

УДК 633.1 : 575.1/3 : 577.15

Велло ЯАСКА

### ИЗОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ СИНТЕТИЧЕСКИХ АМФИДИПЛОИДОВ ПШЕНИЧНОГО ТИПА

Современная селекция пшеницы основывается главным образом на использовании мирового генофонда культурных видов путем межсортовой и межвидовой гибридизации с последующим отбором ценных форм. Несмотря на большие успехи, селекция на основе генофонда только культурных видов пшениц имеет пределы своих возможностей. В ходе многовековой предшествующей селекции дошедшие до нас сорта пшеницы утратили многие гены, обеспечивавшие комплексную устойчивость к фитопатогенам и экстремальным условиям внешней среды у их дикорастущих сородичей (Feldman, Sears, 1981). Обеднение генофонда зерновых культур, их генетическая эрозия продолжается и в наши дни в связи с выращиванием на больших площадях ограниченного числа сортов интенсивного типа, дающих высокие урожаи в благоприятных условиях при точном соблюдении комплекса агротехнических мероприятий.

Для создания более устойчивых к неблагоприятным воздействиям сортов целесообразно привлечь в селекцию дикорастущих сородичей — носителей генов устойчивости. Известно (Мигушова, 1975), что культурные пшеницы по своей генетической природе являются аллополиплоидами, сочетающими геном А диплоидной пшеницы с геномами В и D диких диплоидных видов близкородственного к пшенице рода эгилопса *Aegilops* L. Наши исследования показали (Яаска, 1974, 1976а; Jaaska, 1980), что культурные виды полиплоидных пшениц характеризуются поразительным постоянством генов, контролирующих изоферменты многих ферментов, и низким уровнем внутривидовой изменчивости аллельных изоферментов — аллозимов, по сравнению с дикорастущими видами и диплоидными сородичами-предшественниками. Было установлено (Яаска, 1974, 1976а; Jaaska, 1980, 1981), что современные диплоидные эгилопсы *Ae. speltoides* Tausch s. l. (incl. *Ae. aucherii* auct., non Boiss.) и *Ae. tauschii* Coss. (= *Ae. squarrosa* auct., non L.), предковые формы которых были донорами геномов В и D культурных видов пшениц, являются «хранилищем» богатого аллельного генофонда ряда мономорфных у культурной пшеницы ферментов. Среди этих и близкородственных им природных видов эгилопса и пшеницы часто встречаются биотипы — носители генов устойчивости к фитопатогенам (Кравченко и др., 1976; Мигушова и др., 1980; Dhaliwal, Gill, 1982). Имеются примеры успешного переноса генов устойчивости от этих диплоидов в культурную гексаплоидную пшеницу (Dvořák, 1977; Dvořák, Knott, 1980; Kerber, Dyck, 1978).

Обогащение генофонда культурных видов пшеницы путем отдаленной межвидовой и межродовой гибридизации с выбранными генотипами дикорастущих сородичей, несущих гены устойчивости к болезням, вредителям и к неблагоприятным стрессовым условиям среды имеет большую реальную перспективу (Sharma, Gill, 1983). Рациональный путь

привлечения в селекцию полиплоидной культурной пшеницы генофонда ее диплоидных сородичей лежит через использование искусственно созданных, т. е. синтетических эгилопсно-пшеничных и пшенично-эгилопсных амфидиплоидов в качестве связывающего звена для облегчения интрогрессии генов на полиплоидный уровень (Dewey, 1980).

Видоспецифичные изоферменты были успешно использованы (Яска, 1974, 1976а; Jaaska, 1978 и др.) для анализа геномного состава естественных полиплоидных видов пшеницы и эгилопса. В настоящей статье представлены данные, иллюстрирующие возможности использования некоторых разработанных нами изоферментных маркеров для геномного анализа синтетических межвидовых пшенично-пшеничных, эгилопсно-пшеничных и пшенично-эгилопсных амфидиплоидов.

### Материал и методика

Исследовали следующие амфидиплоиды и их родительские виды из коллекции отдела пшеницы Всесоюзного НИИ растениеводства им. Н. И. Вавилова:

1) японские амфидиплоиды *T. dicoccoides* x *Ae. tauschii* (образцы К-45954 и К-47747), *T. dicoccon* x *Ae. tauschii* (К-45917, К-45921), *T. durum* x *Ae. tauschii* (К-45918, К-45922, К-45923), *T. turgidum* x *Ae. tauschii* (К-45919), *T. boeoticum* x *Ae. uniaristata* (К-2248), *Ae. longissima* x *T. boeoticum* (К-2327), *Ae. sharonensis* x *T. boeoticum* (К-2328), *T. timopheevii* x *Ae. tauschii* (= *T. kiharae*, К-47897), *T. timopheevii* x *Ae. umbellulata* (К-45920);

2) синтетический амфидиплоид Д. Костова *T. timopheevii* x *T. monococcum* (= *T. timococcum*, К-43805) и его спонтанный природный аналог *T. zhukovskiyi* (К-43063);

3) амфидиплоид О. Сорокиной *T. durum* x *Ae. longissima* (К-43644);

4) амфидиплоид Г. Иванова *Ae. tauschii* ssp. *strangulata* x *T. boeoticum* (= *T. palmovae* G. Ivanov);

5) амфидиплоиды Э. Таврина *T. durum* x *T. monococcum* и *T. cartholicum* x *T. monococcum*.

