

✓

АКАДЕМИЯ НАУК СССР

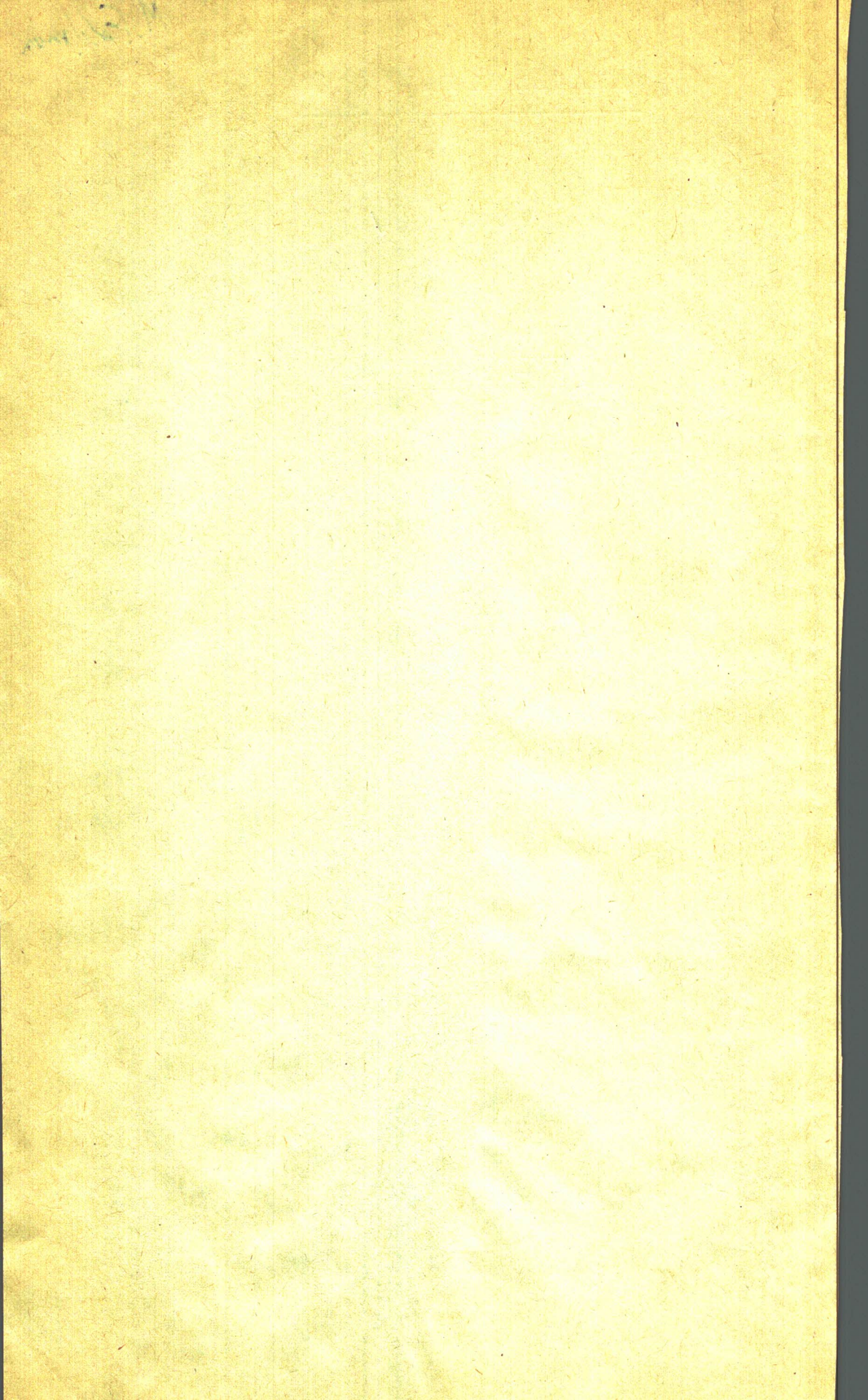
Voimikov

ГЕНЕТИКА

(ОТДЕЛЬНЫЙ ОТТИСК)

