

**ФЕРМЕНТНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ
В ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОЛЛЕКЦИЯХ
ПШЕНИЧНО-РЖАНЫХ ЗАМЕЩЕННЫХ ЛИНИЙ
И РАЗНОГЕНОМНЫХ ОБРАЗЦОВ
× *TRITORDEUM* ASCHERSON ET GRAEBNER**

А.А. Коновалов, О.Г. Силкова, А.И. Щапова, Е.А. Моисеева, Е.Я. Кондратенко

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: konov@bionet.nsc.ru

Изучены изоферментные спектры 6-фосфоглюконатдегидрогеназы, шикиматдегидрогеназы, алкогольдегидрогеназы, ароматической алкогольдегидрогеназы, изоцитратдегидрогеназы, малик-фермента, глутаматдегидрогеназы и глюкозофосфатизомеразы у пшенично-ржаных замещенных линий *T. aestivum* сорт Саратовская 29/*S. cereale* сорт Онохойская: 1R(1A), 1Rv(1A), 1R(1D), 2R(2D)₁, 2R(2D)₃, 3R(3B), 5R(5A), 5R(5D), 5Rviet(5A), 6R(6A)₁ (ИЦиГ СО РАН); Vrn6^{Sc}, Vrn7^{Sc}, 7829 (Селекционно-генетический институт, Украина); 5R(5A)сиб (НИИСХ Юго-Востока), а также у образцов ячменно-пшеничного амфилоида tritordeum (× *Tritordeum* Ascherson et Graebner). Присутствие чужеродного генетического материала (ржаного и ячменного) обнаружено по всем изученным маркерам, кроме алкогольдегидрогеназы и неспецифической ароматической алкогольдегидрогеназы. Выявлены различия между линиями с однотипными замещениями по хромосоме ржи 5R. Предполагается, что эти различия могут быть связаны с полиморфизмом исходных образцов ржи, использованных при гибридизации.

Ключевые слова: пшеница, рожь, ячмень, замещенные линии, ферментный полиморфизм.

Метод хромосомных замещений и дополнений в трибе Triticeae Dum. (различных видов пшениц, эгилопсов, ржи, ячменя, пырея) используется в фундаментальных и прикладных исследованиях в течение многих десятилетий. На сегодняшний день созданы серия пшенично-ржаных дополненных линий Chinese Spring/Imperial (Driscoll, Sears, 1971), полный набор линий пшеницы с замещением хромосом D-генома хромосомами ржи (Friebe, Larter, 1988), серия пшенично-ржаных замещенных линий Саратовская 29/Онохойская, Вятка, Вьетнамская (Shchapova, Kravtsova, 1982; Силкова и др., 2006, 2007). Данный материал, позволяющий проводить исследования по влиянию ржаного хроматина на различные характеристики пшеницы, широко используется многими исследователями в разных странах. Хромосомная паспортизация линий позволяет использовать их в генетических исследованиях и селекционных программах, осуществлять запланированную интрогрессию в ге-

ном пшеницы конкретных хромосом и сегментов хромосом ржи, на которых предварительно были локализованы необходимые для переноса гены (De Bustos *et al.*, 2001; Dundas *et al.*, 2001).

Фрагменты хромосом ржи присутствуют в ряде коммерческих сортов пшеницы как отечественных, так и зарубежных (Гончаров, Коновалов, 1996; Гончаров, 2002; Goncharov *et al.*, 1998).

Идентификация хромосом у линий пшеницы с пшенично-ржаными замещениями была проведена комплексом молекулярно-цитологических методов: GISH, С-бэндинг и SSR-анализ (Силкова и др., 2006, 2007). Анализ гибридного материала с помощью ферментов может дать дополнительную информацию о конкретных функциональных генах. С этой целью для более полной характеристики замещенных линий, а также образцов ячменно-пшеничного амфилоида tritordeum был проведен анализ полиморфизма по ряду ферментов.