От проф. П. А. Гандиляна (Армянский сельхозинститут) были получены следующие созданные им новые амфидиплоиды:

1) *T. timopheevii* x *Ae. tauschii* (= *T. kiharae* Dorof. et Migush.);

2) *Ae. tauschii* x *T. urartu* (= *T. erebunii* Gandil.);

3) *T. sinskajae* x *T. urartu*, *T. monococcum* x *T. urartu*.

Ферментные экстракты из тканей 4—6 дневных этиолированных проростков приготавливали и подвергали электрофорезу (ЭФ) или изоэлектрическому фокусированию (ИЭФ) в пластинках полиакриламида (ПАА) по ранее описанной методике (Яска, Яска, 1977; Jaaska, Jaaska, 1982). После ЭФ или ИЭФ гели окрашивали для выявления изоферментов кислой фосфатазы, алкогольдегидрогеназы, аспартат-аминотрансферазы и супероксиддисмутазы в гистохимических реакционных смесях (Яска, 1976а, б; Jaaska, 1978, 1981; Jaaska, Jaaska, 1982). Окрашенные гели (энзимограммы) фиксировали в смеси этиловый спирт—вода — концентрированная HCl (10:39:1) и фотографировали (фотопленка «Микрат 200»).

Изоферменты, контролируемые отдельными генными локусами, называются нами гетерозимами (Jaaska, Jaaska, 1984) и обозначаются заглавными буквами. Аллельные и гомеоаллельные (у полиплоидов) изоферменты гетерозимов, т. е. аллозимы и гомеозимы, обозначены цифровыми величинами ЭФ-подвижности (шкала 0—100) или изоэлектрических точек (ИЭТ) после буквенного символа гетерозима.

Кислая фосфатаза (фосфогидролаза ФГ-Б) колеоптиля молодых 4—6-дневных этиолированных проростков синтетических амфидиплоид-

дов выявляет на ЭФ-энзимограммах (рис. 1) простое суммирование изофосфатаз, свойственных их родительским видам. На энзимограммах амфидиплоидов, полученных с участием *Ae. tauschii*, имеется характерный медленный дублет изофосфатаз и выявляются различия по изофосфатазам второго родителя. Многие изученные амфидиплоиды, полученные от скрещивания тетраплоидных эммеров (*T. dicoccoides*, *T. dicoccon*, *T. durum*, *T. turgidum*) с диплоидным эгилопсом *Ae. tauschii* имеют одинаковую энзимограмму (рис. 1, 2), свойственную и культурной гексаплоидной мягкой пшенице (Jaaska, 1969; Jaaska, Jaaska, 1970). Некоторые образцы амфидиплоидов (К-45922 и К-45923) все же имеют изменения в подвижности изофосфатаз, контролируемых тетраплоидным родителем.

Пшенично-эгилопсные амфидиплоиды, полученные на основе эммеров и *T. timopheevii*, выявили на энзимограммах (рис. 1) четкие различия по свойственным этим видам изофосфатазам. Синтетический амфидиплоид *T. timococum* и его природный аналог *T. zhukovskiyi* с западно-грузинского эндемичного ценоза «Зандури» имели одинаковую энзимограмму кислой фосфатазы (на рис. 1 не представлена) с изофосфатазами обоих родительских видов.

Диплоидные пшеницы *T. urartu* и *T. boeoticum* отличаются друг от друга по небольшому сдвигу в ЭФ-подвижности изофосфатаз (Яаска, 1974, 1976а). Этот сдвиг сохраняется и на энзимограммах амфидиплоидов *Ae. tauschii* х *T. urartu* и *Ae. tauschii* *T. boeoticum* (рис. 1, 10—13), где наблюдается кодоминантное проявление изофосфатаз родительских видов.

Алкогольдегидрогеназа (АДГ-А) среди видов пшеницы и эгилопса имеет значительно меньшую аллозимную изменчивость, чем кислая фосфатаза, что ограничивает возможность применения этого фермента в геномном анализе амфидиплоидов. Известно (Яаска, 1976б), что диплоидные пшеницы и эгилопсы имеют одинаковый по ЭФ-подвижности аллозим А56 (рис. 2, 1, 2), характерный и тетраплоидным пшеницам секции *Timopheevii*, тогда как тетраплоидным пшеницам группы эммера и гексаплоидам группы мягкой пшеницы характерен гетерозиготный триплетный фенотип А56/А62 (рис. 2, 3, 7). *T. zhukovskiyi* и его синтетический аналог *T. timococum* выделяются среди гексаплоидных пшениц гомозиготным фенотипом АДГ-А56, свойственным их родительским видам (рис. 2, 6).

