

ХАБЛАК С.Г.

Агропромхолдинг «Кернел», СТОВ «Дружба-Нова»,
Украина, 17600, Черниговская обл., Варвинский район, пгт. Варва, ул. Комарова, 59,
e-mail: serhab211981@yandex.ua, (066) 442-66-08

СОВМЕСТНОЕ ВЛИЯНИЕ ГЕНОВ *ETR1* И *ETR2* НА ВЕТВЛЕНИЕ КОРНЕЙ *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) HEYNH.

Этилен (C_2H_4) является фитогормоном-ингибитором, который образуется в растениях и в крайне низких концентрациях регулирует важнейшие программы их жизни [1]. Особенностью этилена является то, что в отличие от других гормонов он не поступает из одних органов в другие, выполняя роль дистанционного сигнала. Вместо этилена по растению транспортируется его предшественник (АЦК), который и участвует в передаче сигнала. Сам же этилен, выделяясь из растения в окружающую атмосферу, может обеспечивать сигнализацию между растениями [2].

Этилен влияет на многие аспекты жизни растений. Он ингибирует деление клеток, тормозит полярный транспорт ауксина, вызывает старение листьев и цветков, ускоряет созревание и опадение плодов, участвует в ответе растений на различные стрессовые факторы, в том числе подавляет рост корней в корневой системе, но способствует образованию придаточных корней на стебле [3].

В геноме *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. обнаружено пять генов (*ETR1*, *ETR2*, *EIN4*, *ERS1* и *ERS2*), кодирующих сенсорные гистидинкиназы, которые являются рецепторами для этилена. Эти гены входят в состав небольшого генного семейства белков-рецепторов этиленового сигнала [4].

Рецепторные гистидинкиназы *ETR1*, *ETR2*, *EIN4*, *ERS1* и *ERS2* состоят из связывающегося этилен интегрального домена, содержащего три трансмембранных участка, а также расположенного в цитоплазме GAF-домена, ответственного за образование межмолекулярных комплексов, и гистидинкиназного домена. Белки-рецепторы *ETR1*, *ETR2*, *EIN4*, *ERS1* и *ERS2* также имеют значительный по размеру С-концевой воспринимающий домен, который является типичным функциональным модулем в рецепторных гистидинкиназах бактерий и служит для осуществления реакции

трансфосфорилирования. В рецепторах *ETR1*, *ETR2*, *EIN4*, *ERS1* и *ERS2* гистидинкиназный домен обладает ферментативной активностью [5].

Мутации по генам *ETR1*, *ETR2*, *EIN4*, *ERS1* и *ERS2* вызывают повреждения мембранных рецепторов, через которые проявляется реакция растений на этилен. Обработка этиленом этих мутантных растений не дает типичного ответа проростков на C_2H_4 : у них, в отличие от дикого типа, не происходит прекращение роста стебля, его утолщение и подавление роста корня. Этилен не вызывает у этих мутантов активацию этиленчувствительных генов [6].

Пути восприятия этилена в растении продублированы несколькими рецепторами, поэтому получить полностью нечувствительные к нему растения достаточно трудно. Для этого необходимо, чтобы растение оказалось мутантным по 4-5 генным локусам одновременно [7].

В последнее время у растений *A. thaliana* выявлено несколько доминантных мутаций. К ним относятся мутации *Etr1-1*, *Etr2-1* по генам *ETR1*, *ETR2*. Гены *ETR1*, *ETR2* кодируют рецепторные гистидинкиназы *ETR1*, *ETR2*, ответственные за восприятие и передачу в растительную клетку сигнала, генерируемого этиленом [3, 8].

Целью настоящей работы было изучение наследования признаков корневой системы арабидопсиса при взаимодействии генов *ETR1* и *ETR2*.

