

УДК 575.1:581.163:577.151.64:577.213:633.413

ВЛИЯНИЕ ТРИТОНА X-100 НА ИЗМЕНЕНИЯ ПЦР-ПРОФИЛЕЙ ФЕРМЕНТНЫХ ГЕНОВ У *BETA VULGARIS L.* В ПРОЦЕССЕ ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН

INFLUENCE OF TRITON X-100 ON THE PCR-PROFILES OF ENZYME GENES AND ISOZYME PATTERNS IN *BETA VULGARIS L.* DURING GERMINATION

©**Виниченко Н. А.**

Федеральный исследовательский центр
институт цитологии и генетики СО РАН
г. Новосибирск, Россия, vinia@ngs.ru

©**Vinichenko N.**

IC&G SB RAS
Novosibirsk, Russia, vinia@ngs.ru

©**Курикович С. С.**

канд. биол. наук
Федеральный исследовательский центр
институт цитологии и генетики СО РАН
г. Новосибирск, Россия, svetak@bionet.nsc.ru

©**Kirikovich S.**

Ph.D., IC&G SB RAS
Novosibirsk, Russia, svetak@bionet.nsc.ru

©**Левитес Е. В.**

канд. биол. наук
Федеральный исследовательский центр
институт цитологии и генетики СО РАН
г. Новосибирск, Россия, elevites@ngs.ru

©**Levites E.**

Ph.D., IC&G SB RAS
Novosibirsk, Russia, elevites@ngs.ru

Аннотация. Цель этой работы: изучение влияния детергента Тритон X-100 на ПЦР-профили ферментных генов в прорастающих семенах свеклы (*Beta vulgaris L.*). В данном исследовании использовались гибридные семена, полученные путем скрещивания сахарной и красной столовой свеклы. ПЦР-профили ферментных генов в контрольной и экспериментальной (обработанной 0,1% раствором Тритона X-100) группах семян сравнивали с 18-го часа по 114-й час прорастания с интервалом в 24 часа. Кроме того, в непроросших семенах были проанализированы как ПЦР-профили ферментных генов, так и детерминируемые данными генами изоферментные спектры. Установлено, что ТХ-100 по-разному влияет на онтогенетические изменения в ПЦР-профилях ферментных локусов *Gpi* и *Me*. Полученные данные позволяют предположить, что детергент ТХ-100 вызывает изменения в процессах, регулируемых структурами, связанными с мембранами. Влияние ТХ-100 как на экспрессию ферментных генов, так и на их ПЦР-профили свидетельствует о том, что детергент ТХ-100 воздействует непосредственно на геном клетки.

Abstract. The purpose of this work is to study the effect of the detergent Triton X-100 on the PCR-profiles of enzyme genes in germinating beet seeds (*Beta vulgaris L.*). In this study, we used hybrid seeds obtained by crossing sugar and red table beets. PCR-profiles of enzyme genes in the control and experimental (treated with 0.1% Triton X-100 solution) seed groups were compared

from the 18th hour to the 114th hour of germination with an interval of 24 hours. In addition, in ungerminated seeds, both the PCR-profiles of enzyme genes and the isoenzyme spectra determined by these genes were analyzed too. TX-100 influences ontogenetic changes in the *Gpi* and *Me* PCR-profiles differently. It can be assumed that TX-100 induces changes in the membrane-associated structures regulated processes. The dual effect of detergent TX-100 on the enzyme genes PCR-profiles and gene expression indicates that TX-100 makes its primary impact on the genome.

Ключевые слова: воздействие эпимутагена, Тритон X-100, динамика прорастания, ПЦР-профили ферментных генов, праймеры, изоферменты, *Beta vulgaris* L.

Keywords: epimutagen treatment, Triton X-100, dynamic of germination, PCR-profiles of enzyme genes, primers, isozymes, *Beta vulgaris* L.

Известно, что под воздействием условий внешней среды в геноме живых организмов могут возникать различные изменения. При жестких воздействиях возможны мутации, т.е. изменения, затрагивающие последовательности ДНК хромосом и наследующиеся в последующих поколениях. Менее сильные, мягкие воздействия могут не влиять на первичную структуру ДНК, но включать тонкие механизмы регулирования работы генома. В качестве мягких факторов могут выступать, например, повышенные или пониженные температуры в периоды прорастания семени и последующей вегетации растения. К мягким факторам среды относятся также и химические вещества, не нарушающие последовательности ДНК, но вызывающие изменения функционирования генома, наследующиеся в течение ряда поколений. Такие вещества называют эпимутагенами. К ним относится, например, детергент Тритон X-100 (TX-100) [1]. Показано, что TX-100 вызывает у растений пшеницы появление наследуемых изменений ряда морфологических признаков, включая форму колоса и число зерен в колосе [1–3]. У сахарной свеклы TX-100 вызывает изменение целого ряда морфологических и биохимических признаков у гибридных растений, а также изменение соотношений фенотипических классов в агамоспермных потомствах [4–6].