Исключением на фоне общей эволюционной консервативности АДГ-А среди диплоидных пшениц и эгилопсов является фиксация у типового подвида *Ae. tauschii* уникального аллозима А61, имеющего четкий сдвиг в ЭФ-подвижности по сравнению с обычным аллозимом А56, характерным для остальных диплоидов и для подвида *Ae. tauschii* ssp. *strangulata* (рис. 2, 9—10 и 15—16). Наличие такого четкого диагностического различия позволяет уточнить, какой из двух подвидов был использован для получения амфидиплоидов (рис. 2) или участвовал в происхождении естественных аллополиплоидов (Jaaska, 1981).

Оба изученные нами образца амфидиплоида *T. timopheevii* х *Ae. tauschii*, японский и армянский, имели одинаковый гетерозиготный триплетный фенотип А56/А61 (рис. 2, 5, 8, 11). Такой результат показывает, что при создании обоих амфидиплоидов эгилопсовым родителем был *Ae. tauschii* ssp. *tauschii*, а также что АДГ-А у амфидиплоида проявляет свойство кодоминантного наследования дивергентных аллозимов родительских видов с появлением дополнительного гибридного изофермента промежуточной ЭФ-подвижности, что характерно для димерных ферментов.

Быстрый изофермент триплетного фенотипа полиплоидных пшениц А62 и аллозим А61 типового подвида *Ae. tauschii* имеют весьма незна-

чительный, но тем не менее уловимый на энзимограммах сдвиг в ЭФ-подвижности, отраженный в различной ширине триплетных фенотипов соответствующих амфидиплоидов (рис. 2, 7, 8, 10—12). Японские амфидиплоиды типа мягкой пшеницы, полученные от скрещивания тетраплоидного эммера с *Ae. tauschii*, как и сами мягкие пшеницы, имели триплетный фенотип А56/А62, характерный уже тетраплоидному родителю. Это означает, что геном D этих полиплоидов происходит от *Ae. tauschii* ssp. *strangulata* с обычным аллозимом А56.

У тетраплоидов *Ae. tauschii* x *T. boeoticum* и *Ae. tauschii* x *T. urartu* обнаружен гомозиготный однополосный фенотип А56 (рис. 2, 14, 17), соответствующий имеющимся сведениям об использовании при их синтезе подвида *strangulata*.

**Аспаргат-аминотрансфераза (ААТ)** проростков выявляется на энзимограммах (рис. 3) в виде трех генетически независимых изоферментов — гетерозимов ААТ-А, ААТ-Б и ААТ-В. Закономерности эволюционной изменчивости гетерозимов ААТ среди естественных полиплоидов пшеницы и эгилопса и их диплоидных сородичей изучены нами ранее (Jaaska, 1976, 1981).

Было установлено, что два подвида *Ae. tauschii*, типовой и *strangulata* различаются не только по аллозимам АДГ-А, но также и по аллозимам ААТ-Б, что позволило уточнить донор генома D естественных полиплоидов на уровне подвида *Ae. tauschii*. Типовой подвид *tauschii* имеет медленный аллозим Б58, тогда как подвиду *strangulata* характерен быстрый аллозим Б62 (рис. 3, 7, 13, 14). Все диплоидные и тетраплоидные пшеницы, как и пшенично-пшеничные амфидиплоиды Э. Таврина и П. Гандиляна, имеют одинаковый гомозиготный фенотип аллозима Б58 (рис. 4, 1—4 и Jaaska, 1976). У всех видовых таксонов мягкой пшеницы, как и у их синтетических аналогов типа эммер x *Ae. tauschii* появляется расширенная зона ААТ-Б (рис. 3, 5, 6), состоящая из трех близких полос изоферментов. Из них две крайне соответствуют аллозимам Б58 и Б62, а промежуточная полоса гибридного изофермента указывает на димерную структуру ААТ-Б.

Выявление у большинства изученных образцов синтетических гексаплоидов типа мягкой пшеницы триплетного фенотипа Б58/62 указывает на кодоминантное проявление у них гомеоаллельных изоферментов обоих родительских видов — Б58 от тетраплоидного эммера и Б62 от *Ae. tauschii* ssp. *strangulata*. В отличие от этого, их образец К-45721, как и оба изученные образца амфидиплоида *T. kiharae* имели гомозиготный узкополосный фенотип с изоферментом Б58 (рис. 3, 8), что свидетельствует об использовании при их создании типового подвида *Ae. tauschii* в полном согласии с приведенными в предыдущем разделе данными по АДГ-А.

Наличие у синтетических амфидиплоидов *Ae. tauschii* x *T. urartu* и *Ae. tauschii* x *T. boeoticum* расширенной полосы ААТ-Б с триплетом Б58/Б62 (рис. 3, 12, 15) соответствует данным об использовании при их получении подвида *strangulata* и о кодоминантном проявлении гомеозимов родительских видов:

У естественного гексаплоида *T. zhukovskyi* и его синтетического аналога *T. timococcum* наблюдается гомозиготный фенотип аллозима Б58, характерный для родительских видов (рис. 3, 2, 9, 10).

