

<https://doi.org/10.3176/biol.1976.2.04>

УДК 575.1/2+581.167:633.11

Велло ЯАСКА

ГЕНОМ- И ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ИЗОФЕРМЕНТОВ ЭСТЕРАЗЫ И КИСЛОЙ ФОСФАТАЗЫ У ТЕТРАПЛОИДНЫХ ПШЕНИЦ ПРИ ПРОРАСТАНИИ

В наших предыдущих исследованиях (Яаска, 1974; Jaaska, 1969, 1971 и др.) изоферменты эстеразы и кислой фосфатазы молодых проростков применялись в качестве молекулярно-генетических маркеров в геномном анализе полиплоидных пшениц и эгилопсов. Эти же ферменты эндосперма и целого семени не имели четкой геномной специфичности и оказались недостаточно специфичными для выяснения геномного состава и происхождения полиплоидных пшениц (Nakai, 1973). Поэтому изоферменты вегетативных органов растений иногда могут оказаться более подходящими генетическими маркерами по сравнению с изоферментами семян.

При использовании изоферментов в качестве генетических маркеров следует учитывать, что их состав и относительная активность претерпевают в вегетативных тканях молодого проростка в зависимости от возраста и условий выращивания весьма существенные изменения. Это установлено для многих растений самого различного систематического положения (см. обзор Scandalios, 1974), в том числе и для ферментов полиплоидных пшениц (Яаска, Яаска, 1973; Bhatia, Nilson, 1969; Macko и др., 1967).

Цель настоящей статьи — выяснить основные закономерности эндогенной регуляции образования изоферментов эстеразы и кислой фосфатазы при прорастании и в ходе развития этиолированных проростков тетраплоидных пшениц. Представленные результаты являются дополнением к нашей предыдущей статье (Яаска, 1974), где сравнивались изоферменты эстеразы и кислой фосфатазы молодых проростков тетраплоидных пшениц и их диплоидных сородичей, однако онтогенетическая изменчивость изоферментов подробно не освещалась.

Материал и методика

Список изучаемых видов и образцов семян тетраплоидных пшениц и их диплоидных сородичей, а также методику см. Яаска (1974). Электрофореграммы гистохимически окрашенных ферментов в полиакриламидном геле и их фотографии называются энзимограммами. Локализация окрашенных зон ферментативной активности характеризуется дистанцией миграции (D_m), выраженной в произвольно выбранных единицах по шкале на левой стороне энзимограммы (рисунок).

Результаты

Эстераза. На энзимограммах 1—7 рис. 1 сравниваются эстеразы зародышей, извлеченных из проросших в течение 18 ч семян дикорастущих тетраплоидных пшениц *Triticum dicoccoides* и *T. araraticum* и их диплоидных сородичей *T. boeoticum*, *T. urartu* и *Aegilops speltoides*. Эстераза зародыша тетраплоидных пшениц выявляется на энзимограммах (1, 3, 5 и 7) в виде триплета быстро движущихся изоэстераз с D_m 5,0, 4,7 и 4,5.

Сравнение энзимограмм 1—5 показывает, что наиболее медленно движущаяся изоэстераза триплета у тетраплоидных пшениц по своей электрофоретической подвижности соответствует изоэстеразе дикорастущей диплоидной пшеницы *T. boeoticum*, а наиболее быстро движущаяся изоэстераза триплета — эстеразе зародыша диплоидного эгилопса *Ae. speltoides*. Это указывает, как уже отмечалось (Яаска, 1974; Barber и др., 1968; Bhatia, 1968; Jaaska, 1969; Mitra, Bhatia 1971), на генетический контроль крайних изоэстераз триплета тетраплоидных пшениц гомеоаллелями одного и того же локуса на гомеологических хромосомах геномов *A* и *B*, тогда как изоэстераза триплета с промежуточной подвижностью является гибридным гетеродимером. Изучением изоэстераз у транслокационных линий гексаплоидной пшеницы с отдельными хромосомами ржи установлено (Barber и др., 1968), что локус *Est A* находится в левом плече хромосом третьей гомеологической группы, т. е. на хромосомах *3A* и *3B* тетраплоидных пшениц.

В предыдущей статье (Яаска, 1974) рассматриваемая быстро движущаяся эстераза и контролирующей ее пептидную структуру локус обозначались буквой *A*, а его гомеоаллели в геномах *A* и *B* — *Est A_a* и *Est A_b* соответственно. Гомеоаллель *Est A_a* генома *A* контролирует гомодимерную структуру изоэстеразы *A_a* с D_m 4,5, состоящей из двух одинаковых субъединиц типа *a* и имеющей пептидную структуру *aa*. Изоэстераза *A_b* с D_m 5,0 является также гомодимером, но состоит из субъединиц типа *b*, структура которых детерминируется гомеоаллелем *Est A_b* генома *B*. Изоэстераза *A_{ab}* с D_m 4,7 является гибридным гетеродимером с пептидной структурой *ab*, т. е. гибридным продуктом обоих гомеоаллелей локуса *Est A* тетраплоидной пшеницы.

Выявление у тетраплоидных пшениц триплетного фенотипа эстеразы *A*, где крайние изоэстеразы по электрофоретической подвижности точно соответствуют эстеразам зародыша диплоидных видов *T. boeoticum* и *Ae. speltoides*, согласуется с представлением об участии обоих диплоидов или их предшественников в происхождении тетраплоидных пшениц.

Энзимограмма эстеразы зародыша диплоидной пшеницы *T. urartu* (энзимограмма 6 на рис. 1) весьма существенно отличается от таковой *T. boeoticum* (2 на рис. 1). В зародыше *T. urartu* эстераза *A_a* отсутствует, и вместо нее на энзимограмме обнаружена изоэстераза со значительно более медленной электрофоретической подвижностью (D_m около 3,9), которая обозначается как *A_u*, предполагаемая ее гомологичность с эстеразой *A*. Кроме нее на энзимограмме эстеразы зародыша *T. urartu* выявляется еще быстро движущаяся минорная изоэстераза с D_m 5,1, которая имеет электрофоретический аналог малоактивной изоэстеразы у *T. boeoticum*, едва заметный на энзимограмме 2 рис. 1.

Высокоактивная изоэстераза с D_m 3,9 не обнаружена ни у одного изученного образца тетраплоидной пшеницы и, таким образом, характерна для *T. urartu*.

Энзимограммы эстеразы эндосперма (8—10 на рис. 1) отличаются

наличием широкой интенсивно окрашенной полосы, состоящей из множества близкорасположенных зон высокоактивных в этой ткани изоэстераз, отсутствующих в зародыше. Эта группа изоэстераз обнаруживалась в эндосперме всех изученных нами тетраплоидных пшениц и их диплоидных сородичей. Поэтому доминирующие изоэстеразы эндосперма не имеют диагностического значения в геномном анализе тетраплоидных пшениц. Такой же вывод вытекает из результатов Я. Накай (Nakai, 1973), несмотря на четкое разделение им изоэстераз этой группы методом изоэлектрического фокусирования в полиакриламидном геле.

На энзимограммах эстеразы эндосперма тетраплоидных пшениц выявляется еще общая с зародышем изоэстераза A_a , тогда как изоэстераза A_b и гибридная изоэстераза A_{ab} в эндосперме отсутствуют или относительно малоактивны. Это свидетельствует о том, что в ткани эндосперма тетраплоидных пшениц осуществляется геномспецифическая регуляция активности гомеоаллелей локуса эстеразы A : высокоактивен лишь гомеоаллель $Est A_a$ генома A , тогда как реализация генетической информации гомеоаллеля $Est A_b$ генома B в большой степени подавлена.

