

ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ СИНТЕЗА ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА В КЛЕТКЕ ГЕТЕРОЗИСНЫХ ГИБРИДОВ ТОМАТА И ХЛОПЧАТНИКА

В настоящее время выполнено большое количество исследований с целью выяснения у гибридных форм систем фотосинтеза [1], дыхания [2], активности отдельных ферментов [3], белкового полиморфизма [4], активности биосинтетических процессов [5], функциональной активности хлоропластов [6] и митохондрий [7]. Большое внимание уделяется оценке состояния наследственного аппарата в связи гетерозисом [8, 9].

Анализ существующих данных по гетерозису дает основание считать, что эффект гетерозиса в своей основе, по-видимому, включает активацию гена или комплекса генов и относится к категории явлений, прямо или косвенно связанных с механизмами генетической регуляции развития признаков в онтогенезе. В настоящей работе представлялось важным изучить содержание и фракционный состав ДНК у гетерозисных гибридов и их родительских форм томата и хлопчатника. Интегральная оценка генетического аппарата клетки с учетом нехромосомных генетических элементов (нуклеиновые кислоты митохондрий и хлоропластов) позволит наиболее полно определить основные факторы, взаимодействие которых обеспечивает гетерозисный эффект.

Материалы и методы

В качестве объекта исследований были выбраны хозяйственно-ценные культуры: томат (*Lycopersicon esculentum* L.) и хлопчатник (*Gossypium* L.). Для определения фракционного состава ДНК и содержания нуклеиновых кислот в хлоропластах и митохондриях использовали методы, описанные в работе В.Г. Конарева и С.Л. Тютерева [10]. Митохондрии и хлоропласты выделяли методом дифференциального центрифугирования.

Результаты и обсуждение

Из приведенных в таблице 1 данных видно, что тотальная ДНК у всех вариантов томата представлена главным образом стабильной формой, содержание которой колеблется в пределах 53–65 %. На долю лабильной ДНК приходится 27–36 %. Остальная ДНК определялась в виде остаточной ДНК.

Наиболее высоким содержанием

суммарной ДНК в расчете на сырую массу навески характеризовались сорта Киевский 139, Fanal и Valiant. У всех гибридных комбинаций не отмечено отличий в содержании общей ДНК (в мг % на сырую массу) по сравнению с их родительскими формами. Сравнение гибридов между собой также не выявило заметных изменений по этому показателю.

Что касается лабильной ДНК, то можно лишь отметить ее более высокое содержание у гибрида Белый налив x Resista по сравнению с родительскими сортами. У всех остальных гибридов не выявлено превышение этой фракции над родительскими формами. Среди гибридов наиболее низким содержанием лабильной ДНК характеризовался вариант Valiant x Ленинградский скороспелый. Далее ее содержание возрастало в ряду: Cavalier x Fanal, Белый налив x Resista, Киевский 139 x Ленинградский скороспелый.

Расчет отношения содержания лабильной фракции к стабильной показал, что его величины у гибридов изменяются в такой же последовательности, как и содержание лабильной ДНК. Следует, однако, отметить, что гибриды Киевский 139 x Ленинградский скороспелый и Белый налив x Resista заметно превышали по этому показателю своих родителей. Остальные два гибрида занимали промежуточное положение.

В таблице 2 представлены данные по изучению содержания и фракционного состава ДНК на клетку листа у гетерозисных гибридов хлопчатника и их исходных форм.

У гибридов отмечается активация синтеза ДНК в клетке листа. Так, увеличение содержания ДНК на клетку у гибрида М-4 x АК-4-42 составило в сравнении с родителями 37,4 %. Гибрид М-4 x С-460 по содержанию ДНК на клетку на 4,9 и 6,1 пг превышал родительские сорта. Увеличение содержания ДНК на клетку, в основном, наблюдается за счет всех фракций, при этом отмечается значительное увеличение лабильной ДНК. Увеличение количества лабильной фракции у гибрида М-4 x АК-4-42 составило 48 %, гибрида М-4 x С-460–40 %, в сравнении с

родительскими формами. Гибрид хлопчатника М-4 х АК-4-42 по содержанию стабильной ДНК, хотя и занимает среднее положение в сравнении с исходными формами, однако, по сравнению со средним показателем обоих родителей, у него отмечается увеличение количества ДНК на 15,1 %.

