

ՀՀ ԿՐԹՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ԳԻՏՈՒԹՅԱՆ ՆԱԽԱՐԱՐՈՒԹՅՈՒՆ

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԳԱՐԲԻՆՅԱՆ ՄԵՐԻ ՈւԱԶՄԻԿԻ

ՑԱԾՐ ԻՆՏԵՆՍԻՎՈՒԹՅԱՄԲ ՄՍ-ՏԻՐՈՒՅԹԻ ԷԼԵԿՏՐԱՄԱԳՆԻՍԱԿԱՆ  
ԱԼԻՔՆԵՐԻ ՆԵՐԳՈՐԾՈՒԹՅՈՒՆԸ ՑՈՐԵՆԻ ԾԻԼԵՐԻ ԵՆԹԱԲՁՁԱՅԻՆ  
ԿԱՌՈՒՑՎԱԾՔՆԵՐԻ ՎՐԱ

Գ.00.02 - Կենսաֆիզիկա մասնագիտությամբ  
կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի  
գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսությամբ

ՍԵՂԱԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ 2013

---

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РА  
ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ДАРБИНЯН МЕРИ РАЗМИКОВНА

ВОЗДЕЙСТВИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ВОЛН НИЗКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ  
ММ-ДИАПАЗОНА НА СУБКЛЕТОЧНЫЕ СТРУКТУРЫ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук по специальности  
03.00.02 - Биофизика

ЕРЕВАН 2013

Ատենախոսության քեման հաստատվել է Երևանի պետական համալսարանում

Գիտական ղեկավար՝

Կենն. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր  
Պ.Հ. Վարդևանյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝

Կենն. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր  
Հ.Ռ. Վարդապետյան  
Կենն. գիտ. թեկնածու  
Մ.Հ. Մալաքյան

Առաջատար կազմակերպություն՝

ՀՀ ԳԱԱ Մոլեկուլային կենսաբանության  
ինստիտուտ

Ատենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2013թ. դեկտեմբերի 25-ին, ժամը 14<sup>00</sup>-ին, Երևանի պետական համալսարանում գործող ՀՀ ԲՈՀ-ի Կենսաֆիզիկայի 051 մասնագիտական խորհրդի նիստում (0025, Երևան, Ալեք Մանուկյան փ. 1, ԵՊՀ, կենսաբանության ֆակուլտետ):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ Երևանի պետական համալսարանի գրադարանում:

Ատենախոսության սեղմագիրն առաքված է 2013թ. նոյեմբերի 23-ին:

051 Մասնագիտական խորհրդի գիտական  
քարտուղար, կենն. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր

Լ.Հ. Նավասարդյան

Тема диссертации утверждена в Ереванском государственном университете

Научный руководитель:

доктор биол. наук, профессор  
П.О. Вардеванян

Официальные оппоненты:

доктор биол. наук, профессор  
Р.Р. Вардапетян  
кандидат биол. наук,  
М.Г. Малакян

Ведущая организация:

Институт Молекулярной биологии НАН  
РА

Защита диссертации состоится 25-ого декабря 2013г., в 14<sup>00</sup> часов, на заседании Специализированного совета ВАК РА Биофизики 051 при Ереванском государственном университете (0025, Ереван, ул. Алека Манукяна 1, ЕГУ, биологический факультет).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ереванского государственного университета.

Автореферат диссертации разослан 23-ого ноября 2013г.

Ученый секретарь Специализированного совета 051,  
доктор биол. наук, профессор

Լ.Ա. Նավասարդյան

## ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Геном высших растений можно рассматривать как некое лабильное образование, в котором происходит непрерывное изменение последовательностей и активности отдельных участков ДНК в процессе онтогенеза. Выявление механизмов, лежащих в основе активации генома, весьма важно при изучении процессов, происходящих в клетке. С этой точки зрения исследования механизмов воздействия различных факторов внешней среды на молекулярные процессы регуляции метаболизма растительных клеток при различных функциональных состояниях являются актуальными. Понимание этих механизмов имеет практическое значение для культивирования важной сельскохозяйственной культуры – пшеницы.

Зародыш на ранних стадиях развития является подходящей моделью для исследования процессов, лежащих в основе активации генома. Благодаря выбранной модели удастся выявить ряд структурных особенностей организации растительного хроматина и его отдельных компонентов, а также изменения, происходящие в них при активации генома. Более того, попытки комплексной оценки геномов злаковых (с различной формулой генома), а также изменений, происходящих в них в процессе прорастания, биофизическими, биохимическими и молекулярно-биологическими методами могут лечь в основу разработки новых подходов в идентификации и создании экспресс методов анализа геномов злаковых. Система зародыша на ранних стадиях развития делает возможным также исследование процессов развития, которые не могут дать другие экспериментальные системы.

Другой важной ступенью для понимания механизмов активации генома и последующей активации метаболических процессов является изучение молекулярных механизмов внутренних регуляторных систем растений при прорастании и стимуляции различными физическими факторами (например, облучение электромагнитными волнами различной частоты) или фитогормонами, биологически активными веществами, влияющими на экспрессию генома. С этой точки зрения особый интерес представляют исследования по выявлению механизмов стимулирующего действия различных факторов как для непосредственного внедрения в сельскохозяйственную практику, так и для разработки и синтеза новых, более продуктивных стимуляторов.

В настоящее время электромагнитные волны миллиметрового диапазона (ЭМВ ММ-диапазона) успешно используются в клинической медицине, несмотря на то, что механизмы их действия на биологические объекты пока остаются до конца не выясненными. Обнаружены многочисленные эффекты ЭМВ ММ-диапазона низкой интенсивности на уровне организма человека и животных, а также на клетках про- и эукариот. Показано существование как селективных, частотно зависимых эффектов ЭМВ ММ-диапазона, так и “неселективных”, независимых от частоты воздействий. Однако до последнего времени первичные мишени и механизмы действия ЭМВ ММ-диапазона на биологические системы обсуждаются, однозначно не выяснены.

ЭМВ ММ-диапазона представляют определенный интерес, поскольку энергия кванта этих волн не достаточна для разрыва молекулярных связей. Исследования последних лет указывают, что воздействие ЭМВ ММ-диапазона низкой интенсивности на биологические системы не вызывает увеличения температуры в клетках.

Облучение низкочастотными ЭМВ ММ-диапазона биологических систем не вызывает увеличения температуры или пострadiационных эффектов при ионизирующих облучениях. Для объяснения механизмов влияние этих волн

предложены различные гипотезы. В частности, предложена гипотеза, согласно которой ЭМВ ММ-диапазона влияет на клетку посредством резонансного поглощения водой, чем и обусловлено проникновение этих волн вглубь клетки (Петросян и др., 2001).

Цель и задачи исследования: Целью настоящей работы явилось изучение компонентов зародышей пшеницы при активации, и определение структурных изменений его отдельных структур при прорастании и стимуляции нетепловыми ЭМВ ММ-диапазона. Для достижения поставленной цели были приняты к разрешению следующие задачи:

- исследовать влияние ММ волн на рост проростков пшеницы;
- изучить влияние экзогенного гиббереллина, а также сочетанного воздействия гиббереллина (ГК) и ММ волн на изменения происходящие в клетках прорастающей пшеницы в процессе роста на примере изменения активности пероксидазы (ПО);
- определить качественный и количественный состав фосфолипидов хроматина сухих, прорастающих и облученных изолированных зародышей пшеницы;
- выявить различия в фосфолипидном составе клеточного ядра, обусловленные активацией генома в присутствии экзогенного гиббереллина и под воздействием ММ волн;
- оценить роль облучения в активации генома при прорастании и провести анализ кривых плавления высокоактивной фракции хроматина сухих, прорастающих и облученных изолированных зародышей пшеницы;
- исследовать электрокинетические свойства ядер клеток зародышей злаковых при различных функциональных состояниях генома и при воздействии физического фактора и гормона.