На энзимограммах 11—33 рис. 1 сравниваются изоэстеразы отдельных вегетативных органов проростков дикорастущих тетраплоидов *T. dicoccoides* и *T. araraticum* и культурных *T. dicoccum* и *T. timopheevii* s. str. Как видно, триплет изоферментов эстеразы A обнаруживается во всех вегетативных тканях молодых проростков разного возраста. У тетраплоидов из группы эммеров наблюдается, как правило, кодоминантное наследование гомеоаллелей эстеразы A , о чем свидетельствует наличие на энзимограммах всех тканей изоэстераз A_b и A_{a2} и лишь небольшие различия в их относительной активности. Только у некоторых образцов дикорастущего эммера палестинского происхождения, как уже отмечалось в наших предыдущих сообщениях (Яаска, 1974; Jaaska, 1971), наблюдается полное доминирование гомеоаллеля $Est A_a$ хромосомы $3A$. При этом полное подавление образования изоэстеразы A_b у этих образцов сохраняется во всех тканях молодого проростка, что свидетельствует о полной инактивации гомеоаллеля $Est A_b$ хромосомы $3B$.

В проростках многих изученных образцов *T. araraticum*, в отличие от эммеров, наблюдаются весьма существенные сдвиги в относительной активности изоэстераз A_b и A_{a2} в зависимости от типа ткани и возраста проростка. Как правило, в ткани колеоптиля интенсивность окрашивания изоэстеразы A_{a2} , а следовательно и ее активность, выше (см. энзимограммы 24 и 27, рис. 1), чем у изоэстеразы A_b , что свидетельствует о большей активности гомеоаллеля $Est A_a$ генома A в этой ткани. В тканях листевой пластинки первичного листа 6—9-дневных проростков, напротив, активность изоэстеразы A_b значительно превышает активность A_{a2} (энзимограммы 29 и 33), что указывает на частичное доминирование в этой ткани гомеоаллеля $Est A_b$ генома B . Во влажной (стеблевой) части первичного листа наблюдается приблизительно кодоминантное проявление гомеоаллелей обоих составных геномов.

У некоторых образцов *T. araraticum* наблюдается, подобно эммерам, приблизительно кодоминантное проявление обоих гомеоаллелей во всех вегетативных органах проростка.

Прорастание и формирование из зародыша молодого проростка сопровождается образованием в его тканях ряда новых эстераз дополнительно к изоферментам эстеразы A . На энзимограммах молодого

3—4-дневного колеоптиля (11, 17, 21 и 24, рис. 1) выделяются дискретные фракции эстераз с D_m 4,2, 3,9 и 3,4, которые обозначаются как *B1*, *B2* и *C* соответственно порядку убывания их подвижности. Эти эстеразы выявляются в колеоптилях обеих генетических групп тетраплоидных пшениц — *T. aggr. turgidum* L. и *T. aggr. timopheevii* Zhuk. — не обнаруживая дивергенции и изменчивости по электрофоретической подвижности. По активности доминирует эстераза *B1*, причем эстераза *B2* и *D* менее активны или иногда даже не выявляются на энзимограммах.

Характерной особенностью эстераз *B1* и *B2* является то, что они имеют значительную активность лишь в молодых 3—4-дневных, активно растущих тканях колеоптиля, а в стареющих 6—8-дневных колеоптилях их активность быстро убывает и на энзимограммах (14, 27 и 31, рис. 1) они уже гистохимически не выявляются.

Так как эти эстеразы обнаруживают высокую активность только в ткани колеоптиля и отсутствуют в первичном листе и корне проростка, то это говорит о их тканевой специфичности и узкой временной регуляции реализации информации генов, контролирующей их структуру.

Эстераза *C* имеет низкую активность и обнаруживается во всех тканях проростка, что указывает на ее генетическую независимость и особенность от эстераз *B1* и *B2*.

В тканях первичного листа эммеров эстеразы *B1* и *B2* отсутствуют и вместо них на энзимограммах (12, 15—16, 18 и 22, рис. 1) выявляются полосы с D_m около 4,4 и 4,1, которые обозначаются как изоэстеразы *D1* и *D2* соответственно. Активность изоэстеразы *D1* в ткани листа увеличивается с возрастом проростка, а активность *D2* остается на более низком уровне.

Среди тетраплоидных пшениц наблюдается дифференциация по встречаемости этих изоэстераз. Одновременно обе изоэстеразы обнаружены лишь у части образцов эммеров, тогда как у многих отсутствует одна из них (*D1* или *D2*) или даже обе. Для эстеразы *D1* обнаружены генетические варианты с небольшими сдвигами электрофоретической подвижности. Изоэстеразы *D1* и *A_b* имеют весьма близкие электрофоретические подвижности (D_m 4,3—4,5) и на энзимограммах иногда (18 и 20, рис. 1) сливаются в одну полосу.

Независимый характер индивидуальной и онтогенетической изменчивости эстераз *D1* и *D2* первичного листа тетраплоидов косвенно указывает на их самостоятельную генетическую детерминацию.

В ткани листевой пластинки 6—10-дневных проростков *T. timopheevii* наблюдаются образование и усиление активности особой изоэстеразы, имеющей несколько более высокую подвижность (D_m 5,2), чем изоэстераза *A_b* (энзимограммы 30 и 33, рис. 1). Эта изоэстераза, однако, не обладает видовой специфичностью, так как она обнаружена не только у *T. timopheevii*, но и у одного образца дикорастущего эмера *T. dicoccoides* из Палестины.

Рассмотренные изоэстеразы выявляются при электрофорезе в полиакриламидном геле дискретными фракциями и обладают высокой электрофоретической подвижностью. Кроме того, в тканях проростка отмечается образование серии изоэстераз, имеющих близкие значения электрофоретической подвижности в диапазоне D_m 1,2—3,0. Активность изоэстераз этой группы усиливается по мере развития молодого проростка и особенно в ткани листевой пластинки.

Среди тетраплоидных пшениц наблюдаются дифференциация по изоэстеразам этой группы и их полиморфизм. Интерпретация результатов, однако, затрудняется из-за близких значений электрофоретиче-

ских подвижностей смежных изоэстераз, в результате чего на энзимограммах они сливаются в широкие зоны.

Характерной особенностью дикорастущего *T. araraticum* является образование в листевой ткани двух изоэстераз, сливающихся на энзимограмме (29, рис. 2) в широкую зону с D_m 2,5—2,9. Эти изоэстеразы обнаружены у всех изученных образцов *T. araraticum* из Закавказья и Ирака и не встречались ни у одного тетраплоида из группы эммеров. На энзимограмме листевой ткани культурного вида *T. timopheevii* (32—33, рис. 1) наблюдается аналогичная широкая зона двух смежных изоэстераз. Электрофоретическая подвижность этой зоны, однако, несколько ниже (D_m 2,2—2,5), чем у *T. araraticum*, что свидетельствует о генетическом различии этих двух видов по изоэстеразам.

Итак, полученные результаты показывают, что состав и активность изоферментов эстеразы весьма существенно изменяются в ходе прорастания пшениц в зависимости от типа ткани и стадии ее развития. По этой причине в филогенетических исследованиях следует сравнивать изоферменты отдельных тканей проростков одинаковой стадии развития.

Из сравнения изоэстераз колеоптилей 4-дневных проростков тетраплоидных пшениц и их диплоидных сородичей (1—6, рис. 2) видно, что в ткани колеоптиля, как и в ткани зародыша, изоэстеразы A_a и A_b тетраплоидных пшениц имеют электрофоретически совпадающие аналоги с изоэстеразами диплоидов *T. boeoticum* и *Ae. speltoides*, тогда как у *T. urartu* таковые отсутствуют.

Эстераза $B1$ колеоптилей тетраплоидных пшениц с D_m 4,2 имеет электрофоретически соответствующий аналог у диплоидного эгилопса *Ae. speltoides* (5, рис. 2), причем ни у одного изученного образца диплоидных пшениц *T. boeoticum* и *T. urartu* (2 и 3, рис. 2) она не обнаружена. Такой результат позволяет предполагать, что эстераза $B1$ колеоптилей тетраплоидных пшениц контролируется геномом B , донором которого является *Ae. speltoides* или близкородственный к нему предковый диплоид.