Воздействие TX-100 на растения приводит к различным изменениям и на молекулярном уровне. Так, выявлены существенные различия ПЦР-профилей ферментных локусов между контрольными и обработанными TX-100 растениями как у пшеницы, так и у сахарной свеклы [2; 7, с. 5–9]. В этих работах использовали модифицированную методику ISSR-амплификации (ISSR — inter-simple sequence repeat). Исходная методика основывалась на амплификации фрагментов ДНК, находящихся между достаточно близко расположенными и ориентированными навстречу друг другу копиями микросателлитной последовательности [8]. В нашей же модификации этого метода используются два праймера, один из которых микросателлитный, а другой — специфичный к исследуемому ферментному локусу [7, с. 5–9]. При такой комбинации праймеров выявляемые ПЦР-профили менее сложные и характеризуют в основном изменения целевого ферментного локуса [7, с. 5–9; 9, с. 80–84]. Эффективность данного метода была продемонстрирована при обнаружении внутриааллельного полиморфизма локуса *Adh1* в агамоспермных потомствах сахарной свеклы [9 с. 80–84, 10], а также при обнаружении различий между ПЦР-профилями локуса *Adh1* у контрольных и обработанных TX-100 растений сахарной свеклы [7, с. 5–9].

Установлено, что TX-100 замедляет прорастание семян, влияет на белковые профили, а также влияет на динамику изменения ПЦР-профилей, полученных на суммарной ДНК проростков сахарной свеклы [11, с. 16–20]. В плане развития этого направления работ представляло интерес исследовать влияние TX-100 на ПЦР-профили конкретных генов с известной функцией. Поэтому целью данной работы явилось исследование влияния TX-100 на динамику изменения ПЦР-профилей ферментных локусов в процессе прорастания семян

сахарной свеклы. Большой интерес представляло также сопоставление выявляемых ПЦР-профилей ферментных генов со способностью семян к прорастанию и анализ экспрессии ферментных генов в непроросших семенах.

Материалы и методы

Растительный материал. Для исследования были взяты гибридные семена, полученные скрещиванием сахарной и красной столовой свеклы. Семена предварительно промывали от ингибиторов прорастания в проточной воде в течение суток. Затем контрольные семена для проращивания замачивали в дистиллированной воде в термостате при 29 °С, а опытные — замачивали в 0,1% растворе детергента TX-100 в течение 18 часов при 29 °С, затем отмывали дистиллированной водой от детергента и снова помещали в термостат на проращивание. Взятие проб проводили через 18, 42, 66 и 90 часов с момента замачивания в растворе TX-100 или в дистиллированной воде.

Выделение ДНК, ПЦР-амплификация. Суммарную ДНК растений выделяли из проростков стандартным СТАВ-методом [12]. Для проведения ПЦР-амплификации использовали специфичные к ферментным локусам праймеры в паре с микросателлитным праймером *Mic2* (5'-gacag-acaga-caaac-a-3'). Направленность специфического праймера позволяла амплифицировать определенную часть ферментного локуса. Важно отметить, что регуляторная часть ферментных локусов оказалась более информативной, поэтому в данном исследовании использовались праймеры для анализа именно этой области.

Праймеры:

Beet-malic1, специфичный к локусу *Me1*, контролирующему цитозольные изоферменты малик-фермента (ME1) свеклы.

Beet-gpi1, специфичный к локусу *Gpi1*, кодирующему глюкозофосфатизомеразу 1 (GPI1) свеклы.

ПЦР-реакцию проводили в 20 мкл реакционной смеси, содержащей 10–200 нг суммарной ДНК в 65 мМ трис-HCl (pH 8,0), 16 мМ (NH₄)₂SO₄, 0,05% твин-20, 1,5 мМ MgCl₂, 0,2 мМ каждого из dNTP, 1мкМ каждого праймера, 2,5 ед. акт. *Taq*-полимеразы. Был использован следующий температурный режим:

Предварительная денатурация — 94 °С (4 мин)

Далее 30 циклов — 94 °С (1 мин), 52 °С (42 сек), 72 °С (4 мин)

Последний цикл — 72 °С (7 мин)

Продукты амплификации разделяли путем электрофореза в 5% полиакриламидном геле, приготовленном на 0,5×TBE буфере, и окрашивали бромистым этидием.

Электрофоретический анализ малик-фермента (ME) и глюкозофосфатизомеразы (GPI) проводили на индивидуальных семенах в крахмальном геле по методам, описанным ранее [13; 14, с. 27–46]. Сканирование электрофореграмм проводили при помощи прибора Biodoc.

Результаты

Влияние Тритона X-100 на гено-ферментные системы свеклы. Обработанные детергентом TX-100 семена исследованных образцов свеклы характеризуются замедленным по сравнению с контрольными семенами прорастанием. Это согласуется с опубликованными нами ранее данными об ингибирующем влиянии TX-100 на прорастание семян [11, с. 16–20]. Это ингибирующее влияние ярко проявилось в настоящем эксперименте в том, что часть опытных семян не проросла совсем, в то время как в контроле всхожесть была 100%.

На основании имеющейся в базах данных информации о последовательности локуса *Gpi1*, кодирующего GPI1 сахарной свеклы, был сконструирован праймер для регуляторной области данного гена.

