

УДК 631.523:575

БІОЕЛЕКТРИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЯДЕРНОГО ГЕНОМУ ЗАЛЕЖНО ВІД ЯРУСУ ЛИСТКА Й ДІАМЕТРА ЯДРА У ПРЕДСТАВНИКІВ РОДІВ *LYCOPERSICON* T. I *SOLANUM* L.

© 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 й діаметра електрофоретично рухливих і нерухливих клітинних ядер у видів родів *Lycopersicon* T. і *Solanum* L. Виявлено, що рухливі ядра відрізнялися меншим діаметром порівняно з нерухливими, а найбільші значення електронегативності спостерігалися в покривній тканині верхнього листка. Зроблено висновок про зміни біоелектричних властивостей ядерного геному в процесі розвитку рослинного організму.

Ключові слова: *Lycopersicon* T., *Solanum* L., ядро, електронегативність, епідерміс, рослинна клітина, діаметр ядра, електрофоретична рухливість

Прояв біоелектричних властивостей ядерного геному в онтогенезі, їх залежність від функціональної активності, будови й геометричних параметрів клітинного ядра залишається актуальною проблемою біофізичної генетики. Так, встановлено позитивний зв'язок між транскрипційною активністю та зарядом ядра, основними детермінантами якого є молекули ДНК, РНК, білків (Шахбазов, Шкорбатов, 1992). Виявлено, що стимуляція синтезу РНК в клітинах печінки збільшувала електрофоретичну рухливість ядер, в той час як блокада актиноміцином Д призводила до протилежного ефекту (Чешко, Шахбазов, 1977). Іншими дослідженнями встановлено збільшення об'єму ядра із зменшенням синтезу РНК за впливу даного антибіотика (Казьмин, 2002). У *Arabidopsis thaliana*, *Allium cepa* й *Chrisantemum multiflorum* спостерігали позитивний зв'язок між вмістом ДНК й геометричними параметрами ядра (Jovtcheva et al., 2006). Відмінності

за даними показниками описано для культурних й дикорослих видів рису (Nagato et al., 1981). Виявлено, що зростання щільності хроматину під впливом видимого світла пов'язано із зниженням електронегативності ядер (ЕНЯ) (Шахбазов и др. 1991). У гороху об'єм ядер із рухливим в електричному полі хроматином істотно перевищував об'єм ядер з електрофоретично нерухливим хроматином (Шкорбатов, Шахбазов, 1983). Кількість гранул гетерохроматину в клітинах букального епітелію людини, яка пов'язана із зниженням транскрипційної активності, тісно й негативно корелювала з ЕНЯ (Шкорбатов и др., 1999).

Зміни ЕНЯ, пов'язані із проходженням організмом певних стадій розвитку, виявлено для цибулі (Шахбазов, Шкорбатов, 1992), дрозофіли (Samilo et al., 1997), бабака (Шаламов и др., 1993), людини (Шахбазов, Колупаева, 1999).

Таким чином, питання щодо прояву ЕНЯ у зв'язку з геометричними параметрами ядра та в онтогенезі рослин потребують подальших досліджень.

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

МОНТВІД

Метою роботи було дослідження особливостей прояву біоелектричних властивостей ядерного геному та виявлення залежності ЕНЯ від ярусу листка й діаметра електрофоретично рухливих і нерухливих ядер у представників родів *Lycopersicon* T. і *Solanum* L.

МЕТОДИКА

Експерименти з дослідження біоелектричних властивостей ядерного геному проводили на рослинах видів баклажана (*Solanum melongena* L., *S. aetiopicum aculeatum* group, *S. aetiopicum Gilo* group (*S. gilo* (Raddy)), *S. aetiopicum Shum* group, *S. anguivi* Lam., *S. incanum* group A (*S. lampilacanthum* L.), *S. incanum* group C (*S. incanum* L.), *S. linnaeum* L., *S. macrocarpon* L., *S. sisymbriifolium* Lam.) й томата (*Lycopersicon esculentum* Mill., *L. esculentum* var. *cerasiforme* Mill., *L. esculentum* var. *pimpinellifolium* Mill., *L. chilense* Dun., *L. hirsutum* Humb et Bonpl., *L. peruvianum* Mill., *L. peruvianum* var. *humifusum* C.H. Mull., *L. cheesmanii typicus* R., *L. cheesmanii* var. *minor* Hook), які вирощували в умовах захищеного ґрунту. Зразки даних видів надані генбанками INRA Improvement Centre for Market-Garden Plants (Montfavet Cedex, France) та Abt. Genbank, Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (Gatersleben) (*S. macrocarpon* L. й *S. sisymbriifolium* Lam.).

