EESTI NSV TEADUSTE AKADEEMIA TOIMETISED. 24. KÖIDE
BIOLOOGIA. 1975, NR. 3

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ЭСТОНСКОЙ ССР. ТОМ 24
БИОЛОГИЯ. 1975, № 3

УДК 571.1/3+581.167:633.11

Велло ЯАСКА

ЭВОЛЮЦИОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ФЕРМЕНТОВ И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ В РОДЕ *SECALE* L.

Род *Secale* L. в системе семейства злаков *Poaceae* Barnhart входит в состав трибы *Triticeae* Dum,. где он вместе с родами *Dasypyrum* (Coss. et Dur.) Borb., *Triticum* L. и *Aegilops* L. составляет субтрибу *Triticinae* Trin. ex Griseb. (Цвелев, 1973). По ряду морфологических признаков и особенностям эволюции кариотипа род *Secale* весьма четко отличается от *Triticum* и *Aegilops* и более близок к *Dasypyrum*. Эволюция генома в роде *Secale* прошла по несколько иному пути, чем в родах *Triticum* и *Aegilops*, полностью избегая полиплоидии в природе. Видообразование и внутривидовая дивергенция генома в роде *Secale*, как показали многочисленные цитогенетические исследования (Khush, 1962, 1963a, б; Khush, Stebbins, 1961; Kostoff, 1937; Kranz, 1963; Nürnberg-Krüger, 1960; Riley, 1955; Rozmus, 1967; Stutz, 1957, 1972), осуществились путем фиксации хромосомных транслокаций и накопления генных мутаций в разнообразных и меняющихся в геологическом прошлом экологических условиях Средиземноморья.

Генетическое разнообразие и происхождение сорно-полевой и культурной ржи неоднократно привлекали внимание Н. Вавилова (1917, 1926, 1939) и других исследователей (Антропов, Антропова, 1929; Гроссгейм, 1924; Иванов, Дорофеев, 1964; Кобылянский, 1968 и др.). Р. Рожевицем (1947) составлена монография рода, в которой подробно рассматриваются систематика, морфология, экология и географическое распространение всех основных таксонов *Secale*.

В исследованиях по систематике ржи обращают на себя внимание весьма существенные расхождения во взглядах отдельных авторов относительно объема вида и путей эволюционной дивергенции таксонов ржи. Так, Р. Рожевиц (1947), исходя из морфо-типологической концепции монотипического вида, выделил в роде *Secale* в ранг вида 14 таксонов, которые распределил в три секции — *Silvestria, Kuprijanovia* и *Cerealia*. Систему Р. Рожевица недавно пересмотрели А. Иванов и Г. Яковлев (1971), которые внесли в нее некоторые изменения и редуцировали число видов до восьми. В монографии Э. Шимана (Schiemann, 1948) у ржи признано пять видов (*montanum, africanum, sylvestre, ancestrale* и *cereale*), а в монографии П. Жуковского (1971) — семь (*montanum, kuprijanovii, africanum, sylvestre, vavilovii, ancestrale* и *cereale*). Г. Кхуш (Khush, 1962, 1963a, б) на основе результатов цитогенетических исследований гибридов между видовыми таксонами (линнеонами) ржи и кон-

цепции политипического биологического вида пришел к заключению, что в роде *Secale* можно выделить как максимум 5 видов (*cereale, vavilovii, sylvestre, africanum* и *montanum*). В частности показано (Khush, 1963a), что таксоны культурной, сорно-полевой и сорной ржи, которые Р. Рожевицем рассматривались как виды, т. е. *cereale, segetale, ancestrale* и *afghanicum,* в скрещиваниях интерфертильны и относятся все к одному биологическому виду.

Подобные разногласия существуют и по частным вопросам внутривидовой систематики, видообразования и филогенетических взаимоотношений (см.: Жуковский, 1971; Khush, 1962; Stutz, 1972). Все это указывает на необходимость дальнейшего более углубленного сравнительного изучения генетических особенностей отдельных видов и внутривидовых таксонов ржи.

В предыдущей нашей работе (Jaaska, 1972) для характеристики видовых таксонов ржи и для оценки их генетического родства использовались молекулярно-генетические маркеры — изоферменты. Полученные данные хорошо согласовывались с результатами цитогенетических исследований о филогенетических взаимоотношениях в роде *Secale*. Недостатком предыдущего исследования было то, что оно было проведено без учета внутрипопуляционного генетического полиморфизма ферментов, о наличии которого были получены лишь предварительные сведения.

Целью настоящей работы является пополнить этот пробел в наших исследованиях и более подробно изучить электрофоретические свойства ферментов у видов *Secale* с учетом внутривидового генетического полиморфизма. Методом электрофореза в полиакриламидном геле изучаются кислая фосфатаза (3.1.3.2), арилэстераза (3.1.1.2), пероксидаза (1.11.1.7), аспартат-аминотрансфераза (2.6.1.1), глутаматдегидрогеназа (1.4.1.2), алкогольдегидрогеназа (1.1.1.1), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (1.1.1.49) и 6-фосфоглюконатдегидрогеназа (1.1.1.43) тканей молодых проростков у основных видов и внутривидовых таксонов ржи, а также у родственных ржи видов *Dasypyrum villosum* (L.) Borb., *Triticum boeoticum* Boiss. и *Triticum dicoccoides* (Koern.) Aaronsohn.

Материал и методика

Растительный материал. Образцы семян в приведенном ниже перечне обозначены двумя кодовыми буквами и коллекционным номером. Первая буква — образец семян репродукционный (Р) или собран в природе (П), вторая указывает источник получения образца: Б — из ботанического сада, В — от В. Кобылянского (Всесоюзный научно-исследовательский институт растениеводства им. Н. И. Вавилова, г. Ленинград), К — образец получен от Н. Кутявиной (Ботанический институт им. В. Л. Комарова АН СССР, г. Ленинград), С — получен от проф. Г. Стутца (Бригхэмский университет, г. Прово, шт. Утах, США), Я — образец собран автором. В числителе обозначен порядковый номер образца в нашей коллекции, а в знаменателе — год получения или включения в коллекцию. Для репродукционных образцов, полученных из отдела ржи ВИР и обозначенных кодовыми буквами РВ, сохранены их оригинальные коллекционные номера.

При определении таксономического ранга изучаемых образцов ржи мы исходили из морфо-генетической концепции политипического биологического вида.

1. *Secale cereale* L. 1753, s. l. — культурная, сорно-полевая и дикорастущая сорная рожь.

1a. *Secale cereale* ssp. *cereale* (= *S. cereale* L. s. str.) — культурная рожь с неломким колосом. Изучались образцы культиваров 'Вамбо', 'Йыгева 112', 'Йыгева 120', 'Приекули 2', 'Белорусский 23' и 'Харьков 60', полученные из Йыгеваской селекционно-опытной станции (Эстонская ССР).

1б. *Secale cereale* ssp. *segetale* Zhuk. 1928, syn. *S. segetale* (Zhuk.) Roshev. 1947 — сорно-полевая рожь с неломким или малоломким колосом. Образцы: ПЯ-8/71 — с поля пшеницы, выжухшей от засухи, в Ордубадском р-не Нахичеванской АССР; РВ-5836, РВ-5867 и РВ-7684 — из Азербайджанской ССР, РВ-10036 — из Армянской ССР и РВ-7745 — из Дагестанской АССР.

1в. *Secale cereale* ssp. *ancestrale* Zhuk. 1928, incl. *S. cereale* var. *afghanicum* Vav. 1926, *S. cereale* ssp. *dighoricum* Vav. 1939 et *S. ancestrale* Zhuk. 1933 — дикорастущая сорная рожь с ломким колосом, засоряющая посевы ячменя, пшеницы и других культур в Афганистане, Ближнем Востоке и на Кавказе. В этом подвиде мы различаем в ранге ботанических разновидностей следующие три эколого-географические расы:

а) *S. cereale* ssp. *ancestrale* var. *ancestrale* (= *S. ancestrale* Zhuk. 1933) — узко-эндемичная экологическая раса ломкоколосой сорной ржи с долины р. Меандра близ Айдина в Турции. Характеризуется мелкими семенами (4—6 *мм*) и высоким стеблем (до 300 *см*). Изучался образец РС-20/70 — многократная репродукция образца, собранного в 1960 г. в природе.

б) *S. cereale* ssp. *ancestrale* var. *afghanicum* Vav. 1926 (= *S. ancestrale* var. *afghanicum* (Vav.) A. Ivan. et Jakovl. 1971) — наиболее широкораспространенная разновидность ломкоколосой ржи, засоряющая поля в засушливых плоско-горных районах Афганистана, Ирана и Закавказья. Изучались четыре природных образца из разных локальных популяций в Армянской ССР: ПЯ-2/71 и ПЯ-40/72 — вблизи дер. Ацаван восточнее г. Ереван, ПЯ-3/71 — ущелье р. Раздан в г. Ереван и ПК-80/70 — вблизи дер. Джрвеж, восточнее г. Ереван.

в) *S. cereale* ssp. *ancestrale* var. *dighoricum* (Vav.) Jaaska comb. nov., basionym *S. cereale* ssp. *dighoricum* Vav. 1939 (В сб.: Президенту АН СССР акад. В. Л. Комарову; с. 173); = *S. dighoricum* (Vav.) Roshev. 1947; = *S. ancestrale* var. *dighoricum* (Vav.) A. Ivan. et Jakovl. 1971; = *S. segetale* ssp. *dighoricum* (Vav.) Tzvel. 1973 — эндемичная эколого-географическая раса ломкоколосой сорной ржи, приуроченная к мезофильным высокогорным условиям Северной Осетии. Изучался образец РВ-9655, оригинал которого собран Н. Вавиловым в 1939 г.

2. *Secale vavilovii* Grossh. 1924 — дикорастущая однолетняя рожь с ломким колосом, характеризующаяся самофертильностью и аутогамией. Изучались образцы РВ-1150 из Ирана (оригинал от Х. Куккук) и РС-21/73 с нижних склонов горы Арарат в Турции.

3. *Secale sylvestre* Host 1809 (= *S. fragile* Bieb. 1819) — дикорастущая однолетняя рожь, характеризующаяся длинноостистыми колосковыми чешуями, самофертильностью и приуроченностью к песчаным почвам по берегам рек и морей флористического района восточного Средиземноморья. Изучались образцы: ПЯ-13/70 — п-ов Крым, песчаный берег Черного моря в районе Донузлавского озера; ПЯ-14/70 — п-ов Апшерон, песчаные дюны на берегу Каспийского моря вблизи г. Бильга; ПЯ-15/70 — песчаные барханы вблизи Ашхабада, Туркменская ССР и РС-22/73 — образец венгерского происхождения.

4. *Secale montanum* Guss. 1827, s. l. — дикорастущая многолетняя рожь.

4а. *Secale montanum* ssp. *montanum* (= *S. montanum* Guss. s. str., = *S. cereale* ß. *montanum* Fiori 1896) — географический подвид, распространенный в горных районах западной части Средиземноморья. Изучался образец РС-12/73 из Сицилии, вблизи г. Рокка-Бузамбра.

4б. *Secale montanum* ssp. *anatolicum* (Boiss.) Tzvel. 1973 (= *S. anatolicum* Boiss. 1884, = *S. montanum* ß. *anatolicum* Boiss. 1884) — эколого-географическая раса многолетней ржи, которая заменяет предыдущий подвид *montanum* в восточной части Средиземноморской флористической области и отличается от него более выраженными признаками ксерофильности из-за приспособленности к засушливому климату плоскогорий Закавказья и Ближнего Востока. Изучались ПЯ-41/72, ПК-71/71, ПК-72/71, ПК-73/71, ПК-74/71 и ПК-75/71, собранные из разных локальных популяций в Армянской ССР. Кроме того, изучались репродукционные образцы РВ-10086 из Армянской ССР, РВ-

10220 из Нахичеванской АССР, РС-15/73, РС-16/73, РС-18/73 и РС-13/73 из разных районов Турции и РС-13/73 из Ирана.

4в. *Secale montanum* ssp. *kuprijanovii* (Grossh.) Tzvel. 1973 (= *S. kuprijanovii* Grossh. 1928) — эколого-географическая раса многолетней ржи, произрастающая на высокогорных пастбищах Абхазии и Большого Кавказского хребта. Изучались образцы РВ-9585 и РВ-9586.

