

УДК 631.523:575

БІОЕЛЕКТРИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЯДЕРНОГО ГЕНОМУ ЗАЛЕЖНО ВІД ЯРУСУ ЛИСТКА Й ДІАМЕТРА ЯДРА У ВИДІВ РОДУ *CAPSICUM* І МІЖВИДОВИХ ГІБРИДІВ

© 2009 р. П. Ю. Монтвід

*Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва
(Харків, Україна)*

*Інститут овочівництва і баштанництва
Української академії аграрних наук
(Селекційне, Харківська обл., Україна)*

Проведено дослідження залежності біоелектричних властивостей ядерного геному від ярусу листка і діаметра електрофоретично рухомих і нерухомих клітинних ядер у видів і міжвидових гібридів перцю. Виявлено, що у видів перцю рухомі ядра мають менший діаметр в порівнянні з нерухомими, а найбільші значення електронегативності спостерігалися в покривній тканині верхнього листка. У міжвидових гібридів прояв даного ефекту був неоднозначний. Зроблено висновок про зміни біоелектричних властивостей ядерного геному в процесі розвитку рослинного організму і тканин.

Ключові слова: *Capsicum L.*, дикорослі види, міжвидові гібриди, ядро, електронегативність, епідерміс, листок

Актуальною проблемою біофізичної генетики залишається прояв біоелектричних властивостей ядерного геному в онтогенезі та їх залежність від функціональної активності клітинного ядра. Так, стимуляція синтезу РНК в клітинах печінки збільшувала електрофоретичну рухомість ядер, в той час як інгібування актиноміцином D призводило до протилежного ефекту (Шахбазов, Шкорбатов, 1992). У стимульованих гібереліном проростків гороху при нагріванні відбувалося зниження електронегативності (Шкорбатов, Шахбазов, 1983). Збільшення щільності хроматину під впливом видимого світла призводило до зменшення електронегативності ядер (ЕНЯ), в той час як стимулюючі дози мікрохвильового випромінювання її збільшували (Шахбазов и др., 1991). Виявлено, що об'єм ядер із рухомих в електричному полі хроматином, а також об'єм їх ядерця істотно перевищував об'єм ядер з електрофоретично нерухомих хроматином (Шахбазов, Шкорбатов, 1992). Кількість гранул гетерохроматину в клітинах бу-

кального епітелію, пов'язана із зниженням транскрипційної активності, тісно й негативно корелювала з ЕНЯ (Шкорбатов и др., 1999). Величина пувів теплового шоку, які утворюються внаслідок активації біосинтетичних процесів, навпаки, тісно й позитивно корелювала з даним параметром (Samilo et al., 1997).

Зміни ЕНЯ пов'язані із проходженням організмом певних стадій розвитку. Так, підвищення значень даного параметра спостерігали під час проростання цибулин в клітинах епідермісу (Чешко, Шахбазов, 1977). Аналогічний ефект відомий для дрозоділи в періоди розвитку, коли змінюється генна активність (Страшнюк и др., 1997; Samilo et al., 1997).

Вікову залежність ЕНЯ виявлено для клітин людини. Встановлено, що даний показник досягає свого максимуму у 21-24 роки, після чого відбувається його поступове зниження (Шахбазов, Колупаєва, 1999). ЕНЯ клітин букального епітелію змінюється в процесі їх росту й диференціації, досягаючи максимуму в клітинах середнього шару тканини (Шахбазов, Шкорбатов, 1992). Сезонні та вікові коливання ЕНЯ встановлено для бабака (Шаламов и др., 1993).

Адреса для кореспонденції: Монтвід Павло Юрійович, Інститут овочівництва і баштанництва УААН, п/в Селекційне Харківського р-ну Харківської обл., 62478, Україна; e-mail: montvid@mail.ru

Проте, зв'язок ЕНЯ з ярусом закладки листка і розміром ядра у рослин залишається дослідженим недостатньо.

Метою роботи було дослідження біоелектричних властивостей ядерного геному в межах верхнього й фізіологічно активного (в паренхімі якого спостерігається найвища асиміляційна активність, для рослин родини пасльонових – четвертого зверху (Жученко, 1980)) листків та діаметра електрофоретично рухомих і нерухомих ядер у дикорослих видів перцю й міжвидових гібридів.