Следует уточнить, что эстераза $B1$ обнаруживается лишь в некоторых популяциях *Ae. speltoides*, у которого наблюдается внутривидовой полиморфизм этой эстеразы и, как уже отмечалось, она электрофоретически мономорфна и идентична у обеих групп тетраплоидов. Это говорит о том, что лишь некоторые биотипы *Ae. speltoides* имеют аллель эстеразы B , определяющий аллоэнзим диплоида, электрофоретически соответствующий изоэстеразе $B1$ тетраплоидов.

Эстераза $B2$ колеоптиля с D_m 3,9 встречается как у тетраплоидных, так и у диплоидных пшениц, а также у *Ae. speltoides*. У *T. urartu* зоны эстераз $B2$ и A_u , как видно из рис. 2, частично перекрываются.

Независимый характер эволюционной изменчивости эстераз $B1$ и $B2$ указывает на их генетическую обособленность и детерминацию разными локусами.

Эстераза C с D_m 3,4 подобно $B2$ электрофоретически одинакова и общая для тетраплоидных пшениц и их диплоидных сородичей, однако из-за относительно низкой активности она не всегда гистохимически выявляется.

Из энзимограмм 7—12 на рис. 2 видно, что тканеспецифические сдвиги в составе изоэстераз наблюдаются также у диплоидной пшеницы *T. boeoticum* и в меньшей степени у *T. urartu*. Как у тетраплоидных эммеров, в колеоптиле *T. boeoticum* выявляется специфическая для этой ткани эстераза $B2$ (2 и 7, рис. 2), а в первичном листе — тканеспецифическая эстераза $D1$ (8 и 13, рис. 2.). Важно отметить, что эстеразы A_a

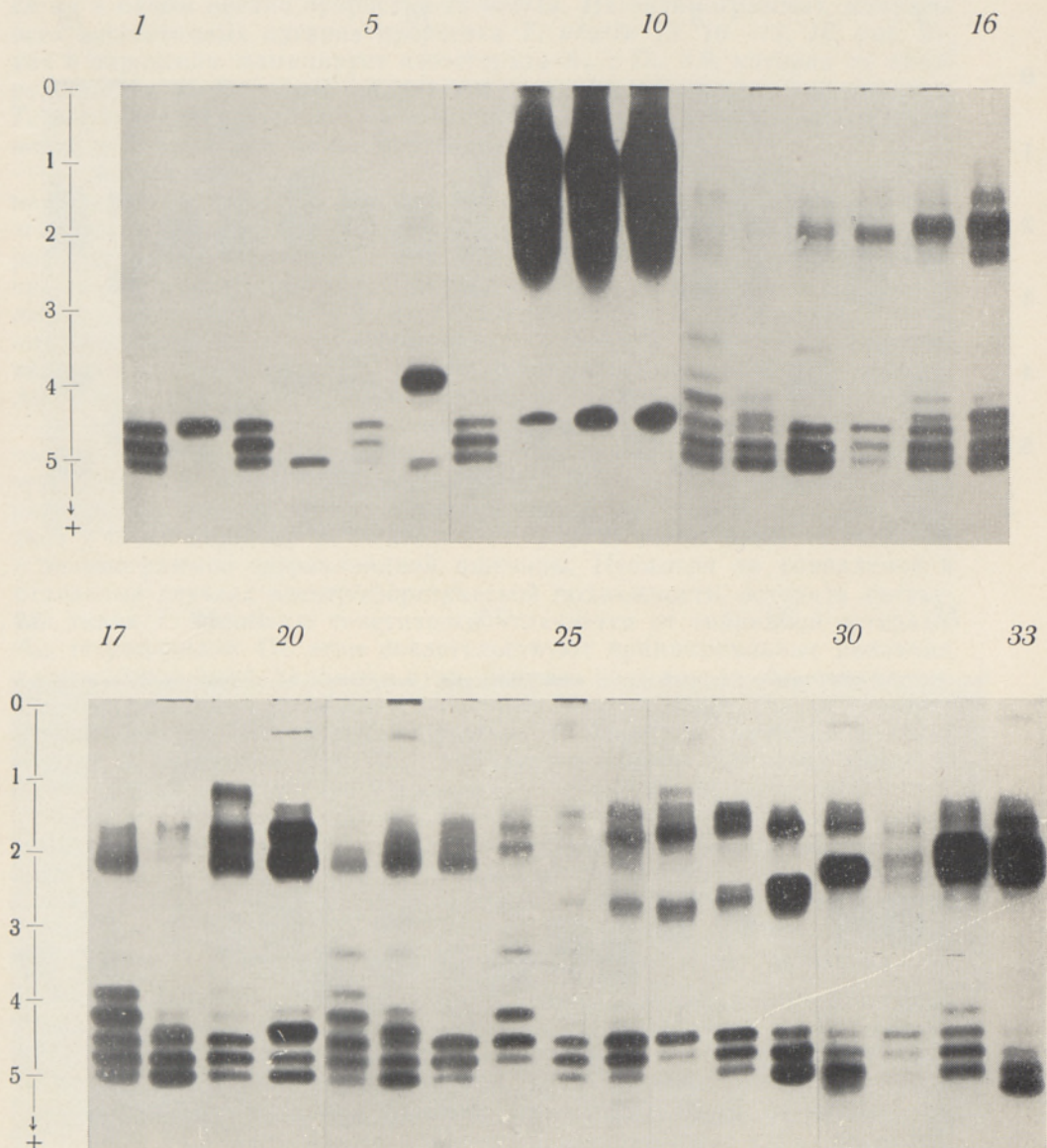


Рис. 1. Энзимограммы эстеразы в полиакриламидном геле: 1 — *T. dicoccoides* К-5199, 2 — *T. boeoticum* К-27153, 4 — *Ae. speltioides* RB-17/69, 5 — *T. araraticum* К-30216, 6 — *T. urartu* К-33870, 7 — *T. dicoccoides* К-23663, 8 — *T. dicoccoides* К-5199, 9 — *T. araraticum* К-30216, 10 — *T. dicoccoides* К-23663, 11—16 — *T. dicoccoides* К-15901, 17—20 — *T. dicoccum* К-21582, 21—23 — *T. dicoccoides* К-5199, 24—29 — *T. araraticum* LJ-56/72, 30—33 — *T. timopheevii* RD-49/69.

Возраст и тип ткани: 1—7 — зародыш, 18 ч при 3°C; 8—10 — эндосперм; 11—13, 17—18, 21—26 — 3-дневные проростки; 14—16, 19—20, 27—30 — 6-дневные проростки; 31—33 — 9-дневный проросток; 11, 14, 17, 19, 21, 24, 27—31 — колеоптиль; 12, 18, 22, 25 — первичный лист; 13, 23, 26 — корень; 15, 28, 32 — базальная (стеблевая) часть первичного листа; 16, 20, 29, 30, 33 — листовая пластинка.