Интересным, на наш взгляд, является тот факт, что у гетерозисных гибридов отмечается уменьшение количества клеток на единицу площади, что свидетельствует об увеличении

размера клеток гибрида. Так, у гибрида хлопчатника М-4 х АК-4-42 количество клеток на единицу площади листа составило 19 против 24 и 21 $\times 10^6$ у исходных форм. У гибрида М-4 х С-460 этот показатель равен 21 против 24 и 31 $\times 10^6$ у родителей. При этом масса клеток у гетерозисных гибридов также увеличивается: масса одной клетки гибрида М-4 х АК-4-42 составляет $14,1 \times 10^{-9}$ г, у родительских форм – 10,7 и $12,8 \times 10^{-9}$ г, соответственно.

Таблица 1. Фракционный состав ДНК листьев гибридов томата и их родительских сортов

Сорт, гибрид	Фракции ДНК, мг % на сырую массу				Лаб/стаб ДНК
	лабильная	стабильная	остаточная	всего	
Киевский 139 (% фракций от общей ДНК)	11,04 ± 0,50 (31)	16,87 ± 0,20 (58)	3,60 ± 0,10 (11)	31,5	0,65
Ленинградский скороспелый (% фракций от общей ДНК)	8,00 ± 0,40 (30)	15,51 ± 0,20 (58)	3,30 ± 0,10 (12)	26,81	0,51
Киевский 139 х Ленинградский скороспелый (% фракций от общей ДНК)	10,59 ± 0,10 (36)	15,34 ± 0,40 (53)	3,50 ± 0,10 (12)	29,43	0,69
Valiant (% фракций от общей ДНК)	8,12 ± 0,03 (27)	19,15 ± 0,20 (63)	3,27 ± 0,040 (10)	30,54	0,42
Ленинградский скороспелый (% фракций от общей ДНК)	8,00 ± 0,40 (30)	15,51 ± 0,20 (58)	3,30 ± 0,10 (12)	26,81	0,51
Valiant х Ленинградский скороспелый (% фракций от общей ДНК)	8,03 ± 0,40 (30)	16,31 ± 0,40 (61)	2,42 ± 0,03 (9)	26,76	0,49
Белый налив (% фракций от общей ДНК)	8,65 ± 0,10 (30)	16,07 ± 0,20 (55)	4,46 ± 0,30 (15)	29,18	0,54
Resista (% фракций от общей ДНК)	8,12 ± 0,10 (28)	16,40 ± 0,0,30 (57)	4,12 ± 0,10 (15)	28,64	0,49
Белый налив х Resista (% фракций от общей ДНК)	10,06 ± 0,30 (35)	15,00 ± 0,20 (53)	3,35 ± 0,10 (12)	28,41	0,67
Cavalier (% фракций от общей ДНК)	9,71 ± 0,60 (36)	16,29 ± 0,30 (60)	1,27 ± 0,01 (4)	27,27	0,60
Fanal (% фракций от общей ДНК)	8,67 ± 0,05 (28)	20,15 ± 0,0,50 (65)	2,39 ± 0,10 (7)	31,21	0,43
Cavalier х Fanal (% фракций от общей ДНК)	9,20 ± 0,30 (33)	16,62 ± 0,20 (59)	2,15 ± 0,03 (8)	27,97	0,55

Таблица 2. Содержание фракций ДНК в листьях гибридов хлопчатника и их родительских форм

Родительские формы, гибриды	Фракции ДНК в одной клетке, г. 10^{-12}				Масса клетки, $\times 10^{-9}$	Число клеток, $\times 10^6$
	лабильная	стабильная	остаточная	всего		
М-4	$2,0 \pm 0,03$	$3,4 \pm 0,03$	$0,8 \pm 0,01$	6,2	10,7	24
АК-4-42	$3,8 \pm 0,04$	$7,2 \pm 0,06$	$2,3 \pm 0,03$	13,3	12,8	21
М-4 х АК-4-42	$4,3 \pm 0,10$	$6,1 \pm 0,05$	$3,0 \pm 0,05$	13,4	14,1	19
М-4	$2,0 \pm 0,03$	$3,4 \pm 0,03$	$0,8 \pm 0,01$	6,2	10,7	24
С-460	$1,5 \pm 0,02$	$2,9 \pm 0,04$	$0,6 \pm 0,02$	5,0	7,5	31
М-4 х С-460	$4,2 \pm 0,08$	$5,7 \pm 0,05$	$1,2 \pm 0,04$	11,1	10,9	21