МЕТОДИКА

Визначення біоелектричних властивостей ядерного геному проводили на дикорослих видах перцю (*Capsicum chacoense* Huns., *C. chinense* Jacq., *C. frutescens* L., *C. baccatum* L., *C. praetermissum*, *C. eximium*), культурному виду *Capsicum annuum* L. (сорт Надія), міжвидових гібридах F₁ (*Capsicum chacoense* × *C. annuum*, *Capsicum baccatum* × *C. pendulum*), доборах з F₂ *Capsicum frutescens* × *C. annuum* за проявом господарсько-цінних ознак (загальна маса плодів на рослині, розмір плоду, товщина перикарпію, дружність досягання плодів). Рослини вирощували в умовах захищеного ґрунту. γ-опромінення насіння міжвидових гібридів *Capsicum chacoense* × *C. annuum* і *Capsicum baccatum* × *C. pendulum* в дозі 15 кР здійснювали за допомогою установки закритого типу „Исследователь” (180 Р/хв). Електронегативність клітинних ядер (відсоток ядер, які рухаються в напрямі анода) визначали за допомогою приладу «Потенціал-1» в плоскій камері для внутрішньоклітинного мікроелектрофорезу (1 × 1 см) – предметному склі з електродами, що не поляризуються, за напруги 15-20 В і струму 0,04 мА у вечірній час (з 17 до 22 год) за методикою В.Г. Шахбазова в нашій модифікації для пасльонових культур (Монтвід и др., 2002). Облік вели при збільшенні мікроскопа «Микмед-1» ×200-×400. Для спостережень використовували клітини покривної тканини середньої жилки нижньої частини четвертого зверху листка, який у рослин родини пасльонових вважається фізіологічно активним (Жученко, 1980), і верхнього листка.

Діаметр рухомих і нерухомих ядер вимірювали за допомогою окуляр-мікрометра „Ломо”.

Електронегативність досліджували на 5 рослинах і 800-1000 клітинах, діаметр ядра – на 50 клітинах для кожного виду. Цифрові дані

обробляли методами варіаційної та у-статистики (Лакин, 1990). Діаметр рухомих і нерухомих ядер порівнювали з урахуванням t-критерію Стьюдента, відсоток електронегативності – u-критерію Фішера (Лакин, 1990).

РЕЗУЛЬТАТИ

Згідно з результатами наших досліджень, в усіх дикорослих видів перцю відбувалося достовірне зростання ЕНЯ в клітинах покривної тканини верхнього листка порівняно з фізіологічно активним (таблиця). Найбільші значення ЕНЯ спостерігалися у культурного виду *Capsicum annuum*, що добре узгоджується з результатами, отриманими нами раніше (Монтвід та ін., 2008). Рухомі ядра мали достовірно менший діаметр порівняно з нерухомими (таблиця). Для виду *Capsicum frutescens* виявлено протилежні закономірності. У даному разі електронегативних ядер у клітинах епідермісу верхнього листка не зафіксовано, діаметр рухомого ядра був значно більшим порівняно з нерухомих (таблиця).

Для міжвидових гібридів виявлено інші закономірності. ЕНЯ у рослин F₁ *Capsicum chacoense* × *C. annuum* в клітинах епідермісу верхнього та четвертого листків достовірно не відрізнялася як в контролі, так і у варіанті з γ-опроміненням насіння (таблиця). Проте, діаметр рухомого ядра був майже вдвічі меншим в порівнянні з нерухомих. У гібрида *Capsicum baccatum* × *C. pendulum* у варіанті без опромінення насіння ЕНЯ не зафіксовано, з опроміненням – виявлено, проте найбільшими значеннями відрізнялися клітини четвертого, але не верхнього листків (таблиця).

Аналогічна тенденція зберігалася в F₂. Серед досліджених кращик доборів (зі скорельованим проявом ознак урожайності, маси й розміру плоду, дружності досягання) у двох гібридів ЕНЯ не спостерігали (таблиця). У доборі 3 відмінності за даним параметром були недостовірними, а у доборі 4 максимальні його значення виявлено для фізіологічно активного листка (таблиця). Проте, у доборів 3 і 4 діаметр електрофоретично рухомого ядра був достовірно меншим порівняно з нерухомих (таблиця).