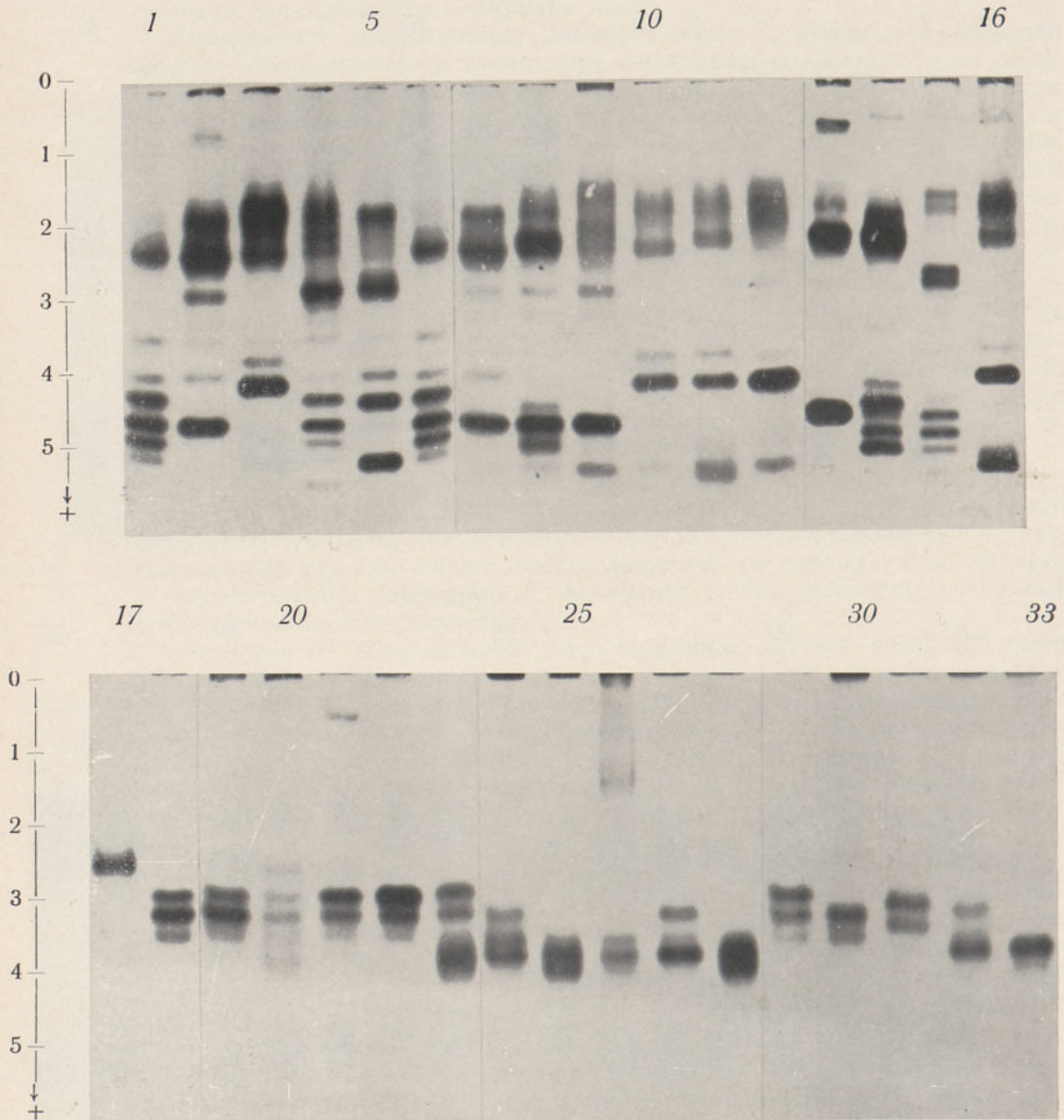


Рис. 2. Энзимограммы эстеразы (1—16) и кислой фосфатазы (17—33) в полиакриламидном геле: 1, 6 — *T. dicoccoides* К-5199, 2 — *T. boeoticum* К-27134, 3 — *T. urartu* LJ-58/72, 4 — *T. araraticum* К-30210, 5 — *Ae. speltoides* G-943, 7—9 — *T. boeoticum* К-27134, 10—12 — *T. urartu* LJ-58/72, 13 — *T. boeoticum* LD-4/73, 14 — *T. dicoccoides* К-5199, 15 — *T. araraticum* LJ-56.1/72, 16 — *T. urartu* К-33870, 17—23 — *T. dicoccoides* К-15301, 24—28 — *T. araraticum* К-40122, 29 — *T. dicoccon* К-21582, 30 — *T. urartu* LJ-58/72, 31 — *T. boeoticum* К-27134, 32 — *T. timopheevii* К-29506, 33 — *Ae. speltoides* RB-17/69.

Возраст и тип ткани: 1—16 — 4-дневные проростки: колеоптиль (1—7, 10), первичный лист (8, 11, 13—16) и корни (9, 12); 17 — зародыш, 18 ч при 3°C; 18—21 и 24—26 — 3-дневные проростки: колеоптиль (18—19, 24), первичный лист (20 и 25) и корни (21 и 26); 22—23 и 27—28 — 6-дневные проростки: колеоптиль (22 и 27) и базальная часть первичного листа (22 и 28); 29—33 — колеоптиль 4-дневных проростков.

и *D* тетраплоидных пшениц имеются у *T. boeoticum*, но не обнаруживаются ни в одном органе проростка *T. urartu*. На энзимограммах эстеразы всех вегетативных органов проростка *T. urartu* (3, 10—12, 16, рис. 2), как и зародыша, доминирует изоэстераза A_u с D_m 3,9, которая не обнаруживается ни у одного вида тетраплоидных пшениц. Следовательно, *T. urartu* не является донором полного генома в тетраплоидные пшеницы, а *T. boeoticum* может претендовать на эту роль.

У диплоидной пшеницы *T. boeoticum*, как и у тетраплоидных пшениц, наблюдается внутривидовой полиморфизм специфичной для листа эстеразы *D*, тогда как специфичная для колеоптиля эстераза *B2* электрофоретически мономорфна. Это указывает на различную эволюционную изменчивость локусов, контролирующих эстеразы колеоптиля и листа. Для эстеразы *D* у *T. boeoticum* обнаружены три аллеля: два из них контролируют электрофоретические варианты эстеразы *D*, а третий является нулевым аллелем, при наличии которого эстераза *D* в ткани листа не образуется (энзимограмма 13, рис. 2).

В листовых тканях проростков многих образцов *T. boeoticum* отмечается образование дополнительно к эстеразе *A* быстро движущейся эстеразы с D_m около 4,7, совпадающей с гибридной эстеразой A_{ab} тетраплоидных пшениц. В результате этого энзимограмма эстеразы листьев у таких образцов *T. boeoticum* (8, рис. 2) имеет внешнее сходство с энзимограммой тетраплоидной пшеницы. Несмотря на совпадение в отдельных случаях электрофоретической подвижности, эстераза листовых тканей *T. boeoticum* генетически отличается от гибридной эстеразы A_{ab} тетраплоидов. Об этом свидетельствуют принципиальные различия в онтогенетической динамике этих эстераз: изоэстераза A_{ab} тетраплоидов присутствует в зародыше и во всех тканях проростка, а электрофоретически соответствующая эстераза *T. boeoticum*, которая в дальнейшем обозначается буквой *F*, образуется лишь в листовой ткани, и ее активность существенно увеличивается с возрастом проростка.

Сравнительное изучение образцов *T. boeoticum* различного географического происхождения выявило внутривидовой полиморфизм эстеразы *F* по признаку электрофоретической подвижности. У ряда образцов *T. boeoticum* эстераза *F* в листе не обнаруживается. На энзимограмме листа *T. urartu* (11 и 16, рис. 2) выявляется активность быстро движущейся изоэстеразы с D_m 5,1, отсутствующей в других тканях.

Кислая фосфатаза. На рис. 2 представлены энзимограммы кислой фосфатазы зародыша и тканей разновозрастных проростков дикорастущих тетраплоидных пшениц *T. dicoccoides* (17—23) и *T. araraticum* (24—28).

В зародыше непроросших семян *T. dicoccoides* обнаруживаются (энзимограмма 17) две-три фракции кислой фосфатазы, из которых по активности на энзимограмме доминирует изофосфатаза с D_m около 2,5. Все изученные образцы тетраплоидов, принадлежащие к двум сборным биологическим видам *T. aggr. turgidum* и *T. aggr. timopheevii*, имели одинаковые энзимограммы кислой фосфатазы зародыша. Более того, такие же энзимограммы кислой фосфатазы зародыша, как у тетраплоидных пшениц, были получены и у диплоидов *T. boeoticum*, *T. urartu* и *Ae. speltoides*. Таким образом, кислые фосфатазы зародыша являются эволюционно консервативными ферментами и непригодны в качестве генетических маркеров в геномном анализе полиплоидных пшениц.

