$
пластинка одного первичного листа ориентирована вертикально	—	—	—	—	$\frac{0,9}{1/112}$	—	—
один первичный лист перевернут абаксиальной поверхностью вверх	—	—	$\frac{0,9}{1/115}$	—	—	—	—
черешки первичных листьев короткие утолщенные	—	—	—	—	—	—	$\frac{2,7}{3/112}$
семядоли желтые, черешки первичных листьев короткие утолщенные	—	—	—	—	—	$\frac{0,8}{1/118}$	$\frac{0,9}{1/112}$
семядоли светлые бесхлорофильные	—	—	—	—	—	$\frac{0,8}{1/118}$	—
семядоли светлые бесхлорофильные, первичные листья эпинастичные	—	—	—	—	—	$\frac{0,8}{1/118}$	—
семядоли светлые бесхлорофильные, первичные листья эпинастичные, проросток лежит	—	—	—	—	—	$\frac{0,8}{1/118}$	—
верхняя часть гипокотили с антоциановой окраской	—	—	—	—	—	$\frac{0,8}{1/118}$	—
верхняя часть гипокотили с антоциановой окраской, семядоли светлые бесхлорофильные	—	—	—	—	—	$\frac{0,8}{1/118}$	—
черешки первичных листьев с антоциановой окраской	—	—	—	$\frac{0,9}{1/116}$	—	$\frac{1,7}{2/118}$	—
черешки первичных листьев с антоциановой окраской, утолщенные	—	—	—	—	—	$\frac{0,8}{1/118}$	$\frac{0,9}{1/112}$
семядоли светлые бесхлорофильные, черешки первичных листьев с антоциановой окраской	—	—	—	—	—	$\frac{0,8}{1/118}$	—
карликовый проросток	—	—	—	—	—	—	$\frac{0,9}{1/112}$
Семядоли разной величины	—	—	—	$\frac{0,9}{1/116}$	$\frac{0,9}{1/112}$	$\frac{1,7}{2/118}$	—
одна семядоля эпинастичная	—	—	—	—	$\frac{0,9}{1/112}$	—	—
первичные листья эпинастичные	—	—	—	—	—	$\frac{0,8}{1/118}$	—
Черешок одной из семядолей укороченный	—	—	—	—	$\frac{0,9}{1/112}$	—	—
Черешок одного первичного листа укороченный	—	—	—	—	$\frac{0,9}{1/112}$	—	—
Одна семядоля бесхлорофильная	—	—	—	—	—	$\frac{0,8}{1/118}$	—
Верхняя часть гипокотили и черешки листьев с антоциановой окраской	—	—	—	—	—	$\frac{2,5}{3/118}$	—
Надземная часть проростка с антоциановой окраской	—	—	—	—	—	$\frac{2,5}{3/118}$	—
проросток лежит	—	—	—	—	—	$\frac{0,8}{1/118}$	—

Морфологические отклонения в развитии проростков	Концентрация ГДА, мкмоль/л						
	Конт- роль	0,1	0,5	1	5	10	50
Одна семядольная пластинка с дефектом края	—	0,9 1/116	—	0,9 1/116	—	—	—
Семядоли неразвитые желтые, гипокотиль лежит	—	—	—	—	—	—	1,8 2/112
Одна семядоля и первичные листья нераз- витые	—	—	—	—	—	—	0,9 1/112
Деформированный проросток	—	—	—	—	—	0,8 1/118	—
Гигантский проросток	—	—	1,7 2/115	1,7 2/116	2,7 3/112	0,8 1/118	1,8 2/112
Всего проростков с отклонениями	6,1 7/114	10,3 12/116	17,4 20/115	19,8 23/116	23,2 26/112	40,8 47/118	39,3 44/112

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3 в числителе указана доля фенотипов с морфологическими отклонениями, %; в знаменателе — количество проростков с отклонениями/общее количество проростков.

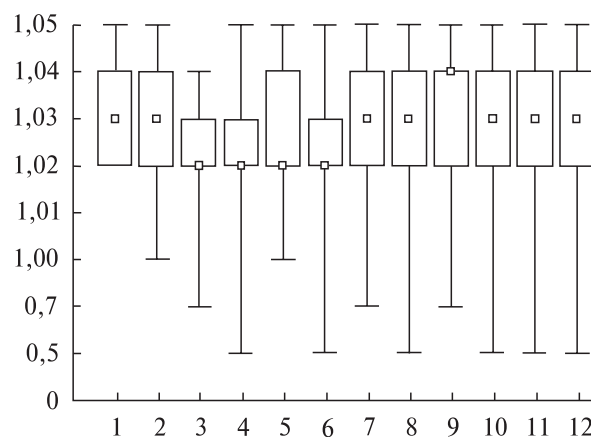
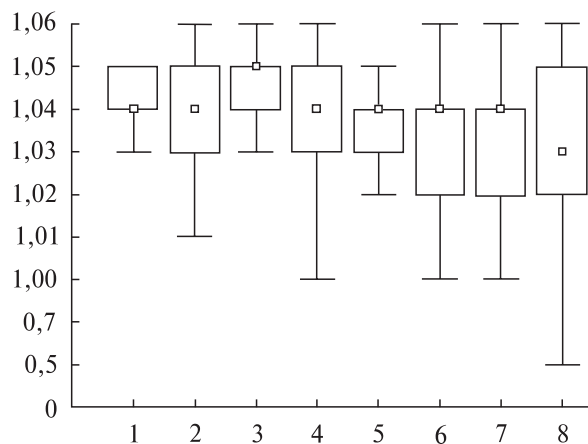