Слід зазначити, що одиничні заряджені (електрофоретично рухомі) ядерця виявлено лише у міжвидового гібрида *Capsicum chacoense* × *C. annuum* у варіанті без опромінення та дикорослого виду *Capsicum praetermissum*.

БІОЕЛЕКТРИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ

Результати біоелектричної і каріометричної оцінки

Вид, комбінація схрещування	Електронегативність ядер покривної тканини листка, %		Діаметр ядра, м × 10 ⁻⁶	
	верхнього	фізіологічно активного	рухомого	нерухомого
Дикорослі види				
<i>Capsicum annuum</i>	12,9*	8,70	7,86±0,11*	11,75±0,12
<i>Capsicum frutescens</i>	0*	2,67	13,17±0,20*	8,80±0,12
<i>Capsicum praetermissum</i>	10,0*	5,35	8,34±0,21*	13,50±0,16
<i>Capsicum chacoense</i>	4,83*	1,45	6,24±0,10*	9,64±0,11
<i>Capsicum pendulum</i>	7,90*	3,0	5,94±0,10*	11,07±0,08
<i>Capsicum chinense</i>	3,36*	1,90	5,67±0,08*	10,61±0,10
<i>Capsicum eximium</i>	11,20*	6,40	6,02±0,08*	10,85±0,09
Міжвидові гібриди				
<i>Capsicum chacoense</i> × <i>C. annuum</i> (контроль)	1,20	1,20	8,34±0,20*	14,23±0,17
<i>Capsicum chacoense</i> × <i>C. annuum</i> (15 кР)	1,13	1,63	6,48±0,10*	12,42±0,15
<i>Capsicum baccatum</i> × <i>C. pendulum</i> (контроль)	0	0	-	9,91±0,12
<i>Capsicum baccatum</i> × <i>C. pendulum</i> (15 кР)	0,40*	2,0	6,83±0,12*	8,10±0,20
Добори з міжвидової популяції F ₂ <i>Capsicum frutescens</i> × <i>C. annuum</i>				
1	0,88*	2,66	7,43±0,10*	13,93±0,12
2	0	0	-	15,71±0,09
3	0,50	1,0	8,10±0,17*	12,50±0,12
4	0	0	-	14,31±0,09

Примітка: * – відмінності між ЕНЯ в межах верхнього та фізіологічно активного листка, діаметром рухомого та нерухомого ядра достовірні при $p < 0,05$

Таким чином, ЕНЯ має найбільші значення у верхнього листка порівняно з четвертим зверху у видів, що не спостерігається у міжвидових гібридів, а діаметр електрофоретично нерухомого ядра істотно перевищує діаметр рухомого.

ОБГОВОРЕННЯ

Відомо, що заряд ядра залежить від його функціональної активності, що в свою чергу відображається на стані хроматину й синтезі РНК (Шкорбатов, Шахбазов, 1983). Менший діаметр електрофоретично рухомого ядра порівняно з нерухомим, на перший погляд, є парадоксальним, проте дане явище пояснюється наступним чином. По-перше, епідерміс виконує в основному захисну функцію (Рейвн и др., 1990), тому із зростанням віку клітин, коли органели (у то-

му числі ядра) досягають граничних розмірів (після розвитку повноцінної клітинної оболонки) можна очікувати істотного зниження транскрипційної активності (Шахбазов, Шкорбатов, 1992). Збільшення геометричних параметрів ядра, не виключено, пояснюється також явищем ендополіплоїдії, що призводить до кратного зростання вмісту ДНК (Ченцов, 1995). Проте ядро збільшеного об'єму має більший опір в гелеподібному середовищі цитоплазми, тому навіть високий заряд часто не може забезпечити його електрофоретичну рухомість (Шкорбатов и др., 1992). Все це пояснює зростання діаметра рухомого ядра порівняно з нерухомим у *Capsicum frutescens* і протилежний ефект – в інших шести досліджених видів. Виявлені одиничні рухомі ядрця у *Capsicum praetermissum* і міжвидового гібрида *Capsicum chacoense* × *C. annuum*, ймовірно, свідчать про високу його активність.