Для проведения аналогичного исследования гено-ферментной системы *Me*-ME и создания соответствующего праймера была взята из генного банка последовательность ДНК

локуса *Mel*, контролирующего цитоплазматическую форму малик-фермента у сахарной свеклы. Из двух исследуемых нами генов в семенах и проростках наиболее экспрессируется ген, обозначаемый нами как *Mel*, но для него не определено соответствие с геном, который в базе данных обозначен также как *Mel*. Поэтому сопоставление изоферментных спектров малик-фермента и ПЦР-профилей, выявляемых в непроросших семенах сахарной свеклы, носит в данной работе предварительный характер.

Использованные в паре с микросателлитными специфические праймеры позволяли амплифицировать либо структурную, либо регуляторную часть локусов *Gpi1* и *Mel*, кодирующих ферменты GPI1 и ME1 сахарной свеклы. ПЦР-профили структурной части локусов *Gpi1* и *Mel* у сахарной свеклы были неинформативны, т. е. каких-либо различий ПЦР-профилей структурной части между контрольными и обработанными Тритоном X-100 семенами не было. Поэтому в статье представлены данные лишь о профилях, полученных от регуляторной части этих локусов.

Внутри каждой возрастной группы растений сахарной свеклы ПЦР-профили локусов *Gpi1* и *Mel* не различались, поэтому на рисунках представлено лишь по 1 дорожке от каждой группы. Однако у разных возрастных групп ПЦР-профили локусов *Gpi1* и *Mel* различались довольно четко (Рисунок 1), причем наиболее резкие различия были выявлены между проросшими и непроросшими семенами.

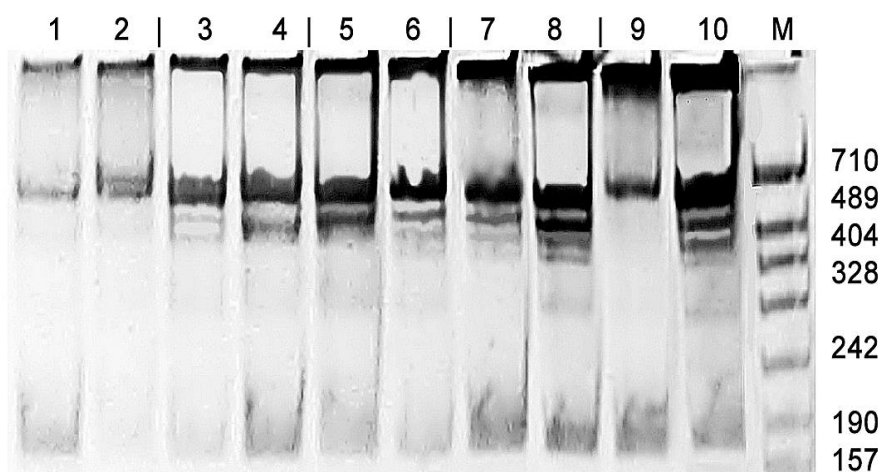


Рисунок 1. ПЦР-профили регуляторной части локуса *Gpi1* контрольных и обработанных Тритоном X-100 растений свеклы в разные сроки после замачивания: 1 — контроль (18 ч), 2 — опыт (18 ч), 3 — контроль (42 ч), 4 — опыт (42 ч), 5 — контроль (66 ч), 6 — опыт (66 ч), 7 — контроль (90 ч), 8 — опыт (90 ч), 9 — контроль (114 ч), 10 — опыт (114 ч).
M — маркер pUC/MspI

Поскольку гены *Gpi1* и *Mel* имеют четкое, зависящее от аллельного состава фенотипическое проявление, представляло интерес сопоставить изоферментные спектры данных ферментов с ПЦР-профилями соответствующих кодирующих генов в непроросших семенах сахарной свеклы.

Влияние Тритона X-100 на ПЦР-профили ферментных генов в процессе прорастания семян свеклы. Как в контрольных, так и в обработанных Тритоном X-100 группах проростков в ходе прорастания выявляется изменение ПЦР-профилей регуляторной части локуса *Gpi1* (Рисунок 1). При этом наблюдаются различия между ПЦР-профилями контрольных и опытных групп одного возраста.

Динамика изменений ПЦР-профилей у контрольных и опытных проростков полностью противоположна динамике изменения размеров проростка: у опытных проростков изменения

профилей происходят быстрее, хотя растут они медленнее контрольных. Например, ПЦР–профиль контрольных проростков только через 66 часов после замачивания (дорожка 5) довольно близок к ПЦР–профилю, полученному от обработанного TX-100 растения через 42 часа после замачивания (дорожка 4). Еще большее сходство ПЦР–профилей мы видим на дорожках 6 (опыт, 66 часов прорастания) и 7 (контроль, 90 часов прорастания). То есть у контрольной группы динамика изменения ПЦР–профилей отстает на сутки, тогда как динамика увеличения размеров проростков идет на сутки быстрее, чем у опытной группы.