5. *Secale africanum* Stapf — эндемичный для южной Африки вид самофертильной многолетней ржи: образец РВ-10289.

6. *Dasypyrum villosum* (L.) Borb. 1896 (= *Secale villosum* L. 1753; = *Triticum villosum* (L.) Bieb. 1808; = *Haynaldia villosa* (L.) Schur 1866). Изучались: ПЯ-37/72 — гора Кара-Даг, п-ов Крым; ПЯ-38/72 — м. Казантип, п-ов Крым; ПЯ-39/72 — Симеиз, п-ов Крым; ПБ-61/71 и РБ-53/71 — югославского происхождения, из Ботанического сада г. Загреб; РБ-4/72 — итальянского происхождения, из Ботанического сада г. Пиза.

7. *Triticum boeoticum* Boiss. 1853 — дикорастущая диплоидная пшеница: образец ПЯ-4/71 — вблизи г. Гадрут, Нагорно-Карабахская авт. обл., Азербайджанская ССР.

8. *Triticum dicoccoides* (Koern.) Aaronsohn 1910 — дикорастущая тетраплоидная пшеница палестинской группы: образец РВ-5198.

Биохимические методы. Семена проращивались в темноте при 26 °С на фильтровальной бумаге, смоченной 2 *мМ* раствором нитрата кальция. Колеоптиль вместе с первым листом от 3—4-дневного проростка или отдельные ткани проростков разного возраста гомогенизировали стеклянной палочкой в небольших тиглях с 0,2 *мл* свежеприготовленной холодной буферной смеси, состоящей из 0,05 *М* трис-гидроксиметил-аминометана (трис), 0,01 *М* этилендиамин-тетрауксусной кислоты и 0,005 *М* цистеина гидрохлорида. Клеточные волокна отжимали от экстракта и удаляли, а к экстрактам примешивали по 40—60 *мг* 4 : 1 смеси сахарозы и Сефадекса G-200.

Полученные таким образом ферментные экстракты сразу подвергали электрофорезу в пластинках полиакриламидного геля (60×45×3 *мм*), которые готовились фотополимеризацией (в кюветах из органического стекла) свежеприготовленного раствора, содержащего 10% акриламида, 0,15% N, N′-метиленбисакриламида, 0,25 *М* трис, 0,2% триэтаноламина, 0,5 *мг*% рибофлавина и 0,075 *М* HCl (для разделения изоформ фосфатаз, эстераз и пероксидаз) или 0,2 *М* HCl (для фракционирования дегидрогеназ). Электродные буферы: катодный буфер содержал 0,08 *М* глицин и 0,01 *М* трис, а анодным электролитом служил 0,1 *М* трис-ацетатный буфер с исходным pH 8,9.

Методы гистохимического выявления ферментов в полиакриламидном геле описаны нами ранее (Яаска, Яаска, 1973; Jaaska, 1972). Полученные электрофореграммы гистохимически окрашенных ферментов в полиакриламидных гелях в дальнейшем называются энзимограммами. Локализация окрашенных зон ферментативной активности обозначается дистанцией миграции (D_m), выраженной в произвольно выбранных единицах по шкале на левой стороне рисунка. Каждая энзимограмма получена электрофорезом ферментного экстракта из отдельного индивида (проростка или его части). Выявляемые на энзимограммах в виде дискретных фракций множественные молекулярные формы фермента называются изоформами фермента или сокращенно изофосфатазами, изоэстеразами или изопероксидазами.

Результаты

Кислая фосфатаза молодых проростков многолетней ржи *S. montanum* на стадии колеоптиля выделяется на полиакриламидных энзимограммах (*1—4* на рис. 1) в виде одной или двух доминирующих по активности изофосфатаз с D_m около 1,5 и 1,8, которые обозначаются как Aph A и Aph B соответственно. На энзимограммах (*5—10*, рис. 1) более старых (5—10-дневных) проростков дополнительно появляется широкая полоса фосфатазной активности в диапазоне D_m 0,7—1,2, состоящая из нескольких близкорасположенных зон изофосфатаз, активность которых возрастает в листьевой ткани по мере роста проростка. Кроме того, на

энзимограммах выявляются еще слабые полосы малоактивных изофосфатаз при D_m около 2,4 и 3,7 и значительная активность их на линии старта.

Наиболее характерными для молодых проростков многолетней ржи являются доминирующие по активности в ткани колеоптиля изофосфатазы A и B, которые имеют четкую внутрипопуляционную индивидуальную изменчивость. Все изученные закавказские популяции многолетней ржи *S. montanum* ssp. *anatolicum*, как это иллюстрируют энзимограммы *1—10* на рис. 1, оказались полиморфными относительно этих изофосфатаз. Часть индивидов имела обе изофосфатазы, а часть — лишь одну из них. Наиболее часто встречались фенотипы с обеими изофосфатазами или с изофосфатазой B, тогда как фенотип с одной Aph A встречался реже. Еще более редко в закавказских популяциях обнаруживалась третья изофосфатаза Aph C с D_m около 2,1 (энзимограмма *7* на рис. 1).

Те же самые изофосфатазы были обнаружены и у других эколого-географических подвидов *S. montanum* — у северо-кавказского ssp. *kuprijanovii* и западно-средиземноморского ssp. *montanum*. Образец PC-16/73 турецкого происхождения, относящийся к ssp. *anatolicum*, характеризовался высокой частотой встречаемости изофосфатазы C, редкой в других популяциях. Единственный изученный репродукционный образец эндемичного в Южной Африке многолетника *S. africanum* оказался мономорфным относительно Aph A.

На первый взгляд обнаруженный тип полиморфизма кислой фосфатазы соответствует генетической модели двух или трех аллелей в одном локусе. Некоторые результаты, однако, заставляют сомневаться в применимости этой модели в данном случае. Так, для обеих основных изофосфатаз A и B обнаруживаются электрофоретические варианты с небольшими сдвигами в скорости миграции при электрофорезе. Например, Aph B на энзимограммах *2*, *9* и *10* (рис. 1) имеет несколько большую подвижность, чем на соседних энзимограммах *1*, *3* и *8*. Кроме качественной изменчивости состава изофосфатаз, наблюдаются также количественные различия в соотношении их активности в зависимости от возраста проростка и типа ткани.

Энзимограммы кислой фосфатазы колеоптилей молодых проростков однолетней ломкоколосой ржи *S. cereale* var. *afghanicum* по составу изоферментов оказались (*11—13*, *15* и *17*, рис. 1), как правило, более сложными, чем у многолетней ржи. Кроме изофосфатаз A, B и C, которые встречались и у многолетней ржи, у однолетника на энзимограммах наблюдаются высокоактивные изофосфатазы с D_m 2,4 и 2,7, обозначенные как D и E соответственно. Энзимограммы отдельных проростков различались между собой как качественно — по числу и комбинациям присутствующих изофосфатаз, так и количественно — по их относительной активности. Наиболее характерными для молодых проростков var. *afghanicum* были четыре изофосфатазы B, C, D и E, относительно которых обнаруживался значительный внутрипопуляционный полиморфизм.

Изофосфатаза B, как показывает сравнение энзимограмм *14—17* на рис. 1, имеет одинаковую подвижность у многолетнего и однолетнего видов ломкоколосой ржи. У обоих видов, однако, имеются два электрофоретических варианта изофосфатазы B с небольшим сдвигом в подвижности (*10—15*, рис. 1).

Высокоактивная изофосфатаза D по электрофоретической подвижности (D_m 2,4) соответствует малоактивной изофосфатазе, которая обнаруживается у всех проростков многолетней ржи. Последняя имеется также у всех проростков однолетней ржи, тогда как изофосфатаза D выявляется лишь в отдельных из них. Это косвенно указывает на неза-

видимую генетическую природу этих электрофоретически сходных изофосфатаз.

Изофосфатаза E никогда не была найдена у многолетней ржи, но встречалась довольно часто у многих индивидов однолетней ломкоколосой ржи (*12*, *15*, *17* и *19*, рис. 1).

Внутрипопуляционный полиморфизм изофосфатаз B, C, D и E наблюдался не только у ломкоколосой сорной ржи *S. cereale* var. *afghanicum*, но и и малоломкой или неломкой сорно-полевой ржи *S. cereale* ssp. *segetale* (энзимограммы *22*—*27*, рис. 1) и у сортов культурной ржи *S. cereale* ssp. *cereale* (энзимограммы *28*—*33* на рис. 1). Полиморфизм кислой фосфатазы у *S. cereale* s. l. оказался не только внутрипопуляционным, но и внутрисемейным. Так, среди энзимограмм *22*—*27* для шести проростков, выращенных из семян одного колоса сорно-полевой ржи *S. cereale* ssp. *segetale*, можно различить пять качественно разных фенотипов кислой фосфатазы.

Отдельные индивиды (колеоптили) *S. cereale* s. l. различаются между собой по числу и комбинациям четырех основных изофосфатаз B, C, D и E, а также двух менее подвижных изофосфатаз с D_m около 1,1 и 1,4. Внутрипопуляционный полиморфизм одного и того же типа был обнаружен у всех образцов всех внутривидовых таксонов *S. cereale* — сорной, сорно-полевой и культурной, за исключением единственного изученного нами репродукционного образца *S. cereale* var. *ancestrale*, характеризующегося мономорфизмом высокоактивной изофосфатазы B (*20*—*21*, рис. 1).

Отдельные индивиды в популяциях однолетней ржи имеют в колеоптиле лишь изофосфатазу B и, таким образом, качественно неотличимы от многолетней ржи по энзимограмме кислой фосфатазы (ср. *2*, *5*, *9*—*10* и *20*—*22* на рис. 1). Однако однолетнюю рожь *S. cereale* всегда можно отличить по наличию в популяциях изофосфатазы E, никогда не встречающейся у многолетней *S. montanum*, а также по наличию высокоактивной изофосфатазы D.

Кроме качественной изменчивости, наблюдаются и количественные различия в интенсивности окрашивания полос изофосфатаз на энзимограммах, свидетельствующие о различиях в их относительной активности. К примеру, на энзимограммах *23* и *24* (рис. 1) изофосфатазы B и E высокоактивны, а изофосфатазы C и D — малоактивны. На энзимограмме *25* изофосфатазы B и C высокоактивны, D — малоактивна, а E — неактивна или отсутствует. На энзимограммах *29* и *31* выявляется высокая активность всех четырех основных изофосфатаз.

Такая количественная градация активности четырех основных изофосфатаз в колеоптилях *S. cereale* приводит к мысли, что каждая из них детерминируется отдельным локусом — цистроном. Реализация генетической информации этих цистронов для биосинтеза изофосфатаз, видимо, контролируется регуляторными генами. В таком случае полиморфизм четырех основных изофосфатаз колеоптилей *S. cereale*, по-видимому, обусловлен главным образом различиями не в структурных, а в регуляторных генах. Выявление небольших сдвигов в электрофоретической подвижности некоторых основных изофосфатаз, в частности у B и C, свидетельствует о наличии дополнительного полиморфизма другого типа, обусловленного аллелизмом структурных генов изофосфатаз.