Научная новизна: В работе исследовано воздействие внешних факторов различной природы на рост и некоторые показатели жизнедеятельности клеток зародышей и проростков пшеницы. Исследование влияния внешних факторов на рост и метаболические процессы показали, что повышается интенсивность окислительных процессов. Исследование фосфолипидного состава ядерных субфракций сухих, а также активированных различными внешними факторами зародышей пшеницы выявило разнонаправленные изменения содержания фосфолипидов. Представленные в данной работе результаты указывают на то, что отдельные компоненты ядра при активации подвергаются значительным структурным изменениям: обнаружены изменения в кривых плавления фракций хроматина, а также фрагментов ДНК из прорастающих и облученных ЭМВ ММ-диапазона зародышей пшеницы по сравнению с сухими. Обнаружено значительное изменение величины электрокинетического потенциала ядер зародышевых клеток, что отражается на функциональном состоянии генетического материала клетки. Исследования электрокинетических свойств поверхности ядерных мембран зародышей злаковых с различными геномными формулами выявили изменения исходно разнящихся характеристик при активации генома. Обнаружено, что влияние внешних факторов приводит к значительным изменениям электрокинетического потенциала, при этом, изменение больше при совместном воздействии физического фактора и гормона.

Основные положения выносимые на защиту:

1. Экзогенный гиббереллин и ММ волны влияют на рост проростков пшеницы и интенсивность метаболических процессов: наблюдается изменение общей активности пероксидазы в клетках зародышей прорастающих семян;

2. Происходят количественные изменения в фосфолипидном составе клеточного ядра пшеницы при прорастании зародышей пшеницы, а также под действием внешних факторов;
3. Изменения кривых плавления фракций хроматина и соответствующих фрагментов ДНК при прорастании и облучении зародышей пшеницы коррелируют с изменениями содержания хроматина во фракциях сахарозного градиента;
4. Изменяются электрокинетические свойства поверхности ядер у зародышей злаковых при различных функциональных состояниях генома, а также при влиянии как отдельного физического фактора и фитогормона, так и при их совместном воздействии.

Практическая ценность работы: Полученные в работе результаты могут быть применены во многих областях прикладной биофизики и сельского хозяйства. Исследование влияния гиббереллина и ММ волн на рост и общую активность пероксидазы проростков пшеницы позволяет получить ценную информацию о возможных перспективах применения методов, повышающих урожайность пшеницы и других злаковых. Изучение фосфолипидного состава ядер клеток проростков пшеницы, а также изучение хроматина с помощью дифференциальных кривых плавления дает ценную информацию для фундаментальной науки. Исследования влияния факторов различной природы на биологические системы, находящиеся в различных функциональных состояниях, дает возможность понять механизмы этих воздействий. Большое научное значение имеет выявленная связь между величиной электрокинетического потенциала и функциональной активностью генома. Большую научную ценность представляют также результаты, указывающие на то, что величина электрокинетического потенциала ядер может служить видовым признаком злаков.

Полученные данные могут быть использованы в специальных лекционных курсах на соответствующих кафедрах вузов, а также в научных лабораториях, занимающихся исследованием внешних факторов различной природы на рост и жизнедеятельность растений.

Апробация работы: Материалы диссертации обсуждались на семинарах кафедры биофизики ЕГУ, а также докладывались на Международной европейской конференции по радиационным исследованиям (Будапешт, Венгрия, 2004), на IV Международном симпозиуме «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования» (Пушино, РФ, 2005), на конференции «Современные проблемы генетики, радиобиологии, радиоэкологии и эволюции» (Ереван, Армения, 2005), на международном ежегодном конгрессе по молекулярной и клеточной протеомике (Мюнхен, Германия, 2005), на международном семинаре «Биотехнология и здоровье» (Ереван, Армения, 2005), на международном симпозиуме «Progress in electromagnetics research symposium» (Стокгольм, Швеция, 2013).

Публикации: По теме диссертации опубликованы 17 научных работ.

Структура и объем диссертации: Диссертация состоит из введения, 3-х глав, заключения, выводов и списка литературы насчитывающего 206 наименований. Диссертация содержит 121 страницу, 18 рисунков, 7 таблиц.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

*Во Введении* кратко описывается структура диссертационной работы, обсуждаются ее цель, актуальность и научное значение.

*Первая глава* посвящена обсуждению существующих в настоящее время в литературе основных вопросов, связанных с действием электромагнитных волн

миллиметрового диапазона на биологические системы и возможными гипотезами воздействия этих волн. Приведены общие сведения о росте и развитии проростков пшеницы, а также представления о структуре ядерной мембраны, включая фосфолипидный состав, о поверхностном заряде и электрокинетическом потенциале ядерной мембраны.

*Вторая глава посвящена материалам и методам исследования.*

*Получение ядер проростков зародышей пшеницы.* Активность ПО определяли как описано в (Vardevanyan et al., 2013). Выделение зародышей из семян гексаплоидной пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Безостая-1 проводили по методу Johnston и Stern (Johnston & Stern, 1975). Семена измельчали в течение 15-20с при 1400g в гомогенизаторе MPW-302 (“Mechanika precyzyjna”, Польша) и последовательно просеивали через ряд сит (с порами 3, 2 и 1мм). Массу, оставшуюся на 1-миллиметровом сите, брали для проращивания зародышей.

Ядра получали из обработанных и необработанных проростков зародышей пшеницы по модифицированному нами методу Блобела и Поттера (Blobel & Potter, 1966). Замороженные в жидком азоте проростки измельчали в ступке до получения тонкого порошка, добавляли 0.25М сахарозу в буфер содержащий 10мМ трис-НСl (рН 7.4), 25мМ КСl, 15мМ MgCl<sub>2</sub>. В ТКМ-буфере (10мМ КСl, 10мМ трис-НСl буфере (рН 7.5), 1мМ MgCl<sub>2</sub>) проводили соответствующие процедуры, описанные в работе (Blobel & Potter, 1966). Для получения ядерных мембран осадок ядер суспендировали в 50мМ трис-НСl буфере (рН 7.4), содержащем 1% тритон X-100, 400мМ КСl, и далее проводили процедуры как было описано ранее в (Blobel & Potter, 1966). Полученный гомогенат инкубировали на льду 30мин и микроцентрифугировали 10мин при 4<sup>0</sup>С, супернатант использовали как тотальную ядерную фракцию. Тотальную ядерную фракцию ресуспендировали в 10% сахарозе, содержащей 50мМ трис-НСl, рН 7.4, 15мМ MgCl<sub>2</sub>, 25мМ КСl. Затем добавляли ДНК-азу (5мг/мл) и инкубировали 15мин при 37<sup>0</sup>С. Ядра осаждали в 30% сахарозе и центрифугировали 10мин при 20000g для разделения растворимой ядерной фракции и фракции ядерных мембран.

*Выделение хроматина и определение содержания фосфолипидов в хроматине.* Хроматин выделяли по методу, описанному в работе (Вардеванян и др., 1995). К 2-3 г зародышей добавляли 50мл буфера, содержащего 0.5% тритон X-100 в 0.05М трис-НСl, рН 8.1, 1/15мМ дитиотрейтол (ДТТ) и гомогенизировали в гомогенизаторе Tare MPW 302 (Польша) при 13000g в течение 2-3мин, после чего перемешивали на качалке при 4<sup>0</sup>С в течение 10мин. Осколки разрушенных клеток и неразрушенные зародыши осаждали центрифугированием при 4000g, а супернатант, профильтрованный через двухслойную марлю, использовали для дальнейшего выделения хроматина. Дальнейшие процедуры получения хроматина проводили как описано в (Вардеванян и др., 1995).

Экстракция фосфолипидов из ацетоновых порошков препаратов ядерных мембран и хроматина проводили смесью хлороформ-метанол (2:1) по методу Фолча (Вардеванян и др., 1996). Для фракционирования фосфолипидов использовали метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) с применением пластинок с силикогелем L (Сетарол, Чехия). Хроматографию проводили в системе растворителей хлороформ-метанол-вода в соотношении 65:5:4. Для идентификации фосфолипидов были использованы стандартные препараты ФХ, ФЭ и КЛ (Sigma, США). Хроматограммы проявляли в парах йода. Количественное определение отдельных групп фосфолипидов после 2-часовой минерализации в присутствии смеси HClO<sub>4</sub> и HNO<sub>3</sub> проводили по неорганическому фосфору методом Эймса (Ames, 1966).