Гетерозим ААТ-В обнаруживает гетерозиготный триплетный фенотип В38/В43 уже у тетраплоидных пшениц (рис. 3, 3, 4, 9). Это является результатом кодоминантного проявления гомеозима В38 генома А от диплоидной пшеницы (рис. 3, 1, 2) и гомеозима В43 генома В от эгилопса *Ae. speltoides* — единственного носителя аллозима В43 среди диплоидных эгилопсов секции *Sitopsis* (Jaaska, 1976).

Все изученные нами естественные и синтетические аллогексаплоид-

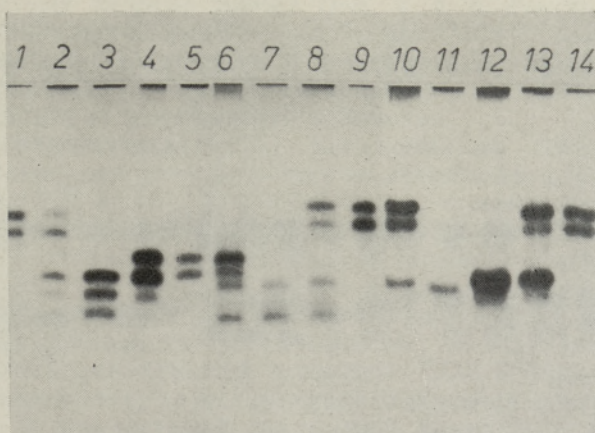


Рис. 1. Электрофоретические энзимограммы кислой фосфатазы колеоптиля этиолированных проростков.

1 — *Ae. tauschii*, 2 — *T. dicoccon* x *Ae. tauschii*, 3 — *T. durum*, 4 — *T. durum* x *Ae. longissima*, 5 — *Ae. longissima*, 6 — *T. timopheevii* x *Ae. umbellulata*, 7 — *T. timopheevii*, 8 — *T. timopheevii* x *Ae. tauschii*, 9 — *Ae. tauschii*, 10 — *Ae. tauschii* x *T. boeoticum*, 11 — *T. boeoticum*, 12 — *T. urartu*, 13 — *Ae. tauschii*, x *T. urartu*, 14 — *Ae. tauschii*.

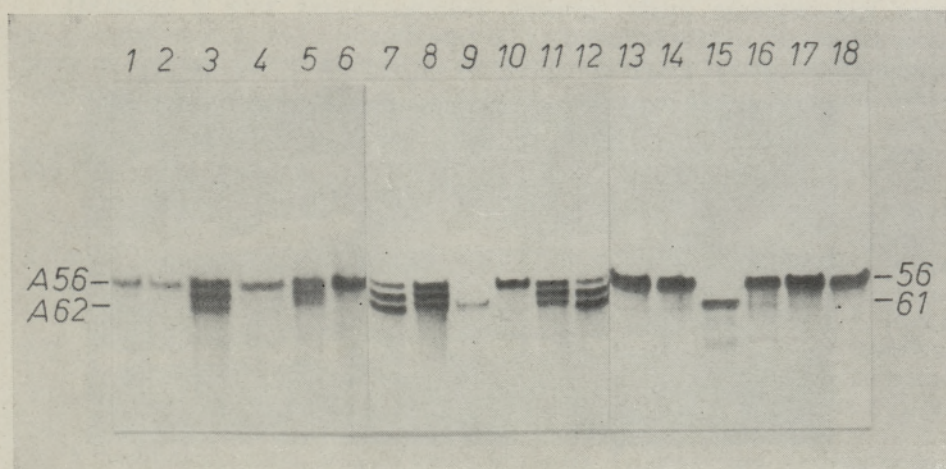


Рис. 2. Электрофоретические энзимограммы алкогольдегидрогеназы.

1 — *T. monococcum*, 2 — *T. timopheevii*, 3 — *T. dicoccon*, 4 — *Ae. tauschii* ssp. *strangulata*, 5, 8, 11 — *T. timopheevii* x *Ae. tauschii*, 6 — *T. timopheevii* x *T. monococcum*, 7 — *T. aestivum*, 9, 15 — *Ae. tauschii* ssp. *tauschii*, 10, 16 — *Ae. tauschii* ssp. *strangulata*, 12 — *T. dicoccon* x *Ae. tauschii*, 13 — *T. boeoticum*, 14 — *Ae. tauschii* x *T. boeoticum*, 17 — *Ae. tauschii* x *T. urartu*, 18 — *T. urartu*.