МОСКВА · 1979

M. Feldman



ВЛИЯНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ ХРОМОСОМ ГЕНОМА X ПЫРЕЯ НА АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИЙ ДОПОЛНЕННЫХ ЛИНИЙ ПШЕНИЧНО-ПЫРЕЙНЫХ ГИБРИДОВ

В. К. ВОЙНИКОВ, В. Д. ФЕДОТОВА, Т. К. УСОВА

Институт цитологии и генетики СО АН СССР, Новосибирск

Изменения в окислении и фосфорилировании митохондрий анеуплоидных линий пшенично-пырейных гибридов (ППГ) после охлаждения (-4°C , 1 ч) неодинаковы, определяются генотипом растения и связаны с присутствием двух из семи хромосом пырейного X-генома.

Ранее полученные результаты показали зависимость изменений активности митохондрий растений после действия мороза от геномного состава [1]. Наличие генома X пырея в клетках растений ППГ 829 и пырея сизого сопровождалось реакцией митохондрий, типичной для высокозимостойких форм, — быстрым изменением активности в ответ на охлаждение. Отсутствие генома X у ППГ 822 и озимой пшеницы Лютеценс-329 приводило к замедлению этой реакции.

Показано [2], что зимостойкие формы, такие, как пырей и ППГ 829, сохраняют в клетках тканей высокую энергетическую эффективность дыхания (судя по эффекту ДНФ) после воздействия низкими температурами. Подобный эффект был отмечен у 49-хромосомных гибридов F_1 , полученных в результате скрещивания озимой пшеницы Лютеценс-329 ($2n=42$) с ППГ 829 ($2n=56$). Следовательно, гаплоидный набор хромосом ($n=7$) генома X пырея, добавленный к хромосомам пшеницы Лютеценс-329, обеспечивает гибриду физиологическую особенность, характерную для высокозимостойких форм. Дальнейшие исследования показали, что присутствие всех 7 хромосом генома X пырея необязательно, чтобы у гибридов появились свойства зимостойкого родителя [3]. Вероятно, присутствие даже части этого генома будет достаточным, чтобы митохондрии пшенично-пырейных гибридов проявляли свойства, характерные для митохондрий пырея. Изучению вопроса о влиянии отдельных хромосом генома X пырея на активность митохондрий дополненных линий ППГ при охлаждении растений и посвящена настоящая работа.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В работе использованы растения озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Лютеценс-329 ($2n=42$) (материнская форма) и ППГ 829 ($2n=56$) (отцовская форма), у которого к 42 хромосомам пшеницы Лютеценс-329 добавлены 14 хромосом X-генома пырея [4]. ППГ 829 — высокозимостойкий гибрид [5]. Также использована 49-хромосомная линия ППГ, полученная из F_1 после скрещивания ♀ Лютеценс-329 × ♂ ППГ 829. У этого гибрида к 42 хромосомам пшеницы добавлены 7 хромосом X-генома пырея [2, 3]. Кроме того, в работе использованы растения семи дополненных линий, которые получены из F_4 от указанного выше скрещивания.

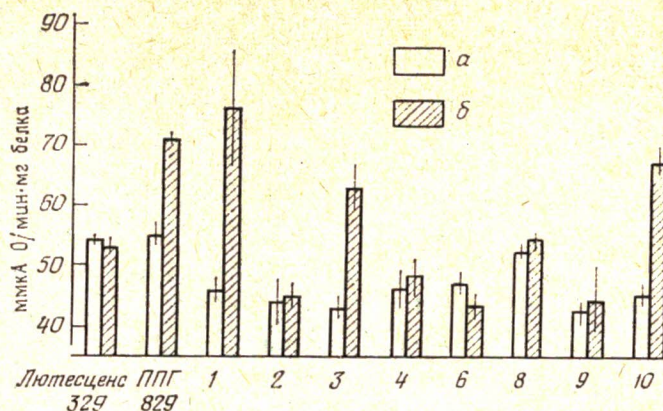


Рис. 1. Поглощение кислорода в состоянии 3 митохондриями пшеницы Лютесценс-329, ППГ 829 и дополненных линий, несущих различные хромосомы Х-генома пырея:

