

**МАМЕДОВА А.Д.**

*Институт Генетических ресурсов НАН Азербайджана*

*Азербайджан, AZ 1106, Баку, пр. Азадлыг, 155, e-mail: afet.m@mail.ru*

## **ИНТЕНСИВНОСТЬ СИНТЕЗА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ ОРГАНЕЛЛАХ РАСТЕНИЙ ПРИ ГЕТЕРОЗИСЕ И СТИМУЛЯЦИИ РОСТОВЫХ ПРОЦЕССОВ, ВЫЗЫВАЕМЫХ ДЕЙСТВИЕМ ГИДРАЗИД МАЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ**

Гетерозис или гибридная сила – давно известное и широко распространенное общебиологическое явление, которое чаще всего проявляется в изменении интенсивности уже имеющих у родителей отдельных признаков: высоты растений, веса корней, поверхности листьев и т.д., иногда в развитии комплекса признаков, и обычно не сопровождается проявлением какого-либо нового признака или качества. Меристематическая ткань гетерозисных гибридов обладает способностью к активному делению, что обеспечивает более сильное вегетативное развитие гибридных растений. Гетерозис представляет собой явление количественного порядка и напоминает эффект стимуляции, который возникает под влиянием действия различных факторов. Литературные данные [3] и наши исследования [4] свидетельствуют о том, что действие на растения гидразид малеиновой кислоты (ГМК) при концентрации 0,001% приводит к стимуляции биологических процессов. Стимуляторы оказывают влияние на синтез химических компонен-

### **Материал и методы**

В первой серии исследований было изучено содержание нуклеиновых кислот в митохондриях и хлоропластах гетерозисных гибридов пшеницы (Лютесценс ФРГ х Бирлик, Бирлик х Лютесценс ФРГ, Лютесценс ФРГ х Лютесценс КСИ, Лютесценс КСИ х Лютесценс ФРГ, Бирлик х Безостая 1, Безостая 1 х Бирлик, *T.durum leucomelan* х Джафари, *T.durum erythromelan* х *T.durum melanopus*) и их родительских сортов. Во вторую серию исследований по изучению действия стимулирующей дозы ГМК (концентрация 0,001%) на синтез нуклеиновых кислот в митохондриях и хлоропластах были вовлечены рожь и пшеница (Н-2).

Выделение митохондрий из листьев осуществляли методом дифференциального центрифугирования на холоду при +4°C в среде, содержащей сахарозу 0,5 М; ЭДТА (этилендиаминтетрауксусной кислоты) 0,005 М; калий фосфатный буфер 1/15 М, рН 7,4. Количество среды и материала брали в отношении 5:1. Гомогенат отжимали через двойной слой полотна и центрифугировали 15 мин при 3000g для уда-

тов клетки, деление и дифференцировку клеток, морфогенез.

Известно, что генетический материал эукариотных организмов сосредоточен не только в ядре, которое служит главным хранителем наследственной информации, но и диспергирован по всей клетке в субклеточных структурах.

Так как цитоплазматические генетические факторы играют чрезвычайно важную роль в жизнедеятельности клетки, контролируя формирование и функционирование энергообеспечивающих структур клетки, определяя адаптивные свойства организма к изменяющимся условиям среды и по принципу обратной связи регулируют деятельность ядерных генов и реализацию наследственной программы в процессе индивидуального развития, нам представлялось интересным изучить при гетерозисе и стимуляции ростовых веществ активность синтеза нуклеиновых кислот в митохондриях и хлоропластах, являющихся основными поставщиками энергии клетки.

ления ядер, пластид, клеточных оболочек и других фрагментов. Супернатант для осаждения митохондрий центрифугировали 20 мин при 8000-9000g. Полученный осадок митохондрий суспензировали в среде: сахароза 0,5 М, калий-фосфатный буфер 1/15 М, рН 7,0. Суспензию митохондрий использовали для определения нуклеиновых кислот. Чистоту выделенных митохондрий определяли энзиматически [1].

Хлоропласты выделяли в среде, содержащей 0,4 М сахарозы; 0,05 М Трис-НСI буфер (рН 7,4); 0,01 М NaCl и 0,03 М MgCl<sub>2</sub>. Гомогенат отжимали через двойной слой полотна и центрифугировали 5 мин при 200g для удаления ядер, разрушенных клеточных оболочек и других фрагментов. Супернатант для осаждения хлоропластов центрифугировали 15 мин при 1500g. Надосадочную жидкость удаляли, осадок дважды ресуспензировали в той же среде и снова центрифугировали при указанных выше оборотах. Чистоту выделенных хлоропластов контролировали под световым микроскопом.