Материалы и методы

Материалом для исследований служили растения *A. thaliana* экотипа (расы) Columbia (Col-0) и мутантных линий *Ethylene-resistant1-1* (*Etr1-1*), *Ethylene-resistant2-1* (*Etr2-1*). Семена мутантных линий были получены из Ноттингемского центра образцов арабидопсиса (Nottingham Arabidopsis Stock Centre (NASC), UK).

Растения выращивали в лаборатории в

асептической пробирочной культуре на агаризованной питательной среде Кнопа, обогащенной микроэлементами [9]. Семена к посеву готовили путем яровизации в течение 5 суток при температуре +4 – +6°C и последующего односуточного проращивания при комнатной температуре. Пробирки для предохранения от нагревания и попадания света на корни растений обвертывали двумя слоями бумаги. Растения культивировали при температуре +18 – +20°C, освещенность круглосуточная в пределах 4000–7000 лк.

Учет количества корней и их длины в корневых системах у растений экотипа Col-0 и исследуемых мутантных линий проводили в фазе бутонизации. Длину корней измеряли с помощью электронного штангенциркуля типа ШЦЦ-1. Разграничение придаточных корней от боковых корней главного корня проводили по характеру эпидермиса (с устьицами на гипокотиле и без устьиц на главном корне).

Кастрацию и принудительную гибридизацию проводили под микроскопом типа МБС-9. Генетический анализ наследования признаков корневой системы у растений проводили в F₁, F₂. В скрещивании *Etr1-1* × *Etr2-1* объем выборки во втором поколении составлял 186 растений. Математическую обработку результатов исследований проводили по Г.Ф. Лакину [10], а также по В. Боровикову [11] с использованием компьютерной программы «Statistica».

Результаты и обсуждение

При скрещивании двух растений мутантных линий *Etr1-1* и *Etr2-1* получились гибриды F₁ с большей длиной боковых корней разных порядков ветвления, чем у родительских форм. Во втором поколении такого скрещивания расщепление проходило в отношении 9/16 (максимальная длина боковых корней) : 6/16 (средняя величина боковых корней) : 1/16 (короткая длина боковых корней) (табл. 1, 2). Эти результаты можно объяснить полимерным действием генов

ETR1 и *ETR2* на развитие признака «длина боковых корней».

Как известно, у растений (по А. Густафсону) выделяют три формы гетерозиса: репродуктивный гетерозис, в результате которого повышается урожайность гибридов; соматический гетерозис, увеличивающий линейные размеры гибридного растения и его массу; приспособительный гетерозис (называемый также адаптивным), повышающий приспособленность гибридов к действию неблагоприятных факторов окружающей среды [12].

У гибридов F₁ наблюдался соматический гетерозис, который проявлялся в более мощном развитии боковых корней по сравнению с исходными формами. Во втором поколении идет процесс расщепления гибридов, и их превосходство по длине боковых корней над родительскими формами снижается. Это связано с уменьшением гетерозиготности растений в поколении F₂.

В данном случае у гибридов второго поколения длина боковых корней зависела от присутствия сразу двух разных доминантных мутантных аллелей *Etr1-1* и *Etr2-1* либо одной – независимо *Etr1-1* или *Etr2-1*. Таким образом, доминантные мутантные гены *Etr1-1* и *Etr2-1* оказывали аддитивное действие на признак, то есть кумулятивный эффект. В таком случае расщепление в F₂ происходит в отношении 9:6:1.

Общеизвестно, что полимерное взаимодействие генов характерно для всех количественных признаков. Оно бывает с полным и неполным доминированием. Обычно мы наблюдаем расщепление при неполном доминировании. При неполном доминировании происходит непрерывное варьирование признаков в отношении 1: 4: 6: 4: 1 [13, 14]. При полном доминировании расщепление идет в отношении 9: 6: 1. Это мы наблюдаем у нас при выяснении характера взаимодействия генов *ETR1* и *ETR2* на признаки корневой системы.

