

ВСЕСОЮЗНАЯ ОРДЕНА ЛЕНИНА АКАДЕМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ  
НАУК имени В. И. ЛЕНИНА

ВСЕСОЮЗНЫЙ ОРДЕНА ЛЕНИНА НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ИНСТИТУТ РАСТЕНИЕВОДСТВА имени Н. И. ВАВИЛОВА

---

На правах рукописи

**КОНАРЕВ**  
Алексей Васильевич

**ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ГЕНОМА А ПШЕНИЦ  
ПО БЕЛКАМ**

(03.00.04 — Биохимия)

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

**ЛЕНИНГРАД**  
1974

Экспериментальная работа выполнена в лаборатории белка и нуклеиновых кислот и отделе генетики Всесоюзного ордена Ленина научно-исследовательского института растениеводства им. Н.И.Вавилова в 1970-1974 гг.

Научные руководители - доктор биологических наук профессор Т.Я.Зарубайло и кандидат биологических наук старший научный сотрудник И.П.Гаврилюк.

Официальные оппоненты: Доктор биологических наук, профессор А.Н.Павлов; кандидат биологических наук, старший научный сотрудник В.Э.Яаска.

Ведущее учреждение: Армянский сельскохозяйственный институт.

Автореферат разослан "15" ноября " 1974 г.

Защита диссертации состоится на заседании Ученого совета Всесоюзного ордена Ленина научно-исследовательского института растениеводства им. Н.И.Вавилова "25" декабря " 1974 г. в \_\_\_\_\_ часов.

Отзывы и замечания направлять по адресу:  
г. Ленинград, Центр, ул. Герцена, 44.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке института.

Ученый секретарь совета  
доктор биологических наук,  
профессор

Т.Я.Зарубайло

Природа геномов полиплоидных пшениц — проблема, которая обсуждается вот уже шесть десятилетий. Но до сих пор в этом вопросе нет окончательной ясности. В последние годы большое распространение в исследованиях в этом направлении получил биохимический подход. Так на основании сравнительного изучения запасных белков и ферментов было подтверждено, что D геном гексаплоидных пшениц произошел от *Ae. squarrosa* L. (Хакимова, 1973; Jaaska, 1971; Johnson, 1967).

На основании сравнительного иммунохимического и электрофоретического изучения спиртовой фракции запасных белков пшениц были получены новые данные о происхождении второго генома разных групп пшениц (Пенева, 1974).

Геном A тетраплоидных и гексаплоидных пшениц первоначально считался произошедшим от *T. monococcum* L. (Kihara, 1924). В дальнейшем выяснилось, что геном A *monococcum* не совсем гомологичен таковому тетра- и гексаплоидных пшениц (Филипченко, 1930; Longley ; Sando, 1936; Kostoff, 1940). Наиболее близким к первому геному тетраплоидных и гексаплоидных пшениц, как оказалось, является геном *T. boeoticum* Boiss. (Жуковский, 1971; Жуков, 1972; Schimann, 1948; Tanaka, 1965; Johnson, Hall, 1965; Riley , Bell, 1958; Bass, 1971).

Однако теперь и эта точка зрения все чаще оспаривается рядом исследователей и прежде всего биохимиками (Doekes, 1969; Nischikava , Nobuchara, 1972). В последнее время наиболее широко в анализе родства геномов пшениц используются запасные белки и ферменты. В лаборатории белка и нуклеиновых кислот ВИР для геномного анализа культурных растений используются запасные белки. В самое последнее время было показано, что из всей спиртовой фракции запасного белка пшениц наибольшей эффективностью в геномном анализе обладают быстрые компоненты спиртовой фракции (БК) (Пенева, 1973).

В 1971 и 1972 гг. на основании иммунохимического изучения спиртовой фракции запасных белков пшениц нами было

высказано предположение, что донором генома А для пшениц группы эммера и гексаплоидов явилась какая-то однозернянка, отличная от *T. boeoticum* и *T. monosocum*. Последние могли, по нашему мнению, явиться донорами первых геномов только для пшениц группы *T. timopheevi* Zhuk.

В связи с этим перед нами были поставлены следующие задачи:

- выявить и изучить компоненты спиртовой фракции, наиболее специфичные для геномного анализа, и, используя новые методические подходы, повысить разрешающую способность анализа геномов по белкам;
- на этой основе провести геномный анализ всех имеющихся в коллекции ВИРа представителей диплоидных пшениц с целью выявления степени однородности генома А у разных его диплоидных источников;
- проверить по белкам возможность происхождения второго генома пшениц группы *T. timopheevi* от однозернянок;
- выявить, в какой мере геном А от *T. boeoticum*, *T. monosocum*, *T. urartu* Thum. ex Gandil. по белкам представлен у разных видов полиплоидных пшениц.

#### ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Все образцы пшениц, необходимые для проведения настоящей работы, были представлены отделом пшениц ВИР им. Н. И. Вавилова. Полный перечень образцов дан в приложении к диссертации.

Получение спиртоизвлекаемой фракции. За основу выделения взят классический метод Т. Осборна (1935). Спиртовую фракцию, состоящую из собственно глиадинов ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  и  $\omega$  фракций) и быстрых компонентов выделяли 70% этанолом после удаления из муки альбуминов и глобулинов 1М NaCl на 0,1М фосфатном буфере pH 7,0.

Разделение спиртоизвлекаемой фракции методом электрофореза в ПАГ. Гель готовили по измененной методике Н. Катсимпулса (Catsimopoulos et. al., 1968). Электрофорез прово-

дили по методу, разработанному в лаборатории белка и НК ВИР (Конарев, Перуанский, Рубчеля, 1969; Гаврилук, Губарева, Конарев, 1973).

В каждую трубку наносили не менее 200 гамм белка в растворе, содержащем 6% акриламида и 1% мочевины. Электрофорез вели 1 час при токе 2 ма на трубку и следующие 4,5 часа 4 ма на трубку при напряжении 380-400 в.

Для выявления быстрых компонентов (БК) спиртовой фракции белка пшениц использовали выше описанную систему геля. Продолжительность электрофореза - 2 часа 20 минут, количество белка - 1 мг на трубку (рис. 1а).

Получение отдельных электрофоретических компонентов спиртовой фракции. Нами был разработан простой способ получения одного или нескольких электрофоретических компонентов любой зоны спектра в количестве достаточном для проведения цикла иммунизации, определения аминокислотного состава, иммунохимического изучения, а также изоэлектрического фокусирования.

Гели после проведения электрофореза укладывались на столик специальной конструкции, где из них лезвием вырезались нужные участки. Контроль осуществлялся по одному, двум фиксированным гелям. После этого кусочки геля помещались в воронку, которая вставлена в дно верхнего сосуда для проведения электрофореза. На конец воронки надет целлофановый мешок для сбора фракций белка. Верхний сосуд заполняется буфером для электрофореза (0,013М уксусная кислота) выше уровня воронки, нижний до касания с целлофановым мешком. На прибор подается напряжение 450-500 вольт. Время полного извлечения 14-16 часов.

Получение иммунных сывороток. Иммунные сыворотки были получены на глинады, их фракции и быстрые компоненты спиртовой фракции. Кроликов иммунизировали по схеме, принятой в лаборатории белка и НК ВИР.

Иммунохимический анализ. Двойную иммунодиффузию проводили по микрометоду А.И.Гусева, В.С.Цветкова (1961) в геле, приготовленном из агара и агарозы в отношении 1:5.