Однако, контрольный ПЦР–профиль через 114 часов (дорожка 9) показывает существенное отличие от тритонного профиля, выявляемого через 90 часов прорастания (дорожка 8); в контроле ряд фракций исчезает, и остается одна ярко выраженная фракция, в то время как в опыте выявляется несколько фракций. Таким образом, в опыте выявляется качественное изменение профиля, а не просто более быстрое по сравнению с контролем его изменение. Это свидетельствует о том, что воздействие TX-100 приводит к нарушению тонкого процесса регуляции функционирования растительного генома.

Часть обработанных TX-100 семян свеклы (16%) через 114 часов после начала проращивания не проросла и даже не проклюнулась. ПЦР–профили локуса *Gpi1* у этих семян очень сильно отличаются от ПЦР–профилей нормально развившихся за этот период времени проростков опытной группы (рис 2, дорожка 1).

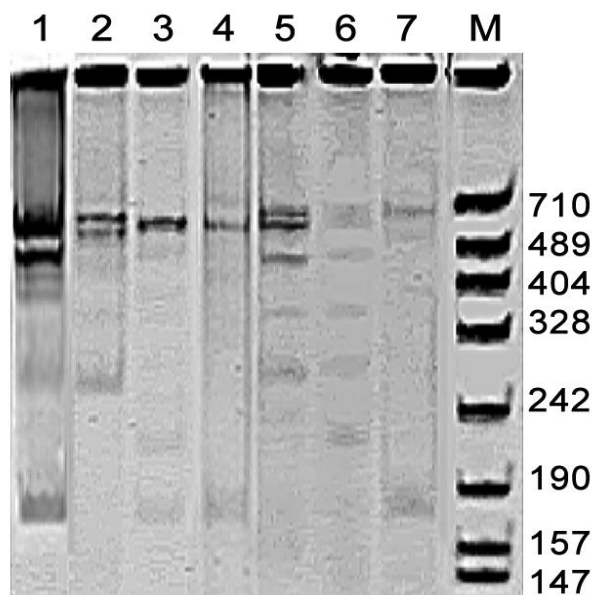


Рисунок 2. ПЦР–профили регуляторной части локуса *Gpi1*, полученные от обработанных TX-100 растений свеклы через 114 часов после замачивания: 1 — нормальный проросток; 2–7 — непроросшие семена. М — маркер pUC/MspI

Отличительная черта ПЦР–профилей непроросших семян — это слабая интенсивность фракций. Часть ПЦР–профилей непроросших зародышей остается на уровне первых суток после замачивания (для сравнения дорожки под номерами 2 и 5 на Рисунке 2 и дорожка номер 2 на Рисунке 1). Этот факт хорошо согласуется с результатами проведенного ранее анализа белковых профилей у таких зародышей, в котором показано, что у них практически отсутствует синтез новых белков [11, с. 16–20].

Другие профили непроросших зародышей (Рисунок 2, дорожки под номерами 3, 4, 6 и 7) очень сильно по составу фракций отличаются от ПЦР–профилей нормально развивающихся проростков как контрольной, так и опытной группы. Эти данные указывают на то, что неспособность к прорастанию у обработанных детергентом TX-100 семян обусловлена значительными изменениями в структурной организации генома.

Изоферментные спектры в зонах GPI1 и GPI2, контролируемых, соответственно генами *Gpi1* и *Gpi2*, в непроросших семенах, обработанных детергентом TX-100, показаны на Рисунке 3. Два из восьми представленных на этом рисунке изоферментных спектров соответствуют нормальным фенотипам (Рисунок 3, дорожки 1 и 5).

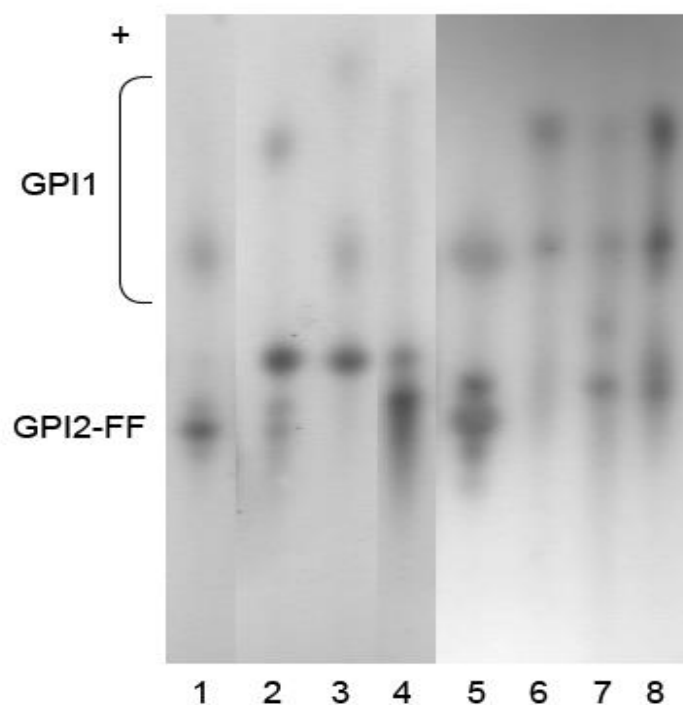


Рисунок 3. Изоферментные спектры GPI в обработанных детергентом TX-100 непроросших семенах сахарной свеклы генотипа *Gpi2-F/Gpi2-F*. 1 и 5 — нормальные спектры GPI; 2–4 и 6–8 — аномальные фенотипы. Движение изоферментов направлено к аноду