В ходе прорастания у однолетней *S. cereale*, как и у многолетней *S. montanum*, наблюдались качественные изменения состава изофосфатаз и количественные сдвиги в их относительной активности. В листьевой ткани проростков в ходе роста наблюдается образование и усиление активности группы изофосфатаз, занимающих на энзимограммах (*2* и

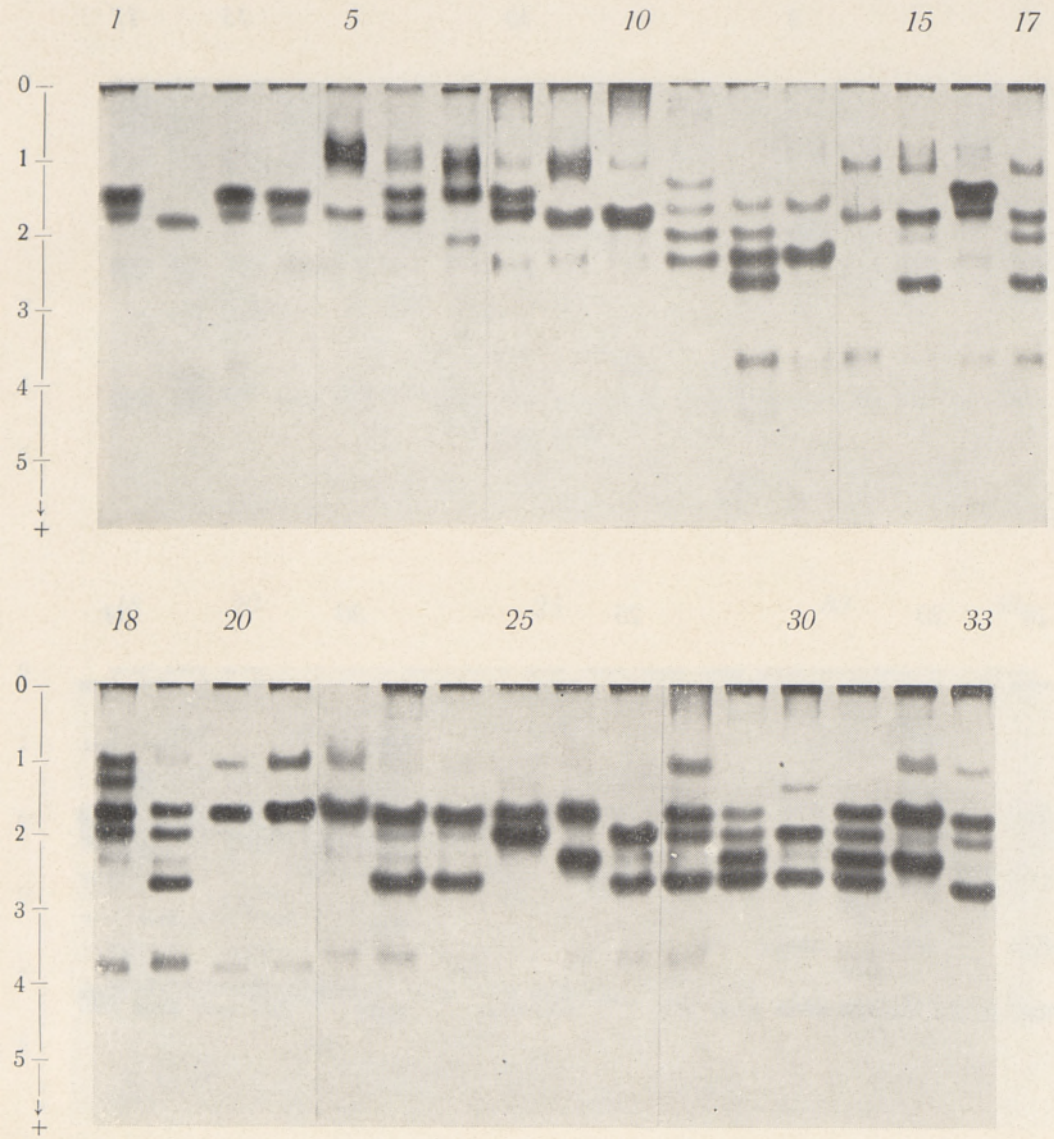


Рис. 1. Энзимограммы кислой фосфатазы (*1—33*). *Secale montanum* ssp. *anatolicum*, образцы ПЯ-41/72 (*1—4*), ПК-71/71 (*5—7*), ПК-74/71 (*8—10*) и ПЯ—41/72 (*14, 16*), *S. cereale* ssp. *ancestrale* var. *afghanicum*, образцы ПЯ-3/71 (*11—13, 15* и *17*) и ПЯ-2/71 (*18—19*) и var.*ancestrale*, образец РС-20/73 (*20—21*). *S. cereale* ssp. *segetale*, образец ПЯ-8/71 (*22—27*) и *S. cereale* ssp. *cereale* cv. 'Вамбо' (*28—33*).

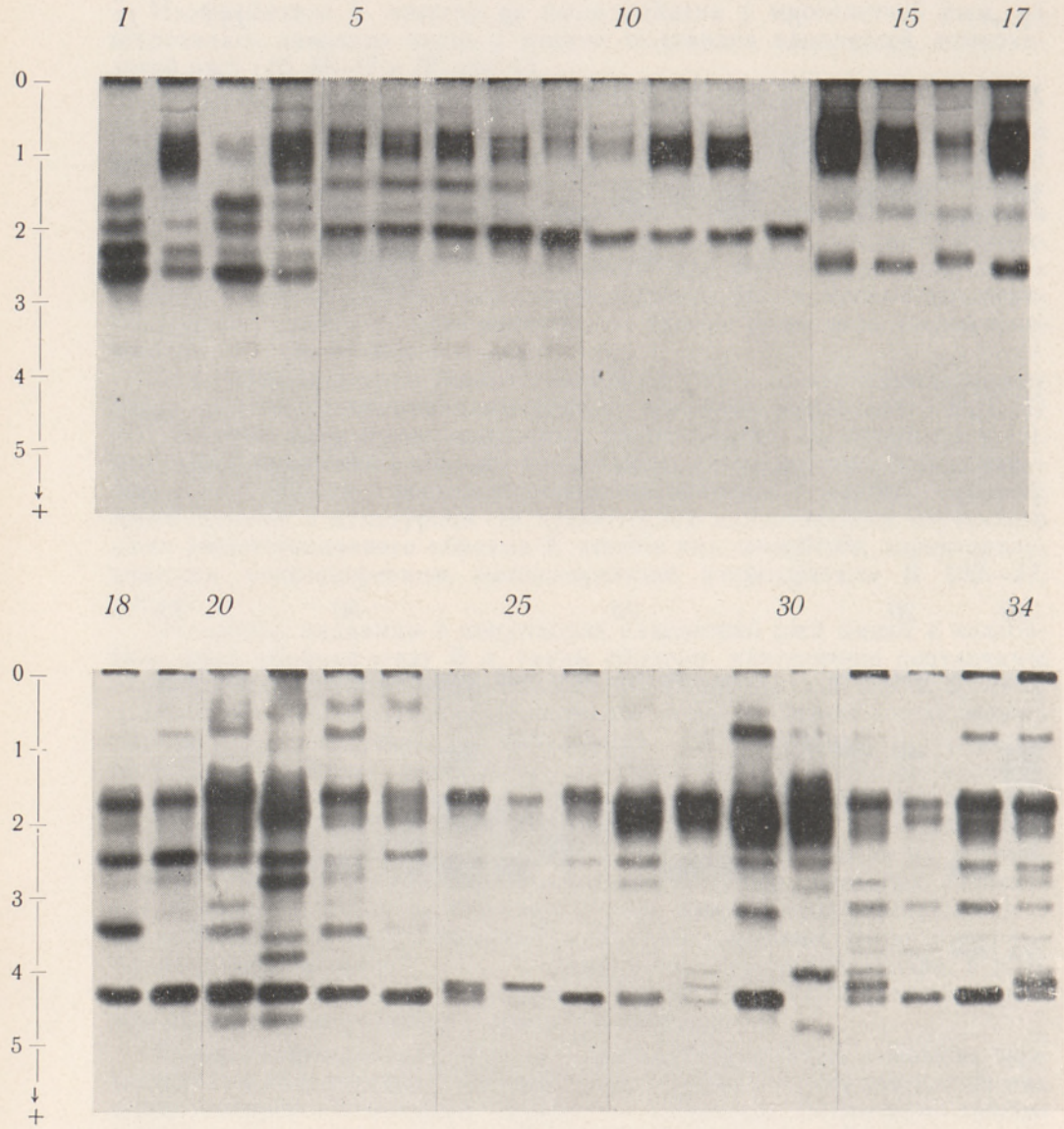


Рис. 2. Энзимограммы кислой фосфатазы (*1—17*) и эстеразы (*18—34*). *S. cereale* ssp *segetale*, образец ПЯ-8/71 — стебель с колеоптилем (*1* и *3*) и лист (*2* и *4*) 7-дневного проростка. *S. vavilovii*, образец РВ-1150 (*5—8*). *S. sylvestre*, образец ПЯ-13/70 (*9* и *11*), РС-22/73 (*10*), ПЯ-14/70 (*12*), ПЯ-15/70 (*13*). *S. villosum*, образцы ПЯ-38/72 (*14—15*) и ПЯ-39/72 (*16—17*). *S. montanum* ssp. *anatolicum*, образец ПЯ-41/72 — колеоптиль (*18*), стебель с первичным листом (*19*) и целые 4-дневные проростки (*20—23*), образец ПК-73/71 — стебли 7-дневных проростков (*24—26*) и образец ПК-71/71 — стебли с колеоптилем 8-дневных проростков (*27—34*).

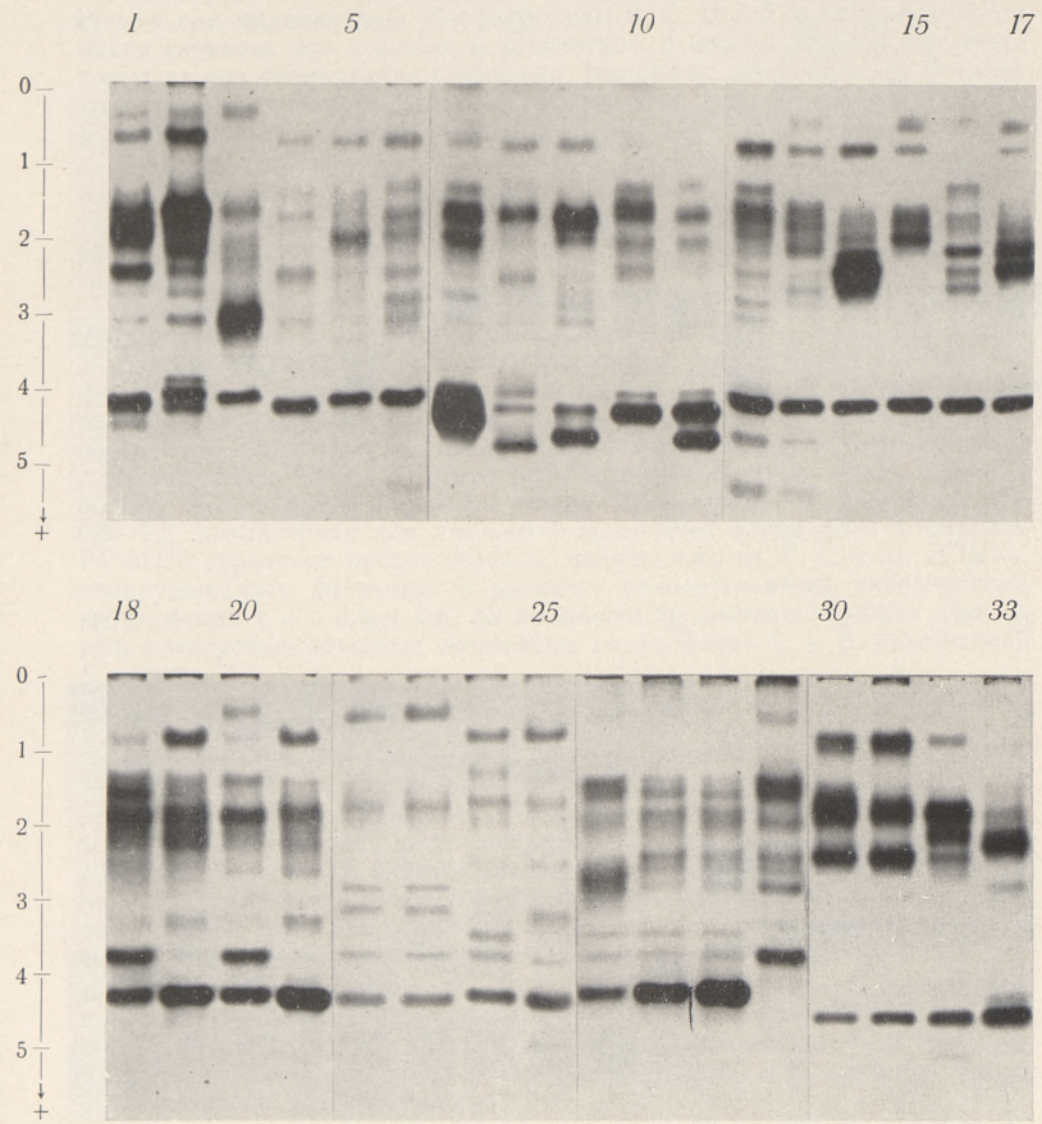


Рис. 3. Энзимограммы эстеразы (*1—33*). *S. montanum* ssp. *anatolicum*, образец ПК-71/71 (*1—2*). *S. cereale* ssp. *ancestrale* var. *afghanicum*, образец ПК-70/71 — стебли с колеоптилем (*3—6*) и листьевые пластинки (*7—11*) 8-дневных проростков. *S. cereale* ssp. *segetale*, образец РВ-5836 — листья 8-дневных проростков (*12—13*) и *S. cereale* ssp. *cereale* cv. 'Йыгева 120' — листья 8-дневных проростков (*14—17*), колеоптили (*18* и *20*) и стебли с первичным листом (*19* и *21*) 4-дневных проростков. *S. vavilovii*, образцы РВ-1150 (*22—23*) и РС-21/73 (*24—25*). *S. sylvestre*, образцы РС-22/73 (*26*), ПЯ-13/70 (*27*), ПЯ-14/70 (*28*) и ПЯ-15/70 (*29*). *S. villosum*, образец ПЯ-38/72 (*30—32*) и *Triticum boeoticum*, образец ПЯ-4/71 (*33*).