Электрофорез экстрактов зародыша после 20—24 ч прорастания давал в основном такие же энзимограммы кислой фосфатазы, которые характерны для покоящегося зародыша. В течение последующих двух суток прорастания и развития тканей молодого проростка, однако, происходят существенные количественные и качественные изменения в

составе электрофоретических фракций кислой фосфатазы. Активность характерных для зародыша изофосфатаз значительно снижается или вообще исчезает в тканях проростка, и вместо них образуются новые высокоактивные изофосфатазы, имеющие более высокую подвижность (D_m 2,8—4,0) по сравнению с изофосфатазами зародыша. При этом выявляются тканевая специфичность состава изофосфатаз и значительные сдвиги в их относительной активности.

На энзимограммах (18—19, рис. 2) колеоптиля 3-дневного проростка *T. dicoccoides* выделяются три изофосфатазы с D_m 3,5, 3,2 и 3,0, из которых по активности доминирует средняя. На энзимограмме первичного листа того же возраста (20, рис. 2) видны те же три зоны изофосфатаз и, кроме них еще одна с большей (D_m 3,9) и другая с меньшей подвижностью (D_m 2,6).

С увеличением возраста проростка меняется относительная активность трех основных изофосфатаз колеоптиля: увеличивается активность изофосфатазы с D_m 3,0 и уменьшается — с D_m 3,5 (22—23, рис. 2). В первичном листе, кроме того, отмечается значительное увеличение активности наиболее быстродвижущейся фосфатазы с D_m 3,9.

На энзимограмме колеоптиля 3-дневного проростка *T. araraticum* (24, рис. 2), как и у *T. dicoccoides*, выделяются три зоны изофосфатаз. Две из них имеют совпадающие электрофоретические подвижности для обоих видов (изофосфатазы с D_m 3,5 и 3,2), а третья изофосфатаза (с D_m 3,8) не обнаруживается в колеоптиле ни у одного образца эммеров и характерна для колеоптиля *T. araraticum* и его культурной формы — *T. timopheevii*. Изофосфатаза с D_m 3,0, напротив, характерна только для эммеров и не встречается ни у одного образца *T. aggr. timopheevii*. Таким образом, генетическая дифференциация тетраплоидных пшениц по фенотипу кислой фосфатазы, как показано и в наших предыдущих работах (Яаска, 1974; Jaaska, 1971; Jaaska, Jaaska, 1970), совпадает с их филогенетической дивергенцией на два сборных биологических вида на основе наличия барьеров генетической изоляции.

Сравнение энзимограмм 24—28 на рис. 2 показывает качественные различия в составе изоферментов в отдельных тканях проростка *T. araraticum*, а также количественные сдвиги в относительной их активности с возрастом. На энзимограмме первичного листа (25) выявляются две близкорасположенные доминирующие изофосфатазы с D_m 3,8 и 4,0. Изофосфатазы с D_m 3,2 и 3,5, характерные для колеоптиля, в первичном листе не образуются. В первичных корнях обнаруживаются (26, рис. 2) три изофосфатазы с D_m 4,0, 3,8 и 3,5, образование изофосфатазы колеоптиля с D_m 3,2 в корневой ткани проростка подавлено.

Полученные результаты говорят о весьма значительных изменениях в регуляции образования отдельных изофосфатаз в зависимости от типа ткани и возраста проростка. Такие тканеспецифические онтогенетические изменения в составе и активности изофосфатаз необходимо учитывать при решении проблем филогенеза.

Ранее нами (Jaaska, 1969; Jaaska, Jaaska, 1970 и др.) изучались суммарные ферментные экстракты всей надземной части проростка с разным количественным соотношением ткани колеоптиля и первичного листа, которое зависело от вида, особенностей образца и возраста проростка. Поэтому в этих работах тканеспецифические особенности и онтогенетические сдвиги состава изоферментов, в частности изофосфатаз, важные с точки зрения филогенеза, остались невыявленными.

На рис. 2 представлены энзимограммы (29—34) кислой фосфатазы колеоптиля 4-дневных проростков тетраплоидных пшениц и их диплоидных сородичей. Сравнение энзимограмм показывает, что две доминиру-

ющие изофосфатазы диплоидной пшеницы *T. urartu* (30) электрофоретически соответствуют двум изофосфатазам колеоптиля тетраплоидных пшениц (29 и 33) с D_m около 3,5 и 3,2. Другой, более распространенный дикорастущий вид диплоидной пшеницы *T. boeoticum* (31) также имеет в ткани колеоптиля две доминирующие изофосфатазы, электрофоретическая подвижность которых, однако, несколько меньше, чем у изофосфатаз *T. urartu* (30), и не соответствует подвижности ни одной изофосфатазы тетраплоидных пшениц.

Сравнение энзимограмм 33 и 34 (рис. 2) показывает, что наиболее подвижная изофосфатаза колеоптиля *T. araraticum* (33) с D_m 3,8 электрофоретически точно соответствует доминирующей изофосфатазе колеоптиля некоторых образцов *Ae. speltoides* (34). Набор изофосфатаз в колеоптиле тетраплоидов *T. araraticum* и *T. timopheevii*, таким образом, состоит из суммы изофосфатаз, характерных для диплоидов *T. urartu* и *Ae. speltoides*.

В листевой ткани *T. timopheevii* и *T. araraticum*, как показано и ранее (Яска, Яска, 1973; Яска, 1974), содержатся лишь изофосфатазы генома В, соответствующие изофосфатазам некоторых образцов *Ae. speltoides*, причем образование изофосфатаз, контролируемых геномом А, подавлено. Наиболее быстродвижущуюся изофосфатазу первичного листа эммеров с D_m около 3,9 нельзя считать геномспецифичной, так как электрофоретически сходная изофосфатаза обнаруживается в листе всех видов пшениц и эгилопсов независимо от уровня пloidности и природы геномов.

Обсуждение

Из полученных результатов следует, что в проростках тетраплоидных пшениц выявляются и суммируются изоэстеразные маркеры двух диплоидов — *T. boeoticum* и *Ae. speltoides*, в то время как маркерные изоэстеразы, характерные для диплоида *T. urartu*, у тетраплоидов отсутствуют. Этот результат указывает на то, что донорами геномов в тетраплоидные пшеницы были диплоиды, близкородственные к современным видам *T. boeoticum* и *Ae. speltoides*.

Данные по изофосфатазам колеоптиля, однако, указывают на иные возможные пути происхождения тетраплоидных пшениц. Изоферментный спектр кислой фосфатазы тетраплоидов из группы *T. aggr. timopheevii* складывается из суммы изофосфатаз *T. urartu* и *Ae. speltoides*. Из трех доминирующих по активности изофосфатаз колеоптилей эммеров две, кодируемые хромосомой 4В, электрофоретически соответствуют изофосфатазам *T. urartu*, а третий изофермент эммеров, кодируемый хромосомой 4А, не имеет сходного аналога у трех изученных диплоидов (Яска, 1974). Нами показано (Яска, 1974), что все многочисленные изученные образцы дикорастущей однозернянки *T. boeoticum* и ее культурной формы *T. monococcum* s. str. имеют электрофоретически идентичный дублет изофосфатаз колеоптиля, отличный от изофосфатаз эммеров и *T. urartu*. Из этого следует, что современные формы диплоидной пшеницы *T. aggr. monococcum*, включая *T. monococcum* s. str., *T. boeoticum* и *T. thaouidar*, генетически отличаются от генома А тетраплоидных пшениц по структуре локуса кислой фосфатазы, но имеют одинаковый с донором генома А локус эстеразы А. *T. urartu*, с другой стороны, имеет электрофоретически сходные с тетраплоидами изофосфатазы колеоптиля, но отличается по изоэстеразам.

