

УДК 547.963.3

БИОХИМИЯ

Т. Г. БЕРИДЗЕ, академик АН ГрузССР С. В. ДУРМИШИДЗЕ, О. Т. ХАЧИДЗЕ

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЯДЕРНЫХ ДНК НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *VITIS* L. В ГРАДИЕНТЕ ПЛОТНОСТИ ХЛОРИСТОГО ЦЕЗИЯ

Род *Vitis* L. принадлежит семейству виноградовых Vitaceae Lindl. и насчитывает в своем составе около 70 видов. Род содержит два подрода — *Muscadinia* ($2n = 40$), представленный двумя видами, и *Euvitis* ($2n = 38$). Все настоящие винограды относят к подроду *Euvitis* ⁽¹⁾.

Длительное разобщенное развитие *Vitis* в разных экологических условиях обитания (Северная Америка, Восточная Азия, Европа — Азия) и приобретение некоторыми видами (подрода *Euvitis*, виды, произрастающие в районах происхождения филлоксеры и гибридных болезней винограда, — юго-восточные районы Северной Америки ⁽²⁾) наследуемой устойчивости к филлоксере и грибным заболеваниям должно было вызвать определенные различия в первичной структуре ядерных ДНК этих организмов, что в случае значительных изменений могло отразиться и на нуклеотидном составе и, следовательно, на значении плавучих плотностей молекул ДНК.

Предыдущие исследования, проведенные в нашем институте, показали, что ядерные ДНК отдельных видов рода *Phaseolus*, принадлежащих двум разным зонам первичного возделывания — Центральной Америке и Южной Азии, — значительно различаются по содержанию сателлитных компонентов ⁽³⁾.

Целью настоящей работы являлось сравнительное исследование распределения ядерных ДНК некоторых видов подрода *Euvitis*, принадлежащих трем разобщенным центрам произрастания, в градиенте плотности хлористого цезия.

При сравнительном исследовании геномов эукариотов необходимо анализировать именно ядерные ДНК, а не суммарные препараты ДНК клеток, которые наряду с ядерной ДНК всегда содержат генетический материал плазмона — ДНК цитоплазматических органелл.

В качестве объекта исследования были выбраны из североамериканской группы рода *Vitis* — *V. labrusca* L., лисий виноград; *V. riparia* Michx., прибрежный виноград; *V. rupestris* Scheele, скальный виноград; из восточноазиатской группы — *V. amurensis* Rupr., амурский виноград; из евразийской группы — *V. vinifera* L., евразийский виноград.

Черенки отдельных видов укореняли в водопроводной воде в течение 20—30 дней в оранжерее при 20—25°. Растения освещали светом люминесцентных ламп ЛБ-40. Важно отметить, что при использовании описанной ниже методики ДНК удавалось экстрагировать из листьев лишь тех растений, черенки которых были укоренены в воде.

10 г листьев растирали в фарфоровой ступке в среде: 0,5 *M* сахароза, 0,005 *M* ЭДТА, 0,05 *M* трис-*HCl*, pH 7,8 (2 мл среды на 1 г ткани). Гомогенат отжимали через 4 слоя марли и центрифугировали 10 мин. при 400 *g* для получения ядерной фракции. Для отделения примесей цитоплазматических органелл осадок суспендировали в среде для гомогенизации, 1 мл суспензии наслаивали на 4 мл 2,2 *M* сахарозы, 0,05 *M* трис-*HCl*, pH 7,8 и центрифугировали на бакетном роторе 3 × 5 ультрацентрифуги VAC-60 при 39 000 об/мин в течение 1 часа. Ядра при этом осаждались на дно пробирки. Все операции по выделению и очистке ядер проводили при 4°.