Наличие у некоторой части непроросших семян нормальных фенотипов GPI при измененных ПЦР–профилях указывает на существование специфического механизма, который при различных изменениях структурной организации генома, проявляющихся в изменениях ПЦР–профилей, обеспечивает сохранение нормальной экспрессии генов. В то же время логично предположить, что неспособность к прорастанию может возникать вследствие нарушений других локусов при отсутствии изменений в организации локусов *Gpi1* и *Gpi2*. В подавляющем же большинстве непроросших семян изоферментные спектры значительно отличаются от спектров нормальных проростков по одному или нескольким параметрам. Эти различия проявляются в изменении относительной интенсивности изоферментов GPI1 и GPI2, в полном отсутствии изоферментов, контролируемых локусом *Gpi2* и в появлении изоферментов GPI1 и GPI2 с измененной электрофоретической подвижностью (Рисунок 3).

Выявленные здесь особенности изоферментных спектров GPI у непроросших семян сахарной свеклы совпадают с результатами анализа GPI в таком же эксперименте, проведенном на аналогичной гибридной форме сахарной свеклы, но имеющей гетерозиготный генотип *Gpi2-F/Gpi2-S* [5]. В этой работе наблюдались аналогичные изменения относительной интенсивности зон GPI1 и GPI2, исчезновение нормальных изоферментов и появление изоферментов с измененной электрофоретической подвижностью. Это позволяет предполагать существование у данного локуса характерной схемы взаимодействия с ядерной мембраной и независимость этого взаимодействия от генотипа локуса *Gpi2*.

В дальнейшем представляет интерес проведение экспериментов по выявлению связи между конкретными ПЦР–профилями локуса *Gpi1* и определенными типами измененных

изоферментных спектров GPI. Можно полагать, что вызываемое под действием TX-100 нарушение структурной организации генов может сказываться на их экспрессии, что в свою очередь может приводить к снижению жизнеспособности растений. Этот вывод хорошо согласуется с результатами, полученными при изучении влияния TX-100 на морфофизиологические признаки и жизнеспособность растений сахарной свеклы [15]. Поскольку TX-100 отделяет белки от мембран и, следовательно, может отделять нуклеопротеиды от ядерной мембраны, можно заключить, что разнообразие ПЦР-профилей у обработанных TX-100 непрорастающих семян сахарной свеклы обусловлено возникшими под действием детергента TX-100 нарушениями взаимодействия локуса *Gpi1* с ядерной мембраной.

Влияние Тритона X-100 на ПЦР-профили и экспрессию локуса Mel в процессе прорастания семян свеклы. ПЦР-профили локуса *Mel* изменяются у проростков сахарной свеклы в ходе прорастания, однако различий между ПЦР-профилями контрольных и обработанных TX-100 проростков одного возраста нет (Рисунок 4).

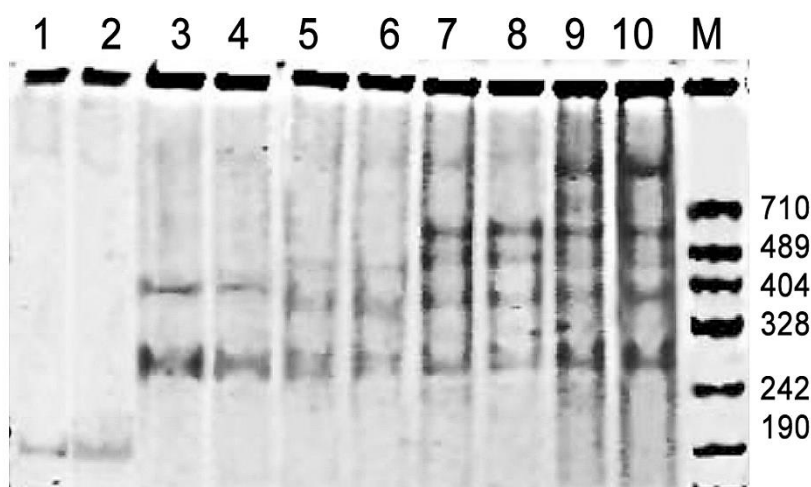


Рисунок 4. Изменение ПЦР-профилей локуса *Mel* контрольных и обработанных Тритоном X-100 растений свеклы в ходе прорастания: 1 — контроль (18 ч), 2 — опыт (18 ч), 3 — контроль (42 ч), 4 — опыт (42 ч), 5 — контроль (66 ч), 6 — опыт (66 ч), 7 — контроль (90 ч), 8 — опыт (90 ч), 9 — контроль (114 ч), 10 — опыт (114 ч). М — маркер pUC/MspI

ПЦР-профили локуса *Mel* у непроросших семян, взятых через 114 часов после замачивания, сходны между собой. Они отличаются от профилей нормально прорастающих проростков этого возраста (Рисунок 5), но идентичны ПЦР-профилям нормальных проростков, взятых через 18 часов после замачивания. Это указывает на то, что неспособность к прорастанию может сказываться уже в первые сутки после замачивания семян и проявляться в блокировании процессов нормального функционирования растительного генома.