1 — 49-хромосомная линия (42 хромосомы пшеницы + 7 хромосом Х-генома пырея); 2, 3, 4, 6, 8, 9, 10 — 43-хромосомные линии (42 хромосомы пшеницы + 1 хромосома Х-генома пырея); а — контроль; б — 1 ч при -4°C . Субстрат окисления — малат (10 мМ). Указан доверительный интервал при 5%-ном уровне значимости

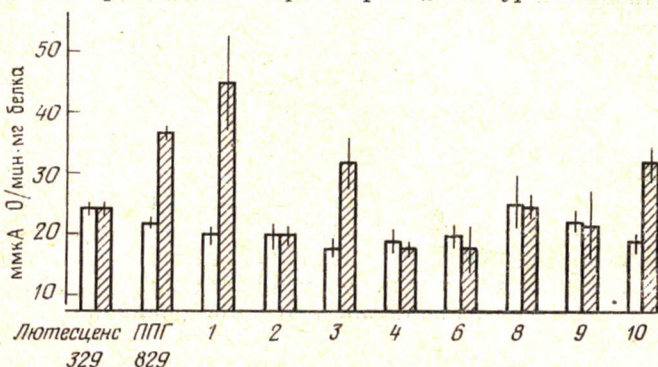


Рис. 2. Дыхание в состоянии 4 митохондрий пшеницы, ППГ 829 и дополненных линий в контроле и после охлаждения (-4°C). Обозначения см. рис. 1

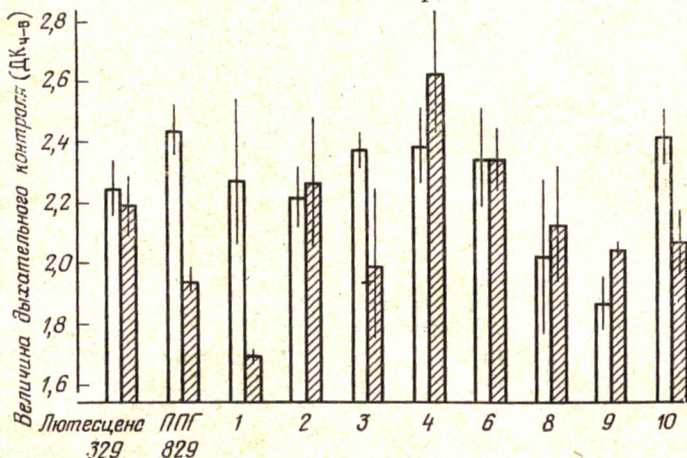


Рис. 3. Величина ДКч-в у митохондрий пшеницы, ППГ 829 и дополненных линий в контроле и после охлаждения (-4°C). Обозначения см. рис. 1

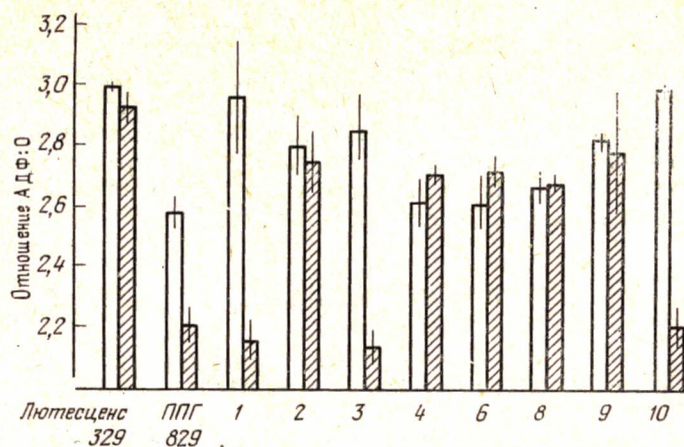


Рис. 4. Отношение АДФ:О митохондрий растений пшеницы, ППГ 829 и дополненных линий в контроле и после охлаждения (-4°C).