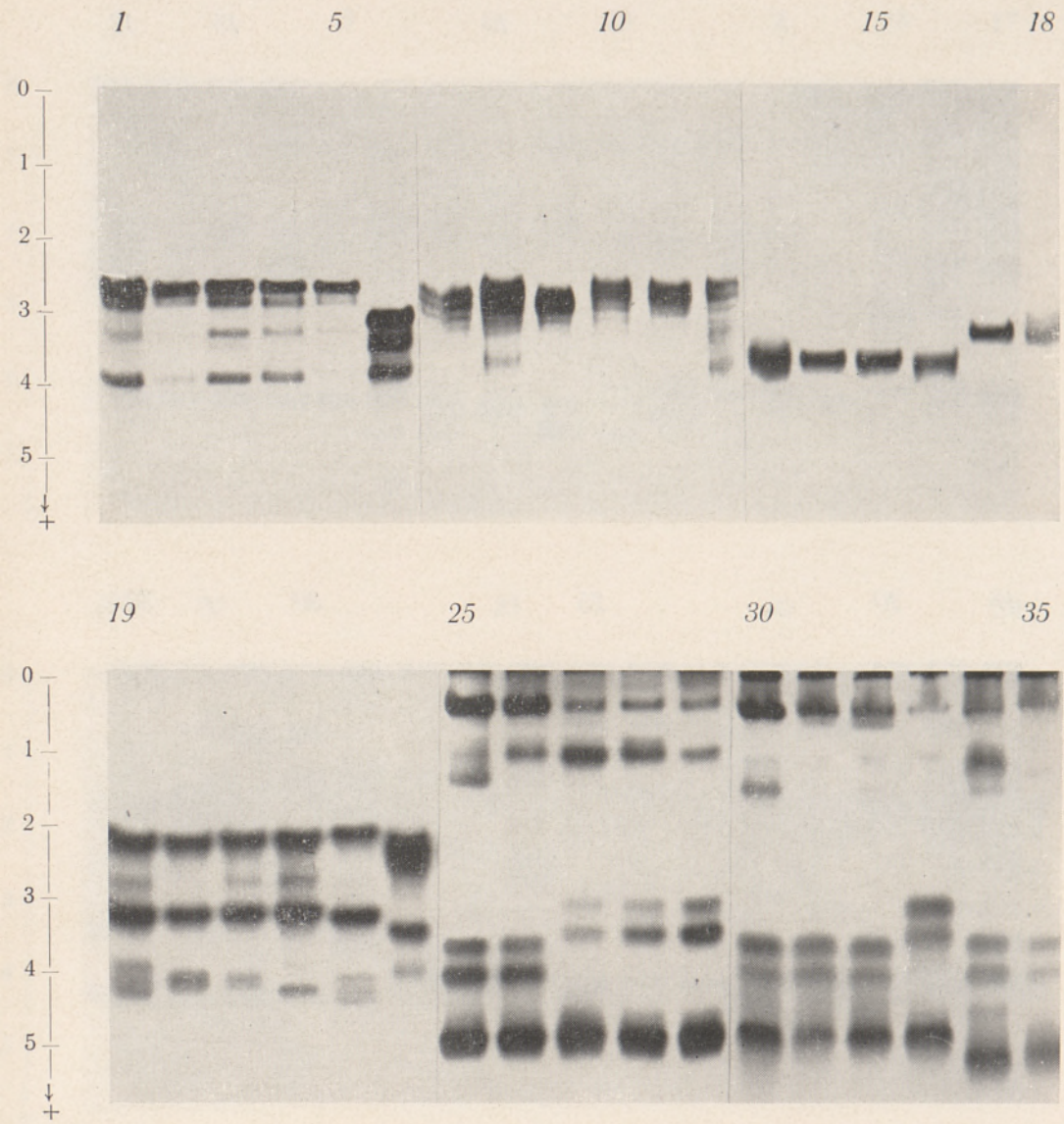


Рис. 4. Энзимограммы алкогольдегидрогеназы (*1—6*), дегидрогеназы глюкозо-6-фосфата (*7—12*), дегидрогеназы 6-фосфоглюконата (*13—18*), аминотрансферазы аспартата (*19—24*) и пероксидазы (*25—35*). *S. montanum* ssp. *anatolicum*, образец ПЯ-41/72 (*1*, *7*, *13*, *20*, *25—26*). *S. cereale* ssp. *ancestrale* var. *afghanicum*, образец ПЯ-2/71 (*2*, *8*, *14*, *21* и *31*). *S. cereale* ssp. *cereale* cv. 'Вамбо' (*3*, *9*, *15*, *22* и *32*). *S. sylvestre*, образцы ПЯ-13/70 (*10*, *16*, *19* и *27*), ПЯ-14/70 (*4* и *28*), ПЯ-15/70 (*29*) и РС-22/73 (*33*). *S. villosum*, образец ПЯ-37/72 (*5*, *11*, *17*, *23* и *34*). *S. vavilovii*, образец РВ-1150 (*30*). *Triticum boeoticum*, образец ПЯ-4/71 (*6*, *12*, *18* и *35*) и *T. dicoccoides*, образец РВ-5198 (*24*).

4 на рис. 2) широкую зону в диапазоне D_m 0,8—1,4. На энзимограммах стеблевой части с колеоптилем (*1* и *3*, рис. 2) эти изофосфатазы отсутствуют или малоактивны. Изофосфатазы B, C, Д и E в листьевой ткани менее активны, чем в стебле и колеоптиле, а иногда образование некоторых из них существенно подавлено. Например, изофосфатаза B имеет высокую активность в ткани колеоптиля (*1*, рис. 2), но малоактивна в листьевой ткани того же проростка (*2*, рис. 2).

В роде *Secale*, кроме сборного вида *S. cereale* s. l., различают еще два однолетних вида — *S. sylvestre* и *S. vavilovii*. Характерной отличительной чертой обоих являются самофертильность и склонность к аутогамии, тогда как *S. cereale* характеризуется самостерильностью и аллогамией.

В нашем распоряжении было только два репродукционных образца, полученные как *S. vavilovii*. Один образец, оригинал которого собран Х. Куккукком в Иране, оказался мономорфным относительно кислой фосфатазы. На энзимограммах (*5—8* на рис. 2) всех 19 изученных проростков этого образца обнаруживалась одна доминирующая по активности изофосфатаза с D_m около 2,1 и менее активные изофосфатазы с D_m около 2,4, 1,8 и 1,5. Кроме того, на энзимограммах видна широкая полоса нескольких слившихся вместе изофосфатаз в диапазоне D_m 0,8—1,3, характерная для листьевой ткани всех видов ржи. У образца РС-21/73 турецкого происхождения, полученного от Г. Стутца (США), обнаруживались фенотипы с разными относительными активностями изофосфатаз с D_m 2,1 и 1,8, по подвижности соответствующих некоторым электрофоретическим вариантам изофосфатаз C и B колеоптилей *S. cereale*.

Энзимограммы фосфатазы проростков другого самофертильного однолетника *S. sylvestre*, который морфологически четко отличается как от *S. vavilovii*, так и от *S. cereale* var. *afghanicum*, характеризовались (*9—13*, рис. 2) одной дискретной изофосфатазой с D_m около 2,1—2,2, несколькими малоактивными и едва заметными изоферментами и широкой зоной изофосфатаз листьевой ткани. Все пять изученных природных образцов *S. sylvestre*, охватывающих обширный ареал этого вида от Венгрии до Туркмении, имели одинаковые фенотипы кислой фосфатазы. Более того, все изученные образцы оказались мономорфными, не обнаруживая внутрипопуляционной изменчивости кислой фосфатазы.

Сравнение энзимограмм *5—13* на рис. 2 показывает, что *S. vavilovii* и *S. sylvestre* имеют электрофоретически несколько различающиеся варианты изофосфатазы C. Высокоактивные изофосфатазы D и E, встречающиеся в популяциях *S. cereale*, у *S. vavilovii* и *S. sylvestre*, как и у *S. montanum*, не обнаружены.

Энзимограммы кислой фосфатазы проростков *Secale villosum* L. (*14—17*, рис. 2) характеризуются наличием двух дискретных зон и широкой полосы изофосфатаз листьевой ткани. Для наиболее быстродвижущегося изофермента обнаружены два электрофоретических варианта, лишь незначительно отличающихся друг от друга по подвижности. В одной и той же популяции встречаются проростки с медленной изоформой при D_m 2,5 (*16*, рис. 2), с быстрой при D_m 2,6 (*15* и *17*, рис. 2) или с обеими изоформами (*14*, рис. 2). Это указывает на внутривидовой полиморфизм, который, видимо, обусловлен сегрегацией двух аллелей в одном локусе кислой фосфатазы. Изофермент кислой фосфатазы с D_m около 1,8 на энзимограммах окрашен менее интенсивно по сравнению с более подвижным и не выявляет внутривидовой изменчивости.

По энзимограмме кислой фосфатазы *S. villosum* четко отличается от остальных видов ржи. Все изученные образцы *S. villosum* различного

географического происхождения от Крыма до Югославии имели одинаковые энзимограммы кислой фосфатазы.

Доминирующие изофосфатазы колеоптилей диплоидной и тетраплоидной пшениц, как это показано и в нашей предыдущей статье (Jaaska, 1972), имеют более высокую электрофоретическую подвижность, чем основные изофосфатазы проростков ржи.

Эстераза молодых проростков многолетней ржи *S. montanum* выявляется на полиакриламидных энзимограммах (*18—34* на рис. 2) в виде множества молекулярных форм — изоэстераз, различающихся между собой по электрофоретической подвижности и относительной активности. На энзимограммах четко выявляется быстродвижущаяся эстераза с D_m в диапазоне 4,0—4,4, которую обозначим Est A^s. Эту эстеразу характеризует внутрипопуляционная индивидуальная изменчивость с электрофоретически отличающимися генетическими вариантами. Наиболее часто в популяциях многолетней ржи встречалась изоформа быстродвижущейся эстеразы с D_m около 4,4, которая обозначена Est A^{s1}. Во многих изученных популяциях обнаруживалась также несколько менее подвижная изоформа с D_m около 4,2 (*25*, рис. 2), которую обозначим Est A^{s2}. На энзимограммах некоторых проростков (*24*, рис. 2) имелась широкая полоса эстеразы А, состоящая из трех близкорасположенных изоэстераз, из которых крайние по подвижности соответствовали Est A^{s1} и Est A^{s2}.

В одной популяции (ПК-71/71) была найдена третья изоформа эстеразы А с D_m около 4,0 (*30*, рис. 2) — обозначена Est A^{s3}. В этой же популяции встречались и фенотипы с характерным триплетом быстродвижущихся изоэстераз, из которых крайние по подвижности соответствовали Est A^{s1} и Est A^{s3} (энзимограммы *28*, *31* и *34* на рис. 2).

