

В. Г. ШАХБАЗОВ, Г. С. ЛОБЫНЦЕВА, Л. А. АТРАМЕНТОВА

**ПРОЯВЛЕНИЕ ЭФФЕКТА ГЕТЕРОЗИСА
ПО ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКИМ СВОЙСТВАМ КЛЕТОЧНЫХ ЯДЕР
ПРИ ТЕПЛОВЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ**

(Представлено академиком Н. П. Дубининым 6 XII 1972)

Изучение эффекта гетерозиса, имеющего, как известно, важное практическое значение, давно привлекало внимание исследователей. Однако, по мнению многих генетиков и селекционеров, существующие генетические теории все еще недостаточны для объяснения этого сложного явления (¹⁻³). В связи с этим на протяжении ряда лет в нашей лаборатории при изучении проявлений инбредной депрессии и гетерозиса применяются некоторые биофизические методы. Большое внимание, в частности, было уделено изучению биоэлектрических потенциалов клеточных ядер гетерозисных растений. До нас этот вопрос, по-видимому, никем не изучался.

Начав с применения микроэлектродной методики, мы обнаружили, что в клетках меристемы корней гетерозисных проростков кукурузы величины биоэлектрических потенциалов покоя оказываются более высокими в сравнении с исходными формами (⁴). Но учитывая повреждения, вызываемые микроэлектродом при его введении в клеточное ядро, мы в дальнейшем перешли к применению методики микроэлектрофореза для сравнительного изучения электрокинетических особенностей клеточных ядер (^{5, 6}). В этой статье изложены результаты, которые позволили установить различия между инбредными и гетерозисными растениями по электрофоретической подвижности клеточных ядер.

Материал и методика. Объектами изучения служили ткани проростков ряда гетерозисных гибридов и исходных форм кукурузы и лука *. Для внутриклеточного микроэлектрофореза применяли плоскую камеру с платиновыми электродами размером 25 × 25 мм. Клетки исследовали при увеличении 15 × 20, 10 × 40, 20 × 60. Для измерений использовали стабилизированное напряжение 30—50 в при силе тока 1,5 ма. Наряду с действием непрерывного тока использовали импульсный ток при частоте около 1 гц. Для электрофоретических исследований использовали закрытую камеру (⁷). Ядра выделяли по методике Дж. Боннера (⁸).

Клетки исследовали в норме и непосредственно после воздействия высокой температуры. Для различных режимов прогрева использовали водный термостат.

Действие электрического тока на клетки вызывает значительное повреждение ядер. Стадии повреждения были описаны ранее (⁶). В данной работе сравнивали ядра до начала их заметных повреждений.

Результаты измерений. Как показали исследования, проведенные на клетках лука и кукурузы в разные времена года, по изучаемому показателю между клеточными ядрами гетерозисных растений и исходных форм имеются существенные различия. В эпидермисе чешуй лука

* Лук был получен из Всесоюзного института растениеводства им. Н. И. Вавилова, семена кукурузы — из Института растениеводства, селекции и генетики им. В. Я. Юрьева. Сотрудникам этих институтов авторы выражают благодарность за материал для исследований.

у гибрида в норме в сторону катода смещается 87% ядер, у сорта 26%, у линии 14% (рис. 1).

Исследования клеток кукурузы проводили в разных зонах проростков и были обнаружены зоны преобладания анодного и катодного смещения. Сравнительное измерение, проведенное в области эпикотилия, показало,

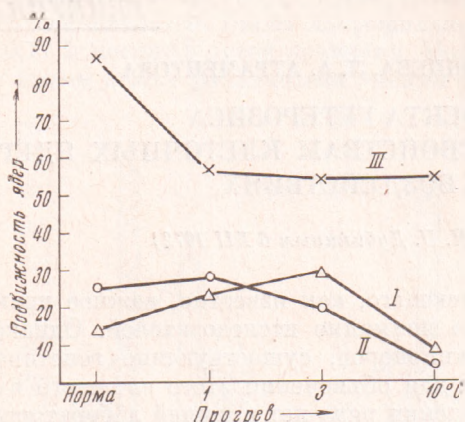


Рис. 1. Процент подвижных (катодных) ядер в клетках лука после действия температуры 47°. I — линия Восточный, II — сорт Каба фертильный, III — гибрид Восточный x Каба

что в клетках гибрида в норме количество подвижных ядер составляет 43,8%, у линии 41%, у сорта 44%.

Одноминутный прогрев тканей лука при температуре 47° вызывал у гибрида снижение числа подвижных ядер на 30%, а у родительских форм эта температура вызывала некоторое увеличение подвижных ядер. Более длительная экспозиция не привела к дальнейшему снижению подвижности ядер у гибрида, а у родительских форм большинство ядер оказались неподвижными, и после 10-минутного прогрева смещалось только 5—10% ядер.

После 10-минутного прогрева проростков кукурузы при 45° произошло резкое снижение числа

подвижных ядер у родительских форм, в то время как количество подвижных ядер в клетках гибрида не изменилось (рис. 2).

Для изолированных ядер, выделенных из стеблей проростков кукурузы, также были обнаружены генетические различия в норме и в реакции на действие высокой температуры. В норме ядра, выделенные из клеток гибрида, обладают значительно более высокой скоростью смещения в сторону катода ($1,32 \pm 0,01$ м/сек в 1 см) *. Отличие ядер из стеблей гибрида составляет 32% от среднего для исходных форм, а из корней 117%. После прогрева выделенных ядер скорость электрофоретического смещения более резко возросла у сорта и линии на 60—70%, у гибрида на 50%. При этом нужно учитывать, что процесс выделения уже значительно изменяет и повреждает поверхность ядра.