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, при напрузі 15-20 В і силі струму 0,04 мА у вечірній час (з 17 до 22 год) за методикою В.Г. Шахбазова у нашій модифікації для пасльонових культур (Монтвід та ін., 2008). Облік вели при збільшенні мікроскопа «Микмед-1» ×200-×400. Для спостережень використовували клітини покривної тканини серединної жилки нижньої частини четвертого зверху та верхнього листків.

Діаметр рухливих і нерухливих ядер вимірювали за допомогою окуляр-мікрометра „Ломо”.

Електронегативність досліджували на п'яти рослинах і 800-1000 клітинах, геометричні параметри ядра – на 50 клітинах для кожного виду. Цифрові дані обробляли методами варіаційної та χ^2 -статистик і кореляційного аналізу (Лакин, 1990). Діаметр рухливих і нерухливих ядер порівнювали з використанням t -критерію Стьюдента, відсоток електронегативності – за допомогою χ^2 -критерію Фішера (Лакин, 1990).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

У семи з 11 видів баклажана значення ЕНЯ в межах епідермісу верхнього листка були достовірно більшими порівняно з четвертим зверху (рис. 1). Проте, у *S. aetiopicum Gilo*

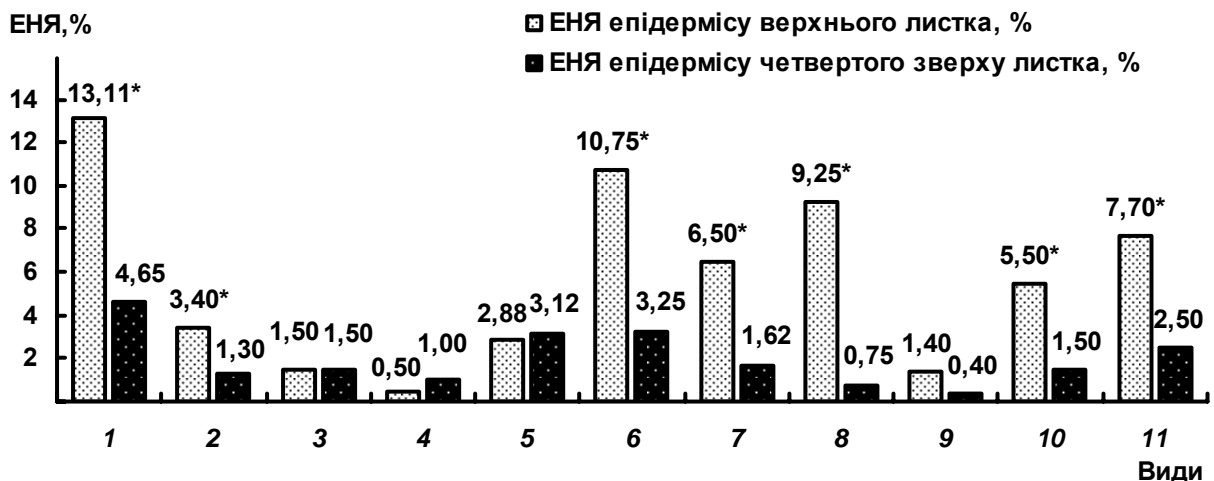


Рис. 1. Прояв електронегативності (ЕНЯ, %) клітинних ядер залежно від ярусу листка у представників роду *Solanum* L.