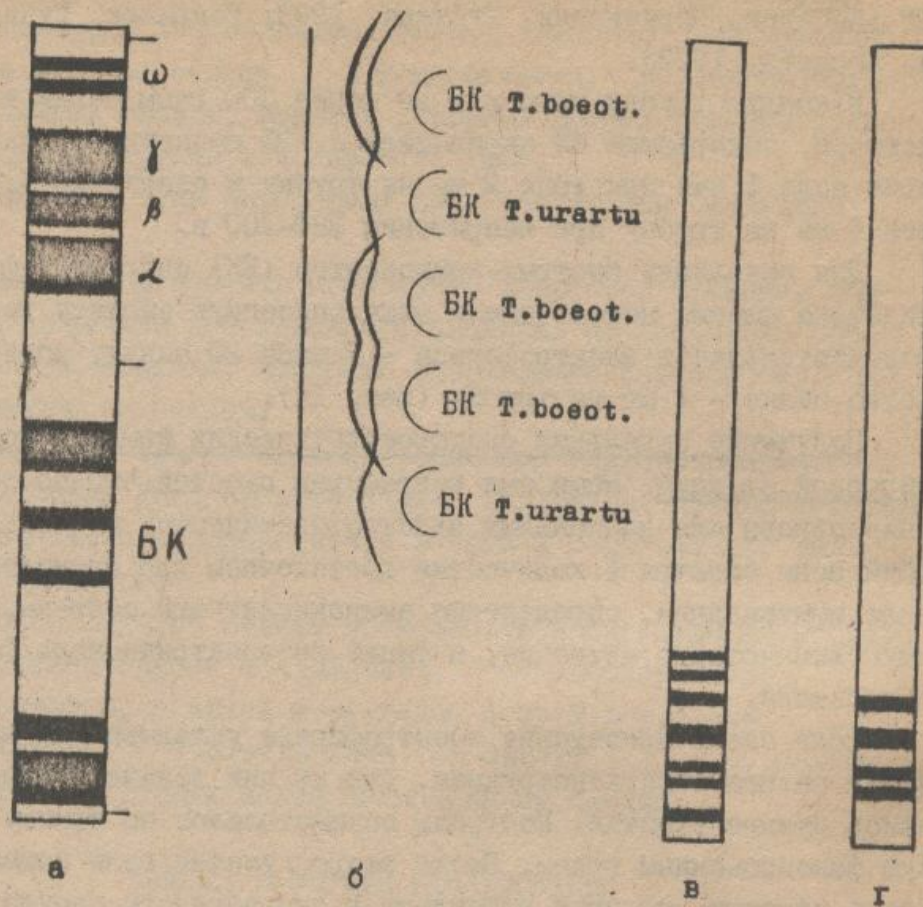


Рис. I. а - электрофоретический спектр спиртовой фракции белка *T.boeoticum*; б - спектры преципитации быстрых компонентов (БК) однозернянок. Проявлено сывороткой на БК *T.boeoticum*; изоэлектрические спектры БК *T.boeoticum* (в), *T.urartu* (г).

Изоэлектрическое фокусирование в геле. Использовалась методика изофокусирования в геле, описанная в работах С.Ригли, К.Шеффера (Rigly, Shefferd, 1973), а также в руководстве, выпущенном фирмой ЛКБ (Karlson, Davies, Anderson, 1973).

Для полимеризации приготавливался раствор следующего состава:

Акриламид	- 7%
Рибофлавин	- 0,0005%
ЛКБ Амфолины	- рН 5-7 - 0,5%
	- рН 7-9 - 0,5%
Метиленбисакриламид	- из расчета на 7% акриламид
Мочевина	- 12%

Гели полимеризовали при свете ультрафиолетовой лампы в течение одного часа.

Перед предварительным установлением в геле градиента рН на трубки наслаивают 3 мм слой, содержащий:

мочевины	- 12%
сахарозы	- 5%
амфолины	- как в геле

Анодным буфером служит 0,2% серная кислота, катодным - 0,4% этаноламин. Трубки вставляются в обычный прибор для проведения вертикального диск-электрофореза. Предварительное установление градиента рН проводится в течение 30 минут при напряжении 400 вольт. После этого буфер удаляется из верхней части трубок и туда наносится белок в количестве 20-30 гамм на трубку. Время разделения 2 часа 30 минут при напряжении 400 вольт (рис. 1 в, г).

После окончания процесса гели фиксируются в растворе 7% ТХУ. Компоненты белка проявляются в виде зон толщиной от 0,5 мм до 2 мм. Гели фотографировались в проходящем свете с помощью фотоувеличителя на бумагу.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Сравнительное электрофоретическое и иммунохимическое изучение спиртовой фракции белка диплоидных пшениц

Электрофорез глиадинов однозернянок в ПАГ показал, что из III коллекционных образцов однозернянок *T.boeoticum*, *T.monococcum*, *T.urartu* большинство имеют свои характерные спектры глиадинов в электрофорезе.

Спектры глиадинов *T.boeoticum* Турции и Ирака из коллекции ВИР принципиально не отличаются от таковых *T.boeoticum* Закавказья.

240 растений *T.boeoticum*, представляющие 24 популяции (по 10 растений в каждой), собранные в 1971 году экспедицией ВИР в Закавказье, по характеру электрофоретических спектров глиадина были разбиты на две группы (рис. 2 а, б). Из 24 популяций *T.boeoticum* Закавказья гетерогенными по спектрам глиадина оказались 18, шесть популяций состояли из растений со спектрами глиадина только первого типа (рис. 2а). В популяциях, состоящих из растений с двумя типами спектров глиадина, во всех случаях 9 растений из 10 имели спектр глиадина первого типа (рис. 2а) и лишь одно — спектр глиадина второго типа (рис. 2б).

Из 30 растений *T.urartu* из Армении по спектрам глиадина было также выделено два типа. Оба этих типа электрофоретических спектров глиадина оригинальны по своей структуре и характерны только для *T.urartu* (рис. 2 д, е).

Большое разнообразие по характеру электрофоретических спектров глиадина представляет культурная однозернянка *T.monococcum*. Среди большого числа спектров глиадина *T.monococcum* можно найти спектры сходные с таковыми диких однозернянок. Сейчас трудно судить, что явилось причиной такого сходства — вторичные ли изменения, т.е. гомология в наследственной изменчивости признаков или же преимствен-



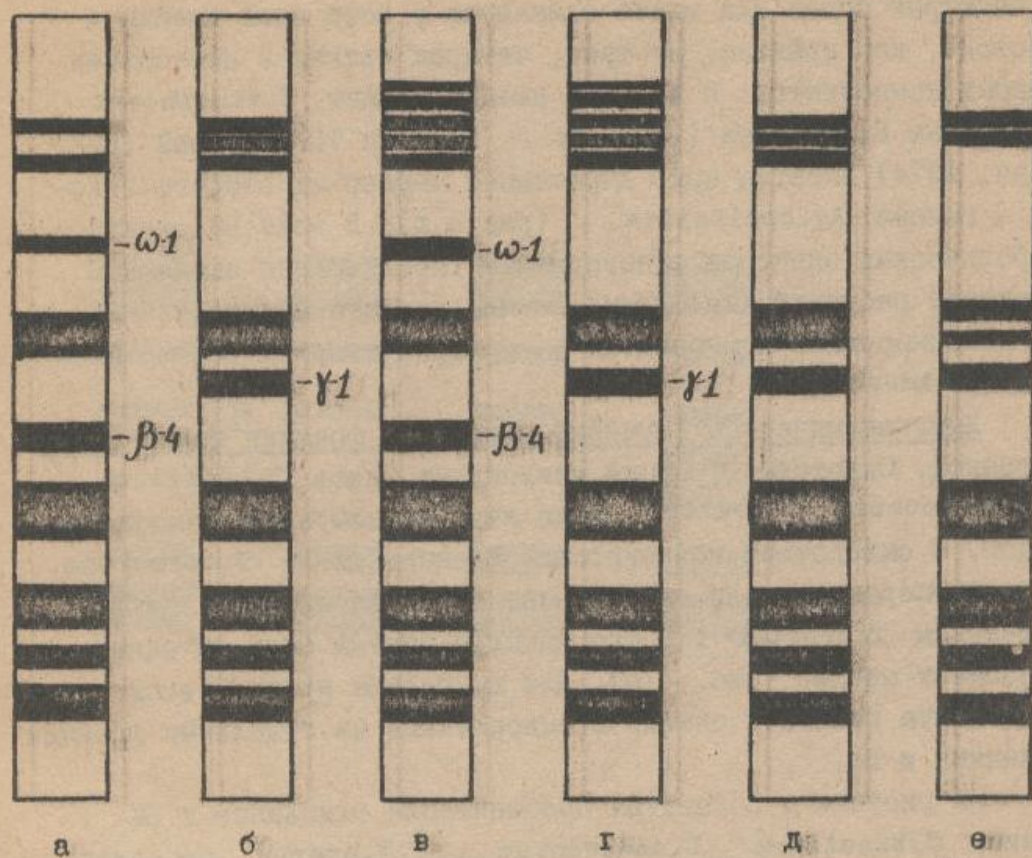


Рис. 2. Электрофоретические спектры глиадинов пшениц: а, б - *T. boeoticum* ; в, г - *T. dicoccoides* Ирака, д, е - *T. urartu*.