Содержание РНК в митохондриях у всех гибридных форм томата, за исключением Valiant х Ленинградский скороспелый, было несколько выше, чем у родителей. Лучшим гибридом по этому показателю оказался Белый налив х Resista. Самый высокий уровень ДНК был у сортов Белый налив и Valiant (табл. 3).

Характерно, что все гибриды превышали своих родителей по содержанию ДНК: Valiant х Ленинградский скороспелый и Cavalier х Fanal примерно на 30–35 %, а Киевский 139 х Ленинградский скороспелый и Белый налив х Resista – около 10 %. Это позволяет предположить, что у этих форм существенный вклад в общий энергетический потенциал клетки вносит митохондриальная система энергообразования.

Изучение генетического материала хлоропластов показало, что самым высоким содержанием РНК характеризуются сорта Resista и Белый налив, у которых оно было в 1,5–2 раза выше, чем у всех остальных сортов. Нужно отметить, что, несмотря на то, что у гибрида Белый налив х Resista самый высокий уровень РНК, по сравнению с другими гибридами, однако, лишь у этого гибрида он не превышает исходной величины родителей. У всех остальных гибридов происходит увеличение содержания РНК по сравнению с родительскими сортами, причем процент этого увеличения самый высокий у гибрида Киевский 139 х Ленинградский скороспелый (54,4 %).

Определение содержания ДНК в хлоропластах показало, что у всех гибридных форм, за исключением гибрида Cavalier х Fanal, оно занимает промежуточное положение между уровнем, характерным для родительских сортов или тяготеет к уровню лучшего по этому показателю родителя. Содержание хлоро-

пластной ДНК было самым высоким у гибрида Киевский 139 х Ленинградский скороспелый, однако, оно не превышало лучший по этому показателю родительский сорт Ленинградский скороспелый, у которого отмечено наивысшее содержание хлоропластной ДНК среди всех исследованных сортов и гибридов. По содержанию хлоропластной ДНК следует также отдать предпочтение сортам Киевский 139 и Resista, у которых оно было велико и в 1,5–2 раза превосходило уровень этого компонента у других сортов. Лишь при скрещивании сортов Cavalier и Fanal у гибрида отмечается существенное увеличение содержания хлоропластной ДНК по сравнению с родительскими сортами.

Изучение генетического материала митохондрий у хлопчатника показало, что по содержанию и РНК, и ДНК гибриды уступают одной или обоим родительским формам, что свидетельствует о том, что энергообеспечение за счет митохондриальной системы у гибридов хлопчатника более низкое по сравнению с исходными формами.

У гибридных комбинаций хлопчатника наблюдается увеличение хлоропластной РНК. Так, у гибрида М-4 х АК-4042 количество РНК в хлоропластах составило 1446,2 мг %, у родительских форм – 753,5 и 924,6 мг %, соответственно. По содержанию ДНК гибриды либо превышали родительские формы (М-4 х С-460 и М-4 х 152-Ф), либо приближались к лучшему из родителей по этому показателю (М-4 х АК-4-42). Таким образом, у гибридов хлопчатника отмечается в сравнении с родителями активация хлоропластной генетической системы, т.е. в общую энергообеспеченность клетки преимущественно вносит хлоропластная генетическая система.