Обнаруженный тип внутрипопуляционного полиморфизма трех изоформ быстродвижущейся эстеразы соответствует модели их генетического контроля тремя аллелями в одном локусе. Другими словами, изоэстеразы A^{s1}, A^{s2} и A^{s3} являются аллоэнзимами (аллозимами), структура которых детерминируется аллелями *Est* A^{s1}, *Est* A^{s2} и *Est* A^{s3} соответственно. В случае димерной структуры нативной молекулы фермента гетерозиготные по локусу фермента особи выявляют на энзимограммах триплеты последовательно расположенных изоферментов, из которых две крайние по подвижности соответствуют аллоэнзимам гомозигот, а средний является гибридным гетеродимером (см. Scandalios, 1969). Примерами триплетных фенотипов эстеразы А гетерозиготных проростков *Est* A^{s1}/*Est* A^{s3} являются энзимограммы *28*, *31* и *34* на рис. 2. Три последовательные изоэстеразы гетерозигот *Est* A^{s1}/*Est* A^{s2} не разделяются друг от друга на энзимограммах (*24*, рис. 2) из-за их близких подвижностей и поэтому сливаются в одну широкую зону активности.

Аллоэнзимов быстродвижущейся эстеразы А у многолетней ржи может быть больше, чем рассмотренные нами три, так как на многих энзимограммах наблюдались весьма небольшие сдвиги электрофоретической подвижности, которые трудно различимы при данном методе электрофореза.

В молодых 3—5-дневных проростках многолетней ржи на стадии колеоптиля присутствуют одна или две изоэстеразы, расположенные на энзимограммах (*18—23*, рис. 2) в диапазоне D_m 3,5—3,9. Эта эстераза, как показывает сравнение энзимограмм *18* и *19* на рис. 2, характерна только для ткани колеоптиля и отсутствует в ткани первичного листа и стебля. В колеоптиле более старых (8—12-дневных) проростков она становится менее активной или отсутствует.

Для этой эстеразы также обнаружен значительный внутрипопуляционный полиморфизм как минимум с тремя электрофоретически различи-

мыми вариантами — аллоэнзимами, которые сегрегировались в популяциях многолетней ржи независимо от эстеразы А. Поэтому эстераза, характерная для колеоптиля, контролируется отдельным локусом независимо от эстеразы А и обозначается нами как эстераза В. В отличие от эстеразы А у последней никогда не наблюдался триплетный фенотип и у гетерозиготных проростков на энзимограммах (*21*, рис. 2) присутствовали две изоэстеразы, которые электрофоретически соответствовали аллоэстеразам соответствующих гомозигот.

У серии менее подвижных изоэстераз наблюдалась внутривидовая изменчивость, которая, однако, труднее поддавалась учету из-за близкого расположения на энзимограммах зон многих изоэстераз и значительных сдвигов в их активности в ходе развития проростка. В листьевой ткани многих проростков наблюдалось образование и усиление в ходе роста активности новой эстеразы, имеющей даже бо́льшую электрофоретическую подвижность, чем эстераза А (*20—21* и *30* на рис. 2).

Популяции всех трех эко-географических подвидов многолетней ржи — ssp. *montanum*, ssp. *anatolicum* и ssp. *kuprijanovii* имели в принципе сходные энзимограммы эстеразы с одинаковым типом полиморфизма. Отдельные популяции несколько различались по степени полиморфизма. Некоторые аллоэстеразы обнаруживались только в отдельных популяциях, другие встречались во всех. Для проростков многолетней ржи характерна изоэстераза с D_m около 2,5, которая электрофоретически постоянна, но варьируется по относительной активности в зависимости от проростка и его возраста.

По энзимограммам *1—6* на рис. 3 можно сравнить эстеразы двух таксонов ломкоколосой ржи — многолетней *S. montanum* и однолетней *S. cereale* var. *afghanicum*. Для обоих таксонов характерно наличие множественных молекулярных форм эстеразы, выявляющих как индивидуальную, так и онтогенетическую изменчивость. У ломкоколосой однолетней ржи обнаруживается внутривидовой полиморфизм эстеразы А с теми же или электрофоретически сходными аллоэстеразами A^{s1} и A^{s2}, которые встречались и у многолетней ржи, что служит примером гомологической изменчивости одного и того же локуса у двух близкородственных видов. Аллоэстераза A^{s3}, которая была найдена в одной популяции многолетника, в изученных нами популяциях однолетника не обнаруживалась.

В листьевой ткани ломкоколосого однолетника наблюдается, как правило, образование дополнительной изоэстеразы, электрофоретическая подвижность которой, как видно по энзимограммам *7—11* на рис. 3, варьирует у отдельных проростков ржи в пределах значений D_m 4,5—4,9. Это свидетельствует о внутрипопуляционном полиморфизме специфической для листьевой ткани эстеразы, условно обозначенной как Est F. Отдельные популяции *S. cereale* var. *afghanicum* различались между собой по степени полиморфизма и встречаемости эстеразы F. В листьевой ткани некоторых проростков она не образуется (*10*, рис. 3). Не обнаружена она также в листе проростков изученного образца сорной ржи *S. cereale* var. *ancestrale*.

Такая же картина относительно образования эстеразы F в листе проростка была отмечена и у многолетней ржи: у некоторых проростков и образцов она обнаруживалась, у других — нет.

В листе проростков однолетней сорно-полевой ржи *S. cereale* ssp. *segetale* и культурной ssp. *cereale* эстераза F, как видно по энзимограммам *12—17* на рис. 3, не образуется или наблюдается лишь небольшая ее активность.

Характерной особенностью сорно-полевой и культурной ржи является отсутствие полиморфизма быстродвижущейся эстеразы А. Все изученные нами образцы сорно-полевой ржи и сорто-популяции культурной характеризовались электрофоретически идентичной эстеразой А, которая соответствовала одному из аллоэнзимов этой эстеразы у сорной ржи *S. cereale* var. *afghanicum*.

У культурной ржи (*14—17*, рис. 3), как и у других таксонов *S. cereale* s. l. (*3—13*, рис. 3), обнаруживается весьма значительная внутрипопуляционная индивидуальная изменчивость эстераз средней подвижности в диапазоне D_m 1,5—3,0. У трех подвидовых таксонов *S. cereale* s. l. наблюдается гомологическая изменчивость эстераз средней подвижности, что не позволяет их различить по энзимограммам эстеразы.

Из сравнения энзимограмм *18—21* на рис. 3 видно, что для ткани колеоптиля культурной ржи характерно наличие особой эстеразы В, активность которой в ткани стебля и первичного листа отсутствует или незначительна. Эстераза В обнаруживается в колеоптиле и остальных внутривидовых таксонов *S. cereale* s. l. и *S. montanum* s. l. Сорно-полевая и культурная рожь имеют электрофоретически идентичные эстеразы В и А без обнаружения внутрипопуляционного полиморфизма или различий между образцами разного географического происхождения, тогда как у сорной ржи наблюдается их полиморфизм. Существенный внутрипопуляционный полиморфизм этих эстераз наблюдается и у дикорастущей многолетней ржи *S. montanum*.

На энзимограммах (*22—28*, рис. 3) молодых проростков самофертильных однолетников *S. vavilovii* и *S. sylvestre* также выявляются эстеразы А и В. Электрофоретическая подвижность эстеразы А одинакова у иранского образца *S. vavilovii* и у *S. cereale*, тогда как у турецкого образца РС-21/73 и у *S. sylvestre* она немного меньше, чем у двух первых. Эстераза В по подвижности одинакова у всех трех видов. Все индивиды иранского образца *S. vavilovii* имели одинаковые энзимограммы эстеразы (*22*, *23*, рис. 3), которые, однако, отличались от энзимограмм турецкого образца (*24*, *25*, рис. 3) по подвижности некоторых изоэстераз. У последнего образца наблюдалась некоторая внутрипопуляционная изменчивость эстеразы, что сближает его с *S. cereale* var. *afghanicum*.

Обращает на себя внимание большое сходство энзимограмм эстеразы у образцов *S. sylvestre* разных точек ареала распространения. Энзимограммы эстеразы апшеронского и крымского образцов *S. sylvestre* (*27—28*, рис. 3) совершенно идентичны и лишь незначительно отличаются от энзимограммы венгерского образца (*26*, рис. 3). Особенностью образца с песчаных барханов пустыни вблизи Ашхабада в Туркмении было отсутствие в проростках эстеразы А и значительная активность вместо нее менее подвижной эстеразы В в ткани колеоптиля (*29*, рис. 3).

Внутрипопуляционный полиморфизм отсутствовал не только у быстродвижущихся эстераз А и В проростков *S. sylvestre*, но и у эстераз средней подвижности (D_m 1,5—3,0), которые обнаруживали значительную индивидуальную изменчивость у самостерильного перекрестника *S. cereale*.

Электрофоретическая подвижность эстеразы А проростков *S. villosum* (энзимограммы *30—32*, рис. 3) была выше таковой у всех остальных видов ржи и соответствовала подвижности эстеразы А диплоидной пшеницы *T. boeoticum* (*33*, рис. 3). Все изученные образцы *S. villosum* из Крыма и Югославии имели электрофоретически идентичную эстеразу А, тогда как в группе изоэстераз средней подвижности с D_m в диапазоне 1,5—3,0 наблюдался значительный внутрипопуляционный полиморфизм.

Другие ферменты. Алкогольдегидрогеназа (АДГ) зародышей или проростков ржи и диплоидной пшеницы, проращенных в течение 24—48 *ч* аэробно и затем 24 *ч* под водой в условиях частичного анаэробиоза, выявляется на энзимограммах (*1—6*, рис. 4) в виде ряда последовательно расположенных зон. Результаты показывают, что все виды ржи, включая *S. villosum*, имеют электрофоретически сходные изоформы АДГ. Проращенные семена диплоидной пшеницы имеют изоформы АДГ (*6*, рис. 4), электрофоретическая подвижность которых отличается от таковой у видов ржи. Высокая активность АДГ обнаруживается в меристематических тканях зародыша и молодого проростка и быстро убывает по мере его роста.

Глютаматдегидрогеназа (ГДГ) зародышей проращенных семян ржи и диплоидной пшеницы выявляется на энзимограммах в виде двух изоформ. По активности, как правило, доминирует медленнодвижущаяся изоформа, электрофоретическая подвижность которой одинакова у всех видов ржи и у диплоидной пшеницы.

Быстродвижущаяся изоформа ГДГ электрофоретически соответствует АДГ и подобно ей выявляется на энзимограммах зародыша и молодого проростка.

Дегидрогеназа глюкозо-6-фосфата молодых 3—4-дневных проростков выявляется на энзимограммах (*7—12*, рис. 4) в виде серии близкорасположенных изоформ, имеющих приблизительно сходные подвижности у всех видов ржи, а также у диплоидной пшеницы.

Дегидрогеназа 6-фосфоглюконата обнаруживает на энзимограммах (*13—18*, рис. 4) одну зону активности. Все виды ржи за исключением *S. villosum* имели электрофоретически одинаковую дегидрогеназу 6-фосфоглюконата. У *S. villosum* и *T. boeoticum* этот фермент также имеет одинаковую электрофоретическую подвижность, однако меньшую, чем у видов ржи.

Аминотрансфераза аспартата этиолированных проростков ржи и диплоидной пшеницы выявляется на энзимограммах (*19—24*, рис. 4) в виде нескольких молекулярных форм с различной электрофоретической подвижностью и относительной активностью. По активности доминируют две изоформы с D_m около 2,3 и 3,3, которые электрофоретически постоянны и сходны у всех видов ржи за исключением небольшого сдвига в их подвижности у *S. villosum*. Доминирующие изоформы аминотрансферазы проростков тетраплоидной пшеницы имеют бо́льшую электрофоретическую подвижность, чем у видов ржи, причем широкая зона активности на энзимограмме (*24*, рис. 4) в диапазоне D_m 2,2—2,8 состоит из трех близкорасположенных изоформ. Кроме того, на энзимограммах аминотрансферазы аспартата видны 1—3 быстродвижущиеся изоформы (D_m 4,0—4,5), обнаруживающих у некоторых видов ржи внутривидовую изменчивость.