Тут і на рис. 2: 1 – *S. melongena*, 2 – *S. aetiopicum aculeatum* group, 3 – *S. aetiopicum Gilo* group, 4 – *S. aetiopicum Cumba* group, 5 – *S. aetiopicum Shum* group, 6 – *S. anguivi*, 7 – *S. incanum* group A, 8 – *S. Linnaeum*, 9 – *S. marginatum*, 10 – *S. macrocarpon*, 11 – *S. sysimbrifolium*;

* – відмінності між верхнім та четвертим зверху листками достовірні при $p < 0,05$.

БІОЕЛЕКТРИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ

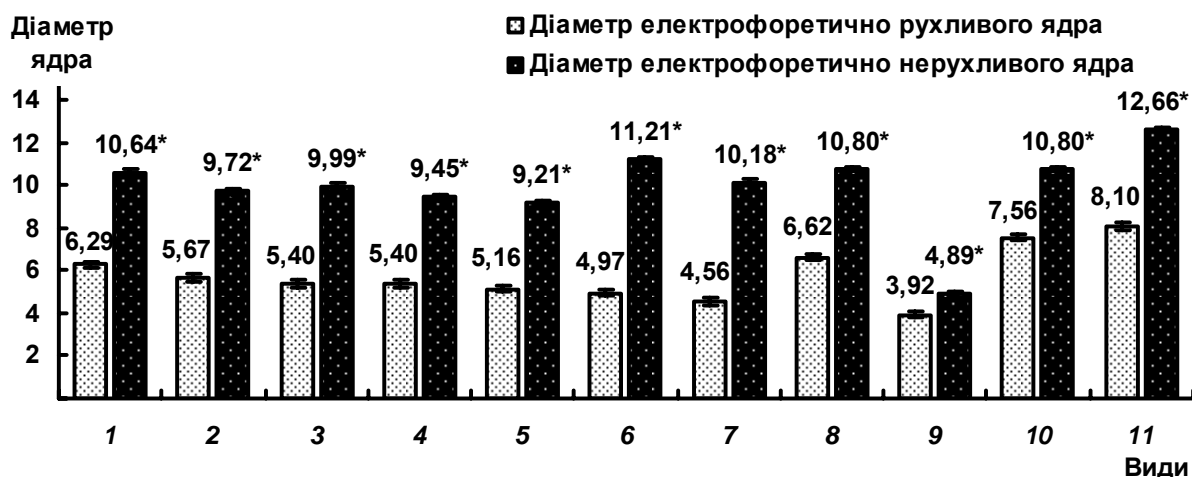


Рис. 2. Залежність діаметра клітинного ядра ($m \times 10^{-6}$) від його електрофоретичної рухливості у представників роду *Solanum* L. Умовні позначення, як на рис. 1.

group, *S. aetiopicum* Cumba group, *S. aetiopicum* Shum group, *S. marginatum* даний ефект не спостерігали (див. рис. 1). Діаметр електрофоретично нерухливого клітинного ядра істотно перевищував діаметр рухливого ядра у рослин усіх досліджених видів (рис. 2). У видів томата найбільші значення ЕНЯ в клітинах верхнього листка порівняно з фізіологічно активним встановлені для *L. esculentum*, *L. cheesmanii* var. *minor*, *L. hirsutum*, *L. chilense* (рис. 3). Протилежний ефект спостерігали у *L. cheesmanii typicus* і *L. peruvianum*.

Для напівкультурних різновидів *L. esculentum* var. *cerasiforme*, *L. esculentum* var. *pimpinellifolium*, а також *L. peruvianum* var. *humifusum* відмінностей за параметром ЕНЯ між верхнім та четвертим зверху листком не виявлено (див. рис. 3). Як і у досліджених видів баклажана, у представників роду *Lycopersicon* діаметр електрофоретично нерухливого ядра істотно перевищував діаметр електрофоретично рухливого ядра (рис. 4).

Досліджені параметри (за винятком ЕНЯ епідермісу четвертого зверху листка і діаметра електрофоретично рухливого ядра) достовірно корелювали між собою. Так, середні кореляції виявлено для ЕНЯ епідермісу верхнього листка з ЕНЯ епідермісу четвертого зверху листка ($r = +0,58 \pm 0,18$), між діаметром електрофоретично рухливого ядра ($r = +0,47 \pm 0,21$) і діаметром електрофоретично нерухливого ядра ($r = +0,51 \pm 0,21$), а також для ЕНЯ епідермісу четвертого зверху листка і діаметра електрофоретично нерухливого ядра ($r = +0,52 \pm 0,20$). Тісно корелювали діаметри електрофоретично ру-

хливих і нерухливих клітинних ядер ($r = +0,73 \pm 0,16$).