Обозначения см. рис. 1

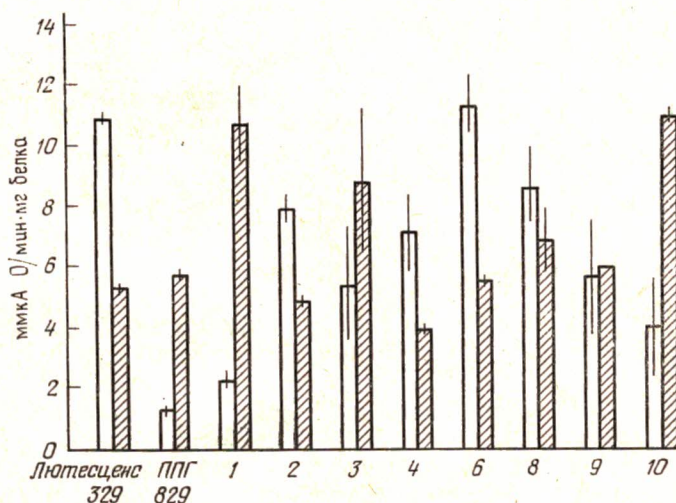


Рис. 5. Антимицин-А-устойчивое дыхание в состоянии 3 у митохондрий пшеницы, ППГ 829 и дополненных линий. Обозначения см. рис. 1

У растений этих линий к 42 хромосомам пшеницы добавлена одна из хромосом Х-генома пырея ($2n=43$).

Исследованные в работе растения выращивали в теплице с гидропонным способом питания и закаливанию не подвергали. После достижения растениями фазы кущения участки побегов длиной 3 см вверх от узла кущения аккуратно и быстро срезали, заворачивали в сухие марлевые мешочки и помещали на 1 ч в климатическую камеру «Feutron», в которой поддерживали температуру $-4 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$. Контролем служили неохлажденные ткани. Контрольные и охлажденные образцы тканей брали для анализа активности митохондрий.

Выделение митохондрий и регистрацию их активности (с помощью полярографической техники) проводили по ранее описанной методике [1]. Субстратом окисления служил малат (10 мМ). Концентрация вносимого

в ячейку АДФ («Serva», ФРГ) — 100 мкМ. Для регистрации дыхания, устойчивого к действию ингибиторов транспорта электронов по дыхательной цепи, использовали антимицин-А (30 мкМ). Из полярограмм рассчитывали скорость дыхания в третьем и четвертом состояниях (ммкА 0/мин · мг белка), дыхательный контроль по Чансу — Вильямсу (ДК_{ч-в}) [6] и отношение АДФ : О [7]. Митохондриальный белок определяли по методу Лоури с соавторами [8]. Повторность опытов (выделений митохондрий) 4-кратная. Результаты обработаны статистически.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты анализа функциональной активности митохондрий взрослых растений пшеницы Лютесценс-329, ППГ 829 (родители), 49-хромосомной линии и линий с одной дополненной хромосомой X-генома пырея показаны на рис. 1—5.

После охлаждения при -4°C в течение 1 ч митохондрии ППГ 829 и 49-хромосомной линии показали увеличение по сравнению с контролем дыхания в состоянии 3 и 4 по Чансу — Вильямсу, снижение величины ДК_{ч-в} и отношения АДФ : О. Это говорит о том, что органеллы ослабили энергетический контроль дыхания и перешли в низкоэнергетическое состояние. Такие изменения активности митохондрий не отмечены у растений пшеницы Лютесценс-329. Антимицин-А-нечувствительное дыхание у митохондрий ППГ 829 и 49-хромосомной линии в контроле было в 5—6 раз ниже, чем у Лютесценс-329, и после охлаждения возросло примерно в 5 раз, в то время как у митохондрий пшеницы этот показатель после охлаждения, наоборот, упал. Следовательно, по таким признакам, как изменение энергетического состояния и чувствительность к антимицину-А в контроле и после охлаждения, митохондрии пшеницы Лютесценс-329, ППГ 829 и 49-хромосомных растений значительно различаются.