Выделенные хлоропласты и митохондрии

обрабатывались этиловым спиртом для получения бесцветного фильтрата, а затем промывали холодной дистиллированной водой, 0,2 н хлорной кислотой, снова дистиллированной водой, еще раз этиловым спиртом, смесью этилового

спирта и серного эфира (1:1) и эфиром.

Содержание нуклеиновых кислот в митохондриях и хлоропластах определяли методом спектрофотометрии по Шмидту-Тангаузеру в модификации Конарева [2].

### Результаты и обсуждение

Как показали результаты исследований, гетерозисные гибриды пшеницы по содержанию митохондриальной РНК превосходили свои родительские сорта. Так, например, Лютесценс ФРГ х Бирлик на 87%, Бирлик х Лютесценс ФРГ на 55%, Лютесценс КСИ х Лютесценс ФРГ на 31% по этому параметру превосходили средний показатель родителей. Такое же резкое отличие между гибридами (Лютесценс ФРГ х Бирлик, Бирлик х Лютесценс ФРГ, Лютесценс ФРГ х Лютесценс КСИ, Бирлик х Безостая 1 и др.) и родительскими формами наблюдалось и по содержанию митохондриальной ДНК (рис. 1). Ис-

ключение составил лишь гибрид Безостая 1 х Бирлик, который занимает по этому показателю среднее положение в сравнении с исходными формами. Однако транскрипционная активность ДНК у этого гибрида составила 2,1 против 1,8 и 1,3 по сравнению с родительскими формами, соответственно. Активация синтеза нуклеиновых кислот митохондрий свидетельствует о том, что энергообеспечение за счет митохондриальной системы у гетерозисных гибридов пшеницы более высокое по сравнению с родительскими сортами.

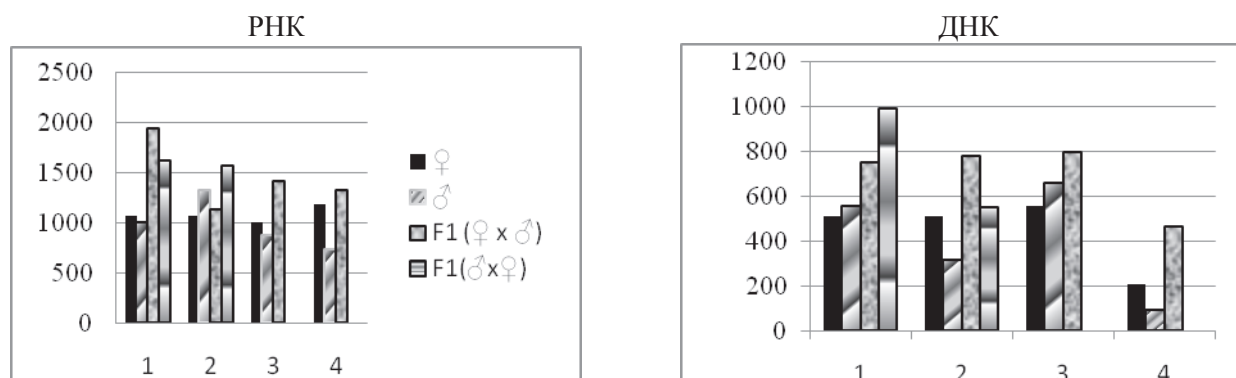


Рис. 1. Динамика изменения содержания нуклеиновых кислот в митохондриях гетерозисных гибридов пшеницы в сравнении с родительскими формами:

1. Лютесценс ФРГ х Бирлик; Бирлик х Лютесценс ФРГ; 2. Лютесценс ФРГ х Лютесценс КСИ; Лютесценс КСИ х Лютесценс ФРГ; 3. Бирлик х Безостая 1; 4. *T. durum leucomelan* (Иран) х Джафари

Изучение содержание хлоропластной РНК не выявило определенной закономерности. Гибриды либо характеризовались активацией синтеза РНК (Лютесценс ФРГ х Бирлик, Лютесценс ФРГ х Лютесценс КСИ), либо занимали среднее положение (Бирлик х Лютесценс ФРГ, Лютесценс КСИ х Лютесценс ФРГ, *T. durum leucomelan* (Иран) х Джафари, *T. durum erythromelan* х *T. durum melanopus*), либо уступали (Безостая 1 х Бирлик) родительским сортам по этому показателю (рис. 2).

Характерно, что все гибридные комбинации превышали своих родителей по содержанию хлоропластной ДНК: Лютесценс ФРГ х Бирлик на 45%, Бирлик х Лютесценс ФРГ на 29%, Бир-

лик х Лютесценс ФРГ на 42 %. Такое же резкое отличие между гибридами и родительскими формами наблюдалось и по содержанию хлоропластной ДНК у гибридных комбинаций Лютесценс ФРГ х Лютесценс КСИ, *T. durum leucomelan* (Иран) х Джафари и др.