Таблица 3. Содержание РНК и ДНК в митохондриях и хлоропластах у гибридов томата, хлопчатника и их родительских форм (на сухое вещество цитоплазматических органелл, мг %)

Сорт, образец, гибрид	Митохондрии			Хлоропласты		
	РНК	ДНК	РНК/ ДНК	РНК	ДНК	РНК/ ДНК
Томат <i>Lycopersicon esculentum</i> L.						
Киевский 139	2728,5 ± 16,8	128,9 ± 0,2	21,2	1174,7 ± 5,3	233,6 ± 1,1	5,0
Ленинградский скороспелый	2603,7 ± 23,7	129,2 ± 0,3	20,2	1025,6 ± 6,3	237,6 ± 1,2	3,7
Киевский 139 х Ленинградский скороспелый	3186,7 ± 81,7	142,7 ± 2,6	22,3	1814,2 ± 2,2	271,5 ± 3,6	6,7
Valiant						
Valiant	3181,0 ± 7,0	171,3 ± 1,0	18,6	1288,9 ± 9,3	135,2 ± 0,6	9,5
Ленинградский скороспелый	2603,7 ± 23,7	129,2 ± 0,3	20,2	1025,6 ± 6,3	273,6 ± 1,2	3,7
Valiant х Ленинградский скороспелый	3132,1 ± 113,3	232,2 ± 3,0	13,5	1481,1 ± 6,8	154,8 ± 1,4	9,6
Белый налив						
Белый налив	3019,9 ± 12,2	188,7 ± 1,0	16,0	2382,9 ± 8,0	121,4 ± 1,6	19,6
Resista	3016,5 ± 13,3	154,6 ± 1,2	19,5	3215,5 ± 8,9	256,4 ± 1,5	12,5
Белый налив х Resista	3337,5 ± 23,8	206,4 ± 2,7	16,2	2388,4 ± 9,1	187,5 ± 1,9	12,7
Cavalier						
Cavalier	1918,0 ± 12,0	92,4 ± 0,2	20,8	1558,5 ± 14,9	111,1 ± 2,5	14,0
Fanal	1887,5 ± 7,8	126,2 ± 1,5	15,0	1572,0 ± 8,7	129,9 ± 1,2	12,1
Cavalier х Fanal	3210,1 ± 55,4	166,1 ± 3,1	19,3	2052,8 ± 17,3	214,5 ± 0,8	9,6
Хлопок <i>Gossypium</i> L.						
М-4	1238,7 ± 5,8	60,9 ± 1,6	20,3	753,5 ± 3,2	72,6 ± 0,8	10,4
АК-4-42	838,2 ± 4,9	55,9 ± 1,9	15,0	924,6 ± 4,7	100,1 ± 2,2	9,3
М-4 х АК-4-42	880,9 ± 6,2	58,4 ± 1,2	15,0	1446,2 ± 6,7	99,5 ± 1,2	14,5
М-4						
М-4	1238,7 ± 5,8	60,9 ± 1,6	20,3	753,5 ± 3,2	72,6 ± 0,8	10,4
С-460	1021,2 ± 6,2	53,7 ± 1,5	19,0	659,4 ± 2,5	63,6 ± 1,2	10,4
М-4 х С-460	1016,0 ± 6,8	44,9 ± 1,1	22,6	847,3 ± 3,9	110,4 ± 1,1	7,7
М-4						
М-4	1238,7 ± 5,8	60,9 ± 1,6	20,3	753,5 ± 3,2	72,6 ± 0,8	10,4
152-F	1021,2 ± 6,9	54,0 ± 0,5	18,9	759,0 ± 2,8	111,5 ± 1,4	6,8
М-4 х 152-F	1159,2 ± 8,4	60,9 ± 0,9	19,0	1255,8 ± 9,0	162,8 ± 1,2	7,7

Выводы

У гетерозисных гибридов томата по сравнению с их родительскими формами не отмечено существенных отличий в содержании суммарной ДНК в расчете на сырую массу листа. У гибридных комбинаций хлопчатника отмечается активация синтеза ДНК в клетке листа. Увеличение количества ДНК на клетку, в основном, наблюдается за счет всех фракций, при этом отмечается значительное увеличение лабильной ДНК. Число клеток в расчете на единицу площади поверхности листа уменьшается, что свидетельствует об увеличении размера клеток.

Изучение цитоплазматических генети-

ческих систем у гетерозисных гибридов у томата показало, что у исследуемых гибридов этой культуры отмечается активация синтеза нуклеиновых кислот в митохондриях. Это может указывать на высокую функциональную активность митохондриального генома клетки, что, в свою очередь, способно стать предпосылкой для высокой скорости энергетических и пластических процессов в этих органеллах у гибридных комбинаций. Напротив, у гетерозисных гибридов хлопчатника по сравнению с родителями выше количество генетического материала в хлоропластах, что, вероятно, повышает активность пластических и энергообразующих процессов в них.