Відомо, що заряд ядра залежить від його функціональної активності, що, в свою чергу, відбивається на стані хроматину й синтезі РНК (Шахбазов, Шкорбатов, 1992). Менший діаметр електрофоретично рухливого ядра порівняно з нерухливим пояснюється наступним чином. Так, однією з детермінант заряду ядра є РНК, у зв'язку з чим активація транскрипції призводить до зростання ЕНЯ (Шахбазов, Шкорбатов, 1992). Згідно з літературними даними, в окремих випадках рівень синтезу РНК негативно корелює з об'ємом даного органюда (Казьмин, 2002). Не виключено, що цим і пояснюються виявлені нами відмінності за геометричними параметрами електрофоретично рухливих і нерухливих ядер у представників родів *Lycopersicon* і *Solanum*. З іншого боку, відомо, що в процесі онтогенезу у рослин спостерігаються зміни біосинтетичної активності ядерного геному, що позначається на вмісті нуклеїнових кислот (Cavallini et al., 1993). Не виключено, що зі зростанням віку клітин епідермісу, які виконують в основному захисну функцію, після розвитку повноцінної клітинної оболонки можна очікувати на істотне зниження транскрипційної активності (Шахбазов, Шкорбатов, 1992). Існування чіткої кореляції між об'ємом ядра й вмістом ДНК та збільшення діаметра нерухливих ядер порівняно з рухливими не виключає їх походження внаслідок ендополіплоїдії, що, можливо, має адаптивне значення (Sparrow, Mische, 1961). Збільшений об'єм призводить до зростання опору в гелеподібному середовищі цитоплазми, і навіть високий заряд

МОНТВИД

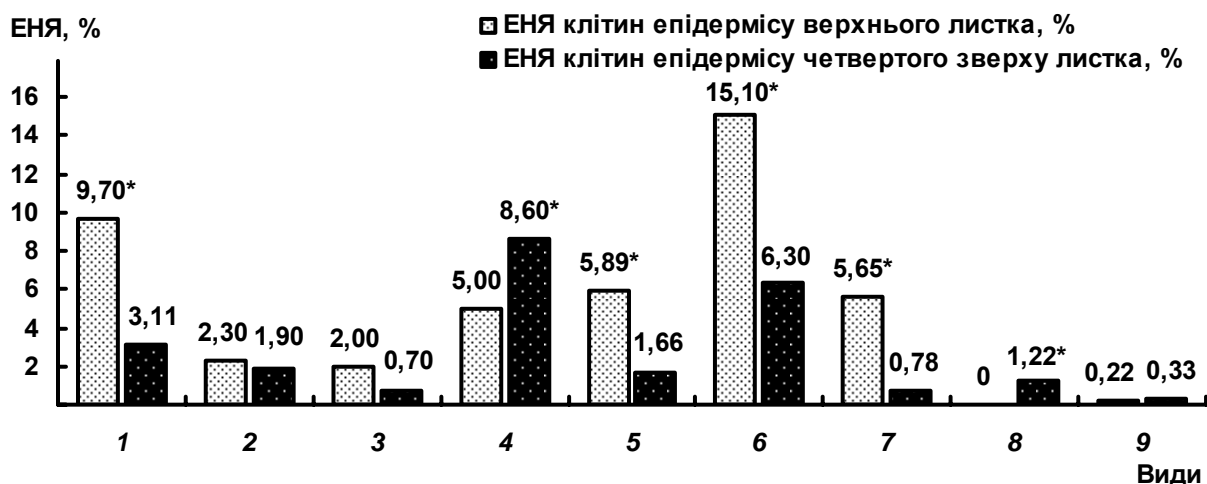


Рис. 3. Прояв електронегативності (ЕНЯ, %) клітинних ядер залежно від ярусу листа у представників роду *Lycopersicon* T.