ность в происхождении культурной и дикой однозернянок.

Электрофорез в ПАГ быстрых компонентов спиртовой фракции белка однозернянок. Как видно из рисунка 3, зона БК в спектрах более или менее одинакова у всех этих пшениц и состоит, как правило, из трех, четырех четких и нескольких слабых компонентов. В зоне БК пшениц группы *T.timopheevi* по данным Б.Джонсона (Johnson, 1972) и Т.И.Пеневой (Пенева, 1974) имеется ярко выраженный маркер их второго генома - генома *Ae.speltoidea* (рис.3 г). В зоне БК электрофоретических спектров однозернянок (исследовано около 400 спектров растений диплоидных пшениц разного происхождения) мы не обнаружили компонентов - маркеров второго генома пшениц *T.timopheevi*.

Имунохимическое изучение спиртовой фракции белка однозернянок. Спиртовые фракции диплоидных видов *T.boeoticum*, *T.monococcum*, *T.urartu* были изучены иммунохимическим методом. С сывороткой на спиртовую фракцию белка *T.boeoticum* все однозернянки дали сходные спектры преципитации, за исключением *T.urartu*. В его спектре всегда было на один компонент меньше (рис. 4 а). Для выяснения природы этого компонента проведен анализ с сыворотками на отдельные фракции глина и БК.

На рисунке 4 б спектры преципитации глиадинов и БК пшениц *T.boeoticum*, *T.monococcum*, *T.urartu* проявленные сывороткой, полученной на быстрые компоненты спирторастворимой фракции белка *T.boeoticum*. Спектры преципитации *T.boeoticum*, *T.monococcum* состоят из двух четких компонентов I и II (указаны стрелками), в спектре *T.urartu* компонент I отсутствует. Было проведено иммунохимическое изучение глиадинов и БК большого числа образцов однозернянок и только в спектрах преципитации *T.urartu* отсутствовал компонент I. У всех же *T.boeoticum* и *T.monococcum* спектры преципитации глиадинов и БК при проявлении их сывороткой БК *T.boeoticum* состояли из двух компонентов. В то же время сыворотка БК *T.urartu* в реакции со спиртовой фракцией *T.urartu* дает в спектре преципитации на один компонент больше, чем с глиадином и БК *T.boeoticum* и

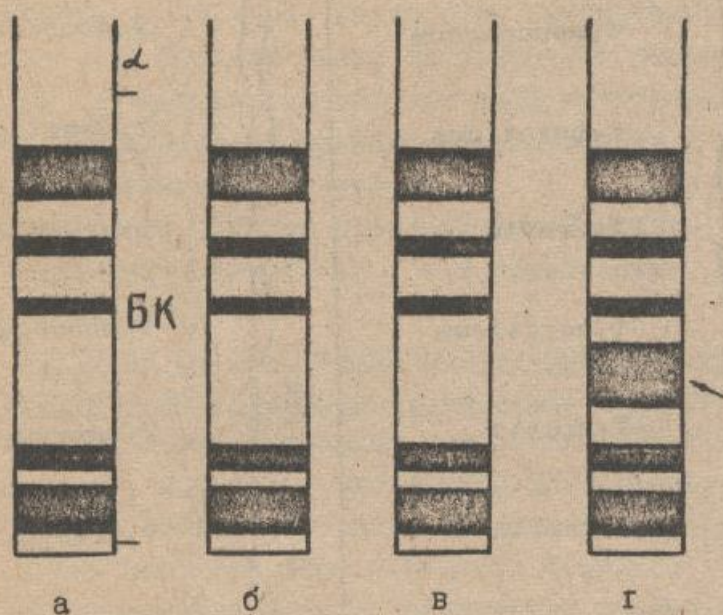


Рис. 3. Электрофоретические спектры  
 быстрых компонентов спиртовой  
 фракции пшениц: а - *T. boeoticum*;  
 б - *T. monocoecum*; в - *T. urartu*;  
 г - *T. araraticum*. Стрелкой  
 указан компонент - маркер ге-  
 нома  $V^{sp}(G)$ .

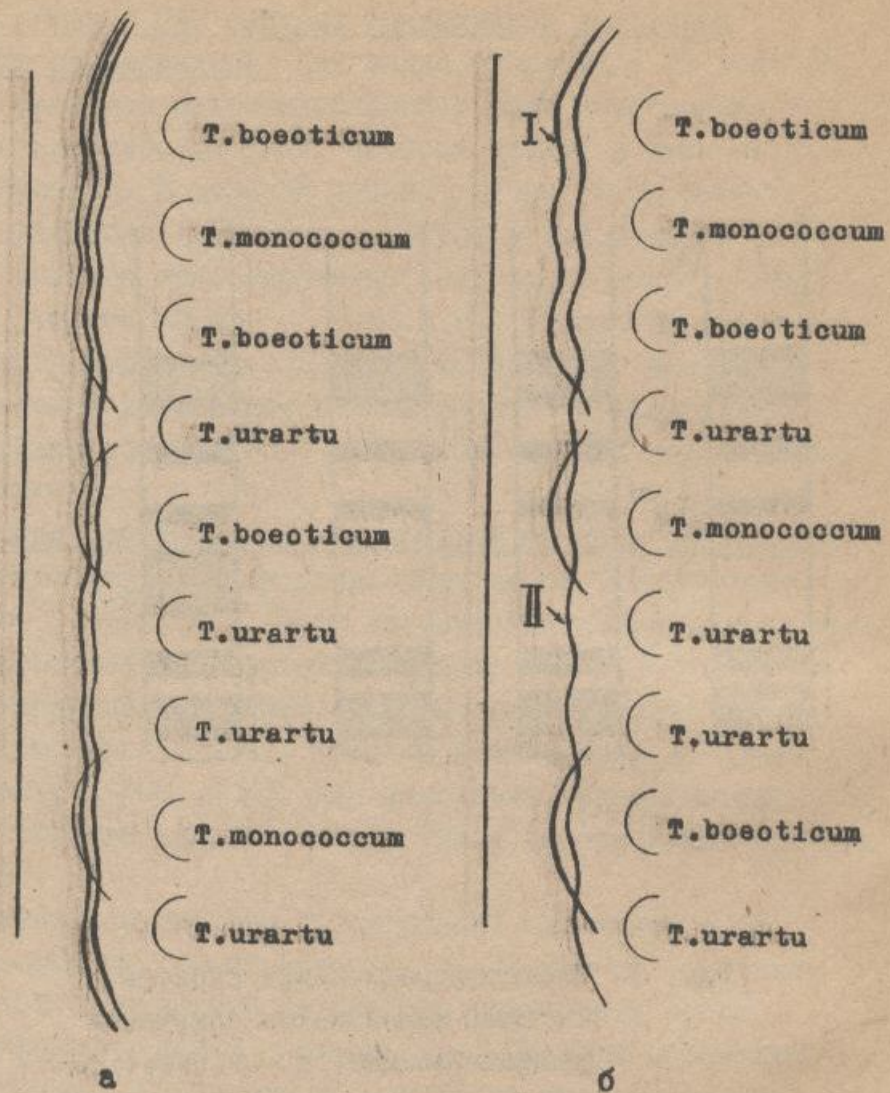


Рис. 4. Спектры преципитации спиртовых фракций пшениц. Проявлено сыворотками:  
 а - T.boeoticum; б - БК T.boeoticum.