Рис. 3. Диаграмма размаха стадий роста 12-суточных проростков *A. thaliana*, выращенных из семян Col, облученных УФ-В и обработанных ГДА: 1 — контроль; 2 — обработка ГДА; 3 — 0,017 кДж/м²; 4 — 0,017 кДж/м² + обработка ГДА; 5 — 1,7 кДж/м²; 6 — 1,7 кДж/м² + обработка ГДА; 7 — 4,1 кДж/м²; 8 — 4,1 кДж/м² + обработка ГДА. □ медиана, □ 25–75 %, ⊥ мин-макс

Рис. 4. Диаграмма размаха стадий роста 12-суточных проростков *A. thaliana*, выращенных из семян, собранных с природных популяций и обработанных ГДА (2, 4, 6, 8, 10, 12): 1, 2 — контроль (Col); 3, 4 — популяция 1; 5, 6 — популяция 2; 7, 8 — популяция 3; 9, 10 — популяция 4; 11, 12 — популяция 5. □ медиана, □ 25–75 %, ⊥ мин-макс

тить, что концентрации того же диапазона были эффективными при внесении ингибитора в среду для выращивания [5].

Влияние ГДА на рост и фенотипическую вариабельность проростков A. thaliana, которые выращены из семян, облученных УФ-В. Облучение УФ-В семян Col приводило к рас-

ширению диапазона темпов развития проростков (рис. 3), причем с повышением дозы гетерогенность проростков усиливалась, что отражает различия в индивидуальной радиочувствительности, а также возможные гено- и цитотоксические эффекты УФ-В [13, 16, 17]. Кроме того, максимальная доза ультра-

Таблица 3

Влияние ГДА на частоту формирования фенотипов с морфологическими отклонениями у 12-суточных проростков *A. thaliana*, которые выращены из семян (Col), облученных УФ-В

Морфологические отклонения в развитии проростков	Контроль		0,017 кДж/м ²		1,7 кДж/м ²		4,1 кДж/м ²	
	без ГДА	ГДА	без ГДА	ГДА	без ГДА	ГДА	без ГДА	ГДА
Одна семядоля S-образная	$\frac{0,9}{1/114}$	—	—	$\frac{0,5}{1/190}$	—	—	—	$\frac{0,5}{1/188}$
Семядоли S-образные	—	$\frac{0,7}{1/143}$	—	$\frac{0,5}{1/190}$	—	—	—	—
семядольные пластинки ориентирова- ны вертикально, угол между семядо- лями меньше 90°	—	$\frac{0,7}{1/143}$	—	—	—	—	—	$\frac{0,5}{1/188}$
семядольные пластинки ориентирова- ны вертикально, первичные листья S- образные	—	—	—	—	—	—	—	$\frac{0,5}{1/188}$
Угол между черешками семядолей меньше 90°	—	—	—	—	—	—	—	$\frac{0,5}{1/188}$
семядоли вогнутые, у одной пластинка с дефектом края, вторая пара листьев розетки деформированная	—	—	—	—	—	—	—	$\frac{0,5}{1/188}$
семядоли вогнутые, эпинастичные, первичные листья гигантские	—	—	—	—	—	—	—	$\frac{0,5}{1/188}$
одна семядольная пластинка ориенти- рована вертикально	—	—	—	$\frac{0,5}{1/190}$	—	—	—	—
семядольные пластинки ориентирова- ны вертикально	—	—	—	$\frac{1,1}{2/190}$	—	—	—	$\frac{0,5}{1/188}$
одна семядоля перевернута абаксиаль- ной поверхностью вверх	—	—	—	—	—	—	—	$\frac{0,5}{1/188}$
Одна семядоля прижата к гипокотилу	—	—	$\frac{1,1}{2/186}$	$\frac{2,1}{4/190}$	$\frac{1,0}{1/104}$	—	$\frac{0,5}{1/192}$	—
семядольная пластинка вогнутая	—	—	—	$\frac{0,5}{1/190}$	—	—	—	—
пластинка второй семядоли эпина- стичная	—	—	—	—	—	—	—	$\frac{0,5}{1/188}$
Семядоли прижаты к гипокотилу	$\frac{0,9}{1/114}$	$\frac{1,8}{2/112}$	—	—	—	—	—	—
семядольные пластинки вогнутые	—	—	$\frac{1,6}{3/186}$	$\frac{3,7}{7/190}$	—	—	$\frac{0,5}{1/192}$	—
семядольные пластинки вогнутые, че- решки листьев с антоциановой окраской	—	—	—	—	—	—	—	$\frac{0,5}{1/188}$
семядольные пластинки ориентирова- ны вертикально	—	—	—	$\frac{1,1}{2/190}$	—	—	—	—
один первичный лист эпинастичный	—	—	—	$\frac{0,5}{1/190}$	—	—	—	—
проросток лежит	—	—	—	$\frac{0,5}{1/190}$	—	—	—	—
Одна семядоля эпинастичная	$\frac{0,9}{1/114}$	$\frac{4,5}{5/112}$	$\frac{3,2}{6/186}$	$\frac{4,2}{8/190}$	—	$\frac{5,0}{6/119}$	$\frac{1,6}{3/192}$	$\frac{4,8}{9/188}$
вторая семядоля перевернута абакси- альной поверхностью вверх	—	—	—	$\frac{0,5}{1/190}$	—	—	—	—