Тут і на рис. 4: 1 – *L. esculentum*, 2 – *L. esculentum* var. *cerasiforme*, 3 – *L. esculentum* var. *pimpinellifolium*, 4 – *L. cheesmanii* *typicus*, 5 – *L. cheesmanii* var. *minor*, 6 – *L. hirsutum*, 7 – *L. chilence*, 8 – *L. peruvianum*, 9 – *L. peruvianum* var. *humifusum*;

* – відмінності між верхнім та четвертим зверху листками достовірні при $p < 0,05$.

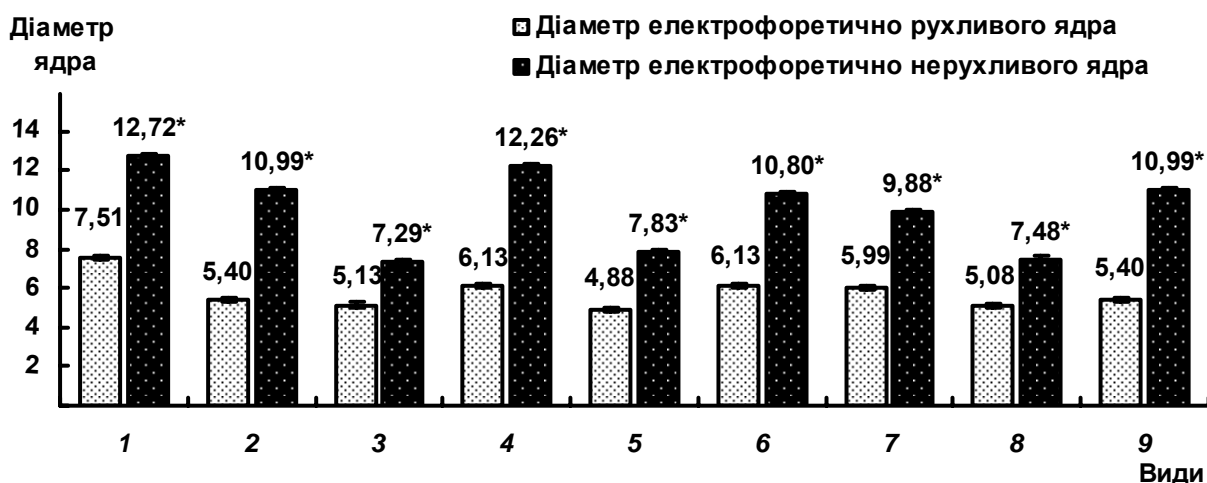


Рис. 4. Залежність діаметра клітинного ядра ($\text{м} \times 10^{-6}$) від його електрофоретичної рухливості у представників роду *Lycopersicon* T.

Умовні позначення, як на рис. 3.

не забезпечує електрофоретичної рухливості (Шкорбатов и др., 1999). Більш того, різний діаметр ядра у досліджених видів може бути пов'язаний з процесами генетичної адаптації та різною сприйнятливістю до дії мутагенів, оскільки збільшення об'єму даного органіда клітини знижує потік мутагенного чинника через одиницю поверхні (Минкевич, Патрушев, 2007). Виявлена тісна кореляція між геометричними параметрами електрофоретично рухливих і нерухливих ядер свідчить про видову специфічність розмірів ядра, яка, ймовірно, пов'язана з різним вмістом ДНК, у тому числі у зв'язку зі

ступенем еволюційної спорідненості (Jovtcheva et al., 2006). Так, серед представників роду *Solanum* найменший діаметр клітинних ядер виявлено у *S. marginatum*, найбільший – у *S. sisymbriifolium*. Дані види є найбільш еволюційно віддаленими щодо культурного баклажана *S. melongena* (Seğara et al., 2007).