Митохондрии дополненных линий ($2n=43$) также различались между собой по этим признакам. Органеллы пяти из них, а именно линий 2, 4, 6, 8 и 9, вели себя подобно митохондриям пшеницы, т. е. у них не наблюдали перехода к низкоэнергетическому состоянию после действия отрицательной температуры, и у них наблюдалось достоверное снижение антимицин-А-чувствительного дыхания. Исходя из этих данных, можно заключить, что 5 хромосом генома X пырея у незакаленных растений, видимо, не принимают участия в регуляции функциональной активности митохондрий.

Митохондрии растений двух линий (3 и 10) после воздействия отрицательной температуры изменяли свою активность подобно органеллам ППГ 829 и растений 49-хромосомной линии. У них отмечен переход к низкоэнергетическому состоянию и возрастание (у линии 3 недостоверное) антимицин-А-резистентного дыхания. Следовательно, можно заключить, что изменения митохондриальной активности в клетках этих двух линий связаны с присутствием одной хромосомы генома X пырея.

Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что быстрые изменения функциональной активности митохондрий пырея и пшенично-пырейных гибридов, имеющих X-геном, вероятно, контролируются одной или двумя хромосомами этого генома.

В настоящее время известно, что для нормального функционирования многих митохондриальных систем необходима координация работы геномов ядра и митохондрий [9]. При этом осуществляется совместный ядерно-митохондриальный контроль за синтезом определенных ферментов и их

регуляцией [10—12]. Более того, известно, что в такой координации принимает участие не весь ядерный геном, а определенные его хромосомы. Например, только 3 хромосомы ржи образуют генные продукты, принимающие участие в регуляции синтеза малатдегидрогеназы [11]. Известна хромосома ядерного генома ППГ, в которой локализован ген, контролирующий синтез глутамат-оксалоацетат трансминазы (Е.С.2.6.1.1) [13] — фермента, определяющего внутриклеточный уровень оксалоацетата, который, как известно, принимает участие в регуляции интенсивности работы дыхательной цепи митохондрий [14, 15]. О влиянии определенных хромосом ядра на функционирование митохондрий говорят и другие литературные данные [16].

Заключение о том, что для проявления митохондриями растений ППГ определенных реакций на охлаждение, характерных пыреею, необязательно присутствие всех 7 хромосом генома X пырея, согласуется с данными, полученными ранее [3]. Однако при оценке количества хромосом, вовлекаемых в ответную реакцию на холод, полученные результаты расходятся с теми, что были получены Федотовой с соавторами [17]. Это расхождение можно объяснить несколькими причинами. Во-первых, данное и вышеупомянутое исследование были проведены в разных условиях (с одной стороны митохондрии, изолированные из незакаленных растений и быстро-регистрирующая полярографическая техника, позволяющая отмечать метаболические состояния органелл, а с другой — интактные ткани взрослых растений, прошедших I и II фазу закалывания и долгосрочный эксперимент в аппарате Варбурга). Во-вторых, известно, что закалывание растений к холоду вызывает изменения в дыхании и протекании ряда физиологических и биохимических процессов [18, 19], а реализация этих изменений может, по-видимому, контролироваться многими генами и хромосомами. И наконец, в-третьих, возможно, что в результате действия закалывания растений к холоду начинают функционировать новые гены, локализованные в других хромосомах и влияющие на дыхание. Исходя из сказанного, можно предположить, что в формировании признака морозостойкости (судя по эффекту ДНФ), вероятно, принимают участие 5 хромосом X-генома пырея [17], а с изменением активности митохондрий после действия мороза связаны только 2 хромосомы. Возможно, что введение этих двух хромосом (или одной из них) в геном ППГ обеспечит реакцию митохондрий на охлаждение, типичную для морозостойких форм. Однако вопрос о том, будет ли такой гибрид высокоморозостойким (зимостойким), остается открытым. Скорее всего нет, потому что такие признаки, как морозостойкость, и тем более зимостойкость растений, очень сложны и зависят от многих физиологических и биохимических процессов, протекающих в клетке при закалывании и действии мороза [18, 19]. В то же время наличие таких реакций митохондрий на охлаждение, как реакции у высокозимостойких культур, является необходимым, но, по-видимому, еще недостаточным условием для приобретения растением свойства зимостойкости.