Морфологические отклонения в развитии проростков	Контроль		0,017 кДж/м ²		1,7 кДж/м ²		4,1 кДж/м ²	
	без ГДА	ГДА	без ГДА	ГДА	без ГДА	ГДА	без ГДА	ГДА
Семядоли эпинастичные	$\frac{0,9}{2/114}$	$\frac{2,7}{5/112}$	$\frac{3,2}{6/186}$	$\frac{4,2}{8/190}$	$\frac{2,9}{3/104}$	$\frac{4,2}{5/119}$	$\frac{3,6}{7/192}$	$\frac{3,2}{6/188}$
пластинка одного первичного листа ориентирована вертикально	—	$\frac{0,9}{1/112}$	—	—	—	—	—	$\frac{0,5}{1/188}$
первичные листья гигантские	—	—	—	—	—	—	—	$\frac{1,1}{2/188}$
Одна семядольная пластинка ориентиро- вана вертикально	—	—	$\frac{1,1}{2/186}$	$\frac{2,6}{5/190}$	$\frac{1,9}{2/104}$	$\frac{5,0}{6/119}$	$\frac{1,0}{2/192}$	$\frac{1,6}{3/188}$
Семядольные пластинки ориентированы вертикально	—	—	—	$\frac{1,6}{3/190}$	$\frac{1,0}{1/104}$	$\frac{5,8}{7/119}$	—	$\frac{1,6}{3/188}$
Одна семядоля перевернута абаксиальной поверхностью вверх	—	—	$\frac{1,6}{3/186}$	$\frac{1,1}{2/190}$	$\frac{6,7}{7/104}$	$\frac{10,8}{13/119}$	$\frac{1,0}{2/192}$	$\frac{1,6}{3/188}$
Семядоли перевернуты абаксиальной по- верхностью вверх	—	—	$\frac{1,1}{2/186}$	$\frac{4,7}{9/190}$	$\frac{1,0}{1/104}$	$\frac{4,2}{5/119}$	—	$\frac{0,5}{1/188}$
гипокотиль короткий	—	—	—	—	—	—	—	$\frac{0,5}{1/188}$
семядоли разной величины, черешок листа разросшийся	—	—	—	$\frac{0,5}{1/190}$	—	—	—	—
первичные листья гигантские	—	—	—	—	—	—	—	$\frac{0,5}{1/188}$
Одна семядольная пластинка с дефек- том края	—	—	$\frac{1,6}{3/186}$	$\frac{0,5}{1/190}$	—	—	—	—
первичные листья отсутствуют	—	—	—	$\frac{0,5}{1/190}$	—	—	—	—
проросток лежит гипокотилем вверх	—	—	—	$\frac{0,5}{1/190}$	—	—	—	—
Семядоли разной величины	—	$\frac{1,8}{2/112}$	$\frac{2,1}{4/186}$	$\frac{4,7}{9/190}$	—	$\frac{2,5}{3/119}$	$\frac{2,1}{4/192}$	$\frac{2,7}{5/188}$
один первичный лист с дефектом края	—	—	—	$\frac{0,5}{1/190}$	—	—	—	—
первичные листья гигантские	—	—	—	—	—	—	—	$\frac{0,5}{1/188}$
Черешок одной семядоли укороченный	—	$\frac{0,9}{1/112}$	—	—	—	$\frac{0,8}{1/119}$	—	—
Верхняя часть гипокотиля и семядоли с антоциановым окрашиванием	—	—	—	$\frac{0,5}{1/190}$	—	—	—	—
проросток деформированный	—	—	—	—	—	—	—	$\frac{0,5}{1/188}$
Семядоли гигантские	—	—	—	$\frac{0,5}{1/190}$	—	—	—	—
Черешок первичного листа разросшийся	—	—	—	$\frac{0,5}{1/190}$	—	—	—	—
Карликовый проросток	—	—	$\frac{0,5}{1/186}$	$\frac{1,1}{2/190}$	$\frac{1,0}{1/104}$	$\frac{4,2}{5/119}$	$\frac{2,6}{5/192}$	$\frac{3,2}{6/188}$
Гигантский проросток	—	$\frac{0,9}{1/112}$	—	—	—	—	$\frac{0,5}{1/192}$	$\frac{2,2}{4/188}$
Три семядоли и три первичных листа	—	—	$\frac{0,5}{1/186}$	—	$\frac{1,0}{1/104}$	—	$\frac{0,5}{1/192}$	—