Во второй серии исследований нами проводилось изучение изменения синтеза нуклеиновых кислот в цитоплазматических органеллах при воздействии на растения стимулирующей дозы ГМК. Исследование интенсивности синтеза относительного содержания нуклеиновых кислот в митохондриях и хлоропластах ДНК у растений ржи и пшеницы представлены в таблице.

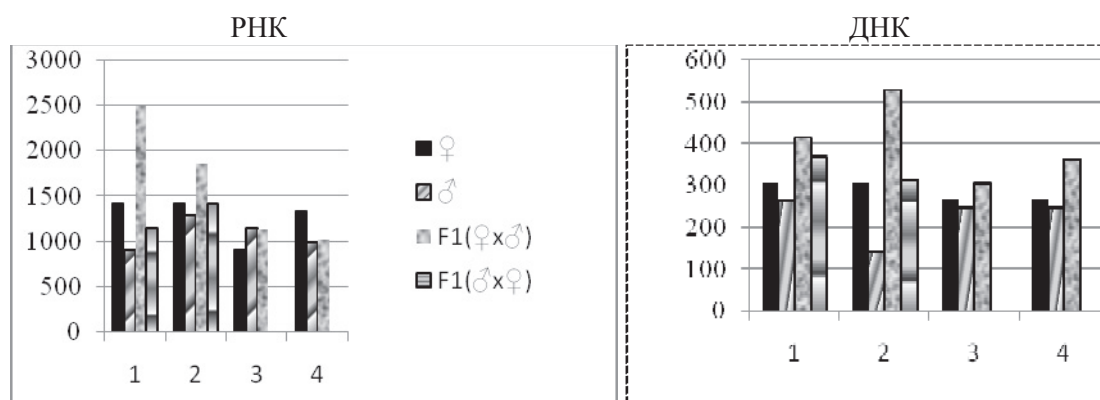


Рис. 2. Динамика изменения содержания нуклеиновых кислот в хлоропластах гетерозисных гибридов пшеницы в сравнении с родительскими формами:

1. Лютеценс ФРГ x Бирлик; Бирлик x Лютеценс ФРГ; 2. Лютеценс ФРГ x Лютеценс КСИ; Лютеценс КСИ x Лютеценс ФРГ; 3. Бирлик x Безостая 1; 4. *T.durum leucomelan* (Иран) x Джафари

Таблица. Изменение синтеза нуклеиновых кислот в митохондриях и хлоропластах ржи и пшеницы (мг% на сухое вещество цитоплазматических органелл) под влиянием стимулирующей дозы ГМК

|          | митохондрии |            |         | хлоропласты  |              |         |
|----------|-------------|------------|---------|--------------|--------------|---------|
|          | РНК         | ДНК        | РНК/ДНК | РНК          | ДНК          | РНК/ДНК |
|          |             |            | рожь    |              |              |         |
| контроль | 971,52±33,1 | 273,45±7,4 | 3,55    | 2111,39±86,0 | 151,16±3,84  | 13,97   |
| опыт     | 2113,6±65,4 | 578,2±9,8  | 3,65    | 1947,9±69,0  | 394,91±18,41 | 4,93    |
|          |             |            | пшеница |              |              |         |
| контроль | 1251,76±6,4 | 188,14±7,8 | 6,65    | 1914,14±82,8 | 643,09±7,82  | 2,98    |
| опыт     | 2056,2±13,8 | 526,7±16,0 | 3,90    | 1925,40±6,6  | 370,18±6,65  | 5,20    |

Изучение генетического материала цитоплазматических органелл показало, что у проростков ржи и пшеницы процесс активации ростовых процессов при воздействии на растения стимулирующей дозой ГМК сопровождается активацией синтеза нуклеиновых кислот в митохондриях. Через 24 часа после воздействия ГМК содержание РНК в митохондриях проростков увеличивается по сравнению с контрольными растениями: у ржи в 2,2 раза, у пшеницы в 1,6 раза. Отмечается усиление биосинтеза и митохондриальной ДНК. По содержанию ДНК в митохондриях опытные растения ржи превышают контрольные в 2,1 раз, пшеницы в 2,8 раз.

Что касается хлоропластной генетической системы, то у пшеницы увеличение синтеза РНК при воздействии ростового вещества незначительно по сравнению с контрольными растениями. Увеличение содержания хлоропластной РНК у пшеницы составило 11,26 мг%. У ржи этот показатель у опытного растения в сравнении с контролем снижается. Так, количество РНК в

этих органеллах у контрольных растений ржи составило 2111,39 мг%, у опытных растений – 1947,9 мг%. В то же время, если у опытных растений ржи содержание хлоропластной ДНК увеличилось по сравнению с контрольными растениями, но это не наблюдалось у растений пшеницы. Содержание хлоропластной ДНК под влиянием ГМК падает в 1,7 раз. Это свидетельствует о том, что в этом случае в общую энергообеспеченность клетки преимущественно вносит митохондриальная генетическая система.