Электрофоретическую подвижность ядер определяли методом микроэлектрофореза, а величину  $\xi$ -потенциала по формуле описанной в (Харамоненко, 1974).

*Обработка зародышей пшеницы гиббереллином и ММ ЭМВ.* Для обработки семян экзогенным ГК в проточную воду добавляли фитогормон в расчете 125мг на 1л. Для получения проростков обработанных ММ ЭМВ, замоченные однодневные семена облучали при помощи генератора Г4-141 как описано в (Vardevanyan et al., 2004). Частота облучения соответствовала 50.3ГГц на расстоянии 180мм от волновода. Облучение проводилось с плотностью потока мощности излучения  $0.64\text{мВт/см}^2$ , в режиме непрерывной генерации.

*Получение дифференциальных кривых плавления хроматина зародышей пшеницы.* Термическая денатурация олигонуклеосом проводилась на спектрофотометре PVE Unicam SP-8-100 (Англия), как описано в (Вардеванян и др., 1995). Образцы перед плавлением диализовались против  $0.1\times\text{SSC}$  при  $4^{\circ}\text{C}$ . Дифференциальные кривые плавления (ДКП) определялись путем численного дифференцирования нормированных кривых.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Влияние различных внешних факторов на рост проростков пшеницы.

Известно, что ЭМИ крайне высокой частоты (ЭМИ КВЧ) воздействуют на живые организмы находящиеся на любом уровне организации. С этой точки зрения большой интерес представляют исследования влияния низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ на рост семян пшеницы. Для осуществления данной цели исследовано влияние ЭМИ КВЧ в частотном диапазоне 37.5-53.5ГГц на рост проростков. Обнаружено, что однократное облучение прорастающих семян влияет на рост проростков. Интенсивность роста зависит от длительности и частоты ЭМИ. Облучение прорастающих семян пшеницы влияет на рост проростков пшеницы. Интересно, что во всех случаях наибольший эффект наблюдается при облучении ЭМИ частотой 50.3ГГц, что свидетельствует о том, что организм более сильно реагирует на облучение резонансной для воды частотой, что подтверждает мнение, что вода является первичным звеном воздействия ЭМИ КВЧ. Кроме того эффект зависит также от длительности облучения: эффект усиливается с увеличением длительности облучения (рис. 1). Как показывают результаты на 4-ый день после облучения ЭМИ частотой 50.3ГГц продолжительностью 40мин рост проростков пшеницы замедляется по сравнению с предыдущими двумя днями.

Этот факт указывает на то, что в организме запускается цепь последовательных процессов, направленных на уменьшение воздействия фактора внешней среды на организм, и уже на 4-ый день организм значительно снимает стресс, вызванный внешним воздействием.

Влияние ЭМИ КВЧ на активность пероксидазы проростков пшеницы. Во время прорастания семян активность ПО в клетке увеличивается, следовательно, изучение влияния ММ волн на общую активность пероксидазы является важным для понимания механизмов активации внутриклеточных процессов. Выявлено, что однократное 20-минутное облучение прорастающих семян ЭМВ в диапазоне 45-53ГГц приводит к изменению активности пероксидазы проростков. Определена активность ПО в облученных экстрактах, полученных из контрольных проростков (in vitro) и в экстрактах, полученных из облученных проростков (in vivo). Исследовалось влияние ЭМИ с частотой 49ГГц, 50.3ГГц, 51.8ГГц и 53ГГц.

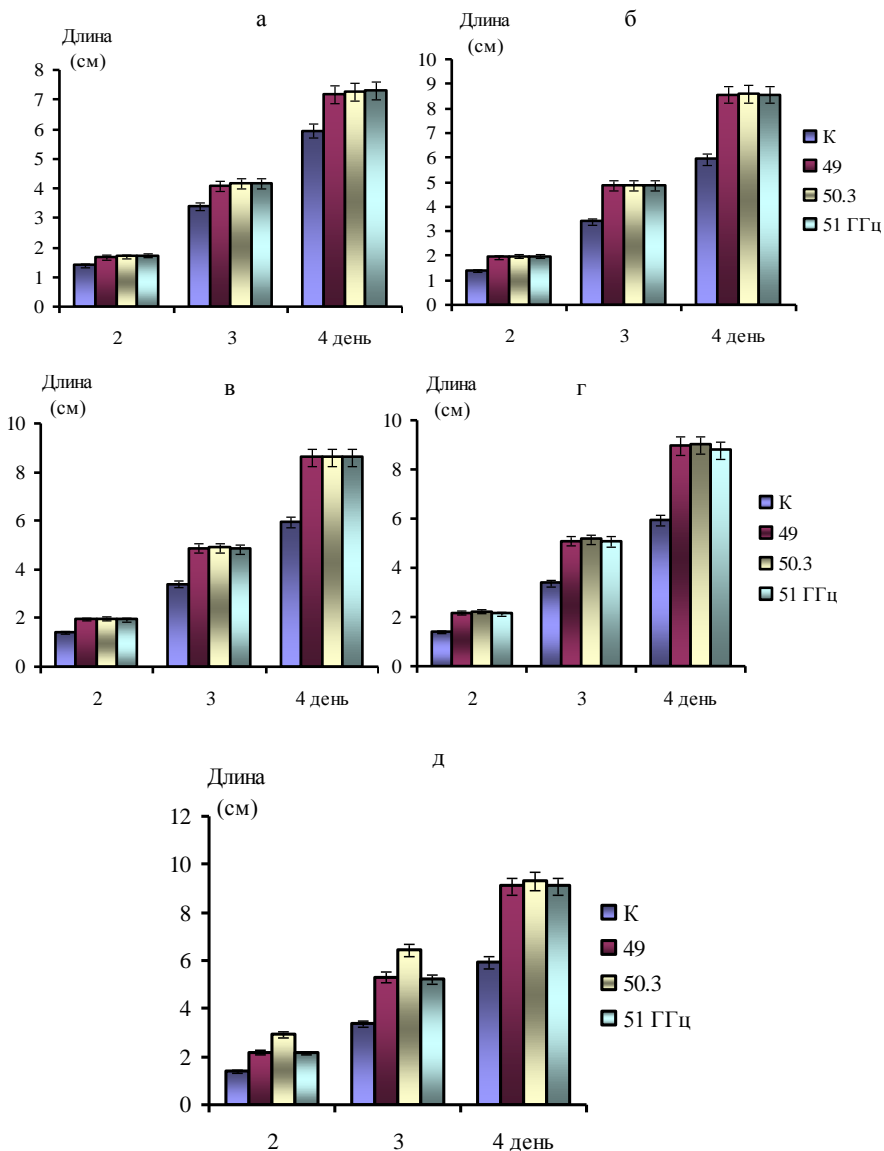


Рис. 1. Длина проростков семян пшеницы облученных ЭМИ КВЧ продолжительностью 5 мин (а), 10 мин (б), 20 мин (в), 30 мин (г) и 40 мин (д) в 2-ой, 3-ий и 4-ый дни после облучения.

На рис. 2 приведены значения активности ПО при облучении *in vitro* и *in vivo*. Как видно из рисунка, активность пероксидазы при облучении *in vitro*



увеличивается в большей степени, чем при облучении *in vivo*. При этом, наибольший эффект наблюдается в случае облучения ЭМИ с частотами, резонансными для воды – 50.3ГГц и 51.8ГГц.

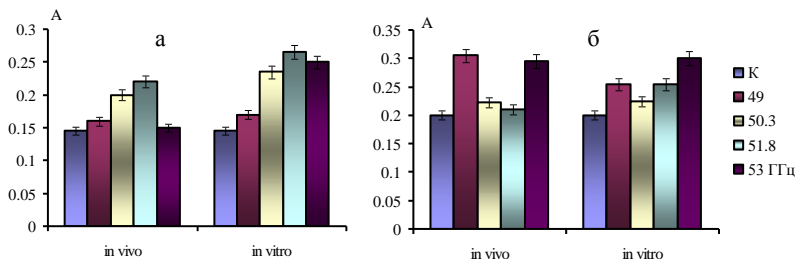


Рис. 2. Влияние ЭМИ КВЧ на общую активность (А) пероксидазы трех дневных (а) и пяти дневных (б) проростков пшеницы.