Залежність ЕНЯ від ярусу листа, напевно, є онтогенетичною. Клітини верхнього листа зазнають активного росту й розвитку, що потребує високої транскрипційної активності (Шахбазов, Шкорбатов, 1992; Cavallini et al., 1993). У тканинах листків, які мають більший

БІОЕЛЕКТРИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ

вік, активно відбуваються фотосинтез та інші асиміляційні процеси. Тому не виключено, що в межах епідермісу четвертого зверху листка, який у пасльонових рослин вважається найбільш фізіологічно активним (Жученко, 1980), ЕНЯ знижується у зв'язку зі зменшенням швидкості росту та збільшенням віку клітин. Неоднозначна залежність ЕНЯ від ярусу листка у *S. marginatum*, *S. aetiopicum* Gilo group, *S. aetiopicum* Cumba group і *S. aetiopicum* Shum group пов'язана з особливостями будови або вторинними перетвореннями покривної тканини, які забезпечують високу стійкість до біотичних і абіотичних чинників. Так, наприклад, у *S. marginatum* відбувається кутинізація епідермісу (Sekara et al., 2007). Представники роду *Lycopersicon* також відрізняються між собою за будовою даної тканини (KulKarni et al., 2008). Різний ступінь прояву ЕНЯ у досліджених видів, не виключено, пов'язаний також з інтенсивністю росту й розвитку, плодоутворення або ступенем стійкості до несприятливих біотичних і абіотичних факторів (Монтвід та ін., 2008). Так, найвищі значення ЕНЯ серед представників роду *Solanum* виявлено для культурного виду *S. melongena*, що, ймовірно, пояснюється інтенсивністю асиміляційних процесів, які забезпечують формування істотного плодового навантаження. Високими значеннями ЕНЯ в межах верхнього листка характеризувалися дикорослі види *S. anguivi* й *S. linnaeum* з високим рівнем біотичної й абіотичної стійкості та холодостійкий вид з високою інтенсивністю росту *S. sisymbriifolium* (за вегетаційний період рослини досягають висоти 2-3 м) (Sekara et al., 2007). Низький відсоток ЕНЯ у більшості досліджених видів томата, швидше за все, пояснюється інадаптивністю до умов неопалюваної скляної теплиці, оскільки ці види походять з високогір'я Перу (Жученко, 1980). Винятками є культурний вид *L. esculentum*, в процесі тривалої селекції адаптований до умов вирощування, *L. cheesmanii* й *L. hirsutum*, що характеризуються високою інтенсивністю росту вегетативних органів (Жученко, 1980).

Достовірний зв'язок біоелектричних властивостей ядерного геному з геометричними параметрами ядра в цілому підтверджує роль нуклеїнових кислот та біосинтетичних процесів у формуванні біоелектричного потенціалу даного органіда, виявлену раніше (Шахбазов, Шкорбатов, 1992).

Таким чином, встановлені нами закономірні зміни ЕНЯ в процесі онтогенезу у видів родів *Lycopersicon* і *Solanum* узгоджуються з

даними, одержаними на інших об'єктах (Шаламов и др., 1993; Шахбазов, Колупаева, 1999; Шахбазов, Шкорбатов, 1992; Шкорбатов, Шахбазов, 1983).

Отже, наведені результати свідчать про існування видоспецифічних та онтогенетичних особливостей прояву ЕНЯ у видів родів *Lycopersicon* і *Solanum*, які пов'язані з інтенсивністю продукційного процесу й адаптивністю і в цілому узгоджуються експериментальними даними, отриманими раніше на інших об'єктах. Незважаючи на менший діаметр електрофоретично рухливих ядер порівняно з нерухливими, виявлено позитивний зв'язок між геометричними параметрами електрофоретично рухливих і нерухливих ядер та ЕНЯ. При використанні методу внутрішньоклітинного мікроелектрофорезу на пасльонових рослинах слід враховувати ярус листка.