Таблица 1. Расщепление в поколении F₂ по генам *ETR1* и *ETR2*

Расщепление	<i>ETR1 Etr1-1 ETR2 Etr2-1, ETR1 Etr1-1 Etr2-1 Etr2-1, Etr1-1 Etr1-1 ETR2 Etr2-1, Etr1-1 Etr1-1 Etr2-1</i>	<i>ETR1 ETR1 ETR2 Etr2-1, ETR1 Etr1-1 ETR2 ETR2, ETR1 ETR1 Etr2-1 Etr2-1, Etr1-1 Etr1-1 ETR2 ETR2</i>	<i>ETR1 ETR1 ETR2 ETR2</i>	χ^2
наблю- даемое	103	75	8	1,7
ожидаемое	9	6	1	

Таблица 2. Средние значения биометрических параметров признаков коревых систем у экотипа Col-O, родительских форм (*Etr1-1*, *Etr2-1*) и гибридов F₁ и F₂ в фазу бутонизации (на 30 день после прорастания семян)

Обозначение линии	Тип корней	
	Боковые корни главного корня	
	число корней	длина корней, мм
WT (Col-0)	29,6	12,5
материнская форма <i>Etr1-1</i>	45,0	22,4
отцовская форма <i>Etr2-1</i>	46,0	23,3
гибриды F ₁	66,1	35,7
гибриды F ₂		
<i>ETR1 Etr1-1 ETR2 Etr2-1, ETR1 Etr1-1 Etr2-1 Etr2-1, Etr1-1 Etr1-1 ETR2 Etr2-1, Etr1-1 Etr1-1 Etr2-1 Etr2-1</i>	65,6	35,4
<i>ETR1 ETR1 ETR2 Etr2-1, ETR1 Etr1-1 ETR2 ETR2, ETR1 ETR1 Etr2-1 Etr2-1, Etr1-1 Etr1-1 ETR2 ETR2</i>	43,2	22,2
<i>ETR1 ETR1 ETR2 ETR2</i>	28,7	12,8
HCP ₀₅	3,0	2,6

В настоящее время механизм гетерозиса объясняется в основном гипотезами доминирования и сверхдоминирования. По гипотезе доминирования гетерозис связан с тремя эффектами действия доминантных генов: подавлением ими вредных рецессивных аллелей, аддитивным эффектом и неаллельным комплементарным взаимодействием [13]. Гипотеза сверхдоминирования объясняет эффект гетерозиса взаимодействием между доминантными и рецессивными аллелями одного гена [15].

К сожалению, эти две гипотезы не могут полно объяснить природу явления гетерозиса. Пока что не имеется достаточно экспериментальных данных для разработки единой теории гетерозиса, поэтому любые исследования в этой области не утратили актуальности [16]. Вероятно, что окончательный вывод в генетических механизмах гетерозиса можно будет сделать лишь после того, как раскроется картина взаимодействия генов в генетической системе на биохимическом и молекулярном уровнях [14]. Очевидно, что большую роль в раскрытии природы явления гетерозиса сыграет изучение взаимосвязи между сигнальной системой регуляции развития растения и взаимодействия генов при наследовании признаков [17].

Полученные результаты исследований склоняют нас в вопросе о механизме гетерозиса к гипотезе доминирования, которую в первоначальном варианте выдвинул в 1908 г. Г. Давенпорт, а наиболее полно и убедительно сформировал ее основные положения в 1917 г. американский генетик Д. Джонс. В основе этой гипотезы лежат представления, по которым доминантность возникает в процессе эволюции; гены, благоприятно действующие на рост и развитие организма, становятся доминантными и полудоминантными, а гены, действующие неблагоприятно – рецессивными. По данной гипотезе гетерозис связан с многосторонним действием доминантных генов [13].