Этот факт обусловлен тем, что в экстрактах облучается непосредственно вода, что приводит к изменению активности фермента, а в облученных проростках проявляется стабилизирующее действие процессов саморегуляции, что приводит к изменению активности фермента в меньшей степени, сравнивая с облученным экстрактом. В случае 5-и дневных проростков также сохраняется вышеотмеченная закономерность; при облучении резонансными для воды частотами ответ больше в облученном экстракте.

Влияние ГК и совместное влияние ГК и ЭМИ КВЧ на активность пероксидазы проростков пшеницы. Исследовано также влияние ГК и совместное влияние гибберелловой кислоты и ЭМИ КВЧ. Была определена активность ПО в облученных экстрактах, полученных из проростков обработанных однократно ГК (*in vitro*) и в экстрактах, полученных из обработанных однократно ГК и облученных проростков (*in vivo*). Исследовалось влияние ЭМИ с частотой 49ГГц, 50.3ГГц, 51.8ГГц и 53ГГц. Как видно из рис. 3 а и б, активность ПО возрастает при обработке ГК по сравнению с контрольными вариантами. Совместное воздействие увеличивает стимулирующий эффект ГК. Наибольший эффект наблюдается при облучении ЭМИ с частотами, резонансными для воды.

Различие между действием ГК на активность ПО в вариантах *in vivo* и *in vitro* незначительно. Различия наблюдаемые при сочетанном влиянии связаны с воздействием ЭМИ КВЧ, поскольку ГК одинаково действует на организм. Большое изменение активности ПО в экстракте при облучении, по-видимому, обусловлено нарушением структуры воды, которое влияет на структуру фермента. На 5-ый день после облучения общая направленность ответа на внешнее воздействие уменьшается по сравнению с 3-им днем после облучения. Этот факт говорит о том, что в организме запускается цепь последовательных процессов, которые направлены на уменьшение влияния внешнего воздействия, которая постепенно приводит к снятию стресса вызванного внешним фактором.

Увеличение активности ПО в клетках проростков может быть обусловлено повышением активности генов, контролирующих синтез пероксидазы в ответ на стимулирование окислительных процессов внешними факторами.

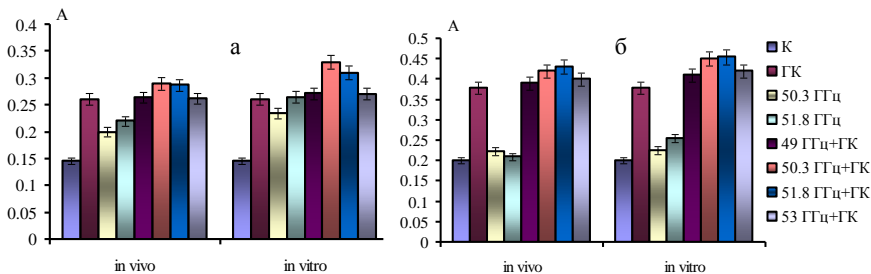


Рис. 3. Влияние ГК и совместное влияние ГК и ЭМИ КВЧ на общую активность (А) пероксидазы трех дневных (а) и пяти дневных (б) проростков пшеницы.

Фосфолипидный состав ядерных субфракций прорастающих семян пшеницы. Происходящее при активации генома набухание ядер и перераспределение поверхностного заряда ядерной мембраны может быть связано с изменениями в фосфолипидном составе самой ядерной мембраны. Для выяснения данного вопроса проведен сравнительный анализ фосфолипидного состава ядерных субфракций – хроматина, ядерного матрикса и ядерной мембраны, полученных из изолированных интактных ядер сухих и прорастающих зародышей пшеницы.

В литературе существуют данные по фосфолипидному составу растительных объектов (Vance et al., 2003), однако фосфолипидный состав растительного хроматина и ядерной мембраны недостаточно изучен. Самыми распространенными фосфолипидами в эукариотических клетках являются фосфатидилхолин (лецитин) и фосфатидилэтаноламин. Количество этих двух основных фосфолипидов в эукариотических клетках может достигать соответственно 50% и 25% всей фосфолипидной массы (Hanneberry et al., 2002), однако в разных растениях они содержатся в разных соотношениях (Moreau et al., 1990).

Результаты проведенных исследований фосфолипидного состава показали, что фосфолипиды ФХ и ФЭ представлены во всех субфракциях ядра.

Таблица 1.

Фосфолипидный состав (мкг/мг сухого веса) субфракций интактных ядер из сухих эмбрионов и 3-х дневных проростков

Фосфолипид	Ядерная мембрана		Растворимая ядерная фракция		Хроматин	
	Сухие эмбрионы	Проростки	Сухие эмбрионы	Проростки	Сухие эмбрионы	Проростки
ФХ	0.545±0.08	0.385±0.03	0.407±0.09	0.166±0.04	0.710±0.22	0.585±0.02
ФЭ	0.310±0.09	0.230±0.01	0.179±0.08	0.128±0.03	0.263±0.19	0.329±0.02
ФИ	0.151±0.08	0.180±0.02	н.о.	н.о.	0.135±0.11	0.174±0.01
ФС	0.149±0.07	0.195±0.02	н.о.	н.о.	0.130±0.11	0.367±0.02
ФК	0.359±0.10	0.910±0.02	0.288±0.07	0.128±0.05	н.о.	н.о.
КЛ	0.366±0.08	0.175±0.02	0.244±0.12	0.740±0.01	0.101±0.09	0.140±0.01
ЛФХ	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.	0.119±0.04	0.135±0.02
Сумма	1.880	2.075	1.098	1.162	1.458	1.730

В табл. 1 приведен фосфолипидный состав ядерной мембраны, растворимой ядерной фракции и фракции очищенного хроматина, выделенных из сухих эмбрионов пшеницы. Как видно из этих данных содержание ФХ и ФЭ в растворимой ядерной фракции ниже, чем в составе ядерной мембраны, что находится в соответствии с данными других экспериментов, выявивших присутствие холин/этаноламинфосфотрансферазы ответственной за синтез ФХ и ФЭ в ядерной мембране и эндоплазматической сети (Hanneberry et al., 2002).

Как видно из табл. 1, ФХ является мажорным фосфолипидом для всех трех субфракций интактных ядер, полученных из сухих зародышей. Относительное содержание ФХ в ядерной мембране составляет 28,9%, в растворимой ядерной фракции - 37%, а в хроматине - 49%. ФЭ также обнаружен во всех трех субфракциях ядра, но в количествах, не превышающих содержание фосфатидовой кислоты и кардиолипина в случае ядерной мембраны. Как свидетельствуют наши данные, при активации генома в растворимой ядерной фракции наблюдается повышение содержания кардиолипина, а в ядерной мембране наблюдается увеличение содержания ФК, что связано с повышением проницаемости ядерной мембраны.

Таким образом, полученные нами данные позволяют предположить, что увеличение проницаемости ядерной мембраны при активации генома и, соответственно, увеличение заряда на ее поверхности обусловлены возрастанием концентрации и лабильности ФК. В то же время выявлено, что для хроматина проростков характерно высокое содержание лизофосфатдилхолина, а для растворимой ядерной фракции – кардиолипина. В результате, исследование изменений фосфолипидного состава субфракций ядра позволило выявить фосфолипиды, имеющие определенный функциональный статус в составе каждой из структур.