Такой результат проще всего объяснить допуская, что донором одного генома в тетраплоидные пшеницы была форма общего

предка *T. boeoticum* и *T. urartu* или промежуточная форма гибридной природы, сочетающая в себе изоэстеразы *T. boeoticum* с изофосфатазами *T. urartu*. Среди изученных нами образцов диплоидной пшеницы такая форма не обнаружена, но в составе двух природных популяций из Армении найдены образцы, относящиеся к *T. boeoticum* var. *album* и var. *rubrum*, у которых эстеразы *T. urartu* сочетаются с изофосфатазами *T. boeoticum*.

Следует также рассмотреть альтернативное объяснение результатов, которое предполагает участие в происхождении тетраплоидных пшениц нескольких инициальных амфиплоидов, сочетающих разные комбинации диплоидных пшениц и эгилопсов. Согласно этой гипотезе, высказанной в последние годы неоднократно (Kimber, Athwal, 1972; Sarkar, Stebbins, 1956; Sears, 1969), современные тетраплоидные пшеницы являются не простыми амфиплоидами двух диплоидов, а сложными амфиплоидами, геномы которых сформировались и стабилизировались в результате перекомбинирования генетического материала нескольких разных диплоидов и инициальных амфиплоидов. Экспериментально доказана (Vardi, 1971; Vardi, Zohary, 1967) также возможность обмена генетическим материалом между тетраплоидными пшеницами и их диплоидными сородичами — эгилопами из секции *Sitopsis* — в результате интрогрессивной гибридизации, т. е. после возникновения исходных амфидиплоидов.

Предположение о возможном участии предка *T. urartu* в происхождении тетраплоидных пшениц в качестве донора одного генома было высказано в 1974 году в двух лабораториях (Конарев и др., 1974; Johnson, 1974) на основе иммунохимического и электрофоретического изучения спирторастворимых белков эндосперма. Взгляды указанных авторов, однако, расходятся относительно того, донором какого генома (*A* или *B*) является *T. urartu* и участвовал ли он в происхождении обеих генетических групп тетраплоидных пшениц или лишь одной из них.

С помощью иммунохимического анализа у эммеров удалось обнаружить (Конарев и др., 1974, 1975) общий с *T. urartu* антигенный маркер глиадино-подобных белков, отсутствующий у *T. aggr. timopheevii* и *T. aggr. monococcum*, причем антигенные маркеры *T. aggr. monococcum* обнаружены у *T. aggr. timopheevii* (два антигена у *T. araraticum*, и один у *T. timopheevii* s. str.) и отсутствуют у эммеров. На основе таких данных высказывается предположение, что донором генома *A* для тетраплоидов группы *T. aggr. turgidum* и гексаплоидов группы *T. aggr. aestivum* был предок *T. urartu* или близкая к нему форма. Донорами генома *A* для пшениц группы *T. aggr. timopheevii* этими авторами признаются *T. boeoticum* и *T. monococcum*, которые по изученным иммунохимическим маркерам не отличаются.

Взгляду о двух разных донорах генома *A* в тетраплоидные пшеницы соответствует их дивергенция по морфологическому признаку опушения листьев: эммеры и *T. urartu* имеют бархатистое опушение листьев, тогда как тетраплоиды группы *T. aggr. timopheevii* и диплоиды группы *T. aggr. monococcum* — щетинистое опушение.

Электрофоретическое изучение глиадиновых белков пшениц приводит Б. Джонсона, однако, к совершенно другому выводу. Он отмечает, что все электрофоретические компоненты глиадинов тетраплоидных пшениц обеих генетических групп можно воспроизвести разными комбинациями биотипов *T. boeoticum* и *T. urartu* (Johnson, 1974, 1975), тогда как специфические белковые компоненты диплоидных эгилопсов у тетраплоидных пшениц отсутствуют (Johnson, 1972). На основании

этих данных предполагается, что для обеих генетических групп тетраплоидов донором генома *A* является *T. boeoticum*, а донором генома *B* — *T. urartu*, и отрицается участие диплоидного эгилопса в происхождении тетраплоидных пшениц.

Б. Джонсоном (Johnson, 1974, 1975) получены гибриды между *T. urartu* и *T. boeoticum*, которые оказались стерильными. Этим подтвердились наши косвенные данные (Яска, 1974) о наличии генетических барьеров изоляции между этими однозернянками и обоснованность выделения *T. urartu* из состава *T. aggr. monocosmum* в статус самостоятельного биологического вида.

Результаты настоящей работы об электрофоретической идентичности дублета изофосфатаз *T. urartu* с двумя изофосфатазами тетраплоидов согласуются с представлением об участии *T. urartu* в происхождении тетраплоидных пшениц обеих генетических групп. В то же самое время данные по изоэстеразам явно говорят против наличия у тетраплоидных пшениц полного генома *T. urartu* и свидетельствуют о наличии у них генетических маркеров, характерных для *T. boeoticum*. Наши данные можно интерпретировать, как уже указывалось, допуская участие в происхождении и формировании генома тетраплоидных пшениц предковых форм обеих однозернянок — *T. boeoticum* и *T. urartu*.

Следует, однако, отметить, что электрофоретическая идентичность изофосфатаз сама по себе не может служить надежным критерием, достоверно свидетельствующим об участии *T. urartu* в происхождении тетраплоидных пшениц, так как электрофоретически сходные изофосфатазы обнаружены (Яска, 1974) также у *Aegilops mutica* и *Ae. speltoides*.

Выявление у тетраплоидных пшениц общих с диплоидным эгилопсом *Ae. speltoides* изоэстераз свидетельствует о наличии общих генов и определенной генетической гомологии. Кроме того, доминирующая изофосфатаза колеоптиля у некоторых образцов *Ae. speltoides* электрофоретически точно соответствует одной из трех основных изофосфатаз колеоптиля *T. timopheevii*. Энзимограммы кислой фосфатазы первичного листа этих видов также одинаковы (Яска, 1974). Из этих данных следует, что донор второго генома B^t в *T. timopheevii* генетически весьма близок к некоторым биотипам современного диплоида *Ae. speltoides*. Об этом же свидетельствуют данные кариоморфологии (Giorgi, Bozzini, 1969), цитогенетики (Shands, Kimber, 1973) и иммунохимического изучения спирторастворимых белков эндосперма (Пенева, 1973).

Важно отметить, что изофосфатаза генома B^t *T. timopheevii* электрофоретически отличается от изофосфатаз эммеров. Это говорит о генетическом различии между геномами B^t и B^e тетраплоидных пшениц, которое могло возникнуть в результате накопления мутаций в ходе дивергенции современных *T. dicoccoides* и *T. araraticum* из общего тетраплоидного предка (инициального амфидиплоида). Следует также учитывать альтернативную возможность двутопного или дифилетического происхождения *T. dicoccoides* и *T. araraticum* при участии разных биотипов анцестрального диплоида, близкородственного к современному виду *Ae. speltoides* или даже разных предковых диплоидов. Электрофоретический анализ образцов *Ae. speltoides* различного географического происхождения выявил значительный внутривидовой полиморфизм кислой фосфатазы и показал (Яска, 1974; и неопубликованные данные), что одни биотипы *Ae. speltoides* имеют одинаковые с *T. araraticum* изоферменты эстеразы и кислой фосфатазы, тогда как другие — общие с *T. dicoccoides* и культурными эммерами.

В литературе высказывались мнения, что донором генома *B* эммеров

могли служить близкородственные к *Ae. speltoides* эгилописы из секции *Sitopsis* — *Ae. bicornis* (Sears, 1956) или *Ae. longissima* (Пенева, 1974). Нами, однако, было установлено (Яаска, 1974; Jaaska, 1970), что эти диплоиды не подходят донором полного генома в тетраплоидные пшеницы из-за электрофоретического несоответствия изофосфатаз и изоэстераз. К такому же выводу привело нас изучение искусственного амфилоида *T. durum* × *Ae. longissima* из коллекции ВИР (образец К-43644), у которого на энзимограмме выявляется сумма изофосфатаз обоих родительских видов, т. е. к изофосфатазам эммера прибавляется медленнее движущаяся изофосфатаза, характерная для *Ae. longissima*, *Ae. sharonensis* и *Ae. bicornis*. Эти данные, однако, не исключают возможности участия в происхождении эммеров нескольких эгилопсов секции *Sitopsis* или их неизвестной предковой формы.