Известно, что существенных различий между генами дикого типа и мутантными генами не существует. Гены, которые свойственны диким формам растений, тоже были в свое время мутантными. В процессе эволюции они были отобраны естественным отбором, поскольку определяли развитие признаков и свойств, наиболее выгодных для существования вида [18].

В пользу доминантных мутаций в возникновении гетерозиса говорит многое. Наиболее важными аргументами являются следующие. Во-первых, у дрозофилы, человека, других животных и растений известно много примеров доминантных мутаций, при которых новый признак проявляется уже у гетерозигот. Одним из подобных примеров у человека служит ген, вызывающий брахидактилию. Носители подобных доминантных особенностей почти всегда гете-

розиготны и в среднем передают данный признак половине своего потомства [19].

Во-вторых, переход аллеля от рецессивного к доминантному состоянию может быть обусловлен различными механизмами, действующими на разных уровнях преобразований наследственной информации в онтогенезе. Генетически такой переход может быть достигнут через отбор особых генов-модификаторов, влияющих на фенотипическое проявление мутантного аллеля (гипотеза р. Фишера), или же через отбор аллелей с большей физиологической активностью (обеспечивающих более интенсивный синтез ферментов), чем первоначальный рецессивный вариант (гипотезы С. Райта и Д. Холдейна) [20].

Так или иначе, степень доминантности фенотипического проявления аллелей может эволюционировать, повышаясь под контролем отбора, если данный аллель становится благоприятным для его носителя при изменениях внешних условий. Примером этого может служить повышение доминантности аллеля, контролирующего темную окраску бабочек березовой пяденицы, которое, по некоторым данным, произошло в течение последних ста лет в индустриальных районах Европы [20].

В-третьих, далеко не при всяком скрещивании у растений F_1 проявляется гетерозис. Если бы гетерозис обуславливался простым набором доминантных аллелей, имеющих в популя-

ции, то этот набор было бы легко составить путем ряда скрещиваний и получить гетерозисные сочетания [12].

Глубокий научный анализ явления гетерозиса во второй половине XX ст. показал, что у гороха, кукурузы, сахарной и кормовой свеклы, сорго и других культур источников на высокую комбинационную способность не так много. В частности, результаты крупномасштабной селекции на комбинационную способность, затронувшую, например, у кукурузы тысячи линий и длящиеся более 50 лет, позволяют предположить, что источников, несущих гены с высокой комбинационной способностью, в пределах десятков, если не менее. Анализ родословных линий, определяющих высокую комбинационную способность, показывает, что в их основе лежит не более десяти первоисточников. Это заставляет несколько переосмыслить природу гетерозиса [21].

Выводы

Результаты анализа проведенного скрещивания между растениями мутантных линий арабидопсиса (*Etr1-1* × *Etr2-1*) показали, что наследование признаков корневой системы при взаимодействии генов *ETR1* и *ETR2* происходит по типу полимерного действия генов. При этом расщепление по фенотипу в поколении F_2 идет в отношении 9:6:1.