Морфологические отклонения в развитии проростков	Контроль		0,017 кДж/м ²		1,7 кДж/м ²		4,1 кДж/м ²	
	без ГДА	ГДА	без ГДА	ГДА	без ГДА	ГДА	без ГДА	ГДА
Проросток деформированный, семядоли с некротическими пятнами	—	—	—	—	—	—	1,0 2/192	—
Проросток состоит из двух семядолей	—	—	—	—	—	—	1,6 3/192	0,5 1/188
гипокотиль и корень отсутствуют	—	—	—	—	—	—	0,5 1/192	—
вместо гипокотилия и корня каллусный нарост	—	—	—	—	—	—	—	—
Всего проростков с отклонениями	4,4 5/114	17,0 19/112	17,6 33/186	40,0 76/190	16,3 17/104	42,9 51/119	17,2 33/192	30,3 57/188

фиолета приводила к снижению жизнеспособности семян (табл. 1). Анализ фенотипов показал, что УФ-В вызывал морфологические отклонения у 14–16 % проростков. Из наиболее частых отклонений следует отметить изменение ориентации семядольных пластинок (на вертикальную либо с поворотом семядолей абаксиальной стороной вверх), нарушение в корреляции размеров семядолей, карликовость проростков (табл. 3, рис. 2). Кроме того, появлялись семядольные и первичные листья с локальным нарушением развития маргинальной меристемы, приводящим к изменению края листовой пластинки, встречались особи с тремя семядолями и тремя первичными листьями. Облучение в максимальной дозе вызывало у части проростков серьезные повреждения, такие как обширная некротизация тканей, сильная деформация проростка, отсутствие отдельных органов. Последнее свидетельствует о генотоксичности облучения и повреждении меристемы.

Обработка облученных семян антибиотиком увеличивала гетерогенность проростков по темпам развития (рис. 3). Установлено изменение характера распределения частот — смещение медианы (центральной тенденции) и разброса данных со сдвигом в сторону задержки роста в сравнении с контролем. Доля проростков с морфологическими отклонениями после обработки ГДА увеличивалась в 2 раза и более (табл. 3). Появлялись пророст-

ки с нарушенной пространственной ориентацией, гигантскими семядолями и первичными листьями, разросшимися черешками, антоциановой окраской и т.д. Следует отметить, что в варианте с максимальной дозой УФ-В и обработкой ГДА процент проростков с отклонениями был ниже по сравнению с меньшими дозами УФ-В, исчезали проростки с тотальными повреждениями и увеличивалось число непроросших семян (табл. 1 и 3).

Появление проростков с тремя семядолями и тремя первичными листьями после облучения семян УФ-В может быть связано с расщеплением одной из семядолей и листового примордия, по-видимому, оказавшихся со стороны экспозиции ультрафиолета. Интересно, что такие проростки встречались только после облучения без обработки ингибитором, однако это событие было достаточно редким и требует дальнейших наблюдений.

Влияние ГДА на рост и фенотипическую вариабельность проростков A. thaliana, выращенных из семян природных популяций. Семена природных популяций были в значительной степени разнокачественными: от 10 до 40 % семян оказались нежизнеспособными (табл. 1), остальные давали проростки, весьма вариабельные по темпам роста и фенотипу. Распределение проростков по стадиям роста характеризовалось большим размахом в сторону

Влияние ГДА на частоту формирования фенотипов с морфологическими отклонениями из семян