ЛІТЕРАТУРА

- Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений. – Кишинев: Штиинца, 1980. – 586 с.
- Казьмин С.Д. Индукция автоколебаний уровня транскрипции и объема ядер в клетках карциномы Эрлиха, лимфомы NK/LY, лейкоза L-1210 и P-388 после частичной блокады синтеза РНК актиномицином Д // Экспериментальная онкология. – 2002. – Вып. 24, № 1. – С. 72-75.
- Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
- Минкевич И.Г., Патрушев Л.И. Некодирующие последовательности генома и размер ядра эукариотической клетки как существенные факторы защиты генов от химических мутагенов // Биоорганическая химия. – 2007. – Вып. 33. – С. 474-477.
- Монтвід 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.
- Чешко В.Ф., Шахбазов В.Г. О влиянии ингибиторов и активаторов внутриклеточного метаболизма на электрофоретическую подвижность и размеры клеточных ядер в связи со структурной ядерной оболочки // Научн. докл. высш. школы: Биол. науки. – 1977. – № 1. – С. 47-51.
- Шаламов Ю.А. Шахбазов В.Г., Заливадная И.В. Возрастные и сезонные изменения электрокинетических свойств клеточных ядер буккального эпителия сурков // Тез. докл. V Международн. Сове-

МОНТВИД

- щания по суркам стран СНГ. – Харьков, 1993. – С. 41.
- 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 // Ядерные белки и экспрессия генома. – Киев, 1983. – С. 147.
- Шкорбатов 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.
- Cavallini A., Natali L., Cionini G., Gennai D.* Nuclear DNA variability within *Pisum sativum* (Leguminosae): nucleotypic effects on plant growth // Heredity. – 1993. – V. 70. – P. 561-565.
- Jovtcheva G., Schuberta V., Meistera A. et al.* Nuclear DNA content and nuclear and cell volume are positively correlated in angiosperms // Cytogenet. Genome Res. – 2006. – V. 114. – P. 77-82.
- KulKarni M., Borse T., ChaphalKar S.* Mining Anatomical Traits: A Novel Modelling Approach for Increased Water Use Efficiency under Drought Conditions in Plants // Czech J. Genet. Plant Breed. – 2008. – V. 44. – P. 11-21.
- Nagato A., Yamamoto K., Yamashita H.* Variation of DNA content in Asian rice // The Japanese journal of genetics. – 1981. – V. 56, № 5. – P. 483-493.
- 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 Fundam. Med. J. – 1997. – V. 3, № 2. – P. 25-28.
- Sekara A., Cebula S., Kunicki E.* Cultivated eggplants – origin, breeding objectives and genetic resources, a review // Folia Hort. Ann. – 2007. – V. 19/1. – P. 97-114.
- Sparrow A.P., Mische J.P.* Correlation of nuclear volume and DNA content with higher plant tolerance to chronic radianion // Science. – 1961. – V. 134. – P. 282-283.

Надійшла до редакції
25.02.2009 р.

NUCLEI GENOME BIOELECTRICAL PROPERTIES IN DEPENDENCE FROM LEAF TIER AND NUCLEUS DIAMETER IN GENUS *LYCOPERSICON* T. AND *SOLANUM* L. REPRESENTATIVES

P. Yu. Montvid

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

The investigations of nuclei genome bioelectrical properties dependence from leaf tier and nuclei diameter in genus *Lycopersicon* T. and *Solanum* L. species were conducted. It were revealed minimum diameter of electroforetic movable nuclei in comparison with immovable and maximum indices of electronegativity in top leaf epidermis. The conclusion is drawn about nuclei genome bioelectrical properties changes during plant organism development.

Key words: *Lycopersicon* T., *Solanum* L., nucleus, electronegativity, epidermis, plant cell, nucleus diameter, electroforetic mobility

БІОЕЛЕКТРИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ

БИОЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЯДЕРНОГО ГЕНОМА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЯРУСА ЛИСТА И ДИАМЕТРА ЯДРА У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДОВ *LYCOPERSICON* T. И *SOLANUM* L.

П. Ю. Монтвид

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

Проведены исследования зависимости биоэлектрических свойств клеточных ядер от яруса листа и диаметра электрофоретически подвижных и неподвижных ядер у видов родов *Lycopersicon* T. и *Solanum* L. Выявлено, что подвижные ядра имели меньший диаметр по сравнению с неподвижными, а наибольшие значения электроотрицательности наблюдались в покровной ткани верхнего листа. Сделан вывод об изменениях биоэлектрических свойств ядерного генома в процессе развития растительного организма.

Ключевые слова: *Lycopersicon T.*, *Solanum L.*, ядро, электроотрицательность, эпидермис, растительная клетка, диаметр ядра, электрофоретическая подвижность