Неоднозначну залежність ЕНЯ від ярусу листка можна пояснити тим, що найбільш онтогенетично молодим є верхній листок, клітини якого перебувають у стані активного росту й розвитку. Наступні листки мають більший вік і їх функцією є фотосинтез й асиміляційні процеси взагалі. Не виключено, що цим і пояснюється зниження ЕНЯ в межах клітин покривної тканини листка, що вважається фізіологічно активним (Жученко, 1980), процеси синтезу у якого відбуваються в паренхімі, а швидкість розвитку епідермісу знижується. Знижений відсоток електронегативності у міжвидових гібридів, напевно, пов'язаний із неповною гомологічністю хромосом, що призводить до зменшення біосинтетичної активності. Так, у гібрида *F₁ Capsicum baccatum* × *C. pendulum* ЕНЯ не зафіксовано взагалі, і лише γ -опромінення насіння призвело (не виключено, що у зв'язку зі стимулюючим ефектом) до появи електрофоретично рухомих ядер. У даному разі ЕНЯ набуває достовірно вищих значень в межах не верхнього, а четвертого зверху листка. Повна відсутність електронегативних ядер у двох з чотирьох доборів з розщеплюваних міжвидових популяцій *F₂* також пояснюється, ймовірно, збереженням порушення генетичного балансу у даних рослин, незважаючи на прояв господарсько-цінних ознак на високому рівні. У генотипів, де ЕНЯ все ж виявлено, зберігається тенденція до збільшення даного параметра в клітинах фізіологічно активного листка. Не виключено, що причиною цього явища є гібридна природа досліджених генотипів. Виявлені нами зміни ЕНЯ в процесі онтогенезу організму (у даному разі – дикорослих видів і міжвидових гібридів перцю) і розвитку окремої тканини добре узгоджуються з відомостями, одержаними раніше на інших об'єктах, зокрема тваринних (Шахбазов, Шкорбатов, 1992; Шахбазов и др., 1991).

Таким чином, наші результати свідчать про відмінності прояву ЕНЯ в онтогенезі у видів роду *Capsicum* і міжвидових гібридів, отриманих на їх основі. Зв'язок діаметра ядра з його електрофоретичною рухомістю пояснюється впливом на формування даного параметра не тільки безпосередньо біоелектричних властивостей, а й механічних властивостей цитоплазми, що необхідно враховувати при використанні методу внутрішньоклітинного електрофорезу на практиці.

Автор висловлює вдячність кандидатам біологічних наук [Л.М. Чепель] і О. В. Горенській, старшому інженеру О. В. Салову за методичну та технічну допомогу під час проведення досліджень.

ЛІТЕРАТУРА

Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений. – Кишинев: Штиинца, 1980. – 586 с.

Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.

Монтвид П.Ю., Самовол А.П., Шахбазов В.Г., Чепель Л.М. Связь частоты нарушенной мейоза и биоэлектрических свойств клеточного ядра у гетерозигот *F₁* баклажана с разной онтогенетической приспособленностью // Вісн. проблем біології і медицини. – 2002. – № 9-10. – С. 21-25.

Монтвид П.Ю., Чепель Л.М., Салов О.В. Біоелектричні властивості клітинних ядер у дикорослих видів томата, перцю й баклажана // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. 2008. – Вип. 2(14). – С. 90-95.

Рейвн П., Эверт Р., Айкхорн С. Современная ботаника. – М.: Мир, 1990. – Т. 2. – 344 с.

Страшнюк В.Ю., Аль-Хамед С., Непейвода С.Н. Цитологическое и цитобиофизическое исследование температурных адаптаций и эффекта гетерозиса у *Drosophila melanogaster* Meig. // Генетика. – 1997. – Т. 33, № 6. – С. 793-799.

Шаламов Ю.А. Шахбазов В.Г., Заливадная И.В. Возрастные и сезонные изменения электрокинетических свойств клеточных ядер буккального эпителия сурков // Тез. докл. V Международн. Совещания по суркам стран СНГ. – Харьков, 1993. – С. 41.