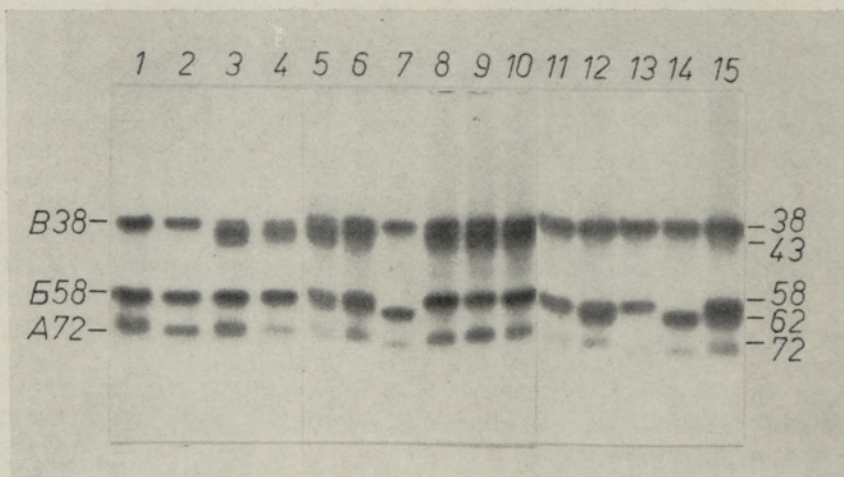


Рис. 3. Электрофоретические энзимогаммы аспартат-аминотрансферазы.

1 — *T. monococcum* x *T. urartu*, 2 — *T. sinkajae* x *T. urartu*, 3 — *T. carthlicum* x *T. monococcum*, 4 — *T. durum* x *T. monococcum*, 5 — *T. aestivum*, 6 — *T. dicoccon* x *Ae. tauschii*, 7 — *Ae. tauschii* ssp. *strangulata*, 8 — *T. timopheevii* x *Ae. tauschii*, 9 — *T. timopheevii*, 10 — *T. zhukovskyi*, 11 — *T. urartu*, 12 — *Ae. tauschii* x *T. urartu*, 13 — *Ae. tauschii* ssp. *tauschii*, 14 — *Ae. tauschii* ssp. *strangulata*, 15 — *Ae. tauschii* x *T. boeoticum*.

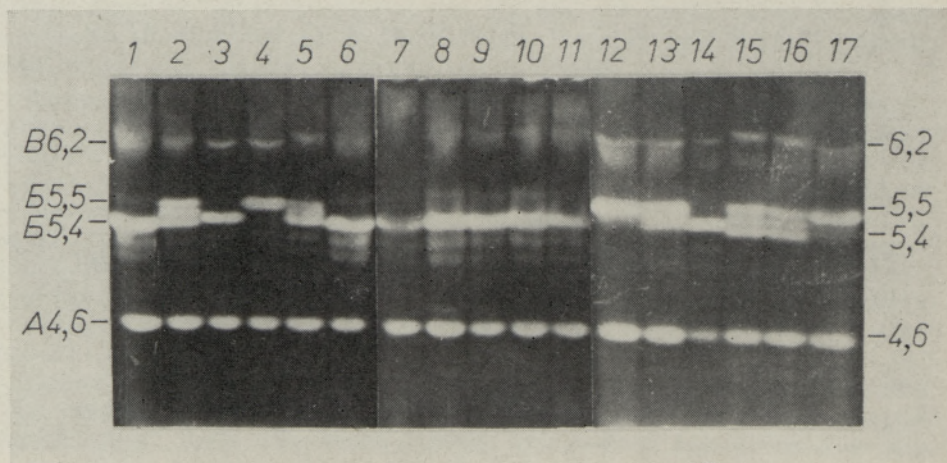


Рис. 4. Изоэлектрические энзимогаммы супероксиддисмутазы.

1 — *Ae. tauschii*, 2 — *Ae. tauschii* x *T. boeoticum*, 3 — *T. urartu*, 4 — *T. boeoticum*, 5 — *T. zhukovskyi*, 6 — *T. aestivum*, 7 — *T. dicoccon*, 8 — *T. dicoccon* x *Ae. tauschii*, 9 — *Ae. tauschii* x *T. urartu*, 10 — *T. timopheevii* x *Ae. tauschii*, 11 — *T. timopheevii*, 12, 17 — *T. monococcum*, 13 — *T. monococcum* x *T. urartu*, 14 — *T. urartu*, 15 — *Ae. longissima* x *T. boeoticum*, 16 — *Ae. sharonensis* x *T. boeoticum*.

ные пшеницы также показали характерный для тетраплоидного родителя триплетный фенотип В38/43 (рис. 3, 5, 6, 8—10). В отличие от этого тетраплоидные амфидиплоиды *Ae. tauschii* x *T. urartu*, *Ae. tauschii* x *T. boeoticum*, *Ae. longissima* x *T. boeoticum*, *Ae. sharonensis* x *T. boeoticum* имели гомозиготный фенотип аллозима В38 (рис. 3, 11—15), характерный для их родительских диплоидов.

Супероксиддисмутаза (СОД) выявляется на ЭФ- и ИЭ-энзимограммах в виде двух доминирующих по активности и одного минорного гетерозимов СОД-А, СОД-Б и СОД-В (см. ахроматические полосы негативного окрашивания на рис. 4). Закономерности эволюционной изменчивости гетерозимов СОД у видов пшеницы и эгилопса известны (Jaaska, 1982).