Результаты, полученные нами в исследованиях на митохондриях 56- и 43-хромосомных линий ППГ, без сомнения, свидетельствуют, что, несмотря на существование у митохондрий собственного генетического и белоксинтезирующего аппаратов, процессы регуляции их активности после действия мороза находятся под контролем ядерных генов, которые локализованы в двух хромосомах X-генома пырея. Конечно, возможно, что при этом происходит кооперация ядерного и митохондриального геномов и осуществляется совместный контроль за функционированием митохондрий, как это отмечается в ряде работ [20—22]. Следует заметить, что пока нет сведений о том, посредством каких механизмов осуществляется конт-

роль ядра за активностью митохондрий под действием охлаждения. Вместе с тем этот вопрос очень важен как для понимания интимных сторон ядерно-митохондриальных взаимоотношений, так и для энергетики озимых растений.

Поступила в редакцию 26 декабря 1977 г.

Литература

1. В. К. Войников. Последствие охлаждения на функциональную активность митохондрий пшеницы, пырея и пшенично-пырейных гибридов. Физиол. растений, т. 25, вып. 4, 761, 1978.
2. В. Д. Федотова, Т. К. Усова, В. В. Хвостова. К изучению роли генома X пырея в наследовании физиологических основ зимостойкости. Генетика, т. 9, № 10, 30, 1973.
3. В. Д. Федотова, Т. К. Усова, В. В. Хвостова. Роль отдельных хромосом генома X пырея в наследовании физиологических основ зимостойкости. Генетика, т. 11, № 10, 5, 1975.
4. Г. Л. Ячевская. Изучение генетической структуры константных форм пшенично-пырейных гибридов ($2n=56$). Автореф. канд. дис. Новосибирск, Ин-т цитол. и генетики СО АН СССР, 1965.
5. В. М. Шепелев. Зимостойкость и некоторые другие биологические особенности пшенично-ржаных амфидиплоидов и пшенично-пырейных гибридов ($2n=56$) (в условиях лесостепи Западной Сибири). Автореф. канд. дисс. Моск. обл., Н.-и. ин-т с. х. центр. р-нов нечерноземн. полосы, 1970.
6. B. W. Chance, Y. R. Williams. The respiratory chain and oxidative phosphorylation. *Advances Enzymol.*, v. 17, 65, 1956.
7. R. W. Estabrook. Mitochondrial respiratory control and the polarographic measurement of ADP:O ratios. In: *Methods in Enzymology*, v. 10, New York — London, Acad. Press, 1967, p. 41.
8. O. H. Lowry, N. I. Rosenbrough, A. L. Farr, R. I. Randel. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, v. 193, 265, 1951.
9. С. А. Нейфах. Механизмы клеточной интеграции в процессе биогенеза митохондрий. В сб. Генетические функции органоидов цитоплазмы. Л., «Наука», 1974, стр. 58.
10. R. Colombo, P. Lado, F. Prada. Activation of mitochondrial enzymes during the early phase of seed germination. *Experientia*, v. 29, № 2, 145, 1973.
11. R. B. Flavell, F. J. McPerson. The control of wheat malate dehydrogenase by rye chromosomes. *Biochem. Genet.*, v. 7, N 3—4, 259, 1972.
12. M. J. Peak, J. G. Peak, J. P. Ting. Isoenzymes of malate dehydrogenase and their regulation in *Euglena gracilis*. *Biochim. et biophys. acta*, v. 284, № 1, 1, 1973.
13. G. E. Hart, D. E. McMillin, E. R. Sears. Determination of the chromosomal location of a glutamate oxaloacetate transaminase structural gene using *Triticum* — *Agropyron* translocations. *Genetics*, v. 83, 49, 1976.
14. R. Douce, W. D. Bonner, Jr. Oxaloacetate control of Krebs cycle oxidations in purified plant mitochondria. *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, v. 47, № 3, 619, 1972.
15. А. Д. Виноградов, Г. И. Кондрашов. Ингибирование сукцинатоксидазной системы митохондрий щавелевоуксусной кислотой. В сб. Митохондрии. Ферментативные процессы и их регуляция. М., «Наука», 1968, стр. 118.
16. H. J. Leenders, H. D. Berendes, P. J. Helmsing, J. Derksen, J. F. J. G. Koninkx. Nuclear-mitochondrial interactions in the control of mitochondrial respiratory metabolism. *Sub-Cell. Biochem.*, v. 3, 119, 1974.
17. В. Д. Федотова, В. В. Хвостова, Т. К. Усова. Цитогенетическое изучение линий пшеницы с дополненными хромосомами пырея, *Agropyron glaucum*, различающихся по эффекту 2,4-динитрофенола. Генетика, т. 14, № 6, 1024, 1978.
18. И. И. Туманов. Современное состояние и очередные задачи физиологии зимостойкости растений. В сб. Физиология устойчивости растений. М., Изд-во АН СССР, 1960, стр. 5.
19. П. С. Мишустина, Д. Ф. Проценко, О. В. Петрова, Н. В. Шевчук, В. Е. Семенюк. Метаболические процессы у растений кукурузы при закаливании и охлаждении. В сб. Устойчивость растений к неблагоприятным температурным условиям среды. Киев, «Наукова думка», 1976, стр. 45.
20. Z. Barath, H. Kuntzel. Induction of mitochondrial RNA polymerase in *Neurospora crassa*. *Nature New Biol.*, v. 240, 195, 1972.
21. H. Weiss, W. Sebald, Th. Bucher. Cycloheximide resistant of amino acids into polypeptide of the cytochrome oxidase *Neurospora crassa*. *Europ. J. Biochem.*, v. 22, 19, 1974.
22. A. Tzagoloff, M. S. Rubin, M. F. Sierra. Biosynthesis of mitochondrial enzymes. *Biochim. et biophys. acta*, v. 301, 71, 1973.