Различия, отмеченные в норме и после прогрева на изолированных ядрах, свидетельствуют о том, что и при внутриклеточном микроэлектрофорезе наблюдаемые особенности гибридов связаны в первую очередь с биоэлектрическими свойствами ядер.

Обсуждение. Результаты измерений подтверждают полученные ранее данные о более высокой теплоустойчивости гетерозисных гибридов (9, 10). Убедительное подтверждение получила также обнаруженная ранее связь более высокой теплоустойчивости с биоэлектрическими свойствами клеток гибридов (11).

Кроме того, полученные результаты дают новый материал для обсуждения общих механизмов гетерозиса и, в частности, такого проявления как повышенная теплоустойчивость.

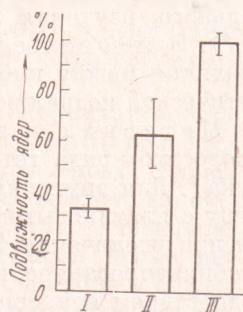


Рис. 2. Снижение подвижности ядер в клетках кукурузы у родительских форм после действия высокой температуры (45°, 10 мин.) I — сорт Глория Янецкого, II — линия ВИР-44, III — гибрид Буковинский-3

* Скорости для родительских форм оказались сходными (для сорта $0,96 \pm 0,003$, для линии $1,01 \pm 0,01$ м/сек в 1 см).

В отношении гетерозиса полученные результаты приводят к выводу о наличии у гибридов таких интегральных особенностей, как повышенная теплоустойчивость и устойчивость поверхностного заряда клеточного ядра. При анализе полученных данных необходимо учитывать, что клеточное ядро является совершенно своеобразным объектом для электрофореза. Принимая во внимание наличие сложной двойной пористой оболочки, а также тесный контакт содержимого ядра — хроматина с мембранами и комплексами пор, можно с достаточным основанием полагать, что дзета-потенциал клеточного ядра зависит как от состояния внеядерной, цитоплазматической среды, так и от состояния хроматина и кариоплазмы.

Учитывая обнаруженные четкие различия, следует признать, что состояние гетерозиготности наряду со многими известными проявлениями гетерозиса приводит к такому неизвестному ранее свойству, как повышенная устойчивость электрической поляризации структур клеточного ядра. Это свойство гетерозисных ядер, возможно, объясняется большой автономностью в гетерозиготном ядре гомологичных хромосом. Не исключено, что с изменением взаимодействия гомологичных хромосом в гетерозиготном клеточном ядре связано и соотношение, и особенности связи ДНК с гистонами и кислыми белками. Упомянутые выше электрические свойства клеточных ядер отражают такие проявления гетерозиса, которые трудно объяснить с позиций теорий доминантности, сверхдоминантности или биохимического обогащения. Мы полагаем, что новые данные, изложенные в статье, являются аргументом в пользу дополнительной биофизической гипотезы гетерозиса, развиваемой в последние годы на нашей кафедре.

Природа теплового повреждения и тепловой смерти клетки в настоящее время также не является достаточно ясной. Представления об определяющей роли в теплоустойчивости клеток и организмов свойств липидов и отдельных термолabileльных белков пока не стали основой для создания общей теории ⁽¹²⁾. Между тем данные, полученные ранее ⁽¹¹⁾, привели одного из авторов к выводу о том, что в основе теплового повреждения клетки лежит электрическая деполаризация ядерно-ядрышкового аппарата ⁽¹³⁾.

Показанные в настоящем исследовании резкие и ограниченные генотипом изменения электрофоретической подвижности клеточного ядра под влиянием прогрева, как нам представляется, вполне подтверждают указанные предположения, так как доказывают связь деполаризации ядра с тепловым повреждением.

Установление новых фактов — различий в электрокинетических свойствах клеточных ядер гибридных и гибридных растений в норме и после действия высокой температуры — дает новый материал для расширения теоретических представлений о механизмах гетерозиса. Новые данные могут быть также использованы для разработки экспресс-методов изучения и прогнозирования эффекта гетерозиса.

Харьковский государственный
университет

Поступило
6 XII 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Э. Синнот, Морфогенез растений, М., 1963, стр. 467. ² Ф. Хатт, Генетика животных, Л., 1968, стр. 322. ³ Х. Даскалов, Селскостопанска мисъл (болг.), 3, № 11, 859 (1958). ⁴ В. Г. Шахбазов, Л. В. Котенко, Изв. АН СССР, сер. биол., № 6, 891 (1967). ⁵ В. Г. Шахбазов, Г. С. Лобынцева, Биофизика, 14, 3, 457 (1971). ⁶ В. Г. Шахбазов, Г. С. Лобынцева, Цитология и генетика, 6, 2, 129 (1972). ⁷ Л. Михаэлис, Л. Рона, Практикум по физической химии, Л., 1933. ⁸ Дж. Боннер, Молекулярная биология развития, М., 1964, стр. 80. ⁹ В. Г. Шахбазов, А. Т. Пепель, Биологические основы повышения качества семян, М., 1963, стр. 29. ¹⁰ В. Г. Шахбазов, Бюлл. МОИП, 71, 3, 119 (1966). ¹¹ В. Г. Шахбазов, Л. В. Котенко и др., Цитология и генетика, 4, 4, 353 (1970). ¹² Я. Белевадек, Клетка и температура среды, М., 1964, стр. 284. ¹³ В. Г. Шахбазов, Тез. докл. II Всесоюз. Симпозиума по структуре и функциям клеточного ядра, Киев, 1966, стр. 94.