Заключение

Методом электрофореза в полиакриламидном геле изучались изоферменты эстеразы и кислой фосфатазы зародыша, эндосперма и отдельных тканей (колеоптиля, первичного листа и корней) этиолированного проростка тетраплоидных пшениц, принадлежащих к двум генетическим группам — *T. aggr. turgidum* и *T. aggr. timopheevii* и их диплоидных сородичей *T. boeoticum*, *T. urartu* и *T. speltoides*. Описаны закономерности изменения состава изоферментов при прорастании, свидетельствующие о тканевой, геномной и временной специфичности эндогенной регуляции генов, контролирующих их образование.

Эстераза покоящегося зародыша тетраплоидных пшениц представлена тремя изоферментами, контролируемые двумя гомеоаллелями локуса *Est A* составных геномов. В эндосперме осуществляется геном-специфическая регуляция гомеоаллелей этого локуса: образование изоэстеразы *A_b* генома *B* и гибридной изоэстеразы *A_{ab}* подавлено и доминирует гомеоаллель *Est A_a* генома *A*. В тканях проростка эммеров наблюдается, как правило, кодоминантность гомеоаллелей эстеразы *A*, за исключением некоторых образцов *T. dicoccoides*, у которых гомеоаллель *Est A_b* генома *B* полностью инактивирован во всех тканях. У многих образцов *T. aggr. timopheevii* обнаружена тканеспецифичная регуляция гомеоаллелей эстеразы *A*: частичное доминирование гомеоаллеля *Est A_a* генома *A* в колеоптиле и *Est A_b* генома *B* в ткани листевой пластинки первичного листа.

Крайние изоэстеразы триплетного фенотипа эстеразы тетраплоидных пшениц электрофоретически соответствуют гомологичным эстеразам диплоидов *T. boeoticum* и *Ae. speltoides*, но отличаются от эстеразы *A T. urartu*.

Обнаружены тканеспецифичные эстеразы, характерные для молодых, активно растущих тканей колеоптиля, для первичного листа и эндосперма. Отмечена различная эволюционная изменчивость локусов, контролирующих тканеспецифичные эстеразы: мономорфизм эстеразы *B* колеоптиля и внутривидовой полиморфизм эстераз *D* и *F* первичного листа. Различная эволюционная изменчивость присуща и отдельным локусам кислой фосфатазы: изофосфатазы зародыша электрофоретически сходны у всех тетраплоидных пшениц и их диплоидных сородичей, а для изофосфатаз тканей проростка обнаруживается межвидовая дивергенция в соответствии с видовым статусом или даже внутривидовой полиморфизм (у *Ae. speltoides* и *Ae. mutica*).

В тканях колеоптиля тетраплоидных пшениц обеих генетических групп наблюдается кодоминантное проявление гомеоаллелей кислой

фосфатазы с суммированием изофосфатаз составных геномов. В колеоптиле *T. araraticum* и *T. timopheevii* обнаруживаются три доминирующие изофосфатазы, из которых две электрофоретически соответствуют дублету доминирующих изофосфатаз *T. urartu* и одна — изофосфатазе некоторых биотипов *Ae. speltoides*. Из трех изофосфатаз колеоптиля *T. dicoccoides* и культурных эммеров две электрофоретически совпадают с доминирующими изофосфатазами *T. urartu* и некоторых биотипов *Ae. mutica* и *Ae. speltoides*. Изофосфатазы *T. boeoticum* и *T. monococcum* электрофоретически отличаются от изофосфатаз обеих генетических групп тетраплоидных пшениц.

В листовей ткани тетраплоидных пшениц наблюдается геном- и видоспецифическая регуляция образования изоферментов кислой фосфатазы: у *T. aggr. timopheevii* образуются лишь изофосфатазы генома B^t с полным подавлением гомеоаллелей генома A , а у *T. aggr. turgidum* наблюдается различная степень подавления гомеоаллелей генома B^e .

В свете полученных данных обсуждаются альтернативные теории происхождения тетраплоидных пшениц и гипотезы относительно их диплоидных предшественников. Некоторые биотипы *Ae. speltoides* имеют общие изоферментные маркеры с геномом B^t *T. aggr. timopheevii*, а другие — общие с геномом B^e эммеров.

ЛИТЕРАТУРА

- Конарев А. В., 1975. Дифференциация первых геномов полиплоидных пшениц по данным иммунохимического анализа спиртовой фракции белка. Бюл. ВИР (47) : 8—11.
- Конарев А. В., Гаврилюк И. П., Мигушова Э. Ф., 1974. Дифференциация диплоидных пшениц по данным иммунохимического анализа глиадина. Докл. ВАСХНИЛ (6) : 12.
- Пенева Т. И., 1973. Геномная структура тетраплоидных пшениц группы *T. timopheevii* по иммунохимическому анализу глиадинов. Вестн. с.-х. науки (10) : 111—113.
- Пенева Т. И., 1974. Глиадины эгилопсов секции *Sitopsis* (Jaub. et Spach.) Zhuk. в связи с происхождением генома B пшеницы. Автореферат канд. дисс., Ленинград.
- Яаска Велло, 1974. Происхождение тетраплоидных пшениц по данным электрофоретического изучения ферментов. Изв. АН ЭстССР. Биол. 23 (3) : 201—220.
- Яаска Вильве, Яаска Велло, 1973. Регуляция мультимолекулярных систем ферментов при прорастании тетраплоидных пшениц. Изв. АН ЭстССР. Биол. 22 (3) : 233—243.
- Barber H. N., Driscoll C. J., Long P. M., Vickery R. S., 1968. Protein genetics of wheat and homoeologous relationships of chromosomes. Nature 218 (5140) : 450—452.
- Bhatia C. R., 1968. Electrophoresis of analogous enzymes in *Triticinae*. Proc. 3rd Intern. Wheat Genet. Symp., Canberra : 41—45.
- Bhatia C. R., Nilson J. P., 1969. Isoenzyme changes accompanying germination of wheat seeds. Biochem. Genet. 3 : 207—214.
- Giorgi B., Bozzini A., 1969. Karyotype analysis in *Triticum*. IV. Analysis of (*Aegilops speltoides* × *Triticum boeoticum*) amphiploid and a hypothesis on the evolution of tetraploid wheats. Caryologia 22 (3) : 289—306.
- Jaaska V., 1969. Electrophoretic studies of seedling phosphatases, esterases and peroxidases in the genus *Triticum* L. Eesti NSV TA Toimet. Biol. 18 (2) : 170—183.
- Jaaska V., 1970. Preliminary data on the enzyme divergence in the diploids of the genus *Aegilops* L. Eesti NSV TA Toimet. Biol. 19 (4) : 389—391.
- Jaaska Vello, 1971. Phylogenetic differentiation of tetraploid wheats. Eesti NSV TA Toimet. Biol. 20 (3) : 202—205.
- Jaaska V., Jaaska Vilve, 1970. Biochemical data on the origin of Transcaucasian endemic wheats. Eesti NSV TA Toimet. Biol. 19 (4) : 344—354.
- Johnson B. L., 1972. Protein electrophoretic profiles and the origin of the B genome of wheat. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 69 (6) : 1398—1402.