THE EFFECT OF SINGLE CHROMOSOMES OF AGROPYRON GLAUCUM
X-GENOME ON THE ACTIVITY OF MITOCHONDRIA
OF TRITICUM-AGROPYRON HYBRIDS ADDITION LINES

V. K. VOINIKOV, V. D. FEDOTOVA, T. K. USOVA

*Institute of Cytology and Genetics, Academy of Sciences of the USSR,
Siberian Division, Novosibirsk*

S u m m a r y

The effect of single chromosomes of Agropyron glaucum X-genome on the activity of Triticum-Agropyron hybrids (TAH) addition lines ($2n=43$) mitochondria was studied. It is shown that the changes of oxidative phosphorylation in mitochondria of TAH addition lines after the cooling of plants (-4°C , 1 hr) are different. They are determined by plant's genome and are due to the presence of two out of seven chromosomes of Agropyron glaucum X-genome.

ГЕНЕТИКА

Том XV, № 1, 1979

Январь

УДК 575.1 : 633,5

ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДЕТЕРМИНАЦИИ ФОРМЫ ЛИСТОВОЙ ПЛАСТИНКИ У ХЛОПЧАТНИКА *GOSSYPIUM* *HIRSUTUM* L.

М. Ф. АБСАЛДОВ, Г. Р. ФАТХУЛЛАЕВА

Азербайджанский государственный университет имени В. И. Ленина

Исследования о влиянии генетической детерминации формы листовой пластинки у хлопчатника (*Gossypium hirsutum* L.) на скрещивании линий с альтернативными