*T.monococcum* (рис. 5 а). Особенно хорошо это видно в спектре преципитации, полученном с помощью сыворотки *T.urartu*, истощенной белком *T.boeoticum* (рис. 5 б).

Таким образом, все однозернянки на основании иммунохимического анализа спиртовой фракции можно разделить на две группы: *T.boeoticum* и *T.monococcum* с одной стороны и *T.urartu* с другой. Результаты иммунохимического анализа спиртовой фракции белка однозернянок показали, что компоненты, по которым происходит дифференциация диплоидных пшениц, находятся во фракции БК. Компонент I можно считать маркером А генома *T.boeoticum* ( $A^b$ ), а компонент, выявляющийся в спектре преципитации *T.urartu* и отсутствующий в таковых *T.boeoticum* и *T.monococcum*, маркером генома А *T.urartu* ( $A^u$ ).

Изучение быстрых компонентов спиртовой фракции белка однозернянок методом изофокусирования. Сравнительное изоэлектрическое фокусирование компонентов БК *T.boeoticum* и *T.urartu* показало, что спектр БК *T.boeoticum* состоит из 7 зон, а спектр БК *T.urartu* — из 4 зон (рис. I в, г).

Таким образом, обособленность *T.urartu* по БК от остальных диплоидных пшениц, выявленная иммунохимически, подтвердилась также и методом изоэлектрического фокусирования.

Дифференциация генома А диплоидных пшениц по данным иммунохимического анализа и изофокусирования. Некоторые исследователи не считают *T.urartu* самостоятельным видом (Мустафаев, 1964; Mac Key, 1967). Другие тритикологи — М.Г.Туманян (1938), П.М.Жуковский (1964), М.М.Якубцинер (1961), П.А.Гандилян (1972) — считают правомерным выделение *T.urartu* в самостоятельный вид. Наши данные свидетельствуют в пользу такого воззрения. Более того, *T.boeoticum* и *T.monococcum* иммунохимически по глинадам и БК идентичны. *T.urartu* же резко отличается от них. К такому же выводу пришел и В.Яаска, который, изучая электрофоретические спектры изоэнзимов кислой фосфатазы, также обнаружил различия по спектрам между *T.boeoticum* и *T.urartu* (Jaaska, 1970).

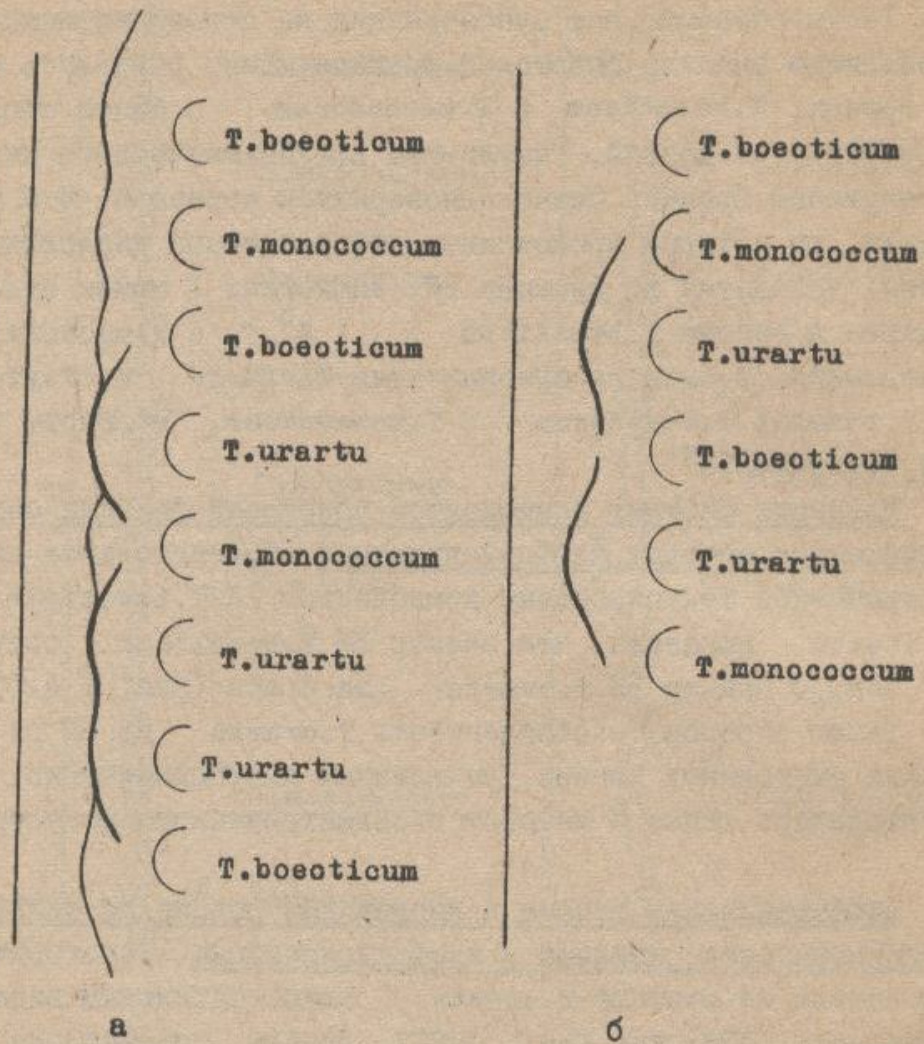


Рис. 5. Спектры преципитации спиртовых фракций диплоидных пшениц. Проявлено сыворотками: а - БК *T.urartu* ; б - БК *T.urartu*, истощенной белком *T.boeoticum*.

Сравнительное иммунохимическое изучение спиртовой фракции однозернянок и пшениц группы *T.timopheevi*. Для выявления возможной дифференциации однозернянок в отношении проявления белковых маркеров генома  $B^{SP}$ , их белки были проявлены сыворотками на *Ae.speltoides* и *T.araraticum* Jakubz. Указанные сыворотки в реакции с белком *T.araraticum* (а также и всех остальных пшениц группы *T.timopheevi*) дают спектры преципитации, содержащие на 2-3 компонента больше, чем таковые однозернянок *T.boeoticum*, *T.monococcum*, *T.urartu* (рис.6). Эти компоненты являются маркерами второго генома пшениц группы *T.timopheevi*. Они принадлежат В-геному *Ae.speltoides* (Конарев, Мигушова, Гаврилюк, Конарев, 1971; Пенева, 1974). Ни у одной однозернянки в спектрах преципитации их белковых фракций этих компонентов мы не обнаружили.

Как известно, Б.Джонсон (Johnson, 1972), ссылаясь на А.Камару (Samara, 1935), предположил, что доноров второго генома пшениц группы *T.timopheevi* следует искать среди однозернянок и прежде всего закавказских, как наименее изученных. Нами при проведении работы были изучены все образцы диплоидных пшениц, имеющиеся в коллекции ВИР'а (около 400 форм и биотипов). Результаты наших исследований показали, что однозернянки не могли явиться донором второго генома пшениц группы *T.timopheevi*. В их белках ни методом электрофореза, ни с помощью иммунохимии не найдено компонентов - маркеров генома  $B^{SP}$ , присутствующих в белках пшениц группы *T.timopheevi* (Конарев, Мигушова, Гаврилюк, Конарев, 1971; Пенева, 1974).