Энзимограммы пероксидазы (*25—35*, рис. 4) выявляют у всех видов ржи за исключением *S. sylvestre* и у диплоидной пшеницы электрофоретически сходный дублет изопероксидаз с D_m 3,7 и 4,1. У всех изученных образцов *S. sylvestre* из разных точек его ареала этот дублет изопероксидаз сдвинут в сторону меньшей электрофоретической подвижности.

Все виды ржи, кроме *S. villosum*, имеют электрофоретически одинаковую изопероксидазу с D_m около 5,0. Эта изопероксидаза у *S. villosum* и *T. boeoticum* имеет одинаковую подвижность, которая, однако, выше (D_m 5,2), чем у видов ржи.

У *S. montanum* s. l. и *S. cereale* s. l. обнаружен внутрипопуляционный полиморфизм изопероксидаз с D_m 0,5—1,5.

Обсуждение

Эволюционная изменчивость ферментов. Полученные результаты выявляют существенные различия в степени эволюционной изменчивости отдельных ферментов и даже отдельных изоферментов одного фермента в пределах рода *Secale* L. и субтрибы *Triticinae* Trin. Это служит примером мозаичной эволюции отдельных ферментов и контролирующих их структуру генов. Эволюционно наиболее консервативными среди изученных ферментов являются медленнодвижущийся изофермент глютаматдегидрогеназы, дегидрогеназа глюкозо-6-фосфата, некоторые изоферменты пероксидазы, а также изученная ранее (Jaaska, 1972) малатдегидрогеназа, которые были электрофоретически одинаковы для видов ржи и пшеницы. Другими словами, многие цистроны белков не подвергались эволюционной дивергенции в пределах субтрибы *Triticinae*, и геномы видов субтрибы содержат ряд эволюционно консервативных локусов со сходной нуклеотидной структурой. О высокой степени гомологии нуклеотидных последовательностей геномов ржи и пшеницы свидетельствуют также результаты молекулярной гибридизации ДНК этих видов (Bendich, McCarthy, 1970).

В отличие от перечисленных эволюционно консервативных ферментов некоторые другие ферменты или изоферменты выявляют дивергенцию между видами в пределах субтрибы или даже значительный внутривидовой полиморфизм. Такие ферменты подходят для уточнения филогенетических взаимоотношений между таксонами в пределах субтрибы и рода. Наибольшую изменчивость состава множественных молекулярных форм выявили два фермента — кислая фосфатаза и эстераза, которые были подвергнуты более детальному изучению.

При рассмотрении полученных данных обращает на себя внимание явная корреляция между степенью внутривидового полиморфизма и способом полового размножения вида. У перекрестноопыляющихся самостерильных видов ржи *S. montanum* s. l. и *S. cereale* s. l. наблюдается значительный внутрипопуляционный полиморфизм эстеразы и кислой фосфатазы. В отличие от этого популяции самофертильных видов *S. sylvestre* и *S. vavilovii* оказались, как правило, мономорфными относительно изоферментных признаков и не выявляли их генетического полиморфизма. Подобная же корреляция между внутрипопуляционным полиморфизмом ферментов и способом размножения была ранее отмечена также для видов пшеницы и эгилопса (Яаска, 1974) и других высших растений (Solbrig, 1972).

В некоторых случаях обнаруживалась гомологическая изменчивость или гомология внутривидового полиморфизма изоферментов у родственных видов ржи. Так, электрофоретически сходные изоферменты и аллоэнзимы кислой фосфатазы и эстеразы А и В были обнаружены у многолетней ржи *S. montanum* и однолетней *S. cereale* var. *afghanicum*. Это показывает, что гомологическая изменчивость, подробно изученная Н. Вавиловым (Vavilov, 1922) на примере макроморфологических и биологических признаков, распространяется и на молекулярно-генетический уровень интеграции живого.

Проблемы филогенеза. Среди изученных видов ржи в линнеевском широком понимании рода генетически наиболее обособленным является *Secale villosum* L. По электрофоретической подвижности дегидрогеназы 6-фосфоглюконата, эстеразы А и быстродвижущейся изопероксидазы этот вид оказался сходным с диплоидной пшеницей и отличным от других видов ржи. Изоформы алкогольдегидрогеназы, кислой фосфатазы

и аминотрансферазы аспартата у *S. villosum*, напротив, идентичны или более сходны с таковыми у видов ржи и отличаются от соответствующих ферментов пшеницы. *S. villosum*, таким образом, является как бы генетически промежуточным между родами *Secale* L. s. str. и *Triticum* L. s. str.

Эти данные могут служить некоторым молекулярно-генетическим свидетельством в пользу взглядов ряда после-линнеевских систематиков, которые предлагали выделить *S. villosum* в особый род в рамках субтрибы *Triticinae*. Долгое время этот вид был принят и известен как гайнальдия — *Haynaldia villosa* (L.) Schur. Это название, однако, не соответствует требованиям кодекса ботанической номенклатуры (см. Bor, 1970). В случае выделения *S. villosum* в особый род валидной номенклатурной комбинацией следует считать (Цвелев, 1968) название *Dasypyrum villosum* (L.) Borb., основанное на секции рода *Triticum* L., *Dasypyrum* Coss. et Dur.

По электрофоретическим свойствам ферментов все виды ржи выявляют большое генетическое родство и составляют филогенетически единую группу. Так, дегидрогеназа 6-фосфоглюконата, алкогольдегидрогеназа и два доминирующих изофермента аминотрансферазы аспартата электрофоретически сходны у всех видов *Secale* L. s. str. и отличаются от соответствующих ферментов у пшеницы.

Энзимограммы некоторых ферментов — пероксидазы, эстеразы и кислой фосфатазы позволяют судить о филогенетической дивергенции между отдельными видами и внутривидовыми таксонами ржи. Генетически единую группу с гомологическим полиморфизмом изоэстераз и изофосфатаз составляют таксоны многолетней ржи. Из цитогенетических исследований известно (Khush, 1962; Nürnberg-Krüger, 1960; Stutz, 1957), что таксоны многолетней ржи *anatolicum*, *kuprijanovii*, *montanum*, *ciliatoglume* и *dalmaticum* дают в скрещиваниях между собой вполне фертильные гибриды с нормальным течением мейоза. Поэтому их следует рассматривать в составе одного политипического биологического вида *S. montanum* Guss. s. l.

Вторую генетически единую группу составляют культурная, сорно-полевая и ломкоколосая сорная рожь, в популяциях которых наблюдается гомологическая изменчивость одних и тех же изофосфатаз. Эти данные согласуются с высказанным Н. Вавиловым (1917, 1926, 1939) и другими исследователями (Khush, 1962, 1963a; и др.) взглядом о большом генетическом родстве культурной, сорно-полевой и сорной ржи. По изоферментным признакам оказалось невозможным отличить друг от друга культурную и сорно-полевую рожь, а ломкоколосая сорная рожь отличалась от двух первых лишь по наличию внутрипопуляционного полиморфизма эстераз A, B и F, которые у двух первых были мономорфными. Это говорит о бóльшей генетической изменчивости некоторых локусов у сорной ржи по сравнению с сорно-полевой и культурной рожью.

Из цитогенетических исследований известно (Khush, 1963a, Kostoff, 1937; Nürnberg-Krüger, 1960 и др.), что все таксоны перекрестноопыляющейся самостерильной однолетней ржи, которые в монографии Р. Рожевица (1947) рассматривались в ранге линнеонов (*cereale*, *segetale*, *ancestrale*, *afghanicum* и *dighoricum*), имеют одинаковую хромосомную конфигурацию и в скрещиваниях между собой дают фертильные гибриды с нормальным мейозом. Это дает основание считать их внутривидовыми таксонами одного биологического вида *S. cereale* L. s. l. Г. Кхуш в своих работах по цитогенетике ржи предлагает (Khush, 1962, 1963a) рассматривать все пять перечисленных таксонов подвидами *S. cereale*, но не приводит требуемых номенклатурных комбинаций с цитатами.

В настоящей работе отдается предпочтение более ранней системе вида *S. cereale*, предложенной П. Жуковским (1928), с тремя подвидами, соответствующими ломкоколосой сорной, неломкой сорно-полевой и культурной ржи. Признак ломкости колосового стержня имеет эволюционное значение, так как определяет способ распространения семян, и поэтому вполне может служить в качестве диагностического признака в филогенетической системе. При этом, однако, все три эко-географические формы ломкоколосой сорной ржи объединяются в состав одного подвида ssp. *ancestrale* Zhuk. в ранге ботанических разновидностей — var. *afghanicum* Vav., var. *dighoricum* (Vav.) Jaaska comb. nov. и var. *ancestrale*. Выделение сорно-полевой ржи в ранге самостоятельного подвида *S. cereale* ssp. *segetale* и таксономическое различение ее от культурной ржи *S. cereale* ssp. *cereale* следует считать условным.

Наиболее древним видом ржи большинство исследователей считает (Вавилов, 1926; Рожевиц, 1947; Nürnberg-Krüger, 1960a и др.) многолетнюю перекрестноопыляющуюся рожь *S. montanum* s. l., из которой произошли все современные виды ржи. Наибольшие споры до сих пор вызывает проблема о механизмах и эволюционном пути образования *S. cereale* из *S. montanum*. Из цитогенетических исследований известно (Khush, Stebbins, 1961; Nürnberg-Krüger, 1960a; Riley, 1955; Schiemann, Nürnberg-Krüger, 1952; Stutz, 1957), что *S. cereale* s. l. отличается от *S. montanum* s. l. двумя реципрокными транслокациями сегментов трех хромосом. Это указывает на то, что *S. cereale* не может происходить непосредственно от *S. montanum*. Эволюционный путь от *S. montanum* к *S. cereale* должен был протекать по крайней мере в два этапа, соответствующих фиксациям на популяционном уровне двух хромосомных транслокаций. Поскольку все современные внутривидовые таксоны *S. cereale* характеризуются, как правило, одинаковой доминирующей хромосомной конфигурацией (Khush, 1962, 1963a), то их дивергенция произошла, видимо, уже после фиксации второй хромосомной транслокации.

Эволюционная фиксация хромосомной транслокации в популяциях аллогамных видов, в том числе у самостерильных перекрестноопылителей *S. montanum* и *S. cereale*, возможна лишь в определенных условиях. Это обусловлено тем, что новые транслокации после их возникновения в популяции у единичных индивидов неизбежно должны находиться в течение определенного числа поколений в виде гетерозигот. Поэтому фиксация новой транслокации у аллогамного вида возможна лишь в случае значительного адаптационного преимущества транслокационных гетерозигот. Последние, однако, как показало (Stutz, 1972 и др.) их изучение в гибридной популяции *S. montanum*×*S. cereale*, имеют сильно пониженную фертильность и не обладают никакими адаптационными преимуществами.

С другой стороны, новая хромосомная транслокация у аутогамного вида легко переходит в гомозиготное состояние и фиксируется в популяции естественным отбором, если она в гомозиготном состоянии дает некоторое адаптивное преимущество к определенным условиям среды. Поэтому следует считать вполне возможной фиксацию новой хромосомной транслокации в какой-то малочисленной локальной популяции *S. montanum* с вынужденным самоопылением из-за уменьшения числа растений в ней. В такой популяции новая транслокация может фиксироваться в гомозиготном состоянии с образованием самофертильного нео-вида. Такой механизм видообразования предлагается (Lewis, 1973) для рода *Clarkia*, в котором, как и в роде *Secale*, виды дифференцированы по хромосомным перестройкам и способу размножения.

На основе таких соображений Г. Стутцем (Stutz, 1957) было высказано предположение, что первой ступенью и переходным звеном на пути к возникновению *S. cereale* является самофертильный однолетник *S. sylvestre*. В последней своей работе Г. Стутц (Stutz, 1972) дополняет свою схему филогенеза ржи, предполагая участие в происхождении *S. cereale* кроме *S. sylvestre* на втором этапе еще другого самофертильного однолетника *S. vavilovii*, из которой *S. cereale* возник в результате интрогрессивной гибридизации с *S. montanum*.