Хлоропластный гетерозим СОД-А не обнаруживает ЭФ-изменчивости среди видов пшеницы и эгилопса и поэтому не подходит для геномного анализа. Цитоплазматический гетерозим СОД-Б также эволюционно весьма консервативен, за исключением выявления дивергентного аллозима Б5,5 у дикорастущей диплоидной пшеницы *T. boeoticum* и ее культурной формы *T. monococcum* s. str. (рис. 4, 4). Другая дикая диплоидная пшеница *T. urartu* имеет аллозим Б5,4 (рис. 4, 3), характерный всем полиплоидным пшеницам, за исключением *T. zhukovskyi* (рис. 4, 5—7).

Изоферментный анализ СОД-Б, особенно методом ИЭФ, позволяет диагностически различить два морфологически сходных вида дикой диплоидной пшеницы — *T. boeoticum* и *T. urartu*, а также уточнить, какой из них участвует в качестве донора генома А полиплоидных пшениц (Jaaska, 1982) и синтетических амфидиплоидов. Метод ИЭФ обладает несколько большей разрешающей способностью по сравнению с электрофорезом, выявляя небольшой, но воспроизводимый сдвиг ИЭТ СОД-Б *T. urartu* и диплоидных эгилопсов (рис. 4).

Наличие у всех тетраплоидных пшениц обеих генетических групп (*T. turgidum* s. l. и *T. timopheevii* s. l.) однополосного фенотипа аллозима Б 5,4 говорит в пользу их монофилетического происхождения от предковой формы *T. urartu* в качестве донора генома А и указывает на различие генома А *T. boeoticum* (Jaaska, 1982). Появление у естественного аллогексаплоида *T. zhukovskyi* и его синтетического аналога *T. timococcum* гетерозиготного триплетного фенотипа Б 5,5/5,4 (рис. 4, 5) обусловлено добавлением к геному тетраплоидного родителя *T. timopheevii* с гомеозимом Б 5,4 генома А диплоидной пшеницы *T. monococcum* (Б 5,5). Тот же триплетный фенотип обнаружен у всех синтетических амфидиплоидов, полученных с участием *T. monococcum* и *T. boeoticum*: у *T. palmovae* (рис. 4, 2), *Ae. longissima* x *T. boeoticum*, *Ae. sharonensis* x *T. boeoticum* (рис. 4, 14—15) и *T. boeoticum* x *Ae. uniaristata*, а также у пшенично-пшеничных амфидиплоидов *T. monococcum* x *T. urartu*, *T. sinskajae* x *T. urartu*, *T. carthlicum* x *T. monococcum*, *T. durum* x *T. monococcum*.

У амфидиплоидов, в получении которых *T. boeoticum* не участвовал, к примеру у *T. erebunii* (рис. 4, 9), на энзимограммах выявляется однополосный фенотип Б 5,4 (рис. 4, 7—11).

### Обсуждение

Полученные результаты показывают, что как у синтетических амфидиплоидов пшеничного типа, так и у естественных аллополиплоидов наблюдается кодоминантное наследование электрофоретически дивергентных изоферментов (гомеозимов), контролируемых гомеоаллельными генами (гомеоаллелями) составных геномов полиплоида и родительских видов. При этом у мономерных ферментов (ФГ-Б) наблюдается про-

тое суммирование родительских изоферментов, а у димерных ферментов (АДГ-А, ААТ-Б, ААТ-В и СОД-Б) появляется дополнительный гибридный изофермент с промежуточной подвижностью. Аллополиплоидия приводит к фиксации гетерозиготности в локусах ферментов, имеющих дивергентные аллозимы (гомеоозимы) у диплоидных предшественников.

Из полученных данных следует, что электрофоретический изоферментный анализ может служить эффективным методом проверки синтезируемых новых амфидиплоидов, их генетической стабильности и сохранности в последующих поколениях. Среди проанализированных нами амфидиплоидов встречались отдельные образцы с возвращением на родительский уровень (*T. timopheevii* вместо *T. zhukovskyi*) или с ошибочной идентификацией (*T. boeoticum* x *Ae. longissima* s. l. вместо *T. boeoticum* x *Ae. tauschii*).

Залогом успеха изоферментного анализа амфидиплоидов является правильный выбор маркерных изоферментов, которые должны иметь диагностически значимые и электрофоретически четко выявляемые различия у родительских генотипов или видов полиплоида. Это предполагает знания закономерностей эволюционной внутри- и межвидовой изменчивости изоферментов у родительских видов амфидиплоидов. В данной работе мы исходили из результатов наших ранее опубликованных и цитированных работ по эволюционной изменчивости изоферментных маркеров для видов пшеницы и эгилопса. Было установлено (Jaaska, 1969, 1976, 1980), что отдельные ферменты и их гетерозимы существенно различаются по степени и характеру внутри- и межвидовой аллозимной изменчивости среди видов пшеницы и эгилопса. Это обусловлено независимой мозаичной эволюцией генов, контролирурующих отдельные гетерозимы и ферменты. Отсюда следует различная значимость отдельных гетерозимов в качестве диагностических изоферментных маркеров в генетическом анализе естественных полиплоидов и синтетических амфидиплоидов. Каждый вид характеризуется своей системой внутривидовой генетической изменчивости изоферментов с ограниченным числом частых аллозимов полиморфных гетерозимов, среди которых только единичные проявляют диагностическую видоспецифичность. Полиморфные гетерозимы могут, однако, иметь значение для более специфического генетического анализа амфидиплоидов на уровне внутривидовых генотипов.