Литература

1. Кулаева О.Н. Как регулируется жизнь растений // Соросовский образовательный журнал. – 1995. – № 1. – С. 2–27.
2. Кулаева О.Н. Этилен в жизни растений // Соросовский образовательный журнал. – 1998. – № 11. – С. 78–84.
3. Johnson P.R., Ecker J.R. The ethylene gas signal transduction pathway: a molecular perspective // Annual Review of Genetics. – 1998. – V. 32, № 2. – P. 227–254.
4. Liu Q., Xu C., Wen C.K. Genetic and transformation studies reveal negative regulation of ERS1 ethylene receptor signaling in *Arabidopsis* // BMC Plant Biol. – 2010. – V. 10, № 2. – P. 60–64.
5. Hua J., Chang C., Sun Q., Meyerowitz E.M. Ethylene insensitivity conferred by *Arabidopsis ERS* gene // Sci. – 1995. – V. 269, № 1. – P. 1712–1714.
6. Qu X., Hall B.P., Gao Z., Schaller G.E. A strong constitutive ethylene-response phenotype conferred on *Arabidopsis* plants containing null mutations in the ethylene receptors ETR1 and ERS1 // BMC Plant Biol. – 2007. – V. 15, № 7. – P. 3–7.
7. Moussatche P., Klee H.J. Autophosphorylation activity of the *Arabidopsis* ethylene receptor multigene family // J. Biol. Chem. – 2004. – V. 279, № 4. – P. 4834–4841.
8. Chang C., Kwok S.F., Bleecker A.B. *Arabidopsis* ethylene-response gene *ETR1*: similarity of product to two-component regulators // Science. – 1993. – V. 262, № 2. – P. 539–544.
9. Рубина Б.А., Чернавина И.А., Потапов Н.Г. и др. Большой практикум по физиологии растений: учебн. пособие для студентов биол. спец. вузов. – М.: Высш. школа, 1978. – 408 с.
10. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высш. шк., 1990. – 352 с.
11. Боровиков В. STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере: для профессионалов. – С.-Петербург: Питер, 2003. – 688 с.
12. Абрамов З.В. Практикум по генетике. – Л.: Агропромиздат, 1992. – 224 с.
13. Гуляев Г.В. Генетика. – М.: Колос, 1984. – 351 с.
14. Лобашев М.Е. Генетика. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1985. – 485 с.
15. Глазко В.И., Глазко Г.В. Словарь терминов по прикладной генетике и ДНК технологиям. – К.: ИАБ, 1999. – 342 с.

16. Мамедова А.Д. Активность синтеза РНК и ДНК в клеточных органеллах у сельскохозяйственных культур в связи с гетерозисом // Сельскохозяйственная биология. – 2013. – № 3. – С. 37–44.
17. Генетика развития растений / Под ред. С.Г. Инге-Вечтомова. – СПб.: Наука, 2000. – 539 с.
18. Айала Ф., Кайгер Д. Современная генетика. – М.: Мир, 1988. – 335 с.
19. Мюнтцинг А. Генетические исследования. – М.: Издательство иностранной литературы, 1963. – 487 с.
20. Wikipedia [Electronic resource]. – Mode of access: <https://ru.wikipedia.org/wiki/Доминантность>.
21. Шумный В.К. Проблемы генетики растений // Вестник ВОГиС. – 2004. – Т. 8, № 2. – С. 32–39.

HABLAK S.G.

Agricultural company "Kernel" CTOV "Friendship-Nova",

Ukraine, 17600, Chernihiv region, Varvinsky district, Varva, Komarova str., 59, e-mail: serhab211981@yandex.ua

COMBINED EFFECT OF GENES *ETR1* AND *ETR2* ROOTS FOR BRANCHING *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) HEYNH.

Aim. The aim of research is the study of inheritance the root system of *A. thaliana* in the interaction the genes *ETR1* and *ETR2*. **Methods.** Comparative morphology – to compare the similarities and differences in the structure of the root systems plants, hybridological analysis crossing mutant lines and genetic analysis of inheritance of characteristics of the root system. **Results.** It was found that by crossing plants of the mutant lines *Etr1-1* \times *Etr2-1* in the F₂ generation occurs polymeric gene interactions *ETR1* and *ETR2*. The splitting in this case is F₂ 9: 6: 1. In the first generation hybrids somatic heterosis is observed, which is manifested in a more powerful development of lateral roots compared to the initial forms. In the second generation is the process of splitting of hybrids, and their superiority over the length of lateral roots of parental forms is reduced. **Conclusions.** The results of the analysis carried out by a cross between plants of *Arabidopsis* mutant lines (*Etr1-1* \times *Etr2-1*) showed that the inheritance of characteristics of the root system in the interaction *ETR1* and *ETR2* genes occurs on the type of polymer gene action.

Keywords: *Arabidopsis*, root system, gene, mutation, heterosis.