Если депрессия роста при инбридинге напоминает ингибирование ростовых процессов, то гибридная мощь при гетерозисе – стимуляцию ростовых процессов, возникающих под влиянием различных факторов внешней среды. В наших исследованиях гетерозис и стимуляция ростовых процессов, вызываемых действием гидразид малеиновой кислоты, сопровождается интенсификацией работы генетического аппарата митохондрий.

## Литература

1. Кинцурашвили Д.Ф., Пруидзе Г.Н., Дурмишидзе С.В. Внутриклеточная локализация цитохромоксидазы и пероксидазы в листьях виноградной лозы // Изв. АН Груз. ССР. Сер. Б. – 1980. – Т. 6, №11. – С. 45-56.
2. Конарев В.Г., Тютюрев С.Л. Методы биохимии и цитохимии нуклеиновых кислот растений // Научные труды ВИР. – Л: Колос, 1970. – 202 с.
3. Ракитин Ю.В. Гидразид малеиновой кислоты как регулятор роста растений // М.: Наука, 1973. – 367 с.
4. Mammadova A.D. Nuclear-mitochondrial interaction of cells genetic systems, under the stimulation of the growth processes by maleic acid hydrazide // Scientific enquiry in the contemporary world: theoretical basics and innovative approach», Research articles, Publishing Titusville, FL, USA. 2012. – P. 99-100.

## MAMMADOVA A.D.

Genetic Resources Institute of the Azerbaijan National Academy of Sciences  
Azerbaijan, AZ 1106, Baku, Azadlig Avenue, 155, e-mail: afet.m@mail.

## INTENSITY OF SYNTHESIS OF THE NUCLEIC ACIDS IN THE CYTOPLASMIC ORGANELLES OF PLANTS IN HETEROSIS AND STIMULATION OF THE GROWTH PROCESSES BY THE INFLUENCE OF MALEIC HYDRAZIDE

**Aims.** The study of changes in the content of nucleic acids in the mitochondria and chloroplasts of heterotic plants and stimulation of growth processes by the influence of maleic hydrazide. **Methods.** Mitochondria and chloroplasts were isolated by the differential centrifugation. Nucleic acids content in the mitochondria and chloroplasts were determined by the method described in the works of V.G. Konareva and S.L. Tyutereva (1970). **Results.** High content of mitochondrial RNA and DNA, as well as DNA of chloroplasts was observed in the wheat hybrids in comparison with their parental species. Activation of growth processes under the concentration of maleic hydrazide was accompanied by the activation of RNA and DNA in mitochondria of rye and wheat. **Conclusions.** Heterosis and stimulation of growth processes by the maleic hydrazide are accompanied by the intensification of the genetic apparatus of mitochondria.

**Key words:** Heterosis, stimulation of growth processes, maleic acid hydrazide, cytoplasmic organelles, nucleic acids.

## МАРКОВСЬКИЙ О.В., БАННИКОВА М.О., МОРГУН Б.В.

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України  
Україна, 03680, м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 148, e-mail: molgen@icbge.org.ua

## ВИЯВЛЕННЯ *CRU* ГЕНІВ, ЯКІ ДЕТЕРМІНУЮТЬ СТІЙКІСТЬ ДО КОМАХ, ЗА ДОПОМОГОЮ МУЛЬТИПЛЕКСНОЇ ПОЛІМЕРАЗНОЇ ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ У ТРАНСГЕННОЇ КУКУРУДЗИ

Для швидкої та надійної детекції досліджуваних генів, які детермінують стійкість до комах (*cru* гени) було розроблено і оптимізовано методику проведення мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції (мПЛР). Ця технологія дозволяє проводити ампліфікацію в одній реакції декількох досліджуваних ділянок ДНК характерної довжини [1]. Розроблена методика передбачає використання двох (або більше) пар

олігонуклеотидних праймерів, специфічних до трансформаційних подій та однієї пари праймерів, специфічної до референтного гену кукурудзи – *zein* [1] або *adh1*. мПЛР було розроблено для проведення масового аналізу експериментальних зразків кукурудзи, зменшуючи затрати часу та реактивів. Досліджувані нами *cru* гени входять до складу трансформаційних подій кукурудзи (табл. 1).

### Матеріали і методи

**Рослинний матеріал.** У роботі досліджували експериментальні селекційні зразки кукурудзи НВФГ компанії «Маїс» та референтні зразки, які містили відповідні трансформаційні події.

**Виділення та очищення ДНК.** Загальну ДНК виділяли з паростків кукурудзи. Виділення та очищення ДНК проводилось ЦТАБ методом за [2-4]. Для перевірки наявності та якості загальної рослинної ДНК після процедури