Материалы и методы

В качестве экспериментального материала были использованы пшенично-ржаные замещенные линии:

а) полученные в ИЦиГ СО РАН – 1R(1A), 1Rv(1A), 1R(1D), 2R(2D)₁, 2R(2D)₃, 3R(3B), 5R(5A), 5R(5D), 5Rviet(5A), 6R(6A)₁ (Силкова и др., 2006, 2007); исходные формы: яровая мягкая пшеница Саратовская 29, яровая диплоидная рожь Онохойская;

б) полученные в Селекционно-генетическом институте (Одесса, Украина) и любезно предоставленные д-ром А.Ф. Стельмахом: линии *Vrn6^{Sc}* (поколение I₁₃BC₂, интрогрессирован ген *Vrn6*), *Vrn7^{Sc}* (поколение I₁₃BC₃, интрогрессирован ген *Vrn7*), 7829 (замещение 5R/5A) (Stelmakh, Avsenin, 1996); исходные формы: пять сортов озимой мягкой пшеницы и яровая диплоидная рожь Ленинградская яровая. Какие генотипы пшеницы у этих конкретных образцов – неизвестно. Доминантные гены *Vrn6^{Sc}* и *Vrn7^{Sc}* неаллельны (Goncharov, 2003);

в) полученная в НИИСХ Юго-Востока (г. Саратов) – 5R(5A)сиб, исходные формы: яровая мягкая пшеница Л503, озимая диплоидная рожь Саратовская 5 (Сибикеев и др., 2005).

Для сравнения были взяты образцы ячменно-пшеничного амфиплоида tritordeum (\times *Tritordeum* Ascherson et Graebner), полученные от д-ра Martin (Испания). Эти образцы представляют собой гибридные злаки: гексаплоид 6x и октоплоид 8x, полученные скрещиванием соответственно твердой и мягкой пшеницы с южноамериканским диким ячменем *Hordeum chilense* Roem. et Schulz. и последующим удвоением хромосом у гибридов F₁ (Alvarez et al., 1992). В данной работе использованы два гексаплоидных образца с геномной формулой N^{Ch}N^{Ch}BBAА и один октоплоидный образец с геномной формулой N^{Ch}N^{Ch}BBAADD.

Ферменты анализировали общепринятыми методами (Генетика изоферментов, 1977). Был проведен анализ ферментов: 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6PGD, Е.С. 1.1.1.44), шикиматдегидрогеназы (SKDH, Е.С. 1.1.1.25), алкогольдегидрогеназы (ADH, Е.С. 1.1.1.1), ароматической алкогольдегидрогеназы, или дегидрогеназы коричневого спирта (AADH, Е.С. 1.1.1.90; Е.С. 1.1.1.91), изоцитратдегидрогеназы

(IDG, Е.С. 1.1.1.42), малик-фермента (ME, Е.С. 1.1.1.40), глутаматдегидрогеназы (GDH, Е.С. 1.4.1.2), глюкозофосфатизомеразы (GPI, Е.С. 5.3.1.9) (Классификация ..., 1962).

Результаты и обсуждение

6-фосфоглюконатдегидрогеназа (6-PGD, Е.С. 1.1.1.44) у злаков характеризуется двумя зонами: быстрой 6-PGD1 и медленной 6-PGD2. Согласно полученным результатам по обеим зонам наблюдается полиморфизм: 6-PGD ржи (№ 11, 12) отличается от 6-PGD пшеницы (№ 9, 10) (рис. 1, а).

Анализ замещенных линий выявил дополнительную зону в быстрой зоне при замещении 6R-6A (рис. 1, а, № 19, 20). Но дополнительный «ржаной» изофермент не соответствует по подвижности быстрой зоне 6-PGD ржи сорта Онохойская (рис. 2). Возможно, это связано с внутривидовым полиморфизмом 6-PGD у ржи, однако пока такой изофермент у ржи не обнаружен, вопрос остается открытым.

По медленной зоне 6-PGD обнаружены небольшие различия у линий с замещениями по

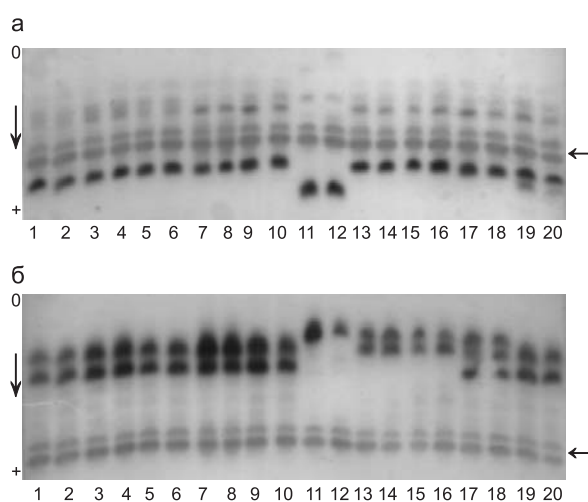


Рис. 1. Зимограмма 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-PGD) (а) и шикиматдегидрогеназы (SKDH) (б) у ржи, мягкой пшеницы и пшенично-ржаных замещенных линий.