Осадок ядер суспендировали в небольшом количестве смеси: 0,15 *M* NaCl, 0,1 *M* ЭДТА, pH 8,0. Дальнейшее выделение ДНК проводили по несколько видоизмененному методу Мармура, описанному ранее (⁴). Аналитическое равновесное ультрацентрифугирование проводили по методу Шилдкраута и других (⁵) на ультрацентрифуге G-120 фирмы MOM (Венгрия), снабженной у.-ф. оптической системой, при 42 900 об/мин, 25° в течение 20 час. В качестве метчика использовали ДНК *Micrococcus lysodeikticus* (плавучая плотность при 25° 1,731 г/см³). Полученные при помощи у.-ф. оптики

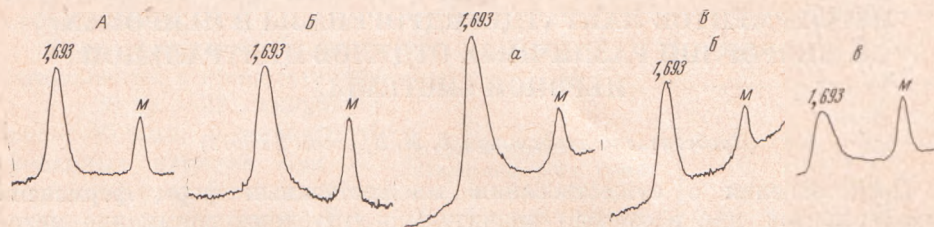


Рис. 1. Распределение ядерной ДНК *V. vinifera* (А), *V. amurensis* (Б), американских видов рода *Vitis* (В): а — ДНК *V. labrusca*, б — ДНК *V. rupestris*, в — ДНК *V. riparia* в градиенте плотности хлористого цезия (М — ДНК *M. lysodeikticus*)

фотопластинки денситометрировали на двухлучевом регистрирующем микроденситометре Жюзе — Лоебл (тип МК III С).

На рис. 1А приводится кривая распределения ДНК евразийского винограда в градиенте плотности хлористого цезия. Как следует из кривой микроденситометрирования, ядерная ДНК данного вида характеризуется унимодальным распределением в градиенте плотности. Симметричность пика указывает на отсутствие сателлитных компонентов. Схожим распределением характеризуется ядерная ДНК амурского винограда (рис. 1Б). Не обнаруживаются также какие-либо различия между ядерными ДНК американских видов ни по значению плавучей плотности, ни по форме кривых распределения в градиенте плотности (рис. 1В).

Плавучая плотность ядерной ДНК всех изученных видов рода *Vitis* составляет 1,693 г/см³. Это соответствует 34% Г + Ц, если допустить, что молекулы ДНК не содержат минорных оснований (⁵).

Полная идентичность ядерных ДНК исследованных видов в пределах чувствительности данного метода указывает на то, что независимое развитие данных видов в течение долгого периода времени в различных условиях внешней среды не привело к какому-либо значительному различию нуклеотидного состава ядерных ДНК, которое можно было бы детектировать методом градиентного ультрацентрифугирования.

Генетическая близость данных видов подтверждается легкой их скрещиваемостью и образованием межвидовых гибридов как при естественной, так и при искусственной гибридизации (¹). Следует отметить, что американские и азиатские виды рода *Phaseolus*, различающиеся по содержанию ядерных сателлитных компонентов ДНК, не дают межвидовых гибридов.

Авторы выражают благодарность Е. Б. Ивановой за предоставление черенков разных видов рода *Vitis*, Б. П. Кутателадзе за проведение опытов на аналитической ультрацентрифуге.

Институт биохимии растений
Академии наук ГрузССР
Тбилиси

Поступило
25 XII 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. М. Негруль, Генетика, 4, № 3, 84 (1968). ² А. М. Негруль, В кн. Амелография СССР, 1, М., 1946, стр. 159. ³ Т. Беридзе, Biochim. et biophys. acta, 262, № 3, 393 (1972). ⁴ Т. Г. Беридзе, Молек. биол., 6, № 6, 908 (1972). ⁵ С. Л. Schilderaut et al., J. Mol. Biol., 4, № 3, 430 (1962).