Литература

1. Concenzo G., Aspiáz I., Galon L., Ferreira E.A., Freitas M.A.M., Fialho C.M.T., Schwanke A.M.L., Ferreira F.A., Silva A.A. Photosynthetic characteristics of hybrid and conventional rice plants as a function of plant competition // *Planta daninha*. – 2011. – 29, N 4. – P. 793–802.
2. Вайшла О.Б. Факторный анализ показателей фотосинтеза, дыхания и продуктивности у гетерозисных гибридов и родительских линий *Pisum sativum L.* Исследовано в России [Электронный ресурс]. – 2004. – 15. – С. 144–163. – Режим доступа: <http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles/2004/015>.
3. Singh B.K., Sharma S.R., Singh B. Heterosis for superoxide dismutase, peroxidase and catalase enzymes in the head of single cross-hybrids of cabbage (*Brassica oleracea var. capitata*) // *J. of Genetics (Indian Academy of Sciences)*. – 2010. – 89, N 2. – P. 217–221.
4. Comarova G., Palić A., Rotari A. Protein polymorphism and heterosis of maize // *Stiinta Agricola*. – 2005. – 2. – P. 3–7.
5. Titok V., Yurenkova S., Khotyleva L. The role of energy metabolism in heterosis formation in plants // *Proceedings of The Fourth International Iran & Russia Conference «Agriculture and Natural Resources»*. – 2008. – P. 418–424.
6. Fujimoto R., Taylor J.M., Shirasawa S., Peacock W.J., Dennis E.S. Heterosis of Arabidopsis hybrids between C24 and Col is associated with increased photosynthesis capacity // *PNAS USA*. – 2012. – 109, N 18. – P. 7109–7114.
7. Dahal D., Mooney B.P., Newton K.J. Specific changes in total and mitochondrial proteomes are associated with higher levels of heterosis in maize hybrids // *Plant. J.* – 2012. – 72, N 1. – P. 70–78.
8. Алиев Р.Т. Особенности генетического аппарата клетки и прогнозирование гетерозиса у гибридов растений: автореф. дис. на соискание наук. степени докт. биол. наук. – Харьков, 1989. – 48 с.
9. Bao J.Y., Lee S., Chen C., Zhang X.Q., Zhang Y., Liu S.Q., Clark T., Wang J., Cao M.L., Yang H.M., Wang S.M., Yu J. Serial analysis of gene expression study of a hybrid rice strain (LYP9) and its parental cultivars // *Plant Physiol.* – 2005. – 138. – P. 1216–1231.
10. Конарев В.Г., Тютюрев С.Л. Методы биохимии и цитохимии нуклеиновых кислот растений // *Научные труды ВИР*. – Л., 1970. – С. 5–202.

MAMMADOVA A.D., ALIYEV R.T.

*Institute of Genetic Resources of Natl. Acad. Sci. of Azerbaijan,
Azerbaijan, AZ 1106, Baku, Azadlig Ave., 155, e-mail: afet.m@mail.ru*

INTENSITY OF SYNTHESIS OF THE NUCLEIC ACIDS IN CELL HETEROTIC HYBRIDS TOMATO AND COTTON

Aims. The study of changes in the content of nucleic acids in the cell of heterotic plants in comparison with parental forms. **Methods.** Mitochondria and chloroplasts were isolated by the differential centrifugation. Nucleic acids content in were determined by the method described in the works of V.G. Konareva and S.L. Tyutereva (1970). **Results.** DNA content per one cell in leaf's tissue in all hybrid combinations of cotton was higher than in parental varieties. The number of cells per unit of square of leaf surface was lesser, while the size of one cell was larger. In heterotic hybrids both mitochondrions and chloroplasts may contribute to increasing of cell energy-supply. **Conclusions.** One can suppose that in case of increased load on nuclear, mitochondrial and chloroplast genetic system of plant cell, the hybrid, which has raised energy-supply for biosynthesis of plastic matter, develops the high heterosis effect.

Key words: heterosis, RNA, DNA, cell, mitochondria, chloroplasts.