Морфологические отклонения в развитии проростков	Дикий тип Col		1	
	без ГДА	ГДА	без ГДА	ГДА
	Одна семядоля S-образная	—	—	—
вторая семядоля эпинастичная	—	—	—	—
гипокотиль короткий	—	—	—	—
Семядоли S-образные	0,8 (1/120)	0,7 (1/143)	—	—
угол между семядолями меньше 90°	—	—	—	—
одна семядольная пластинка ориентирована вертикально	—	0,7 (1/143)	—	—
семядольные пластинки ориентированы вертикально	—	0,7 (1/143)	—	—
Угол между семядолями меньше 90°	—	1,4 (2/143)	—	—
семядоли эпинастичные	—	—	—	0,7 (1/147)
Семядоли прижаты к гипокотилу	0,8 (1/120)	2,1 (3/143)	—	0,7 (1/147)
Одна семядоля эпинастичная	0,8 (1/120)	2,1 (3/143)	—	—
Семядоли эпинастичные	1,7 (2/120)	2,8 (4/143)	0,8 (1/120)	1,4 (2/147)
эпинастия разной степени выраженности	—	0,7 (1/143)	—	—
одна семядоля желтая	—	—	—	—
Семядоли разной величины	—	0,7 (1/143)	—	—
семядоли деформированные	—	—	—	—
Одна семядольная пластинка ориентирована вертикально	0,8 (1/120)	0,7 (2/143)	0,8 (1/120)	1,4 (2/147)
Семядольные пластинки ориентированы вертикально	—	0,7 (1/143)	0,8 (1/120)	1,4 (2/147)
Одна семядоля перевернута абаксиальной поверхностью вверх	—	—	—	2,7 (4/147)
гипокотиль короткий	—	—	—	—
Семядоли перевернуты абаксиальной поверх- ностью вверх	—	—	—	—
Одна семядоля желтая	—	—	—	2,7 (4/147)
Семядоли желтые	—	0,7 (1/143)	1,6 (2/120)	1,4 (2/147)
Одна семядоля неразвитая	—	—	—	—
Семядоли неразвитые	—	—	—	—
один первичный лист неразвитый	—	—	—	—
карликовый проросток	—	—	—	0,7 (1/147)
Одна семядольная пластинка с дефектом края	—	—	—	1,4 (2/147)
вторая семядоля деформированная	—	—	—	—
вторая семядоля неразвитая	—	—	—	—
карликовый проросток	—	—	—	0,7 (1/147)
Семядольные пластинки с дефектом края	—	—	1,7 (2/120)	2,0 (3/147)
один первичный лист с дефектом края	—	—	—	0,7 (1/147)
карликовый проросток	—	—	—	—
Гипокотиль короткий	—	—	—	0,7 (1/147)
Гигантский проросток	—	—	—	—

природных популяций у 12-суточных проростков *A. thaliana*, выращенных после обработки ГДА

Популяции							
2		3		4		5	
без ГДА	ГДА	без ГДА	ГДА	без ГДА	ГДА	без ГДА	ГДА
—	—	—	—	0,8 (1/121)	—	—	—
—	—	—	—	—	0,7 (1/140)	—	—
—	—	—	—	—	0,7 (1/140)	—	0,7 (1/141)
0,9 (1/113)	0,8 (1/122)	—	—	0,8 (1/121)	0,7 (1/140)	—	0,7 (1/141)
—	—	—	—	—	0,7 (1/140)	—	—
—	0,8 (1/122)	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	0,7 (1/147)
0,9 (1/113)	0,8 (1/122)	0,8 (1/130)	—	—	—	—	—
—	—	—	0,8 (1/133)	—	—	—	—
—	—	0,8 (1/130)	1,5 (2/133)	—	—	—	0,7 (1/147)
—	—	1,5 (2/130)	1,5 (2/133)	—	1,4 (2/140)	—	1,4 (2/141)
0,9 (1/113)	—	1,5 (2/130)	0,8 (1/133)	0,8 (1/121)	1,4 (2/140)	0,9 (1/114)	1,4 (2/141)
—	—	—	0,8 (1/133)	—	—	—	—
—	—	—	0,8 (1/133)	—	—	—	—
—	—	—	0,8 (1/133)	—	0,7 (1/140)	—	—
—	—	—	0,8 (1/133)	—	—	—	—
—	—	—	0,8 (1/133)	0,8 (1/121)	1,4 (2/140)	2,6 (3/114)	2,8 (4/141)
0,9 (1/113)	1,6 (2/122)	—	—	—	—	—	0,7 (1/141)
—	—	—	—	0,8 (1/121)	—	—	—
—	—	—	—	—	0,7 (1/140)	—	—
—	—	—	0,8 (1/133)	—	—	—	—
—	—	—	1,5 (2/133)	—	—	—	—
—	—	—	0,8 (1/133)	—	—	—	—
—	—	—	1,5 (2/133)	—	0,7 (1/140)	—	0,7 (1/141)
0,9 (1/113)	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	0,7 (1/141)
—	—	—	—	—	1,4 (2/140)	—	—
1,8 (2/113)	2,5 (3/122)	0,8 (1/130)	0,8 (1/133)	0,8 (1/121)	1,4 (2/140)	0,9 (1/114)	1,4 (2/141)
—	0,8 (1/122)	—	—	—	—	—	—
—	2,5 (1/122)	—	—	—	—	—	—
0,9 (1/113)	0,8 (1/122)	—	—	—	—	—	0,7 (1/141)
1,8 (2/113)	4,1 (5/122)	—	—	0,8 (1/121)	0,7 (1/140)	0,9 (1/114)	0,7 (1/141)
—	—	—	—	—	—	—	—
0,9 (1/113)	1,6 (2/122)	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	0,7 (1/140)	—	0,7 (1/141)
0,9 (1/113)	1,6 (1/113)	—	0,8 (1/133)	—	—	0,9 (1/114)	1,4 (2/141)