Ченцов Ю.С. Общая цитология. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1995. – 384 с.

Чешко В.Ф., Шахбазов В.Г. О влиянии ингибиторов и активаторов внутриклеточного метаболизма на электрофоретическую подвижность и размеры клеточных ядер в связи со структурой ядерной оболочки // Научн. докл. высш. школы: Биол. науки. – 1977. – № 1. – С. 47-51.

Шахбазов В.Г., Колупаева Т.В. Дзета-потенциал клеточного ядра – показатель биологического возраста и меры здоровья // Тез. докл. II Съезда биофизиков России. – М., 1999. – С. 234-235.

Шахбазов В.Г., Шкорбатов Ю.Г. Биоэлектрические свойства клеточных ядер // Успехи соврем. биологии. – 1992. – Т. 112, № 4. – С. 499-511.

Шахбазов В.Г., Шкорбатов В.Г., Грабина В.А. Влияние электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на электрокинетические свойства хроматина и клеточных ядер // Молекулярная генетика и биофизика. – 1991. – № 16. – С. 30-33.

Шкорбатов Ю.Г., Шахбазов В.Г. Различия электрического заряда хроматина ядер гороха в зависимости от функциональной активности клеток //

БІОЕЛЕКТРИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ

Ядерные белки и экспрессия генома. – Киев, 1983. – С. 147.

Шкорбатюв Ю.Г., Шахбазов В.Г., Горенская О.В. и др. Изменение состояния ядра и хроматина клеток человека при действии гормональных факторов *in vitro* // Цитология и генетика. – 1999. – Т. 33, №5. – С. 64-71.

Samilo S.M., Strashnyuk V. Yu., Shakhbazov V.G. Genetic aspects of fitness in relationships with the bioelectric properties of cell nuclei and functions of chromosomes in *Drosophila melanogaster* Meig. // School of Fundamental Medicine Journ. – 1997. – V. 3, № 2. – P. 25-28.

Надійшла до редакції
21.11.2008 р.

BIOELECTRICAL PROPERTIES OF NUCLEI GENOME IN DEPENDENCE FROM LEAF TIER AND NUCLEI DIAMETER IN *CAPSICUM* GENUS SPECIES AND INTERSPECIFIC HIBRIDS

P. Yu. Montvid

*V.V. Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University
(Kharkiv, Ukraine)
Institute of Vegetables and Melon
Ukrainian Academy of Agrarian Sciences
(Selektsijne, Kharkiv reg., Ukraine)*

The investigations of nuclei genome bioelectrical properties dependence from leaf tier and nuclei diameter in pepper genus species and interspecific hybrids have been conducted. It is revealed minimum diameter of electroforetic movable nuclei in comparison with immovable and maximum indices of electronegativity in top leaf epidermis. Diverse effect is observed for interspecific hibrids. The conclusion is drawn about nuclei genome bioelectrical properties changes during plant organism and its tissues development.

Key words: *Capsicum L.*, wild species, interspecific hybrids, nucleus, electronegativity, epidermis, leaf

БИОЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЯДЕРНОГО ГЕНОМА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЯРУСА ЛИСТА И ДИАМЕТРА ЯДРА У ВИДОВ РОДА *CAPSICUM* И МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ

П. Ю. Монтвид

*Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева
(Харьков, Украина)
Институт овощеводства и бахчеводства
Украинской академии аграрных наук
(Селекционное, Харьковской обл., Украина)*

Проведены исследования зависимости биоэлектрических свойств клеточных ядер от яруса листа и диаметра электрофоретически подвижных и неподвижных ядер у видов и межвидовых гибридов перца. Выявлено, что у видов перца подвижные ядра имели меньший диаметр по сравнению с неподвижными, а наибольшие значения электроотрицательности наблюдались в покровной ткани верхнего листа. У межвидовых гибридов проявление данного эффекта было неоднозначным. Сделан вывод об изменениях биоэлектрических свойств ядерного генома в процессе развития растительного организма и тканей.

Ключевые слова: *Capsicum L.*, дикорастущие виды, межвидовые гибриды, ядро, электроотрицательность, эпидермис, лист