Немаловажное значение при проведении изоферментного анализа амфидиплоидов имеют и правильный выбор стадии развития и ткани растения для приготовления ферментных экстрактов. Нами показано (Яаска, 1976а), что степень реализации генетической информации гомеоаллелей отдельных ферментов у полиплоидных пшениц меняется в зависимости от ткани и стадии развития растения. Так, в coleoptile и первичном корне проростка тетраплоидной пшеницы наблюдается кодоминантное проявление изофосфатаз гомеоаллелей обоих составных генотипов, тогда как в ткани листа обнаруживаются изофосфатазы только одного генома, что указывает на доминирование в этой ткани одного гомеоаллеля (Яаска, 1976а). При проведении геномного анализа полиплоидов по изоферментам важно учитывать закономерности онтогенетической регуляции изоферментов, зависимость от стадии и условий прорастания.

В заключение отметим, что изоферментный анализ применим не только для первичных амфидиплоидов, т. е. для амфидиплоидов, но и для селекционного материала, получаемого в результате последующего скрещивания амфидиплоидов с сортами или с wybranными моносомными или телосомными хромосомальными линиями культурных видов полиплоидной пшеницы с целью интрогрессии только ограниченной



части генетического материала от дикого диплоида в культурный полиплоид. Видоспецифичные изоферменты с известной хромосомальной локализацией могут служить генетическими маркерами для более точной хромосомальной идентификации интродукции генетического материала от дикого вида в культурный полиплоид через промежуточную стадию амфидиплоида.

К настоящему времени установлена точная хромосомальная локализация для многих диагностических гомеозимов мягкой пшеницы (Hart, 1983), в том числе и для всех использованных нами в этой работе гетерозимов. Нужно заметить, что число маркерных изоферментов все еще недостаточно для удовлетворения всех нужд и задач селекции, но их число постоянно увеличивается в результате новых исследований. Поэтому открываются более обширные перспективы для использования изоферментов в качестве молекулярно-генетических маркеров в анализах селекционного материала культурных и полиплоидных видов пшеницы на основе отдаленной гибридизации и синтетических амфидиплоидов.

Автор выражает искреннюю благодарность Э. Ф. Мигушовой, Э. А. Таврину и проф. П. А. Гандилянцу за предоставление для исследования образцов амфидиплоидов.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Кравченко В. И., Ямалеев А. М., Мигушова Э. Ф. Об устойчивости эгилопсов к пыльной головне. — С.-х. биол., 1976, 11, № 5, 706—710.
- Мигушова Э. Ф. К вопросу о происхождении геномов пшеницы. — Тр. по прикл. бот., генет. и селекции ВНИИ растениеводства, 1975, 55, № 3, 3—26.
- Мигушова Э. Ф., Суханбердина Э. Х., Кравченко В. И. Устойчивость эгилопсов к мучнистой росе. — Тр. по прикл. бот., генет. и селекции ВНИИ растениеводства, 1980, 68, № 1, 111—117.
- Яаска В. Происхождение тетраплоидных пшениц по данным электрофоретического изучения ферментов. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1974, 23, № 3, 201—220.
- Яаска В. Геном- и тканеспецифическая регуляция изоферментов эстеразы и кислой фосфатазы у тетраплоидных пшениц при прорастании. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1976а, 25, № 2, 132—145.
- Яаска В. Алкогольдегидрогеназа полиплоидных пшениц и их диплоидных сородичей. К филогенезу тетраплоидной пшеницы. — Генетика, 1976б, 12, № 11, 22—28.
- Яаска В., Яаска В. Изоферменты эстеразы у дикорастущего и культурного ячменя. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1977, 26, № 4, 292—301.
- Dewey, D. R. Some applications and misapplications of induced polyploidy to plant breeding. — In: Polyploidy: Biological Relevance. New York, 1980, 445—470.
- Dhaliwal, H. S., Gill, K. S. Screening and utilization of wild-wheat germplasm for rust resistance. — Wheat Inform. Serv., 1982, N 54, 39—42.
- Dvořák, J. Transfer of leaf rust resistance from *Aegilops speltoides* to *Triticum aestivum*. — Can. J. Genet. Cytol., 1977, 19, N 1, 133—141.
- Dvořák, J., Knott, D. R. Chromosome location of two leaf rust resistance genes transferred from *Triticum speltoides* to *T. aestivum*. — Can. J. Genet. Cytol., 1980, 22, N 3, 381—389.
- Feldman, M., Sears, E. R. The wild gene resources of wheat. — Sci. Amer., 1981, 244, N 1, 98—109.
- Hart, G. Hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell.). — In: Isozymes in Plant Genetics and Breeding. Part B. Amsterdam, et al., 1983, 35—56.
- Jaaska, V. Electrophoretic studies of seedling phosphatases, esterases and peroxidases in the genus *Triticum* L. — ENSV TA Toim. Biol., 1969, 18, N 2, 170—183.
- Jaaska, V. Aspartate aminotransferase isoenzymes in the polyploid wheats and their diploid relatives. On the origin of tetraploid wheats. — Biochem. Physiol. Pflanzen, 1976, 170, N 8, 159—171.
- Jaaska, V. Electrophoretic study of acid phosphatase isoenzymes in the grass genus *Aegilops* L. — Biochem. Physiol. Pflanzen, 1978, 172, N 1—2, 133—153.
- Jaaska, V. Electrophoretic survey of seedling esterases in wheats in relation to their phylogeny. — Theor. Appl. Genet., 1980, 56, N 5, 273—284.
- Jaaska, V. Aspartate aminotransferase and alcohol dehydrogenase isoenzymes: Intra-specific differentiation in *Aegilops tauschii* Coss. and the origin of the D genome polyploids in the wheat group. — Plant Syst. and Evol., 1981, 134, N 4, 259—273.