На Рисунке 6 в качестве примера представлены изоферментные спектры малик-фермента и глюкозофосфатизомеразы, полученные из экстрактов четырех индивидуальных непроросших семян.

В данном эксперименте экстракт каждого семени анализировали и по малик-ферменту, и по глюкозофосфатизомеразе; номера образцов, принадлежавших каждому семени на обеих электрофореграммах совпадают. Можно видеть, что в непроросших семенах выявляются аномальные изоферментные спектры.

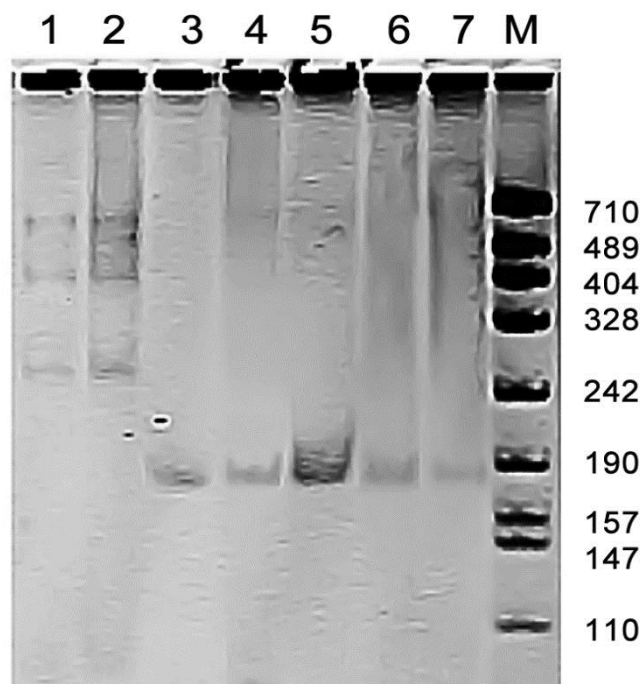


Рисунок 5. ПЦР–профили регуляторной части локуса Me1 контрольного и обработанного TX-100 проростка свеклы, а также обработанных, но непроросших зародышей свеклы через 114 часов после замачивания: 1 — контрольный проросток (114 ч); 2 — обработанный TX-100 проросток (114 ч); 3–7 — непроросшие зародыши, обработанные TX-100 (114 ч).
M — маркер pUC/MspI

Аномалия заключается либо в изменении электрофоретической подвижности фермента, либо в полном отсутствии ферментативной активности.

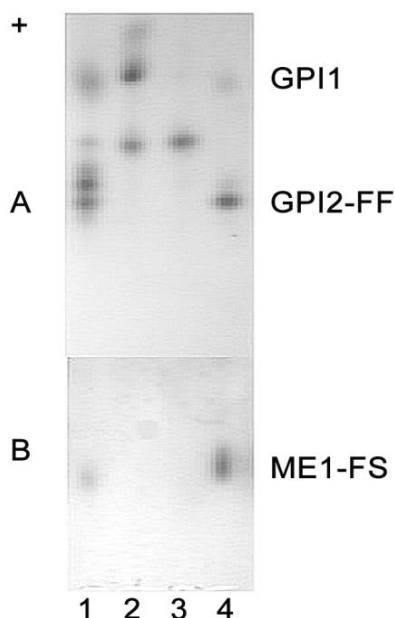


Рисунок 6. Изоферментные спектры GPI и ME1 в одних и тех же непроросших семенах сахарной свеклы, обработанных детергентом TX-100. А — изоферментный спектр GPI в семенах генотипа Gpi2-F/Gpi2-F. В — изоферментный спектр ME1 генотипа Me1-F/Me1-S. 1–3 — аномальные фенотипы, 4 — нормальный спектр GPI и ME1.
Движение изоферментов направлено к аноду

Характер изменчивости ПЦР–профилей локусов *Gpi1* и *Me1* у непроросших после обработки Тритоном X-100 семян свеклы различен. Если по локусу *Me1* отмечено единообразие, то ПЦР–профили локуса *Gpi1* отличаются большим разнообразием. Это может указывать на существование специфичного для каждого локуса характера его взаимодействия с ядерной мембраной. Можно также видеть, что не всегда отсутствие способности к прорастанию связано именно с исследуемыми нами ферментами, поскольку в некоторых таких семенах выявляется нормальный изоферментный спектр. Это говорит о том, что непроращение семени может быть вызвано многими причинами, среди которых в ряде случаев могут быть задействованы также и исследованные нами гено–ферментные системы.

С другой стороны, даже в тех случаях, когда непроращение совпадает с изменениями в исследуемой нами гено–ферментной системе, такое совпадение может быть обусловлено тем, что данная гено–ферментная система является участницей какого-либо более общего измененного и нарушенного процесса, приведшего к потере способности к прорастанию.