Морфологические отклонения в развитии проростков	Дикий тип Col		1	
	без ГДА	ГДА	без ГДА	ГДА
	Карликовый проросток	—	—	0,8 (1/120)
Деформированный проросток	—	—	—	—
Проросток состоит из одной семядоли	—	—	—	—
Всего проростков с отклонениями	5,0 (6/120)	14,6 (21/143)	6,7 (8/120)	19,7 (29/147)

Примечание. Доля фенотипов с морфологическими отклонениями указана в процентах, в скобках —

более низких стадий (замедление роста) по сравнению с экотипом Col (рис. 4). Основной причиной такой разнокачественности семян, по-видимому, являются условия среды в период их формирования и созревания. Доля проростков с морфологическими отклонениями ненамного превышала показатели в контроле (табл. 4). При этом наблюдались нарушения, которые отсутствовали у экотипа Col в норме, но индуцировались УФ-В: ориентация семядольных пластинок абаксиальной поверхностью вверх, семядоли и первичные листья с локальным нарушением маргинальной меристемы пластинки, неразвитые семядоли и первичные листья, карликовые и гигантские проростки (рис. 2).

В результате применения ГДА усиливалась вариабельность темпов роста проростков и возрастала доля непроросших семян (табл. 1, рис. 4), как это наблюдалось у экотипа Col после облучения семян высокой дозой УФ-В. Процент измененных фенотипов в результате обработки антибиотиком возрастал в 2–3 раза, при этом часто морфологические отклонения становились множественными (табл. 4).

Результаты этого эксперимента в целом схожи с результатами предыдущего. Большая вариабельность темпов роста проростков и их фенотипов по сравнению с проростками Col, более сложный характер морфологических отклонений, иногда появление значительных нарушений в развитии, наличие нежизнеспособных семян — все это, по-видимому, является результатом определенных клеточ-

ных и генетических изменений. Обработка ГДА приводила к более значительному проявлению перечисленных тенденций.

Обсуждение полученных данных. Белки Hsp90 в большом количестве содержатся в зрелых семенах и частично гидролизуются в ходе прорастания семян и начала роста проростка [18]. Можно предполагать, что обработка ГДА семян перед прорастанием приводит к частичному ингибированию активности Hsp90 и, следовательно, к нарушению нормального функционирования его белков-«клиентов» на начальных этапах роста, что, очевидно, может сказаться на дальнейшем развитии проростка. По нашим данным, такой способ использования ингибитора оказался не менее эффективным, чем его внесение в среду для выращивания [5, 19].

Прогрессивное усиление вариабельности темпов роста и фенотипов проростков *A. thaliana* Col одной лабораторной линии, растущих в одинаковых условиях, при повышении концентраций ингибитора до значений, близких к его Кд, может быть подтверждением участия Hsp90 в поддержании нормального развития («канализации» развития) при действии дестабилизирующих стохастических процессов. Исходя из известных функций Hsp90, это может происходить путем стабилизации конформации и контроля активности белков-«клиентов», основную часть которых составляют метастабильные белки различных путей передачи сигнала в клетке [6, 7]. Изменения фенотипа *A. thaliana* вследствие нарушения функционирования таких белков, оче-

Популяции							
2		3		4		5	
без ГДА	ГДА	без ГДА	ГДА	без ГДА	ГДА	без ГДА	ГДА
0,9 (1/113)	2,5 (3/122)	1,5 (2/130)	3,8 (5/133)	1,7 (2/121)	6,4 (9/140)	1,8 (2/114)	5,0 (7/141)
–	–	0,8 (1/130)	–	–	–	–	–
0,9 (1/113)	–	–	–	–	–	–	–
12,4 (14/113)	20,5 (25/122)	7,7 (10/130)	18,0 (24/133)	7,4 (9/121)	20,0 (28/140)	7,9 (9/114)	20,6 (29/141)

количество проростков с отклонениями/общее количество проростков.