- Johnson B. L., 1974. Identification of the *B*-genome donor of wheat. In: Abstracts of Papers at the American Society of Agronomy Meetings in Chicago, Illinois. November 10—15, 1974 : 55.
- Johnson B. L., 1975. Identification of the apparent *B*-genome donor of wheat. *Canad. J. Genet. and Cytol.* **17** (1) : 21—39.
- Kimber G., Athwal R. S. 1972. A reassessment of the course of evolution of wheat. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **69** (4) : 912—915.
- Mitra R., Bhatia C. R., 1971. Isoenzymes and polyploidy. I. Qualitative and quantitative isoenzyme studies in the *Triticinae*. *Genet. Res.* **18** (1) : 57—69.
- Macko V., Honold H. R., Stahmann M. A., 1967. Soluble proteins and multiple enzyme forms in early growth of wheat. *Phytochemistry* **6** (4) : 465—471.
- Nakai Y., 1973. Isoenzyme variations in *Aegilops* and *Triticum*. II. Esterase and acid phosphatase isoenzymes studied by the gel isoelectrofocusing method. *Seiken Zihō* (24) : 45—73.
- Sarkar P., Stebbins G. L., 1956. Morphological evidence concerning the origin of the *B* genome in wheat. *Amer. J. Bot.* **43** (4) : 297—304.
- Sears E. R., 1956. The *B* genome of *Triticum*. *Wheat Inform. Service* (4) : 8—10.
- Sears E. R., 1969. Wheat cytogenetics. *Annual Rev. Genetics* **23** : 451—468.
- Scandalios J. G., 1974. Isozymes in development and differentiation. *Annual Rev. Plant Physiol.* **25** : 225—258.
- Shands H., Kimber G., 1973. Reallocation of the genomes of *Triticum timopheevii* Zhuk. "Proc. 4th Internat. Wheat Genetics Symposium". Columbia, Missouri : 101—108.
- Vardi A., 1971. Introgression from diploid *Aegilops speltoides* to tetraploid durum wheat. *Heredity* **26** (1) : 85—91.
- Vardi A., Zohary D., 1967. Introgression in wheat via triploid hybrids. *Heredity* **22** (4) : 541—580.

Институт зоологии и ботаники
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
14/III 1975

Vello JAASKA

TETRAPLOIDSETE NISULIIKIDE ESTERAASI JA HAPPELISE FOSFATAASI ISOENSÜÜMIDE GENOOMI- JA KOESPETSIIIFILINE REGULATSIOON

Resüme

Uurit tetraploidsete nisuliikide *T. aggr. turgidum* ja *T. aggr. timopheevii* ning nende diploidsete sugulasliikide *T. boeoticum*, *T. urartu* ja *Aegilops speltoides* esteraasi ja happelise fosfataasi isoensüümide koostise muutumise seaduspärasusi idanemise ja etioleeritud tõusme arengu järgus.

Tehti kindlaks esteraasi A ja happelise fosfataasi isoensüüme kontrollivate homöoal-leelide genoomispetsiifiline regulatsioon ning selgitati selle seos koe tüübi, nisu geno-tüübi ja liigilise kuuluvusega. Leiti koespetsiifilised isoensüümid ja erinevusi nende evolutsioonilise muutlikkuse astmes.

Käsitletakse tetraploidsete nisuliikide tekke ja nende diploidsete eellasliikide kohta avaldatud alternatiivseid teooriaid. Oletatakse, et tetraploidsed nisuliigid on kompleksed allopolüplöidid, mille tekkes osalenud lähteamfiploiidid moodustusid tänapäevastele liiki-dele *T. boeoticum*, *T. urartu* ja *Ae. speltoides* lähedases suguluses olevatest muistsetest diploididest.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Zoologia ja Botaanika Instituut

Toimetusse saabunud
14. III 1975

Vello JAASKA

GENOME- AND TISSUE-SPECIFIC REGULATION OF ESTERASE AND ACID PHOSPHATASE ISOENZYMES IN TETRAPLOID WHEATS

Summary

Changes in polyacrylamide gel electrophoretic patterns of esterase and acid phosphatase occurring during germination and development in seed and etiolated seedling tissues (embryo, endosperm, coleoptile, first leaf, root) of the two genetic groups of

tetraploid wheats, *T. aggr. turgidum* and *T. aggr. timopheevii*, and of their diploid relatives, *T. boeoticum*, *T. urartu* and *Ae. speltooides*, have been described.

The esterase pattern of the ungerminated embryo of tetraploid wheats comprises three fast-moving isoenzymes, *Est A_a*, *Est A_{ab}* and *Est A_b*, controlled by two homoeoalleles of the locus *Est A*. Genome-specific regulation of the *Est A* homoeoalleles is evident in the endosperm: the formation of the isoesterase *A_b* of the genome *B* and of the hybrid isoesterase *A_{ab}* is suppressed, while isoesterase *A_a* encoded by the genome *A* is of high activity in this tissue. In the seedling tissues of the emmer wheats, as a rule, codominant expression of the *Est A* homoeoalleles was found, except for some accessions of *T. dicoccoides* characterized by a full inactivation of the homoeoallele *Est A_b* of the genome *B* in all tissues. For many accessions of *T. aggr. timopheevii*, tissue-specific regulation of the *Est A* homoeoalleles was revealed: a partial domination of the homoeoallele *Est A_a* of the genome *A* as contrasted to that of the homoeoallele *Est A_b* of the genome *B* in the leaf blade tissue.

Tissue-specific esterases characteristic of the young, actively growing coleoptile, of the first leaf and of endosperm are described. Differences in the degree of evolutionary variation of the loci controlling the tissue-specific esterases have been noted: the coleoptile esterase B2 is monomorphic and electrophoretically in common to tetraploid wheats, *T. boeoticum* and *Ae. speltooides*, while intraspecific polymorphism was recorded for the first leaf esterases D and F. Different evolutionary divergence was also revealed in the particular loci controlling isophosphatases: the embryo phosphatases were electrophoretically similar for all tetraploid wheats and their diploid relatives, while the seedling isophosphatases showed interspecific divergence in accordance with the species status, or intraspecific polymorphism as in *Ae. speltooides* and *Ae. mutica*.

In the coleoptile of tetraploid wheats, codominant expression of the acid phosphatase homoeoalleles was evident from the electrophoretic patterns comprising the sum of isophosphatases encoded by the two constituent genomes of the tetraploid. Of the three dominant isophosphatases in the coleoptile of *T. araraticum* and *T. timopheevii*, two electrophoretically coincide with a doublet of major isophosphatases of *T. urartu*, and the third isoenzyme — with that of some biotypes of *Ae. speltooides*. Two of the three dominant isophosphatases in the coleoptile of the emmer wheats, *T. aggr. turgidum*, encoded by the chromosome 4B, electrophoretically correspond to those of *T. urartu*, while the third emmer isophosphatase encoded by the genome *A* was not encountered among the contemporary diploid wheats.

Genome- and species-specific regulation of the formation of acid phosphatase isoenzymes has been found in the leaf tissue of tetraploid wheats. Only isophosphatases encoded by the genome *B^t* and coinciding with those of *Ae. speltooides* can be detected in the first leaf of *T. aggr. timopheevii*, while the acid phosphatase homoeoalleles of the genome *A* are fully suppressed in this tissue. On the contrary, the isophosphatases controlled by the genome *A* exhibit high activity in the leaf of *T. aggr. turgidum*, while the homoeoalleles of the genome *B^e* were increasingly suppressed with the seedling age.

Isophosphatases of *T. aggr. monococcum* (including *T. monococcum* s. str., *T. boeoticum* and *T. thaouard*) proved electrophoretically different from those of the tetraploids, *T. aggr. turgidum* and *T. aggr. timopheevii*, while the isophosphatases of *T. urartu* coincided with those of the tetraploids. However, outer isoesterases *A_a* and *A_b* of the triplet pattern of the esterase *A* in tetraploid wheats electrophoretically correspond to homologous esterases of the diploids *T. boeoticum* and *Ae. speltooides*, respectively, while the esterase *A* of *T. urartu* is electrophoretically quite distinct.

Academy of Sciences of the Estonian SSR,
Institute of Zoology and Botany

Received
March 14, 1975