Обсуждение результатов

Проращение представляет собой интегральную характеристику всего комплекса биохимических процессов в клетках зародыша. Показано, что обработка детергентом ТХ-100 замедляет проращение семян свеклы, приводит к задержке развития проростков, а также к уменьшению их жизненной силы. При 100% прорастания семян контрольной группы, в опытной группе проросло всего 84% семян. У свеклы рост растений опытной группы отстает в среднем на сутки от контроля. Можно полагать, что обработка детергентом ТХ-100 приводит к изменению процессов, регулируемых структурами, связанными с мембранами. В свою очередь именно это может приводить к замедлению прорастания, а в ряде случаев и к полной потере всхожести.

Показано, что в процессе развития проростков свеклы происходит изменение ПЦР–профилей различных ферментных локусов. Разные ферментные локусы в норме имеют различную динамику изменения ПЦР–профилей. Эти различия характеризуют разную программу участия этих локусов в процессе прорастания, структурное обеспечение которой может быть обеспечено разным характером связи с ядерной мембраной. Не исключено, что именно это определяет разное влияние ТХ-100 на динамику изменения ПЦР–профилей разных ферментных локусов. Если для локуса *Gpi1* из опытной группы растений сахарной свеклы характерна опережающая по сравнению с контролем динамика смены профилей, то свекольный локус *Me1* не показал различий в динамике изменения ПЦР–профилей контрольной и опытной групп.

Особый интерес представляют данные анализа непроросших зародышей свеклы. Например, ПЦР–профили локуса *Me1* непроросших зародышей полностью идентичны профилям контрольных проростков через 18 часов после замачивания, в то время как ПЦР–профили локуса *Gpi1* у непроросших зародышей свеклы отличаются большим разнообразием. Полученные результаты хорошо согласуются с наличием различных аномалий изоферментных спектров в непрорастающих семенах сахарной свеклы. Эти аномалии проявлялись как исчезновение нормальных изоферментов и появление изоферментов с измененной электрофоретической подвижностью [5].

Следует также отметить, что у свеклы обработка ТХ-100 оказывает влияние на регуляторную часть ферментных локусов, практически не затрагивая структурную часть. Одновременное воздействие ТХ-100 на ПЦР–профили ферментных генов и на генную экспрессию показывает, что ТХ-100 оказывает свое основное влияние непосредственно на геном. Для дальнейшего выяснения механизмов воздействия ТХ-100 на геном растительной клетки необходимо привлечение дополнительных молекулярных методов исследования.

Благодарность

Работа поддержана бюджетным проектом VI.60.1.3. Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук.

Список литературы:

1. Махмудова К. Х., Богданова Е. Д., Левитес Е. В. Тритон X-100 индуцирует наследуемые изменения морфологических признаков у *Triticum aestivum* L. // Генетика. 2009. Т. 45. №4. С. 564-567.
2. Makhmudova K. Kh., Vinichenko N. A., Bogdanova E. D., Kirikovich S. S., Levites E. V. Changes in the organization of isozyme loci Me1 and Adh1 induced with Triton X-100 in common wheat lines // *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 2011. V. 2. №3. P. 128-131.
3. Махмудова К. Х., Богданова Е. Д., Кирикович С. С., Левитес Е. В. Оценка стабильности признаков, индуцированных Тритоном X-100 у мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2012. Т. 16. №1. С. 193-201.
4. Kirikovich S. S., Levites E. V. Effect of epimutagen Triton X-100 on morphological traits in sugarbeet (*Beta vulgaris* L.) // *Sugar tech*. 2009. V. 11. №3. P. 307-310.
5. Кирикович С. С., Левитес Е. В. Экспрессия ферментных генов под воздействием колхицина и Тритона X-100 в непрорастающих семенах сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Генетика. 2011. Т. 47. №1. С. 57-64.
6. Кирикович С. С., Левитес Е. В. Влияние Тритона X-100 на генетическое расщепление и проявление признака одно– двусемядольности у сахарной свеклы // Генетика. 2013. Т. 49. №5. С. 602-608.
7. Виниченко Н. А., Кирикович С. С., Левитес Е. В. Влияние обработки эпимутагеном «Тритон X-100» на организацию локуса Adh1 сахарной свеклы // Фактори експериментальної еволюції організмів (Збірник наукових праць). Київ: Логос, 2009. Т. 7. С. 5-9.
8. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genomefingerprinting by simple sequence repeat (ISSR)–anchored polymerase chain reaction amplification // *Genomics*. 1994. №20. P. 176-183.
9. Виниченко Н. А., Кирикович С. С., Левитес Е. В. Модификация метода ISSR–амплификации для изучения изменчивости аллелей локуса Adh1 в агамоспермном потомстве сахарной свеклы // Фактори експериментальної еволюції організмів (Збірник наукових праць). Київ: Логос, 2006. Т. 3. С. 80-84.
10. Виниченко Н. А., Кирикович С. С., Левитес Е. В. Полиморфизм ПЦР–профилей и экспрессии аллелей локуса Adh1 в агамоспермных потомствах сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Генетика. 2008. Т. 44. №8. С. 1-5.
11. Виниченко Н. А., Кирикович С. С., Левитес Е. В. Влияние обработки эпимутагеном Тритон X-100 на белковые спектры и динамику прорастания семян сахарной свеклы // Фактори експериментальної еволюції організмів (Збірник наукових праць). Київ: Логос, 2010. Т. 9. С. 16-20.
12. Doyle J. J., Doyle J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue // *Phytochem. Bull*. 1987. V. 19. P. 11-15.
13. Meizel S., Markert C. L. Malate dehydrogenase of Marine Snail *Pyranassa obsoleta* // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1967. V.122. P. 753-765.
14. Левитес Е. В. Генетика изоферментов растений. Новосибирск: Наука, Сибирское отделение, 1986. 144 с.
15. Levites E. V., Kirikovich S. S. Effect of Triton X-100 on the viability and morpho–physiological traits in sugarbeet // *Sugar Tech*. 2014. V. 16. P. 442-445.