видно, должны быть схожими с внешними проявлениями мутаций в кодирующих их генах. По-видимому, широкий ряд белков-«клиентов» Hsp90 может определять широкий спектр морфологических отклонений, получаемых в результате ингибирования шаперона.

Более высокий уровень фенотипической вариабельности у проростков, выращенных из семян природных популяций или полученных в результате облучения УФ-В, в определенной мере может быть обусловлен генетическим полиморфизмом и отражать адаптивный потенциал природных популяций. Кроме того, если клетки таких семян содержат повышенный уровень белков с нарушенной структурой, то часть шаперонов Hsp90 могут переключаться на их связывание, рефолдинг или деградацию [20], ослабляя контроль белков-«клиентов» и тем самым тоже дестабилизируя развитие.

Более полное выявление гетерогенности проростков при обработке ингибитором такого семенного материала подтверждает предположение о том, что шапероны Hsp90 могут контролировать проявление части генетических и белковых нарушений, индуцированных неблагоприятными факторами среды, путем поддержания белков-«клиентов» с измененной структурой в функциональной конформации [4, 5].

Кроме того, как в случае генетически однородного, так и полиморфного материала нельзя полностью отвергать возможность проявления спонтанных мутаций в генах, чьи

белковые продукты зависят от функционирования шаперона, хотя возникновение таких мутаций является событием весьма редким.

Как уже отмечалось, увеличение числа измененных фенотипов в результате обработки ингибитором в варианте с максимальной дозой УФ-В было менее значительным по сравнению с меньшими дозами ультрафиолета. Причиной этого может быть отбор на этапе прорастания семян (за счет снижения всхожести), а также дозозависимая активация радиоадаптивных механизмов, в том числе систем репарации ДНК [13, 16, 17].

Следует отметить также и тот факт, что обработка ингибитором семян, облученных высокой дозой УФ-В, и семян природных популяций приводила к существенному увеличению как процента непроросших семян, так и доли проростков на низких стадиях роста, чего не наблюдалось в контроле. Это может свидетельствовать о необходимости шаперонов Hsp90 для поддержания жизнеспособности клеток в случае серьезных повреждений путем сокрытия части генетических изменений и контроля качества клеточных белков.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что от функционирования Hsp90 зависит нормальное развитие и формирование стабильного фенотипа как при действии стохастических процессов, так и в случае генетических изменений. Поскольку в процессе микроэволюции отбор идет по фенотипу особей, такая роль Hsp90 может быть весьма значимой для эволюции вида.

Автор виражає благодарність канд. биол. наук Е.А. Кравець і канд. биол. наук Н.И. Гуце (Інститут клітинної біології і генетическої інженерії НАН України) за допомогу в облученні насіння ультрафіолетом.

L. Ye. Kozeko

M.G. Kholodny Institute of Botany,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv
E-mail: kozeko@optima.com.ua

PHENOTYPIC VARIABILITY
OF *ARABIDOPSIS THALIANA* SEEDLINGS
AS A RESULT OF INHIBITION
OF Hsp90 CHAPERONES

The influence of geldanamycin (GDA) – an inhibitor of Hsp90 chaperones – on growth and morphogenesis of *Arabidopsis thaliana* seedlings was studied. It was shown that treatment of seeds Col with the inhibitor resulted in a dose-dependent increase in variability of seedling's rates of growth and phenotypes. GDA treatment of genetic polymorphic seeds of natural *A. thaliana* populations and UV-B irradiated seeds Col resulted in a significant rise in the amount of seedlings with morphological alterations and the amount of non-germinated seeds. The obtained data testify that Hsp90 may restrict stochastic processes, thereby participating in the plant development canalization, conceal genetic variations and maintain cell vitality.

Л.Є. Козеко

ФЕНОТИПІЧНА ВАРІАБЕЛЬНІСТЬ
ПРОРОСТКІВ *ARABIDOPSIS THALIANA*
ЯК РЕЗУЛЬТАТ ІНГІБУВАННЯ
ШАПЕРОНІВ Hsp90

Досліджено вплив інгібітора шаперонів Hsp90 гелданаміцину (ГДА) на ріст і морфогенез проростків *Arabidopsis thaliana*. Показано дозозалежне збільшення варіабельності темпів росту і фенотипів проростків у результаті обробки інгібітором насіння еко типу Col. Обробка ГДА генетично поліморфного насіння природних популяцій *A. thaliana* та насіння Col, опроміненого УФ-В, призводила до значного підвищення відсотка проростків з морфологічними відхиленнями та відсотка нежиттєздатного насіння. Отримані дані свідчать про участь Hsp90 у «каналізації» розвитку рослинного організму за дії стохастичних процесів, запобіганні прояву генетичних змін та підтримці життєздатності клітин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Кордюм Е.Л., Сьтнік К.М., Бараненко В.В., Белявская Н.А., Климчук Д.А., Недуха Е.М. Кле-

точные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях. – Киев : Наук. думка, 2003. – 277 с.