По электрофоретическим свойствам изоформ кислой фосфатазы и эстеразы самофертильные виды *S. africanum*, *S. vavilovii* и *S. sylvestre* обнаруживают большое сходство с *S. montanum*, что говорит об их близком филогенетическом родстве. Самофертильные виды ржи характеризуются, как правило, внутрипопуляционным мономорфизмом изоферментов, полиморфных у перекрестноопыляющегося многолетника *S. montanum*. Исключение составляет образец PC-21/73 с горы Арарат, который обнаруживает внутрипопуляционный полиморфизм с теми же изоферментами, которые встречаются у *S. montanum*. Этот образец под названием *S. vavilovii* получен от Г. Стутца, который сообщает (Stutz, 1972), что на склонах горы Арарат наблюдается интрогрессивная гибридизация *S. montanum* с *S. vavilovii* в условиях роста в единой природной популяции. По внешнеморфологическим диагностическим признакам образец PC-21/73 не отличается от *S. cereale* var. *afghanicum* (личное сообщение В. Кобылянского, ВИР) и имеет одинаковую с ним хромосомную конфигурацию (Stutz, 1972).

Несмотря на сходство по многим изоферментам, *S. sylvestre* отличается не только от *S. montanum*, но и от всех остальных видов ржи по электрофоретической подвижности дублета изопероксидаз средней подвижности (энзимограммы *31—36*, рис. 4). Этот сдвиг в подвижности дублета изопероксидаз был обнаружен у всех пяти изученных образцов *S. sylvestre* из разных точек ареала и является, таким образом, характерным молекулярно-генетическим признаком этого вида. Энзимограммы пероксидазы всех образцов *S. sylvestre* были качественно совершенно одинаковыми, не обнаруживая наличия ни внутрипопуляционного полиморфизма, ни внутривидовой дивергенции этого фермента.

Мутация локуса, контролирующего дублет изопероксидаз средней подвижности, видимо, является очень редкой, так как все другие виды ржи и родственные виды субтрибы, как это видно из результатов, имеют электрофоретически одинаковый дублет изопероксидаз, отличный от соответствующего дублета у *S. sylvestre*.

Эти результаты говорят против участия *S. sylvestre* в качестве промежуточной стадии на пути происхождения *S. cereale* от *S. montanum*. Вид *S. sylvestre*, видимо, является боковой ветвью эволюционной дивергенции *S. montanum* и не связан с филогенезом других современных видов ржи.

S. sylvestre отчетливо обособлен от остальных видов ржи генетически, внешнеморфологически и экологически, что послужило поводом для выделения (Рожевиц, 1947) его в особую секцию рода ржи — в ряд *Silvestria* Roshev. Цитогенетические исследования, однако, показали, что *S. sylvestre*, несмотря на плохую скрещиваемость и низкую фертильность гибридов с *S. montanum*, имеет с ним одинаковую хромосомную конфигурацию (Nürnberg-Krüger, 1960b, Stutz, 1972) или отличается лишь одной малой транслокацией (Khush, 1962). Это указывает на несомненное филогенетическое родство *S. sylvestre* с *S. montanum*, что нашло отражение в системе Э. Шиманна (Schiemann, 1948) для рода ржи, в которой *S. sylvestre*, *S. africanum* и *S. montanum* объединены в

секцию *Agrestes* Schiem., а виды *S. cereale* и *S. ancestrale* — в секцию *Cerealia* Schiem.

Имеющиеся данные о внутривидовом мономорфизме изоферментных признаков *S. sylvestre* позволяют предположить, что этот самофертильный однолетник обособился монотопно из какой-то малочисленной локальной популяции *S. montanum* в результате фиксации одной малой транслокации и накопления ряда генных мутаций, приведших к изменению биологических и морфологических признаков и к развитию приспособленности к жизни на литоральных песках. Высказано мнение (Рожевиц, 1947), что *S. sylvestre* обособился от *S. montanum* в миоценовой эпохе третичного периода в ходе геологического разобщения бассейна древнего океана Тетиса на Сарматское и Средиземное моря, что привело к изменению экологической обстановки в восточно-средиземноморской флористической области. Расширение ареала нового вида происходило, по-видимому, после его формирования в какой-то исходной популяции и стабилизации генома, о чем свидетельствует обнаруженное нами большое постоянство изоферментных признаков в популяциях из разных районов большого ареала современного распространения *S. sylvestre*. Нами обнаружено лишь одно четкое внутривидовое изменение изоферментного признака — отсутствие эстеразы А и компенсирующее увеличение активности эстеразы В в проростках из локальной популяции *S. sylvestre* близ Ашхабада, что не наблюдалось в других изученных популяциях. Отсутствие внутрипопуляционного полиморфизма ферментов и редкость случаев их внутривидовой дивергенции говорит о большой стабильности генома *S. sylvestre* со времен формирования этого вида

Предположение о том, что *S. vavilovii* мог служить связующим промежуточным звеном между *S. cereale* и *S. montanum*, было высказано еще А. Гроссгеймом (1924), который впервые обнаружил и описал этот вид. Цитогенетические исследования показали (Khush, 1962), что самофертильный образец *S. vavilovii* отличается от *S. montanum* одной большой транслокацией и по этому признаку уже стоит как бы на полпути между *S. montanum* и *S. cereale*. Это говорит в принципе о возможности фиксации у *S. vavilovii* и второй хромосомной транслокации. Одинаковая с *S. cereale* хромосомная конфигурация была обнаружена у генетически низкорослого образца однолетней ржи типа *S. vavilovii* из Армении (Khush, 1963а) и у образца PC-21/73 с горы Арарат (Stutz, 1972).

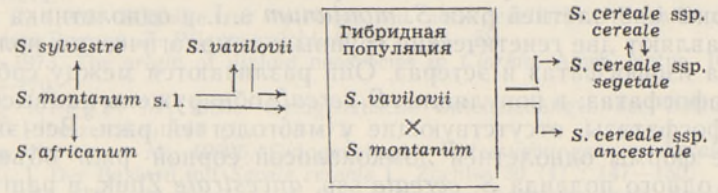
Таким образом, среди известных современных самофертильных однолетних видов ржи, цитогенетически и молекулярно-генетически наиболее подходящим в качестве промежуточного звена между *S. montanum* и *S. cereale* следует считать *S. vavilovii*.

В настоящей работе установлено, что *S. montanum* s. l. и *S. cereale* s. l. различаются между собой по составу изофосфатаз: в популяциях последнего вида обнаружены две высокоактивные изофосфатазы D и E, отсутствующие у многолетней ржи. Это свидетельствует об увеличении объема генетической информации и об ее качественном изменении у *S. cereale*. Это могло случиться в результате дупликации сегмента хромосомы с локусом фосфатазы и последующей генетической дивергенции дуплицированных локусов.

Имеющиеся данные (Gopinath, Burnham, 1956; Hagberg, 1962) говорят о том, что дупликации и делеции участков хромосом наблюдаются при гибридизации форм с транслокациями различной длины на одной и той же хромосоме. Такого рода различия в длине транслоцированных сегментов обнаружены (Jüttersonke, Nürnberg, 1972) у гибридов *S. vavi-*

lovii с *S. montanum*, что указывает на принципиальную возможность возникновения дупликаций при интрогрессивной гибридизации между этими видами.

Н. Вавилов (1926, 1939) был склонен принимать найденные им в Афганистане и Северной Осетии формы ломкоколосой сорной ржи как промежуточную ступень на пути формирования сорно-полевой и культурной ржи. Эта гипотеза, однако, не объясняет, почему до сих пор еще никому не удалось зарегистрировать исчезновение признака ломкости колосового стержня у сорной ржи в условиях культуры (Жуковский, 1971). П. Жуковский (1971) отмечает, что известны случаи, когда при скрещивании двух ломкоколосых видов в потомстве возникают и формы с неломким стержнем колоса. Поэтому представляется возможным образование гибридной популяции *S. vavilovii* × *S. montanum*, в которой происходит расщепление форм с разной ломкостью колосового стержня. В такой популяции естественный отбор будет способствовать сохранению и распространению форм с ломким колосовым стержнем, что приводит к формированию *S. cereale* ssp. *ancestrale*. С другой стороны, искусственный отбор древнего земледельца из такой гибридной популяции мог привести к сохранению форм с малоломким и неломким колосовым стержнем и к формированию *S. cereale* ssp. *segetale*, из которой в результате дальнейшего искусственного отбора возникла современная культурная рожь *S. cereale* ssp. *cereale*.



Подводя итог сказанному, предлагаем схему филогенетических взаимоотношений в роде ржи, согласно которой наиболее архаичным видом в роде ржи принимается многолетняя перекрестноопыляющаяся *S. montanum* s. l. Из разных локальных популяций этого вида путем хромосомных транслокаций и накопления генных мутаций дивергировались три самофертильных вида: многолетний южно-африканский эндем *S. africanum* и однолетники *S. sylvestre* и *S. vavilovii*. Однолетняя самостерильная рожь *S. cereale* s. l. возникла, согласно гипотезе Г. Стутца (Stutz, 1972), в результате интрогрессивной гибридизации между *S. vavilovii* и *S. montanum*, что привело к фиксации второй большой хромосомной транслокации с дупликацией.

Предложенная схема отличается от схемы М. Нюрнберг-Крюгера (Nürnberg-Krüger, 1960a) тем, что однолетняя аутогамная рожь типа *S. vavilovii* рассматривается нами не как боковая эволюционная ветвь, а как связывающее звено между *S. montanum* и *S. cereale*. От схемы Г. Стутца (Stutz, 1972) наша схема отличается прежде всего тем, что *S. sylvestre* рассматривается нами как боковая ветвь эволюционной дивергенции от многолетней ржи, не связанная с происхождением *S. vavilovii* и *S. cereale*. Важное значение для дальнейшего познания происхождения таксонов *S. cereale* s. l. имеет более подробное изучение самофертильного однолетника *S. vavilovii* и его гибридных полуляций с *S. montanum*, о которых в настоящее время еще нет достаточно сведений.

Выводы

Методом электрофореза в полиакриламидном геле изучались кислая фосфатаза, арилэстераза, пероксидаза, аспартат-аминотрансфераза, глютаматдегидрогеназа, алкогольдегидрогеназа, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа и 6-фосфоглюконатдегидрогеназа молодых проростков *S. cereale* L. s. l., *S. vavilovii* Grossh., *S. sylvestre* Host, *S. montanum* Guss. s. l., *S. africanum* Stapf, *Dasypyrum villosum* (L.) Borb., *Triticum boeoticum* Boiss. и *Triticum dicoccoides* (Koern.) Aaronsohn.

Изученные ферменты и отдельные изоферменты различались между собой по степени эволюционной изменчивости. Некоторые из них оказались неизменчивыми в пределах всей субтрибы, другие выявили межвидовую или внутривидовую дивергенцию, а отдельные даже внутрипопуляционный полиморфизм. У перекрестноопыляющихся видов ржи *S. montanum* s. l. и *S. cereale* s. l. обнаружен значительный внутрипопуляционный полиморфизм эстеразы, кислой фосфатазы и пероксидазы, которые, как правило, оказались мономорфными в популяциях самофертильных видов *S. sylvestre*, *S. vavilovii* и *S. africanum*.

Dasypyrum villosum (L.) Borb. (=*Secale villosum* L.) по одним ферментам сходен с видами ржи, а по другим — с пшеницей. *S. sylvestre* отличается от других видов ржи и всей субтрибы сдвигом электрофоретической подвижности дублета изопероксидаз.

Таксоны многолетней ржи *S. montanum* s. l. и однолетника *S. cereale* s. l. составляют две генетические группы с гомологическим полиморфизмом ряда изофосфатаз и эстераз. Они различаются между собой по составу изофосфатаз: в популяциях *S. cereale* обнаружены две высокоактивные изофосфатазы, отсутствующие у многолетней ржи. Все эко-географические формы однолетней ломкоколосой сорной ржи объединяются в состав одного подвида *S. cereale* ssp. *ancestrale* Zhuk. в ранге ботанических разновидностей.

ЛИТЕРАТУРА

Антропов В. И., Антропова В. Ф., 1929. Рожь СССР и сопредельных стран. Тр. по прикл. бот., генет. и сел. Приложение 36-е : 1—330.

Вавилов Н., 1917. О происхождении культурной ржи. Тр. Бюро по прикл. бот. **10** (7—10) : 561—590.

Вавилов Н., 1926. Центры происхождения культурных растений. Тр. по прикл. бот. и сел. **16** (2) : 1—138.

Вавилов Н. И., 1939. Новое звено в эволюции культурной ржи. В сб.: Президенту АН СССР акад. В. Л. Комарову : 167—173.