#### Изучение спиртовой фракции белка двухзернянок методами электрофореза и иммунохимии

Дикие двухзернянки рассматриваются Р.Райли (Riley, 1956) и Е.Сирсом (Sears, 1956) как результат первого этапа на пути образования полиплоидных пшениц. Произрастая в природе, они меньше подверглись воздействию человека,

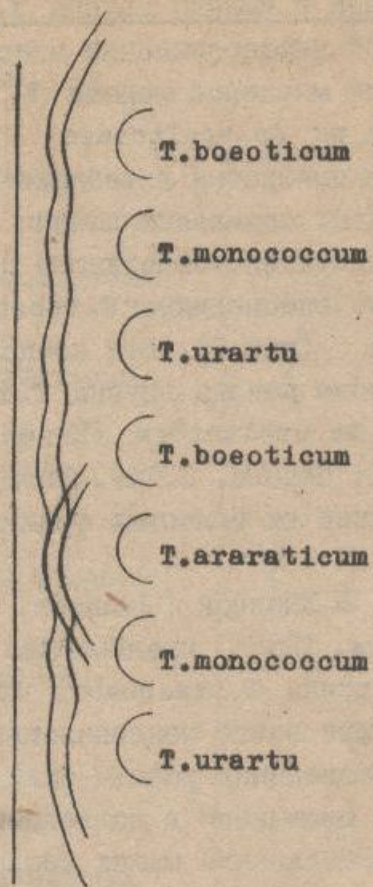


Рис. 6. Спектры преципитации спиртовых фракций однозернянок и *T.araraticum*. Проявлено сывороткой *Ae.speltoides*.



чем окультуренные формы пшениц, поэтому должны были сохранить многие признаки их диплоидных предков, что очень важно при изучении филогении.

По данным электрофореза глиадинов в ПАГ все образцы *T. agaraticum* из коллекции ВИР'а были разделены нами по характеру электрофоретических спектров на две группы, при этом одна группа образцов имела скрещиваемость с *T. timopheevi* от 0 до 2%, а другая — от 2 до 54% (Мигушова, Конарев, 1972, 1973).

Кроме коллекционных образцов был изучен также экспедиционный материал *T. agaraticum*. Оказалось, что только среди растений, собранных в Ахсуинском районе Азербайджанской ССР, встречается два типа электрофоретических спектров глиадина *T. agaraticum*. При этом соотношение типов, как и в популяции *T. boeoticum*, было 1:9. Остальные же *T. agaraticum*, собранные в разных районах Армении и Азербайджана, имеют сходные электрофоретические спектры глиадина.

Среди образцов *T. dicoccoides* Ирака по характеру электрофоретических спектров глиадина также было обнаружено два типа спектров. При этом характер различий между спектрами образцов *T. dicoccoides* Ирака аналогичен таковому для двух типов спектров глиадина *T. boeoticum* Закавказья (рис. 2 а-г). Указанные изменения в электрофоретических спектрах *T. dicoccoides* Ирака коррелируют с различной ее скрещиваемостью с *T. timopheevi*. *T. agaraticum* и *T. dicoccoides* Ирака по электрофоретическим спектрам глиадина очень близки между собой. Мало отличаются по спектрам глиадинов образцы этих двузернянок внутри видов. Иначе обстоит дело с *T. dicoccoides* Сирии, Палестины. Здесь мы столкнулись с большим разнообразием по спектрам глиадина в электрофорезе.

Таким образом, *T. dicoccoides* Ирака отличается от сирийско-палестинского *T. dicoccoides* однообразием спектров глиадина в электрофорезе и близостью по спектрам к *T. agaraticum*.

Совершенно ясно, что различия, выявленные методом

электрофореза, о которых шла речь выше, носят внутривидовой характер. Так, нами обнаружены гомологические изменения в спектрах глиадинов *T.dicoccoides* Ирака и *T.boeoticum* Закавказья. Для *T.dicoccoides* Ирака различия по спектрам глиадинов отражают деление на две генетические группы, различающиеся по скрещиваемости с *T.timopheevi*. Для *T.boeoticum* Закавказья данными по скрещиваемости с другими видами мы не располагаем. Принимая во внимание Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости Н.И.Вавилова, можно предположить, что аналогичная неоднородность может быть найдена и здесь.

Обнаружение неоднородности по электрофоретическим спектрам глиадина в электрофорезе для популяций диких пшениц *T.boeoticum*, *T.urartu*, *T.agaraticum*, *T.dicoccoides* Ирака говорит о том, что мы имеем дело с разными биотипами этих пшениц, и что с помощью электрофореза глиадина можно вести анализ структуры популяций. На примере 18 популяций *T.boeoticum*, 3 популяций *T.urartu* и 1 популяции *T.agaraticum* мы смогли убедиться, что соотношение растений с разными типами спектров глиадина в популяции равно 1:9. Конечно, для того, чтобы сделать достоверный вывод о соотношении растений с разными спектрами глиадина в популяции, нужна гораздо большая выборка.

Иммунохимическое изучение спиртовых фракций белков диких двузернянок. Сравнение спектров преципитации спиртовой фракции всех образцов *T.agaraticum*, проявленных сыворотками на спиртовые фракции *T.boeoticum* и *T.agaraticum* показало, что в иммунохимических реакциях глиадинов и БК белки всех образцов *T.agaraticum* ведут себя одинаково. Белки *T.dicoccoides* показали себя в иммунохимических реакциях несколько иначе. Только глиадины и БК *T.dicoccoides* Ирака дают такой же интенсивный спектр преципитации, как и *T.agaraticum* (рис.7 а). Спиртовые фракции *T.dicoccoides* Сирии, Палестины дают с сыворотками *T.boeoticum* и *T.agaraticum* обедненные спектры преципитации (рис. 7). В их спектрах преципитации на один - два компонента меньше, чем в таковых *T.agaraticum* и *T.dicoccoides* Ирака. Таким образом,

иммунохимически по глиадинам и БК *T. dicoccoides* оказались неоднородными: с одной стороны *T. dicoccoides* Ирака, близкая к *T. araraticum*, с другой стороны — все образцы *T. dicoccoides* Сирии, Палестины. На близость *T. araraticum* и *T. dicoccoides* Ирака указывали в свое время E. Wagenaar (1966), B. Johnson (1967), V. Jaaska (1971).

Иммунохимия глиадинов и БК  
тетраплоидных и гексаплоидных пшениц  
в связи с происхождением их первого генома

В связи с дифференциацией генома однозернянок по белкам необходимо выяснить, у каких пшениц наиболее полно представлены геномы от *T. boeoticum*, *T. monoccocum*, *T. urartu* по белкам, т.е. попытаться провести дифференцировку первых геномов разных групп полиплоидных пшениц. Для этого спиртовые фракции тетра- и гексаплоидных пшениц были изучены с помощью сывороток на спиртовые фракции *T. boeoticum*, *T. araraticum* и сывороток на БК *T. boeoticum* и БК *T. urartu*.

Из рисунка 7 а видно, что сыворотка *T. boeoticum* наиболее интенсивно выявляет спектры пшениц группы *T. timopheevi*. При этом наиболее интенсивно проявляется спектр преципитации *T. araraticum*, слабее *T. zhukovskyi*, еще слабее *T. timopheevi*.

Почти также интенсивно, как и *T. araraticum* проявляет сыворотка *T. boeoticum* спектр *T. timonovum*, несколько слабее спектры *T. militinae* Zhuk. et Migush. и *T. fungoidum* Zhuk.

Здесь же на рисунке даны спектры преципитации спиртовых фракций пшениц *T. durum* Desf., *T. dicoccum* Schrank., *T. palaesolchicum* Men., *T. aestivum* L. (рис. 7), проявленные сывороткой *T. boeoticum*.