2. McAdams H.H., Arkin A. Stochastic mechanisms in gene expression // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1997. – **94**. – P. 814–819.
3. Lajus D.L., Alekseev V.R. Phenotypic variation and developmental instability of life-history traits: a theory and a case study on within-population variation of resting eggs formation in *Daphnia* // J. Limnol. – 2004. – **63** (Suppl.1). – P. 37–44.
4. Rutherford S.L., Lindquist S. Hsp90 as a capacitor for morphological evolution // Nature. – 1998. – **396**. – P. 336–342.
5. Queitsch C., Sangster T.A., Lindquist S. Hsp90 as a capacitor of phenotypic variation // Nature. – 2002. – **417**. – P. 618–624.
6. Picard D. Heat-shock protein 90, a chaperone for folding and regulation // Cell. Mol. Life Sci. – 2002. – **59**. – P. 1640–1648.
7. Козеко Л.Е. Белок теплового шока 90 кДа: разнообразие, структура и функции // Цитология. – 2010. – **52**, № 11. – С. 3–20.
8. Samakovli D., Thanou A., Valmas C., Hatzopoulos P. Hsp90 canalizes developmental perturbation // J. Exp. Bot. – 2007. – **58**, № 13. – P. 3515–3524.
9. Sangster T.A., Bahrami A., Wilczek A., Watanabe E., Schellenberg K., McLellan C., Kelley A., Kong S.W., Queitsch C., Lindquist S. Phenotypic diversity and altered environmental plasticity in *Arabidopsis thaliana* with reduced Hsp90 levels // PLoS ONE. – 2007. – **7**. – P. 1–15.
10. Whitesell L., Mimnaugh E.G., De Costa B., Myers C.E., Neckers L.M. Inhibition of heat shock protein Hsp90-pp60v-src heteroprotein complex formation by benzoquinone ansamycins: essential role for stress proteins in oncogenic transformation // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1994. – **91**. – P. 8324–8328.
11. Smith D.F., Whitesell L., Nair S.C., Chen S., Prapapanich V., Rimerman R.A. Progesterone receptor structure and function altered by geldanamycin, an Hsp90-binding agent // Mol. Cell. Biol. – 1995. – **15**, № 12. – P. 6804–6812.
12. Boyes D.C., Zayed A.M., Ascenzi R., McCaskill A.J., Hoffman N.E., Davis K.R., Görlach J. Growth stage-based phenotypic analysis of Arabidopsis: a model for high throughput functional genomics in plants // Plant Cell. – 2001. – **13**, № 7. – P. 1499–1510.
13. Гродзинський Д.М., Дмитрієв О.П., Гуца М.І., Коломісць О.Д., Кравець О.А., Рашидов Н.М. УФ-В

- радіація і рослини: механізми ушкодження та захисту. — Київ : Фітосоціоцентр, 2007. — 152 с.
14. *Abbott R.J., Gomes M.F.* Population genetic structure and outcrossing rate of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. // *Heredity*. — 1989. — **62**, № 3. — P. 411–418.
 15. *Roe S.M., Prodromou C., O'Brien R., Ladbury J.E., Piper P.W., Pearl L.H.* Structural basis for inhibition of the Hsp90 molecular chaperone by the antitumor antibiotics radicicol and geldanamycin // *J. Med. Chem.* — 1999. — **42**, № 2. — P. 260–266.
 16. *Данильченко О.О.* Радіоадаптивна відповідь, індукована ультрафіолетовим випроміненням, у рослин : Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — Київ, 2005. — 24 с.
 17. *Кравець Е.А.* Клеточные и тканевые механизмы восстановительных процессов у *Hordeum distichum* L. при воздействии облучения // *Цитология и генетика*. — 2009. — **43**, № 1. — С. 11–22.
 18. *Kozeko L.Ye., Kordyum E.L.* The stress protein level under clinorotation in context of the seedling developmental program and the stress response // *Microgravity Sci. Technol.* — 2006. — **18**, № 3/4. — P. 254–256.
 19. *Sangster T.A., Salathia N., Undurraga S., Milo R., Schellenberg K., Lindquist S.* Hsp90 affects the expression of genetic variation and development stability in quantitative traits // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. — 2008. — **105**, № 8. — P. 2963–2968.
 20. *Morimoto R.I.* Regulation of the heat shock transcriptional response: cross talk between a family of heat shock factors, molecular chaperones, and negative regulators // *Genes Dev.* — 1998. — **12**. — P. 3788–3796.

Поступила 23.02.12