References:

1. Makhmudova, K. Kh., Bogdanova, E. D., & Levites, E. V. (2009). Triton X-100 induces heritable changes of morphological characters in *Triticum aestivum* L. *Russian Journal of Genetics*, 45, 495-498

2. Makhmudova, K. Kh., Vinichenko, N. A., Bogdanova, E. D., Kirikovich, S. S., & Levites, E. V. (2011). Changes in the organization of isozyme loci Me1 and induced with Triton X-100 in common wheat lines. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2, 128-131
3. Makhmudova, K. Kh., Bogdanova, E. D., Kirikovich, S. S., & Levites, E. V. (2012). Estimation of the stability of traits induced by Triton X-100 in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Russian Journal of Genetics: Applied research*, 16, 193-201
4. Kirikovich, S. S., & Levites, E. V. (2009). Effect of epimutagene Triton X-100 on morphological traits in sugarbeet (*Beta vulgaris* L.). *Sugar Tech.*, 11, 307-310
5. Kirikovich, S. S., & Levites, E. V. (2011). Expression of enzyme-encoding genes under the influence of colchicine and Triton X-100 in nongerminating seeds of sugarbeet (*Beta vulgaris* L.). *Russian Journal of Genetics*, 47, 49-55
6. Kirikovich, S. S., & Levites, E. V. (2013). Effect of Triton X-100 on genetic segregation and manifestation of the trait of mono- and dicotyledonousness in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Russian Journal of Genetics*, 49, 517-522
7. Vinichenko, N. A., Kirikovich, S. S., & Levites, E. V. (2009). Effect of treatment by an epimutagen "Triton X-100" on the organization of locus *Adh1* in sugar beet. Factors of experimental evolution of organisms. Kyiv, Logos, 7, 5-9
8. Zietkiewicz, E., Rafalski, A., & Labuda, D. (1994). Genomefingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20, 176-183
9. Vinichenko, N. A., Kirikovich, S. S., & Levites, E. V. (2006). A modification of method of ISSR-amplification to study the variability of alleles of locus *Adh1* in agamosperous offspring of sugar beet. Factors of experimental evolution of organisms. Kyiv, Logos, 3, 80-84
10. Vinichenko, N. A., Kirikovich, S. S., & Levites, E. V. (2008). Polymorphism of PCR profiles and expression of alleles at the locus *Adh1* in agamosperous progeny of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Russian Journal of Genetics*, 44, 1092-1095
11. Vinichenko, N. A., Kirikovich, S. S., & Levites, E. V. (2010). Influence of epimutagen Triton X-100 on protein spectra and dynamics of the sugar beet seed germination. Factors of experimental evolution of organisms. Kyiv, Logos, 9, 16-20
12. Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19, 11-15
13. Meizel, S., & Markert, C. L. (1967). Malate dehydrogenase of marine snail *Ilyanassa obsoleta*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 122, 753-765
14. Levites, E. V. (1986). *Genetika izofermentov rastenii (Genetics of plant isozymes)*. Novosibirsk, Nauka, 144
15. Levites, E. V., & Kirikovich, S. S. (2014). Effect of Triton X-100 on the viability and morpho-physiological traits in sugarbeet. *Sugar Tech.*, 16, 442-445

Работа поступила
в редакцию 05.04.2017 г.

Принята к публикации
10.04.2017 г.

Ссылка для цитирования:

Виниченко Н. А., Кирикович С. С., Левитес Е. В. Влияние Тритона X-100 на изменения ПЦР-профилей ферментных генов у *Beta vulgaris* L. в процессе прорастания семян // Бюллетень науки и практики. Электрон. журн. 2017. №5 (18). С. 39-49. Режим доступа: <http://www.bulletennauki.com/vinichenko> (дата обращения 15.05.2017).

Cite as (APA):

Vinichenko, N., Kirikovich, S., & Levites, E. (2017). Influence of Triton X-100 on the PCR-profiles of enzyme genes and isozyme patterns in *Beta vulgaris* L. during germination. *Bulletin of Science and Practice*, (5), 39-49