В сравнении со спектрами пшениц группы *T. timopheevi* глиадины и БК пшениц ряда эммера и гексаплоидов дают сильно обедненные спектры. В них отсутствуют главные компоненты, специфичные для спектров преципитации глиадинов и БК однозернянок и пшениц группы *T. timopheevi*. Аналогично ведут себя в иммунохимических реакциях все остальные тетра-

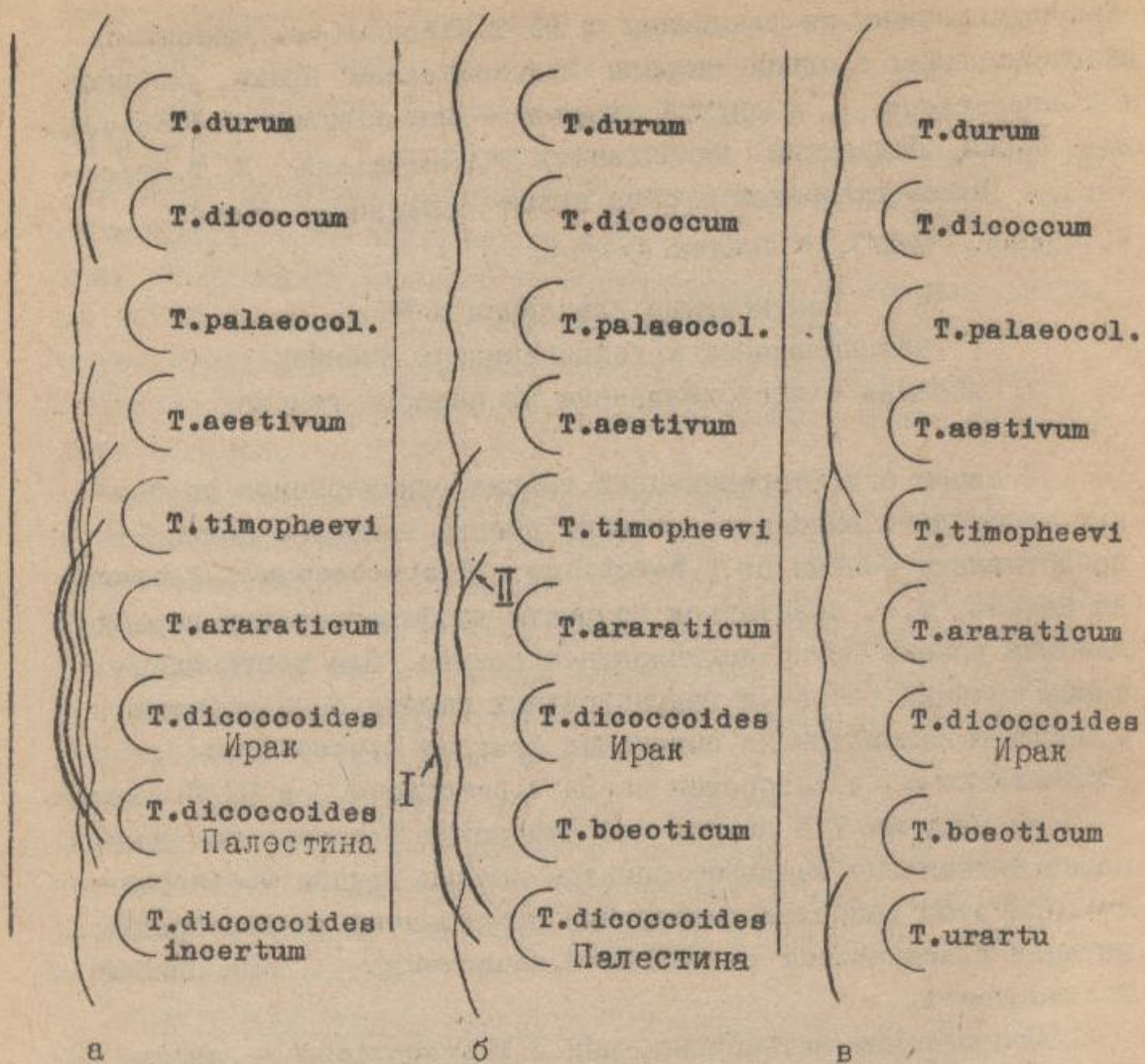


Рис. 7. Спектры преципитации спиртовых фракций пшениц. Проявлено сыворотками на спиртовую фракцию *T.boeoticum* (а), на БК *T.boeoticum* (б), на БК *T.urartu* (в).

плоиды группы эммера (пшеницы с геномным составом AABB) и гексаплоидные виды, кроме *T.zhukovskyi*.

При иммунохимическом изучении глиадинов и БК пшениц с помощью сыворотки *T.agaraticum* были выявлены те же закономерности, что и в случае с сывороткой на глиадин и БК *T.boeoticum*. Наиболее полный спектр преципитации был получен для глиадинов и БК *T.agaraticum*, *T.timonovum*, несколько обеднен он у *T.zhukovskyi* и *T.timopheevi*.

Мы уже говорили, как ведут себя в иммунохимических реакциях глиадины и БК разных групп *T.dicoccoides*. Сыворотка *T.boeoticum* дает со спиртовой фракцией *T.dicoccoides* Ирака спектр преципитации идентичный *T.agaraticum* (рис.7а). Глиадины и БК *T.dicoccoides* сирийско-палестинского происхождения, при проявлении их сывороткой *T.boeoticum* дают спектр типа *T.dicoccum*, *T.durum* (рис.7 а).

Спектры преципитации спиртовой фракции *T.durum*, *T.dicoccum*, *T.dicoccoides* Сирии, Палестины, проявленные сывороткой *T.boeoticum* сходны между собой тем, что не содержат компонентов, характерных для спектров пшениц группы *T.timopheevi*. Все же, спектр преципитации *T.durum* содержит на один компонент меньше, чем все остальные. В этом смысле интересно в иммунохимических реакциях ведет себя форма *T.dicoccoides*, относящаяся к подвиду *incertum*.

Ее спектр преципитации как и спектр *T.durum*, содержит на один компонент меньше, чем *T.dicoccoides* Сирии и Палестины. До некоторой степени это подтверждает мнение М.М. Якубцинера (1932) о том, что *T.dicoccoides incertum* Якубца произошел при участии культурной пшеницы *T.durum*.

Таким образом, в иммунохимических реакциях с сывороткой на спиртовую фракцию *T.boeoticum* глиадины и БК пшениц ведут себя по-разному. Интенсивный, с большим числом линий преципитации спектр дают глиадины и БК пшениц группы *T.timopheevi* и *T.dicoccoides* Ирака. Спиртовые фракции остальных пшениц с сывороткой *T.boeoticum* дают обедненный спектр преципитации.

Для выяснения природы компонентов, по которым проис-

ходит дифференциация полиплоидных пшениц сыворотками *T. boeoticum* и *T. araraticum*, было проведено сравнительное иммунохимическое изучение спиртовой фракции пшениц с помощью сывороток, полученных на отдельные компоненты спиртовой фракции.

На рисунке 7 б даны спектры преципитации глиадинов и БК пшениц, проявленные сывороткой на БК *T. boeoticum*. Спектры преципитации пшениц *T. araraticum*, *T. dicoccoides* Ирака состоят, как и в случае с *T. boeoticum* и *T. monococtum* из двух компонентов I и II. Спектр глиадина и БК *T. timopheevi* содержит один компонент I. Последний присутствует в спектрах спиртовых фракций всех пшениц группы *T. timopheevi*. Компонент II в спектрах преципитации глиадинов и БК *T. timopheevi*, *T. zhukovskyi*, *T. fingicidum* отсутствует.