Гроссгейм А. А., 1924. Новая раса дикой горной ржи из Закавказья. Тр. по прикл. бот. и сел. **13** (2) : 461—482.

Жуковский П. М., 1928. Дикорастущая новая форма ржи из Анатолии и предварительные критические заметки о виде *Secale cereale* L. Тр. по прикл. бот., генет. и сел. **19** (2) : 49—58.

Жуковский П. М., 1971. Культурные растения и их сородичи. Л. : 130—139.

Иванов А. П., Дорофеев В. Ф., 1964. К анализу состава популяций пшеницы и сорно-полевой ржи в Азербайджанской ССР. Тр. по прикл. бот., генет. и сел. 36 (1) : 119—126.

Иванов А. П., Яковлев Г. В., 1971. К вопросу систематики рода ржи (*Secale* L.). Тр. по прикл. бот., генет. и сел. **44** (1) : 3—38.

Кобылянский В. Д., 1968. Рожь. Тр. по прикл. бот., генет. и сел. **39** (1) : 80—91.

Рожевиц Р. Ю., 1947. Монография дикорастущих и сорно-полевых видов ржи — *Secale* L. Тр. Бот. ин-та им. В. Л. Комарова. Сер. I (6) : 105—163.

Цвелев Н. Н., 1970. Список растений гербария флоры СССР. Л., **18** (99) : 4—33.

Цвелев Н. Н., 1973. Обзор видов трибы *Triticeae* Dum. семейства злаков (*Poaceae*) во флоре СССР. Новости систем. высш. раст. **10** . 19—59.

Яаска Велло, 1974. Происхождение тетраплоидных пшениц по данным электрофоретического изучения ферментов. Изв. АН ЭССР. Биол. **23** (3) : 201—220.

Яаска Вильве, Яаска Велло, 1973. Регуляция мультимолекулярных систем ферментов при прорастании тетраплоидных пшениц. Изв. АН ЭССР. Биол. **22** (3) : 233—243.
Bendich A. J., McCarthy B. J., 1970. DNA comparisons among some biotypes of wheat. Genetics **65** (4) : 567—573.
Bor N. L., 1970. Haynaldia. In: Flora Iranica. Hrsg. K. H. Rechinger. Akad. Druck- und Verlagsanstalt, Graz-Austria (70) : 212—213.
Gopinath D. M., Burnham C. R., 1956. A cytogenetic study in maize of deficiency-duplication produced by crossing interchanges involving the same chromosomes. Genetics **41** : 382—395.
Hagberg A., 1962. Production of a duplication of a segment in the short arm of chromosome 6 in barley. Hereditas **48** : 243—246.
Jaaska Vello, 1972. Electrophoretic enzyme studies in the genus *Secale* L. ENSV TA Toim., Biol. **21** (1) : 61—70.
Jüttersonke B., Nürnberg U., 1972. Das Verhalten polygen bedingter Merkmale in Beziehung zur Chromosomenstruktur in den Nachkommenschaften translokations-heterozygoter Artbastarde bei *Secale*. Biol. Zbl. **91** (3) : 285—310.
Khush G. S., 1962. Cytogenetic and evolutionary studies in *Secale*. II. Interrelationships of wild species. Evolution **16** (4): 484—496.
Khush G. S., 1963a. Cytogenetic and evolutionary studies in *Secale*. III. Cytogenetics of weedy ryes and origin of cultivated rye. Econ. Bot. **17** (1) : 60—71.
Khush G. S., 1963б. Cytogenetic and evolutionary studies in *Secale*. IV. *Secale vavilovii* and its biosystematic status. Z. Pflanzenzücht. **50** (1) : 34—43.
Khush G. S., Stebbins E. L., 1961. Cytogenetic and evolutionary studies in *Secale*. I. Some new data on the ancestry of *S. cereale*. Amer. J. Bot. **48** (8) : 723—730.
Kostoff D., 1937. Interspecific hybrids in *Secale* (rye). I. *Secale cereale* × *Secale ancestrale*, *Secale cereale* × *S. vavilovii*, *Secale cereale* × *Secale montanum* and *Secale ancestrale* × *Secale vavilovii* hybrids. C. R. Acad. Sci. URSS **14** (4) : 213—214.
Kranz A. R., 1963. Beiträge zur cytologischen und genetischen Evolutionsforschung an dem Roggen. Z. Pflanzenzücht. **50** (1) : 44—58.
Lewis H., 1973. The origin of diploid neospecies in *Clarkia*. Amer. Natur. **107** (954) : 161—170.
Nürnberg-Krüger M., 1960a. Cytogenetische Untersuchungen der Gattung *Secale* L. Z. Pflanzenzücht. **44** (1) : 63—72.
Nürnberg-Krüger M., 1960б. Cytogenetische Untersuchungen an *Secale silvestre* Host. I. Der Bastard mit *Secale cereale* L. Züchter **30** (4) : 147—150.
Riley R., 1955. The cytogenetics of the differences between some *Secale* species. J. Agric. Sci. **46** (3) : 377—383.
Rozmus M., 1967. Phylogenetic associations within the genus *Secale* L. in the light of cytological investigations. Genetica Polon. **8** (3—4) : 189—192.
Scandalios J. G., 1969. Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants: a review. Biochem. Genet. **3** (1) : 37—80.
Schiemann E., 1948. Weizen, Roggen, Gerste. Systematik, Geschichte und Verwendung. Fischer, Jena, 102 S.
Schiemann E., Nürnberg-Krüger U., 1952. Neue Untersuchungen an *Secale africanum* und seine Bastarde mit *Secale montanum* und *Secale cereale*. Naturwissenschaften **39** : 136—137.
Solbrig O. T., 1972. Breeding system and genetic variation in *Leavenworthia*. Evolution **26** (1) : 155—160.
Stutz H. C., 1957. A cytogenetic analysis of the hybrid *Secale cereale* L. × *Secale montanum* Guss. and its progeny. Genetics **42** (3) : 200—221.
Stutz H. C., 1972. On the origin of cultivated rye. Amer. J. Bot. **59** (1) : 59—70.
Vavilov N. I., 1922. The law of homologous series in variation. J. Genetics **12** (1) : 47—90.

Институт зоологии и ботаники
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
20/V 1974

Vello JAASKA

ENSÜÜMIDE EVOLUTSIOONILINE VARIEERUVUS JA FÜLOGENEETILISED SEOSED PEREKONNAS *SECALE* L.

Resümee

Polüakrüülamiidgeelelektroforeetiliselt uuriti *S. cereale* s. l., *S. vavilovii* Grossh., *S. sylvestre* Host, *S. montanum* Guss. s. l., *S. africanum* Stapf, *Dasypyrum villosum* (L.) Borb. ja *Triticum boeoticum* Boiss. noorte etioleeritud tõusmete happelist fosfataasi, arüülesteraasi, peroksüdaasi, aspartaadi aminotransferaasi, glutamaadi dehüdrogenaasi,

alkoholi dehüdrogenaasi, glükooso-6-fosfaadi dehüdrogenaasi ja 6-fosfoglükonaadi dehüdrogenaasi.

Uuritud ensüümid ja üksikud isoensüümid erinesid üksteisest evolutsioonilise muutlikkuse astme poolest. Mõned neist osutusid elektroforeetiliselt muutumatuiks kogu alamtriibuse ulatuses, teistel täheldati liikidevahelist või liigisisest divergentsi, kuna osal avastati populatsioonisisene geneetiline polümorfism. Risttolmlevail rukkiliikidel *S. montanum* s. l. ja *S. cereale* s. l. esines happelise fosfataasi, esteraasi ja mõne isoperoksüdaasi populatsioonisisene polümorfism, kuna isefertiilsete liikide *S. sylvestre, S. vavilovii* ja *S. africanum* populatsioonides olid need ensüümid reeglina monomorfsed.

Osa *Dasypyrum villosum* (L.) Borb. (=*Secale villosum* L.) ensüüme olid elektroforeetiliselt sarnased rukkiliikidele iseloomulike ensüümidega, osa sarnanes nisu omadega. *S. sylvestre* erineb ülejäänud rukkiliikidest ja ka nisust isoperoksüdaasi dubleti elektroforeetilise liikuvuse poolest.

S. montanum s. l. ja *S. cereale* s. l. erinevad teineteisest isofosfataaside koostise poolest: *S. cereale* populatsioonides leiti üks kuni kaks kõrge aktiivsusega isofosfataasi, mis *S. montanum*'il puudusid. Oletatakse, et *S. cereale* tekkele kaasneb peale kromosomaalse translokatsiooni fosfataasi lookuse duplikatsioon ja divergents. Kõik pudeneva peaga isesteriilse üheaastase rukki öko-geograafilised vormid ühendatakse botaaniliste varieteetidena ühe alamliigi *S. cereale* ssp. *ancestrale* Zhuk. alla. Esitatakse rukki perekonna fülogeneetiliste seoste skeem.

Vello JAASKA

EVOLUTIONARY VARIATION OF ENZYMES AND PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS IN THE GENUS *SECALE* L.

Summary

Electrophoresis in polyacrylamide gel has been applied for a comparative study of acid phosphatase, arylesterase, peroxidase, aspartate aminotransferase, glutamate dehydrogenase, alcohol dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase in young etiolated seedlings of *Secale cereale* L. s.l. (incl. the taxa *cereale* s. str., *segetale, afghanicum, dighoricum* and *ancestrale*), *S. vavilovii* Grossh., *S. sylvestre* Host, *S. montanum* Guss. s.l. (incl. ssp. *montanum*, ssp. *anatolicum* and ssp. *kuprijanovii*), *S. africanum* Stapf, *Dasypyrum villosum* (L.) Borb. (= *S. villosum* L.) and *Triticum boeoticum* Boiss.

The enzymes studied and individual isoenzymes differed in the degree of evolutionary variability. Some enzymes showed no variation in the electrophoretic mobility within the whole subtribe, others revealed interspecific or intraspecific divergency, while in some of them intrapopulational genetic polymorphism was discovered. In general, the self-sterile rye species, *S. montanum* s. l. and *S. cereale* s.l., revealed significant intrapopulational polymorphism of acid phosphatase, esterase and some isoperoxidases, which, as a rule, proved monomorphic in the populations of self-fertile rye species, *S. sylvestre, S. vavilovii* and *S. africanum*.

The Linnean *S. villosum* revealed some enzymes (alcohol dehydrogenase, aspartate aminotransferase) electrophoretically in common with the rye species, but several other enzymes (6-phosphogluconate dehydrogenase, esterase A, a fast-moving isoperoxidase) proved divergent from the rye enzymes and similar to those of the diploid wheat. This is considered in favour of its taxonomic treatment in a separate genus *Dasypyrum* (Coss. et Dur.) Borb. phylogenetically intermediate between the genera *Secale* L. and *Triticum* L.

S. sylvestre differs from the all other rye species as well as from the diploid wheat in the electrophoretic mobility of a doublet of isoperoxidase. This evidence is considered to argue against the involvement of this species in the origin of *S. vavilovii* and *S. cereale*. *S. sylvestre* seems to be a lateral branch of evolutionary divergence from *S. montanum*. Populations of *S. sylvestre* proved highly monomorphic in respect to isoenzyme characters with only a limited intraspecific divergency of populations from different geographical regions.

Taxa belonging to the perennial species, *S. montanum* s.l., and the taxa of the annual *S. cereale* s. l. form two genetically distinct clusters with homologous polymorphism of certain isophosphatases and isoesterases. The two species differ from each other in the composition of isophosphatases: in addition to common isophosphatases, the populations of *S. cereale* reveal one or two isophosphatases of high activity, not encountered in the populations of *S. montanum*. This evidences to an increase in the amount of genetic information due to a duplication and following divergence of the loci controlling these additional isophosphatases in the genome of *S. cereale*. Different ecogeographic forms of the annual self-sterile, weedy rye with a fragile rachis are recognized as belonging to *S. cereale* ssp. *ancestrale* Zhuk. at the rank of botanical varieties, var. *afghanicum* Vav., var. *dighoricum* (Vav.) Jaaska, comb. nov. and var. *ancestrale*. The nomenclatural combinations and a scheme of phylogenetic relationships in the genus *Secale* L. are given and discussed.