*Изменения в составе фосфолипидов ядерных субфракций проростков пшеницы под действием внешних факторов различной природы.* Выявлено, что на 3-ий день прорастания семян происходят изменения в биохимическом составе ядерной мембраны, а также перераспределение фосфолипидов между ядерной мембраной, растворимой ядерной фракцией и хроматином в тканях проростков. Ранние исследования показали, что ГК оказывает положительное влияние на процесс прорастания семян и ускоряет процессы, связанные с активацией генома (Вардеванян и др., 1995; 1996). Определена динамика вызванных ГК и ЭМИ КВЧ изменений в фосфолипидном составе растворимой ядерной фракции, ядерной мембраны и хроматина в тканях 3-х и 4-х дневных проростков. Исследовано распределение ФЛ в ядерной мембране, растворимой ядерной фракции и хроматине 3-х дневных проростков, которые при прорастании были однократно обработаны ГК и подвержены однократному 20-минутному влиянию ЭМИ КВЧ (табл. 2). Примечательно, что под воздействием ЭМИ КВЧ в ядерной мембране и хроматине не обнаруживается КЛ. Как свидетельствуют данные, представленные в табл. 2, суммарное содержание ФЛ в ядерной мембране 3-х дневных проростков, обработанных ГК, уменьшалось на 4%, в растворимой ядерной фракции – на 15%, а в хроматине увеличивалось на 3,24%. При воздействии ЭМИ КВЧ суммарное содержание ФЛ в ядерной мембране 3-х дневных проростков уменьшалось на 32,5%, в растворимой ядерной фракции увеличилось на 5,6%, а в хроматине увеличилось на 34,5%. Из полученных данных следует, что под воздействием ГК в ядерной мембране 3-х дневных проростков суммарная доля анионных ФЛ (ФИ, ФС, ФК, КЛ), уменьшается с 70,4% до 60,8%. Под воздействием ЭМИ КВЧ суммарная доля анионных фосфолипидов уменьшается до 56,43% (табл. 2). В растворимой ядерной

фракции 3-х дневных проростков суммарная доля анионных ФЛ под воздействием ГК возросла с 41 до 55%, под воздействием ЭМИ КВЧ до 46.95%, (табл. 2). В хроматине суммарная доля анионных ФЛ 3-х дневных проростков под воздействием ГК возросла от 47.13% до 47.19%, под воздействием ЭМИ КВЧ возросла до 61.54% (табл. 2). Показано, что при обработке гиббереллином содержание нейтральных ФЛ в ядерной мембране от 29.64% увеличивается до 39.19%, под воздействием ЭМИ КВЧ до 43.57% (табл. 2). В растворимой ядерной фракции содержание нейтральных ФЛ под действием ГК уменьшается от 59% до 45%, под воздействием ЭМИ КВЧ уменьшается до 53% (табл. 2).

В хроматине содержание нейтральных ФЛ под действием ГК почти не меняется изменяясь от 52.87% до 52.8%, а под действием ЭМИ КВЧ уменьшается до 38.4% (табл. 2). Таким образом, следует отметить, что отдельное воздействие внешнего физического фактора и ГК приводит к изменениям содержания ФЛ. Однако при этом не обнаружено изменения количества ЛФХ, который является продуктом деацилирования ФХ. Таким образом, при прорастании зародышей семян пшеницы в присутствии экзогенного гиббереллина и под воздействием ММ ЭМВ наблюдаются значительные количественные сдвиги в содержании отдельных классов фосфолипидов в препаратах ядерных мембран, растворимой ядерной фракции и хроматина, что свидетельствует об изменении фосфолипидного обмена.

Таблица 2.

Фосфолипидный состав (мкг/мг сухого веса) ядерных фракций 3-х дневных проростков пшеницы под влиянием внешних факторов

Состав фосфолипидов ядерной мембраны			
ФЛ	Контрольные	Обработанные ГК	Обработанные ЭМИ КВЧ
ФХ	0.385±0.03	0.38±0.02	0.33±0.08
ФЭ	0.230±0.01	0.40±0.03	0.28±0.03
ФИ	0.180±0.02	0.13±0.01	0.34±0.05
ФС	0.195±0.02	0.16±0.01	0.27±0.03
ФК	0.910±0.02	0.41±0.02	0.18±0.02
КЛ	0.175±0.02	0.51±0.03	н.о.
Σ	2.075	1.990	1.4
Состав фосфолипидов растворимой ядерной фракции			
ФХ	0.166±0.04	0.124±0.02	0.173±0.05
ФЭ	0.128±0.03	0.067±0.01	0.106±0.03
ФИ	н.о.	н.о.	н.о.
ФС	н.о.	н.о.	н.о.
ФК	0.128±0.05	0.161±0.03	0.173±0.04
КЛ	0.076±0.01	0.072±0.02	0.074±0.01
Σ	0.498	0.424	0.526
Состав фосфолипидов хроматина			
ФХ	0.59±0.02	0.50±0.02	0.42±0.03
ФЭ	0.33±0.02	0.44±0.02	0.48±0.03
ФИ	0.17±0.01	0.20±0.02	0.67±0.07
ФС	0.37±0.02	0.38±0.02	0.46±0.09
ФК	н.о.	н.о.	0.31±0.06
КЛ	0.14±0.01	0.13±0.02	н.о.
ЛФХ	0.14±0.02	0.13±0.02	н.о.
Σ	1.74	1.78	2.34

Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на хроматин прорастающих зародышей пшеницы. С целью качественной оценки фракций сахарозного градиента проводилась термическая денатурация фракции А (содержащей почти 16.3% хроматина). Как видно из рис. 4, прорастание зародышей в течение 24ч. отразилось на ДКП фракции А. Так, имело место значительное снижение температуры плавления нуклеосомной части активной фракции. Дальнейшее прорастание приводило к усилению наблюдаемых изменений. При этом, ДКП активной фракции облученных зародышей отличается от необлученных вариантов: в основном имеет место уменьшение высокотемпературного плеча, что указывает на изменения в самих нуклеосомах. Количество вовлекаемых во фракцию А фрагментов заметно увеличивается при облучении и при прорастании наблюдается перераспределение количественного соотношения фракций хроматина, однако при этом выявляются определенные различия между ними.

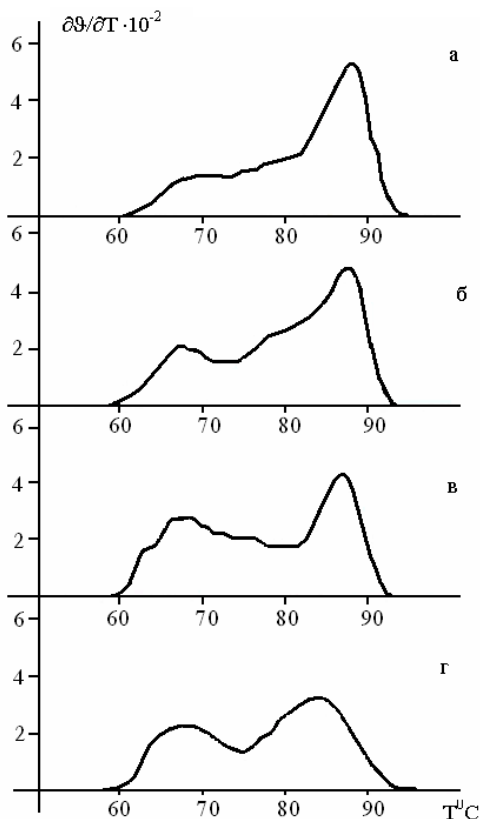


Рис. 4. Дифференциальные кривые плавления фракции А из хроматина сухих и прорастающих зародышей. а – сухие зародыши; б – прорастающие в течение 24ч; в – прорастающие в течение 48ч; г – прорастающие после облучения 24ч.

Перераспределение генетического материала в сахарозном градиенте между активными и неактивными фракциями свидетельствует о депрессии неактивных участков генома. Количество вовлекаемых в первую фракцию фрагментов заметно увеличивается при облучении и при прорастании наблюдается перераспределение фракций хроматина, однако при этом выявляются определенные различия между ними. Возможно при облучении происходит вовлечение в процесс активации и других фракций из “потенциально активных” участков хроматина, что следует из полученных нами результатов. Эти изменения могут приводить к экспрессии “молчащих” генов. Облучение приводит к депрессии участков генома, отличных от таковых при прорастании без облучения, что отражается на кривых плавления фракции активного хроматина и на ее количестве.