В спектрах преципитации спиртовых фракций *T. dicoccoides* Сирии и Палестины, *T. durum*, *T. dicoccum*, *T. turgidum*, *T. persicum* Vav., *T. palaescolohicum*, а также всех гексаплоидных пшениц, кроме *T. zhukovskyi*, отсутствуют оба компонента — I и II. Следовательно, можно сказать, что при иммунохимическом сравнении глиадинов и БК сывороткой БК *T. boeoticum* пшеницы группы *T. timopheevi* отличаются от всех остальных тетраплоидных и гексаплоидных представителей *Triticum* по наличию в спектрах преципитации первых компонента I. Что касается компонента II в спектрах преципитации глиадинов и БК *T. araraticum*, *T. dicoccoides* Ирака, *T. timonovum*, то это говорит о большой близости последних по белкам к однозернянкам (все однозернянки объединяет наличие в спектрах преципитации их спиртовых фракций компонента II).

Следовательно, с помощью сыворотки на БК *T. boeoticum* получены те же результаты, что и с сывороткой на спиртовую фракцию *T. boeoticum*, с той разницей, что в первом случае в спектрах преципитации отсутствуют линии преципитации глиадинов. С помощью сывороток, полученных на глиадин, обнаружить разницу между спектрами преципитаций спиртовых

фракций разных видов пшениц не удалось.

При проявлении спектров преципитации глиадинов и БК пшениц сывороткой БК *T.urartu* мы получили следующие результаты. Сыворотка БК *T.urartu* выявляет в спектре спиртовой фракции *T.urartu* на один компонент больше, чем в спектрах глиадинов и БК *T.araraticum*, *T.timopheevi*, *T.boeoticum*, *T.monococcum* (рис. 7 в). При сравнении же спектра преципитации спиртовой фракции *T.urartu* с таковыми *T.dicoccum*, *T.turgidum*, *T.persicum*, *T.palaestolicum*, *T.aestivum* различий по числу компонентов уловить не удалось. Значит, в иммунохимических реакциях глиадинов и БК большее сродство белки *T.urartu* проявляют к таковым группы эммера и гексаплоидов, чем к белкам пшениц группы *T.timopheevi*. Таким образом, маркер генома *T.urartu* не обнаружен в белках пшениц группы *T.timopheevi*.

Изучение глиадинов и быстрых компонентов спиртовой фракции белка тетраплоидных пшениц методом изоэлектрического фокусирования в геле

На рисунке представлены изоэлектрические спектры суммарного глиадина (рис. 8 а), его компонентов (рис. 8 б-г) и быстрых компонентов (рис. 8 д). Классический глиадин имеет изоэлектрическую точку около семи (Павлов, 1967). Из рисунка видно, что суммарный глиадин, его компоненты, (рис. 8 б-г) и быстрые компоненты *T.boeoticum*, *T.araraticum* (рис. 8 д, е) сфокусировались в одной зоне, примерно соответствующей рН от 6,5 до 7,5.

Иначе ведут себя быстрые компоненты пшениц группы эммера (рис. 8 ж). Большая их часть сфокусировалась в середине геля, там же, где компоненты взятого для контроля пшеничного альбумина с рІ примерно равной шести (рис. 8 з). Следовательно, быстрые компоненты пшениц группы эммера по своим свойствам в изофокусировании оказались близкими к пшеничному альбумину. Быстрые же компоненты спиртовой фракции белка однозернянок, пшениц группы *T.timopheevi* фокусируются всегда в зоне рН, соответствующей рІ истинных

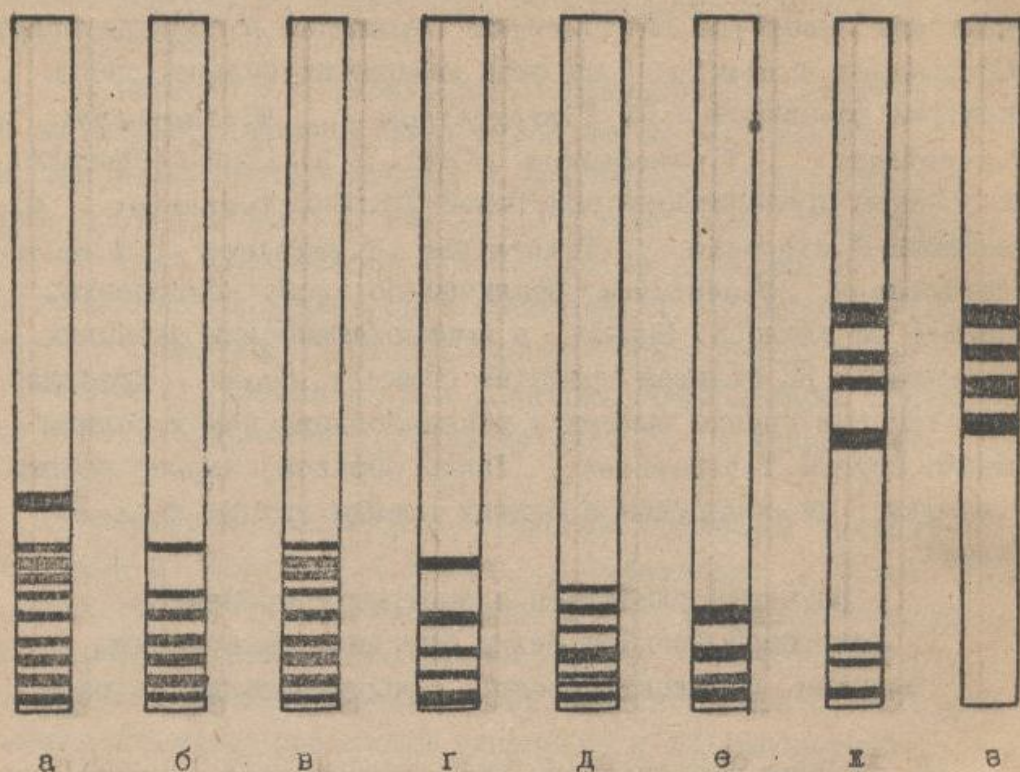


Рис. 8. Изоэлектрические спектры глиадина (а), его компонентов:  $\alpha$  - (б),  $\alpha$ - $\gamma$  (в),  $\omega$  - (г); БК Т. boeoticum (д), БК Т. aragaticum (е), БК Т. discorsum (ж); пшеничный альбумин (з).



глиадинов. Значит, мало отличающиеся по своей подвижности в электрофорезе быстрые компоненты пшениц группы эммера и группы *T. timopheevi* (Пенева, 1974; Johnson, 1972), довольно сильно отличаются друг от друга по их изоэлектрическим точкам.

Итак, компоненты белка, по которым всегда происходит иммунохимическая дифференциация полиплоидных пшениц по линии генома А, есть быстрые компоненты спиртовой фракции. Иммунохимически по быстрым компонентам к пшеницам группы эммера (ААВВ) и гексаплоидам (ААВВDD) наиболее близкой оказалась однозернянка *T. urartu*, к пшеницам группы *T. timopheevi* — однозернянки *T. boeoticum* и *T. monocolchicum*.

Происхождение генома А полиплоидных пшениц. Результаты наших исследований спиртовой фракции белка пшениц с помощью методов иммунохимии и изофокусирования показали, что не все однозернянки идентичны по белкам. Вид *T. urartu* оказался обособленным по белкам от *T. boeoticum* и *T. monocolchicum*. Применение сывороток, полученных на отдельные компоненты спиртовой фракции, позволило нам доказать, что *T. urartu* близка к пшеницам группы эммера и гексаплоидам и обособлена по белкам от пшениц группы *T. timopheevi*. Результаты работ с сывороткой на БК *T. boeoticum* еще раз подтвердили близость *T. boeoticum* и *T. monocolchicum* по белкам к пшеницам группы *T. timopheevi*.