1, 2 – 1R(1A); 3, 4 – 1Rv(1A); 5, 6 – 1R(1D); 7, 8 – 2R(2D)₃; 9, 10 – Саратовская 29; 11, 12 – Онохойская; 13, 14 – 5R(5A); 15, 16 – 5Rviet (5A); 17, 18 – 5R(5D); 19, 20 – 6R(6A)₁.

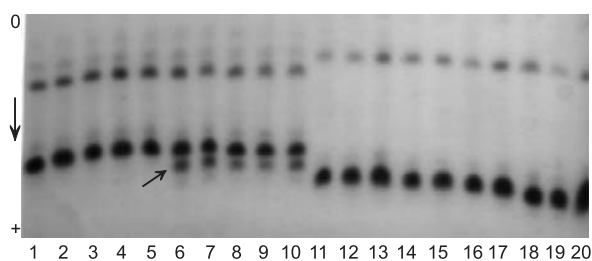


Рис. 2. Зимограмма 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-PGD) у ржи, пшеницы, и линии с замещением 6R(6A).

1–5 – Саратовская 29; 6–10 – 6R (6A)₁; 11–20 – Онохойская.

1-й хромосоме (рис. 1, а), хотя они не слишком четкие и сделать однозначный вывод нельзя.

По этому же медленному компоненту 6-PGD2 различаются диплоидные виды *T. monocosmum* L. (образец К-20970) и выделенная из этого образца *T. sinskajae* A. Filat. et Kurk. (рис. 3). Данный компонент локализован не в 5-й группе, поскольку в ржаных замещениях по 5-й группе ржаной компонент отсутствует. Этот результат не совпадает с утверждением, что различия между *T. monocosmum* и *T. sinskajae* связаны исключительно с 5-й хромосомой этих диплоидных видов (Kuspira *et al.*, 1989; Taenzler *et al.*, 2002).

Шикиматдегидрогеназа (SKDH, E.C. 1.1.1.25) четко локализуется в 5-й гомеологической группе (рис. 1, б), что совпадает с литературными данными (Schlegel, Melz1, 1993).

На зимограммах (рис. 1, а, б) кроме обозначенных ферментов появляется еще sdвоенная зона неспецифической окраски. На рис. 1, а

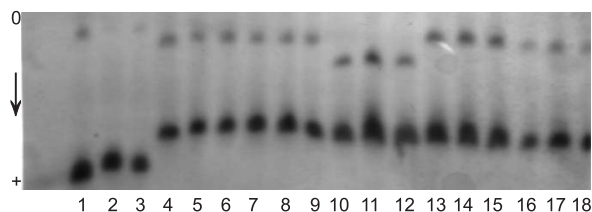


Рис. 3. Зимограмма 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-PGD) у ржано-пшеничных замещенных линий и однозернянок.

1–3 – Онохойская; 4–6 – 3R(3B); 7–9 – 5R(5A)сиб; 10–12 – *T. monocosmum* L. К-20970; 13–15 – *T. sinskaja* L.; 16–18 – 2R(2D)₁.

эта зона расположена между зонами 6-PGD1 и 6-PGD2, а на рис. 1, б – в более быстрой области, чем SKDH. Появление таких зон отмечали многие исследователи (Jaaska, 1978, 1980). Полагают, что это какая-то неспецифическая дегидрогеназа, которая способна превращать тетразолий в формазан в присутствии любого субстрата или вовсе без субстрата; или это дегидрогеназа, способная использовать в качестве субстрата компоненты буфера (возможно, ТРИС). По этой sdвоенной зоне никаких различий в исследуемом материале не обнаружено.