Влияние ЭМИ КВЧ на электрокинетический потенциал ядерной мембраны проростков пшеницы обработанных гибберелловой кислотой. Исследовано влияние сочетанного воздействия фитогормона ГК в процессе роста и ЭМИ КВЧ на изменение величины электрокинетического потенциала ядерных мембран проростков пшеницы, что может быть весьма информативным и перспективным для оценки функционального состояния растительной клетки. В работе получены также значения  $\xi$ -потенциала для некоторых злаковых, имеющих различную геномную формулу. Показано, что эта величина у них исходно отличается. Прорастание, приводящее к активации генома, приводит к абсолютному увеличению этого параметра, причем величина этих изменений для различных злаковых различна.

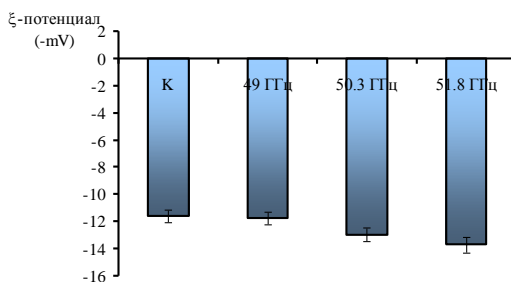


Рис. 5. Влияние ЭМИ КВЧ различных частот на значение  $\xi$ -потенциала ядерных мембран 3-х дневных проростков пшеницы.

Различие в значении  $\xi$ -потенциала ядер сухих и прорастающих зародышей семян пшеницы значительно. Так, в прорастающих семенах значение  $\xi$ -потенциала ядер 3-х дневных зародышей увеличивается более чем в 2 раза. На рис. 5 приведены значения  $\xi$ -потенциала ядерных мембран трехдневных проростков, облученных ЭМИ КВЧ. Как видно из приведенного рисунка (рис. 5), однократное облучение ЭМИ КВЧ прорастающих семян приводит к увеличению значения  $\xi$ -потенциала ядер проростков, при этом различные частоты ЭМИ оказывают различный эффект. Это

указывает на то, что при облучении ЭМИ КВЧ частотами, резонансными для воды, эффект более выражен, чем при нерезонансной для воды частоте – 49ГГц.

На рис. 6 приведены значения  $\xi$ -потенциала ядер контрольных, обработанных ГК и подвергнутых сочетанному воздействию ЭМИ КВЧ и ГК. Обработка ГК прорастающих семян приводит к увеличению значения  $\xi$ -потенциала (рис. 6). Здесь также представлены результаты исследований совместного влияния ЭМИ КВЧ и ГК на значение  $\xi$ -потенциала. Из приведенного рисунка видно, что влияние ЭМИ КВЧ усиливает эффект ГК, при этом меньший усиливающий эффект оказывает облучение частотой 49ГГц. Это увеличение, очевидно, зависит от физиологического состояния клетки и изменений его физико-химических параметров, связанных с процессами связанными с прорастанием.

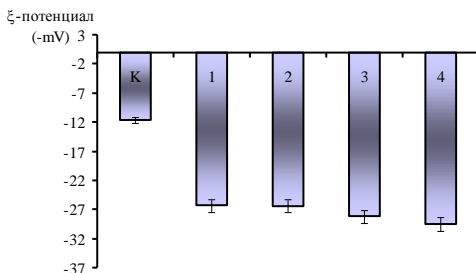


Рис. 6. Влияние ГК и совместное влияние ГК и ЭМИ КВЧ различных частот на значение  $\xi$ -потенциала ядерных мембран 3-х дневных проростков пшеницы. 1 – влияние ГК; 2 – влияние ГК + ЭМИ частотой 49ГГц; 3 – влияние ГК + ЭМИ частотой 50.3ГГц; 4 – влияние ГК + ЭМИ частотой 51.8ГГц.

Из полученных результатов видно, что ГК и ЭМИ КВЧ приводят к изменению поверхностного заряда ядерных мембран, при этом, воздействие ГК проявляется сильнее, чем влияние ЭМИ КВЧ. Обнаружено, что ЭМИ КВЧ при сочетании воздействий усиливает влияние ГК. Следует отметить, что эффект ЭМИ КВЧ сильнее проявляется при частотах 50.3ГГц и 51.8ГГц, что указывает на то, что биологическая система чувствительна к частотам, резонансным для воды. Вероятно, эффект усиления обусловлен тем, что облучение ЭМИ КВЧ может увеличивать проницаемость мембранных структур, что может способствовать облегчению проникновения фитогормона, что приводит к увеличению ответа организма на совместное воздействие этих факторов.

## ВЫВОДЫ

1. Влияние ММ волн на длину проростков пшеницы, а также активность пероксидазы в клетках проростков имеет резонансный характер, зависит от частоты ЭМИ. Наблюдаемый эффект зависит также от длительности облучения: степень индуцируемых изменений увеличивается с увеличением длительности воздействия.
2. Обработка прорастающих семян гиббереллином приводит к значительному увеличению активности пероксидазы. Совместное воздействие гиббереллина и ЭМИ КВЧ усиливает наблюдаемый эффект.
3. При активации генома происходит увеличение проницаемости ядерной мембраны и поверхностного заряда ядра. Воздействие внешних факторов индуцирует разнонаправленные изменения содержания отдельных классов фосфолипидов в препаратах ядерных мембран и хроматина, что свидетельствует об изменении фосфолипидного обмена и указывает на возможность участия фосфолипидов в регуляции экспрессии генов.
4. Облучение ЭМИ КВЧ приводит к депрессии участков генома, отличных от таковых при прорастании без облучения, что отражается на дифференциальных кривых плавления фракции активного хроматина, а также на ее количественном составе.
5. Клеточные ядра зародышей злаковых с различными геномными формулами имеют разную величину электрокинетического потенциала. При активации генома абсолютные величины электрокинетического потенциала увеличиваются в различной степени.
6. Происходит достоверное увеличение электрокинетического потенциала ядра при активации генома. Показано, что это увеличение, зависит от физиологического состояния генома и изменений его физико-химических параметров, связанных с процессами онтогенетического развития при прорастании. Обработка зародышей пшеницы ГК и ЭМИ КВЧ в ранней стадии развития приводит к изменению величины электрокинетического потенциала ядерной мембраны.



## СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. Минасбекян Л.А., Явроян Ж.В., Дарбинян М.Р., Вардеванян П.О. // Сравнительные характеристики фосфолипидного состава ядерных субфракций зародышей пшеницы при прорастании. Физиол.раст., 2004, т. 51, N5, с.1-6.
2. Вардеванян П.О., Гонян С.А., Минасбекян Л.А., Парсаданян М.А., Дарбинян М.Р., Геворкян Э.С. // Исследование электрокинетических свойств ядер зародышей некоторых злаковых на ранних стадиях прорастания. Вестник МАНЭБ, 2004, т.9, 3, с.30-32.
3. Minasbekyan L.A., Darbinyan M.R., Vardevanyan P.O. // Changes in phospholipids content of nuclear subfractions during germination of wheat seedlings under influence of gibberellic acid. 5<sup>th</sup> IVCHB Symposium, Debrecen, Hungary, 12-17 September, 2004, Biotechnology, as Theory and Practice in Horticulture, p. 94.
4. Minasbekyan L.A., Darbinyan M.R., Vardevanyan P.O. // Functional role of the changes in the nucleic component compositions during seeds germination. European Radiation Research, 2004, Aug. 25-28, Budapest, in abst. book, p.158.
5. Minasbekyan L.A., Yavroyan Zh.V., Darbinyan M.R., Vardevanyan P.O. // The phospholipid composition of nuclear subfractions from germinating wheat embryos. Russian J. of Plant Physiology, v. 51, N5, 2004, p. 708-712.
6. Vardevanyan P.O., Darbinyan M.R., Minasbekyan L.A. // The electromagnetic irradiation of mm-diapason as a potential approach for increasing effectiveness and efficiency of wheat breeding. International alumni seminar on "Biotechnology and health", Yerevan, October 18-21, 2005, proceedings, p.135-136.
7. Nerkararyan A.V., Minasbekyan L.A., Parsadanyan M.A., Darbinyan M.R., Kalantaryan V.P., Vardevanyan P.O. // Changes of some molecular biological parameters of wheat germinating seedlings under influence of non-thermal electromagnetic radiation. Modern Problems of genetics, radiobiology, radioecology and evolution. Yerevan, 2005, in Abstract book, p.136.
8. Minasbekyan L.A., Darbinyan M.R., Vardevanyan P.O. // Rearrangement in the chromatin parts under influence of non-thermal electromagnetic radiation. Molecular and Cellular Proteomics, V.4, N8, HUPO 4<sup>th</sup> Annual World Congress, Aug. 29-Sep. 1, 2005, Munich, P S259.
9. Неркарян А.В., Парсаданян М.А., Минасбекян Л.А., Дарбинян М.Р., Калантарян В.П., Вардеванян П.О. // Влияние низкоинтенсивного нетеплового когерентного ЭМИ мм-диапазона на рост проростков. IV Межд. симп. "Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования", 2005, июнь13-17, матер. симп., 185-188.
10. Дарбинян М.Р. // Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на хроматин прорастающих зародышей пшеницы. Вестник МАНЭБ, 2005, т.10, N5, с.85-89.
11. Вардеванян П.О., Дарбинян М.Р., Явроян Ж.В., Минасбекян Л.А. // Изменение фосфолипидного состава ядерной мембраны и хроматина прорастающих семян пшеницы под действием факторов различной природы. Ученые записки ЕГУ, 2006, 1, с. 96-102.
12. Вардеванян П.О., Неркарян А.В., Минасбекян Л.А., Дарбинян М.Р., Карапетян А.А., Сулханян М.Р. // Воздействие низкоинтенсивных ЭМИ мм-диапазона на активность пероксидазы проростков пшеницы. VII Межд. симп. "Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования", июнь 18-22, матер. симп., 2007, с. 63-66.

13. Вардеванян П.О., Неркарарян А.В., Дарбинян М.Р., Минасбекян Л.А. // Влияние низкоинтенсивного нетеплого ЭМИ мм-диапазона на рост и ферментативную активность проростков семян пшеницы. “Проблемы биохимии, молекулярной, радиационной биологии и генетики” междунар. Симп. под эгидой ЮНЕСКО, Ереван, 2007, с. 6.
14. Минасбекян Л.А., Явroyan Ж.В., Дарбинян М.Р., Вардеванян П.О. // Изменения в составе фосфолипидов ядерных субфракций проростков пшеницы под действием гиббереллина. Физиология растений, 55, 3, 2008, с. 1-7.
15. Minasbekyan L.A., Yavroyan Zh.V., Darbinyan M.R., Hakobyan A.N. // Changes in the content of phospholipids in nuclear subfractions of wheat seedlings under influence of EM MM-waves. International alumni seminar on “Biotechnology and health”-2, Yerevan, April 21-25, 2008, proceedings, p.140-141.
16. Minasbekyan L.A., Darbinyan M.R. // Effects of extremely high frequency EMI on growth and some parameters of wheat seedlings nuclei. Progress in electromagnetics research symposium, Stockholm, Sweden, August 12-15, 2013, p. 1472.
17. Vardevanyan P.O., Nerkararyan A.V., Shahinyan M.A., Darbinyan M.R. // The effect of EMI EHF on electro-kinetic potential of cell nuclear membranes of wheat seedlings treated with hybberellic acid. J. of Experimental Biology and Agricultural Sciences, 1(4), 2013, p. 223-227.

## ԳԱՐԲԻՆՅԱՆ ՄԵՐԻ ՈԱԶՄԻԿԻ

ՅԱԾՐ ԻՆՏԵՆՍԻՎՈՒԹՅԱՄԲ ՄՄ-ՏԻՐՈՒՅԹԻ ԷԼԵԿՏՐՈՍՍԱԳՆԻՍԱԿԱՆ  
ԱԼԻՔՆԵՐԻ ՆԵՐԳՈՐԾՈՒԹՅՈՒՆԸ ՅՈՐԵՆԻ ԾԻԼԵՐԻ ԵՆԹԱԲԶՁԱՅԻՆ  
ԿԱՌՈՒՅՎԱԾՔՆԵՐԻ ՎՐԱ

### ԱՄՓՈՓԱԳԻՐ

Հանգուցային բառեր. Միլիմետրային տիրույթի էլեկտրամագնիսական ալիքներ, հիբերեյին, պերօքսիդազ, բուսական քրոմատին, կորիզային ֆրակցիաների ֆոսֆոլիպիդային կազմ, հալման դիֆերենցիալ կոր, չ-պոտենցիալ

Աշխատանքում հետազոտվել է արտաքին ֆիզիկական գործոնի և բուսական հորմոնի ազդեցությունը ցորենի ծիլերի որոշ ենթաբջջային կառուցվածքների վրա: Այդ նպատակով իրականացվել է արտաքին ֆիզիկական գործոն հանդիսացող միլիմետրային էլեկտրամագնիսական ալիքների ներգործության ուսումնասիրությունը ցորենի ծիլերի աճի վրա: Ուսումնասիրվել է նաև միլիմետրային ալիքների և էկզոգեն հիբերեյին ներգործությունը ցորենի ծիլերի բջիջներում պերօքսիդազի ակտիվության վրա: Յույց է տրվել, որ միլիմետրային ալիքների ներգործությունը հանգեցնում է ցորենի ծիլերի աճի խթանմանը, ընդ որում, ներգործությունն ավելի ցայտուն է արտահայտված ջրի ռեզոնանսային հաճախակառություններով ալիքներով ճառագայթահարելու դեպքում, ինչը հաստատում է այն փաստը, որ ներգործության կարևոր օղակ է ջուրը: Հատկանշական է, որ էֆեկտը մեծանում է ճառագայթահարման տևողության աճի հետ: Յույց է տրվել նաև, որ ինչպես միլիմետրային ալիքները, այնպես էլ հիբերեյինը հանգեցնում են պերօքսիդազի ակտիվության աճին, ընդ որում, էկզոգեն հիբերեյինը էականորեն է փոխում պերօքսիդազի ակտիվությունը: Միլիմետրային ալիքների ներգործության դեպքում դիտվում է ֆերմենտի ակտիվության աճ, որն ավելի մեծ է ստուգիչ ծիլերից ստացված էքստրակտները ջրի ռեզոնանսային հաճախակառություններով ճառագայթահարելիս, ինչը վկայում է այն մասին, որ օրգանիզմի ճառագայթահարման դեպքում ձևավորվում է պրոցեսների շղթա, որն ուղղված է արտաքին ազդակների ներգործության թուլացմանը: Կարևոր է այն հանգամանքը, որ միլիմետրային ալիքների և էկզոգեն հիբերեյինի համատեղ ներգործության դեպքում դիտվող էֆեկտը ավելի մեծ է:

Աշխատանքում իրականացվել է նաև ցորենի ծիլերի և սաղմերի բջջակորիզային տարբեր ֆրակցիաների ֆոսֆոլիպիդային կազմի համեմատական ուսումնասիրություն: Ստացված տվյալները վկայում են այն մասին, որ գենոմի ակտիվացման դեպքում տեղի է ունենում կորիզաթաղանթի թափանցելիության մեծացում և հետևաբար նրա մակերեսին լիցքի աճ: Այս փոփոխությունները պայմանավորված են ֆոսֆատիդային թթվի կոնցենտրացիայի աճով և լաբիլությամբ: Միևնույն ժամանակ ցույց է տրվել, որ ծիլերի քրոմատինի համար բնութագրական է լիզոֆոսֆատիդիլիտինի բարձր պարունակությունը, իսկ լուծելի կորիզային ֆրակցիայի համար՝ կարդիոլիպինի բարձր պարունակությունը:

Հայտնի է, որ հիբերեյինի ներգործությամբ ակտիվանում են գենոմի որոշակի լոկուսներ, որոնք կարգավորում են բույսի կենսագործունեության տարբեր ոլորտներ: Յույց է տրվել, որ ծյման ժամանակ տեղի է ունենում կորիզաթաղանթի նեյտրալ և հանիոնային ֆոսֆոլիպիդների կազմի հարաբերակցության փոփոխություն և համապատասխանաբար փոխվում է մակերեսային լիցքը, ինչը մեկ անգամ ևս հաստատում է ֆոսֆոլիպիդների կարգավորիչ դերը կորիզաթաղանթի թափանցելիության մեջ՝ նրա արտաքին և ներքին շերտերի միջև պոտենցիալների տարբերությունը փոփոխելու միջոցով: Աշխատանքում ստացված արդյունքները

վկայում են այն մասին, որ հիբերեյինի և միլիմետրային ալիքների ներգործությանը տեղի է ունենում կորիզի ենթաֆրակցիաների վեց հիմնական դասերի ֆոսֆոլիպիդների պարունակության տարբեր ուղղություն ունեցող փոփոխություններ:

Յույց է տրվել, որ միլիմետրային ալիքներով ճառագայթահարված ցորենի ծիլերի մոտ տեղի է ունենում գենոմի հատվածների դեռեպրեսիա չճառագայթահարված ծիլերի համեմատ, ինչը ակտիվ բրոմատինի ֆրակցիաների հալման դիֆերենցիալ կորերի վրա արտահայտվում է բարձր ջերմաստիճանային ուսի իջեցմամբ:

Աշխատանքում ստացված արդյունքները վկայում են, որ գենոմի ակտիվացման դեպքում երեք տեսակի հացազգիների մոտ տեղի է ունենում կորիզաթաղանթի էլեկտրակինետիկ պոտենցիալի աճ: Յույց է տրվել, որ հիբերեյինը և միլիմետրային ալիքները հանգեցնում են ծիլերի կորիզաթաղանթների էլեկտրակինետիկ պոտենցիալի աճին, ընդ որում, հիբերեյինի դեպքում էֆեկտն ավելի մեծ է: Այս դեպքում ևս դիտվում է նույն օրինաչափությունը, երբ ջրի ռեզոնանսային հաճախականություններն ամենամեծ էֆեկտն են առաջացնում: Յույց է տրվել, որ այս գործոնների համատեղ ազդեցությունը հանգեցնում է էլեկտրակինետիկ պոտենցիալի առավելագույն փոփոխությանը:

Այսպիսով, ցույց է տրվել, որ որոշվող պարամետրերի մեծությունը ընդհանուր առմամբ կախված է բջջի ֆիզիոլոգիական վիճակից և նրա ֆիզիկաքիմիական պարամետրերի փոփոխությունից, որը կապված է ծյման ժամանակ օնոտգենետիկ պրոցեսների հետ: Հարկ է նշել, որ տարբեր բնույթի արտաքին գործոնների ներգործության դեպքում այս պրոցեսները կարող են խթանվել կամ ընդհակառակը: Այսպես, հիբերեյինը հանգեցնում է դիտարկված պրոցեսների խթանմանը: Միլիմետրային ալիքների դեպքում ի հայտ եկող էֆեկտի մեծությունը կախված է ճառագայթահարման հաճախականությունից և տևողությունից: Կենսաբանական համակարգի պատասխանը ավելի մեծ է ջրի ռեզոնանսային հաճախականություններով ներգործության դեպքում, ինչը վկայում է տվյալ փոխազդեցության մեջ ջրի կարևոր դերի մասին: Յույց է տրվել նաև, որ որոշ դեպքերում վերոհիշյալ գործոնների համատեղ ներգործությունը հանգեցնում է դիտվող պարամետրերի փոփոխության ավելի մեծ չափին: Այսպես, պերօքսիդազի ակտիվությունն առավելագույն չափով է աճում երկու գործոնների համատեղ ներգործության դեպքում, ցորենի ծիլերի կորիզաթաղանթների էլեկտրակինետիկ պոտենցիալի մեծությունը ևս առավելագույն չափով է փոխվում այս երկու գործոնների համատեղ ազդեցության դեպքում: Հատկաշնչական է, որ այս դեպքում ևս կարևոր են ջրի համար ռեզոնանսային հաճախականությունները:

THE EFFECT OF MM-DIAPASON ELECTROMAGNETIC WAVES WITH LOW INTENSITY ON SUBCELLULAR STRUCTURES OF WHEAT SEEDLINGS

SUMMARY

Key words: Electromagnetic waves of millimeter interval, hybberellin, peroxidase, plant chromatin, phospholipid composition of nuclear fractions, melting differential curve,  $\xi$ -potential

The effect of external physical factor and plant hormone on some subcellular structures of wheat seedlings has been investigated in this work. For this aim the investigation of the effect of millimeter electromagnetic waves as an external physical factor on the growth of wheat seedlings was carried out. The effect of exogenous hybberellin and millimeter waves on peroxidase activity in wheat seedling cells was investigated as well. It was shown that the effect of millimeter waves results in growth stimulating of wheat seedlings, moreover the effect is pronounced at irradiating by the waves with water resonant frequencies which maintains the fact that the important element of the effect is water. It is remarkable that the effect is increased with irradiation duration enhancement. It was also shown that not only millimeter waves but also hibberelin result in peroxidase activity increasing, moreover exogenous hybberellin changes significantly the activity of peroxidase. At the influence of millimeter waves the increasing of enzyme activity is observed and it is bigger at the irradiating with water resonant frequencies of extracts obtained from control seedlings. This fact indicates that the chain of processes is formed in organism which is directed to weakening of the effects of external signals. The fact that the effect observed at joint influencing of millimeter waves and exogenous hybberellin is bigger, is very important.

The comparative investigation of phospholipid composition of cellular nucleus different fractions of wheat seedlings and germs was also carried out in this work. The obtained data indicate that at genome activation the increasing of nuclear membrane permeability and consequently the increasing of charge on its surface take place. These changes are conditioned by increasing and lability of phosphatidic acid concentration. At the same time it was shown that the high content of lisophosphatidylcholin is characteristic for chromatin of seedlings, but the high content of cardiolipin – for soluble nuclear fraction.

It is known that some locuses of genome are activated with hybberellin effect that control different aspects of plant viability. It was shown that at germination a change of ratio between neutral and anionic phospholipid composition of nuclear membrane takes place and respectively the surface charge is changed which insists once more the controlling role of phospholipids in nuclear membrane permeability via changing of potential difference between its external and internal layers. The obtained results indicate that different directive changes of phospholipid composition of main six classes of nuclear subfractions take place under the influence of hybberellin and millimeter waves.

It was shown that in wheat seedlings irradiated by millimeter waves a derepression of genome regions occurs compared with non irradiated seedlings which is expressed on differential melting curves of active chromatin fractions via lowering of high temperature shoulder.

The obtained in this work data indicate that at genome activation the increasing of nuclear membrane electrokinetic potential in three species of cereal occurs. It was shown that hybberellin and millimeter waves result in enhancement of nuclear membrane

electrokinetic potential of seedlings, moreover the effect observed in the case of hyberrellin is bigger. In this case the same regularity is observed when water resonant frequencies cause the biggest effect. It was shown that the joint influence of these factors results in maximal changing of electrokinetic potential.

Therefore it was shown that the magnitude of determined parameters generally depends on cell physiological state and the change of its physical-chemical parameters which is connected with ontogenetic processes during the germination. It should be mentioned that at the effect of external factors of different nature these processes may be stimulated or vice versa. Thus hyberrellin results in stimulating of observed processes. In the case of millimeter waves the magnitude of expressed effect depends on irradiation frequency and duration. The response of biological system is bigger in the case of the effect with water resonant frequencies which indicates about water important role in this interaction. It was also shown that in some cases the joint effect of above mentioned factors results in higher values of observed parameter changes. Thus, peroxidase activity is increased maximally in the case of joint effect of two factors, the magnitude of electrokinetic potential of nuclear membranes of wheat seedlings is also changed maximally at joint influence of two factors. Notably in this case water resonant frequencies are important.