В мировой литературе мы не обнаружили работ, посвященных изучению гомологии генома *T. urartu* с геномами других пшениц. Правда, Г. Менди (Mandy, 1971) указал, что *T. urartu* могла явиться донором первого генома *T. palaecolchicum*, но убедительных доказательств в пользу этого не привел. Кроме того, как известно, этот автор для Закавказья признает только один вид дикой однозернянки — *T. urartu*, отрицая существование там *T. boeoticum*.

Предполагая возможность участия предка дикой однозернянки *T. urartu* в происхождении первого генома пшениц группы эммера, мы полностью отдаем себе отчет в том, насколько трудно будет бесспорно доказать это положение. Если для пшениц группы *T. timopheevi* близость *T. boeoticum*

И *T.monococcum* по БК совершенно очевидна, то для *T.urartu* и пшениц группы эммера этого в полной мере сказать нельзя, т.к. надо учесть возможность гомологических изменений в спектрах преципитации полиплоидных пшениц и однозернянок, как это было показано для электрофоретических спектров *T.boeoticum* Закавказья и *T.dicoccoides* Ирака. Однако, в гомологической реакции в спектре преципитации *T.urartu* имеется компонент, отсутствующий у *T.boeoticum*, *T.monococcum* и пшениц группы *T.timopheevi*. Хотя он представлен у пшениц группы эммера очень слабо, это говорит против варианта гомологических изменений в спектрах преципитации пшениц *T.urartu* и группы эммера и свидетельствует в пользу дидиплоидного происхождения первого генома двух групп тетраплоидных пшениц. Слабость компонента в иммунохимических реакциях может быть объяснена большей степенью изменений, произошедших в геномах полиплоидных представителей этой филогенетической ветви по сравнению с диплоидными донорами, в отличие от *T.boeoticum* и пшениц группы *T.timopheevi*. Так, *T.boeoticum* и *T.agaraticum*, *T.monococcum* и *T.timopheevi* соответственно, морфологически весьма близки между собой, а белки *T.dicoccoides* Ирака, *T.agaraticum*, *T.boeoticum* и *T.monococcum* в иммунохимических реакциях с сывороткой *T.boeoticum* совершенно идентичны. Все это свидетельствует в пользу сравнительно недавнего происхождения пшениц группы *T.timopheevi* с участием в образовании их первого генома форм близких к современной *T.boeoticum*.

В пользу близости *T.urartu* к пшеницам группы эммера говорят данные сравнительной морфологии: бархатистое наощупь опушение листьев, характерное для *T.urartu*, имеют также полбы — дикая сирийско-палестинская и обыкновенная, а также все остальные виды с геномом В. Пшеницы группы *T.timopheevi* как *T.boeoticum* и *T.monococcum* обладают щетинистым опушением листьев. Ареал *T.urartu* пока точно не установлен. Есть данные, что вид, кроме Армении, обитает в Иране (В.Яска, 1974).

Таким образом, мы предполагаем, что донором генома А для пшениц группы эммера и всех гексаплоидных пшениц (кроме *T.zhukovskiy*) был предок современного *T.urartu* или близкая

к нему форма. Для пшениц же группы *T. timopheevi* источником первого генома следует признать однозернянки *T. boeoticum* и *T. monocoecum*.

#### ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ

В результате изучения спиртовой фракции белка диплоидных, тетраплоидных, гексаплоидных пшениц методами электрофореза, иммунохимии и изоэлектрического фокусирования мы пришли к следующим выводам:

1. В состав спиртовой фракции белка пшениц входят кроме собственного глиадинов еще и низкомолекулярные, быстрые в электрофорезе компоненты. Эти компоненты в иммунохимических реакциях, изофокусировании и электрофорезе оказались наиболее высокоспецифичными для целей геномного анализа пшениц по белкам.

2. На основании данных электрофореза глиадина установлено, что популяции диких пшениц *T. boeoticum*, *T. urartu*, *T. agaraticum*, *T. dicoccoides* Ирака состоят из двух генетически различных форм, отличающихся друг от друга по характеру электрофоретических спектров.

3. В структуре электрофоретических спектров глиадина *T. boeoticum* Закавказья и *T. dicoccoides* Ирака обнаружены гомологичные изменения, что, по нашему мнению, является проявлением Закона гомологических рядов в наследственной изменчивости Н.И.Вавилова на молекулярном уровне.

4. Однозернянки не могли явиться донором генома G пшениц группы *T. timopheevi*. В их белках не обнаружено компонентов - маркеров второго генома пшениц группы *T. timopheevi*, найденных в белках представителей группы *Sitopsis*.

5. На основании изучения состава и специфичности спиртовой фракции белков, все диплоидные пшеницы разделены на две генетические группы: *T. boeoticum* и *T. monocoecum* с одной стороны и *T. urartu* с другой.

В связи с этим предлагаем геном A *T. boeoticum* и *T. monocoecum* обозначать  $A^b$ , а геном A *T. urartu* -  $A^u$ .

Белковым маркером генома  $A^b$  является компонент I. Наиболее четко он выявляется сывороткой на БК *T. boeoticum*.

Маркер генома  $A^U$  выявляется сывороткой БК *T.urartu*.

6. К пшеницам группы эмера (AABB) и гексаплоидным видам *Triticum* наиболее близкой по белкам спиртовой фракции оказалась *T.urartu*. Однозернянки *T.boeoticum* и *T.monococcum* оказались близкими к пшеницам группы *T.timopheevi*.

Дикая двузернянка *T.dicoccoides* по глиадинам и быстрым компонентам дифференцирована на две группы: *T.dicoccoides* Ирака, близкую к *T.agaraticum* и *T.dicoccoides* Сирии и Палестины, близкую к пшеницам группы эмера.

7. Высказывается предположение, что донором первого генома пшениц группы эмера и гексаплоидных форм *Triticum* (кроме *T.zhukovskii*) явилась однозернянка *T.urartu* (ее предок или близкая к нему форма). Для пшениц группы *T.timopheevi* донором первого генома следует признать *T.boeoticum* и *T.monococcum*.

Список работ, опубликованных по теме  
диссертации

1. О природе генома пшениц группы *T.timopheevi* по данным электрофореза и иммунохимического анализа. Доклады ВАСХНИЛ № 4, 1971, 13-16 (в соавторстве, Мигушова Э.Ф., Гаврилюк И.П., Конарев В.Г.).

2. Дифференциация диких двузернянок по данным электрофореза и иммунохимического анализа глиадина. Доклады ВАСХНИЛ № 8, 1972, 4-6 (в соавторстве, Мигушова Э.Ф., Гаврилюк И.П., Конарев В.Г.).

3. Генетическая разнокачественность дикорастущей двузернянки Закавказья (в соавторстве, Мигушова Э.Ф.). Генетика, том УШ, № 6, 1972, 148-149.

4. Генетическая неоднородность *T.agaraticum* Jakubz. (в соавторстве, Мигушова Э.Ф.). Труды по прикладной ботанике, генетике, селекции, том 52, вып. I, 1973.

5. Дифференциация диплоидных пшениц по данным иммунохимического анализа глиадина (в соавторстве, Гаврилюк И.П., Мигушова Э.Ф.). Доклады ВАСХНИЛ № 6, 1974, 12.

6. Популяции диких однозернянок Закавказья (в соавторстве, Гаврилюк И.П., Мигушова Э.Ф.). Доклады ВАСХНИЛ, в печати.

7. Дифференциация первого генома полиплоидных пшениц по данным иммунохимического анализа спиртовой фракции белка пшениц, Бюллетень ВИР, № 47.

\* 8. Генетическая неоднородность дикой двузернянки Ирака (в соавторстве, Мигушова Э.Ф.). Вестник с/х науки, в печати.

х х  
х

Материалы диссертации докладывались:

I. Конференция аспирантов и молодых научных сотрудников  
ВИР, 1973.