- Jaaska, V., Jaaska, V. Biochemical data on the origin of Transcaucasian endemic wheats. — ENSV TA Toim. Biol., 1970, 19, N 4, 344—354.
- Jaaska, V., Jaaska, V. Isoenzymes of superoxide dismutase in barley. — Biochem. Physiol. Pflanzen, 1982, 177, N 4/5, 375—386.
- Jaaska, V., Jaaska, V. Isoenzymes of aromatic alcohol dehydrogenase in rye and triticale. — Biochem. Physiol. Pflanzen, 1984, 179, N 1—2, 21—30.
- Kerber, E. R., Dyck, P. L. Resistance to stem and leaf rust of wheat in *Aegilops squarrosa* and transfer of a gene for stem rust resistance to hexaploid wheats. — In: Proc. 5th Int. Wheat Genet. Symp. New Dehli, 1978, 358—364.
- Sharma, H. S., Gill, G. S. Current status of wide hybridization in wheat. — Euphytica, 1983, 32, N 1, 17—31.

Институт зоологии и ботаники  
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию  
16/XII 1985

Vello JAASKA

## NISU TUUPI SÜNTEETILISTE AMFIDIPLOIDIDE ISOENSÜUMANALÜÜS

Real *Aegilops* sp. x *Triticum* sp., *Triticum* sp. x *Aegilops* sp. ja *Triticum* sp. x *Triticum* sp. liikidevahelistel sünteetilistel amfidiploididel ja nende vanemliikidel uuriti happelise fosfataasi, alkoholi dehüdrogenaasi, aspartaadi aminotransferaasi ja superoksüüdi dismutaasi isoensüümide koosseisu, kasutades elektroforeesi või isoelektrilise fokuseerimise meetodeid polüakrüülamiidgeelis.

Amfidiploididel täheldati vanemliikidele iseloomulike homoeoalleelsete isoensüümide (homoeosüümide) kodominantset päritavust ja ilmnemist ensüogrammidel. Sealjuures vanemliikide monomeersetete ensüümide isoensüümid lihtsalt summeerusid, kuna dimeersetel ensüümidel ilmus täiendav vahepealse elektroforeetilise liikuvusega hübriidne isoensüüm. Amfidiploide iseloomustab heterosügootsuse fikseerumine ja heterosügootne elektroforeetiline fenotüüp vanemliikidel divergeerunud ensüümidel.

Järeldatakse, et liigispetsiifiliste ja polümorfsete isoensüümide elektroforeetilist analüüsi võib kasutada nii liikidevaheliste primaarsete amfidiploidide kui ka nende vahendusel saadud polüploidse nisu selektsioonimaterjali genoomseks ja geneetiliseks analüüsiks, looduslikelt diploididelt introgresseeritud geneetilise materjali tuvastamiseks.

Vello JAASKA

## ISOENZYME ANALYSIS OF SYNTHETIC AMPHIDIPLOIDS OF THE WHEAT TYPE

Polyacrylamide gel electrophoretic or isoelectric isoenzyme patterns of acid phosphatase, alcohol dehydrogenase, aspartate aminotransferase, and superoxide dismutase were studied in a number of synthetic interspecific amphidiploids (*Aegilops* sp. x *Triticum* sp., *Triticum* sp. x *Aegilops* sp., *Triticum* sp. x *Triticum* sp.) and in their parental species.

Codominant inheritance of electrophoretically divergent homoeoallelic isoenzymes (homoeozymes) of parental species and composite genomes was recorded in all amphidiploids studied. Monomeric enzymes revealed simple additivity of homoeozymes, whereas an additional isoenzyme of intermediate electrophoretic mobility appeared in dimeric enzymes. Amphidiploids are characterized by fixation of heterozygosity revealed by the appearance of heterozygous electrophoretic phenotypes of isoenzymes that are divergent in their parental species.

It is concluded that electrophoretic analysis of species-specific and polymorphic isoenzymes is a potential tool for genomic and genetic analysis of synthetic amphidiploids as well as for the study of the breeding material of polyploid wheats arisen through the use of primary amphidiploids, in order to identify the introgression of the genetic material from a wild diploid relative into the cultivated polyploid wheat.