В 5-й группе довольно четко локализируются быстромигрирующие изоферменты ароматической алкогольдегидрогеназы (НАДФ-зависимая AADH) (рис. 4, б). Таким образом, в 5-й группе есть два довольно надежных маркера, *Skdh-1* и *Aadh-1*. По литературным данным, *Skdh-1* располагается в коротком плече, *Aadh-1* – в длинном (Schlegel, Melz1, 1993).

По обычной (алифатической) алкогольдегидрогеназе (ADH, E.C. 1.1.1.1) (рис. 4, а) есть четкие отличия ржи от пшеницы, но ржаной компонент на зимограмме не выявляется. Видимо, это вызвано тем, что линий с замещениями по 4-й группе нет, а по литературным данным

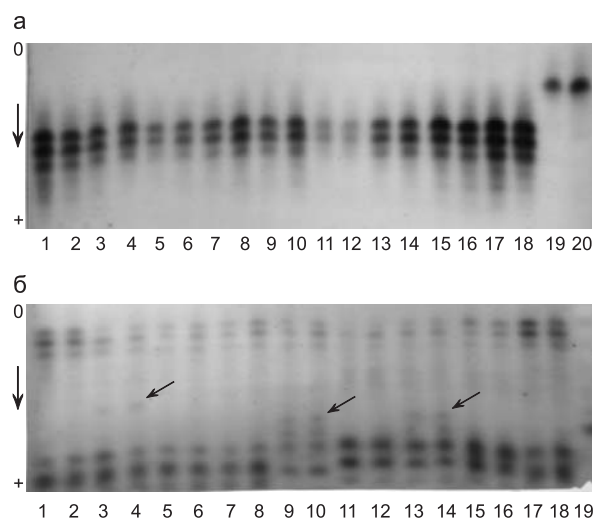


Рис. 4. Зимограмма алкогольдегидрогеназы (ADH) (а) и ароматической алкогольдегидрогеназы (AADH) (б) у ржи, пшеницы, и ржано-пшеничных замещенных линий.

1, 2 – 1R(1A); 3, 4 – 2R(2D)₃; 5, 6 – 3R(3B); 7, 8 – Саратовская 29; 9, 10 – 5R(5D); 11, 12 – 5Rviet (5A); 13, 14 – 5R(5A); 15, 16 – 5R(5A)сиб; 17, 18 – 6R(6A); 19, 20 – Онохойская (на (б) последняя дорожка не уместилась).

ген *Adh-1* локализован на хромосомах 4-й гомеологической группы (Schlegel, Melz1, 1993).

Обнаружены различия по ароматической алкогольдегидрогеназе между замещенными линиями (рис. 4, б): из четырех линий с замещениями по 5-й группе две имеют «ржаной» фрагмент, а две – нет.

Вторая, более медленная, зона ароматической АДГ (неспецифическая ароматическая алкогольдегидрогеназа, проявляющая активность как с НАД, так и с НАДФ), должна локализоваться в 6-й группе (Schlegel, Melz1, 1993), однако достоверных результатов не получено, так как рожь не отличается четко от пшеницы (возможно, это связано со слабой экспрессией этой зоны) (рис. 4, б).

Несколько линий мягкой пшеницы с ржаными замещениями – *Vrn6^{Sc}*, *Vrn7^{Sc}*, 7829, полученных в Селекционно-генетическом институте А.Ф. Стельмахом (Stelmakh, Avsenin, 1996), показывают результаты, несколько отличающиеся от линий, полученных в ИЦиГ СО РАН (Силкова и др., 2006, 2007). Ржаной фрагмент по быстрой ААДН отсутствует у линий *Vrn6^{Sc}*; *Vrn7^{Sc}*; 7829 (рис. 5, а, № 14–20). При этом у SKDN ржаной фрагмент присутствует. У двух

линий (*Vrn6^{Sc}* и *Vrn7^{Sc}*) отсутствует быстрый вариант пшеницы, так же, как у линий с замещениями 5R(5A) (рис. 5, б, № 14–17 и 4–9).

Образцы гибридного злака × *Tritordeum*, представляющие собой амфиплоиды пшеницы и ячменя, отличаются по ряду ферментов, несут характерные для исходных видов компоненты спектров (рис. 6, а, б; 7, а, б); следовательно, ячменные замещения могут быть обнаружены у пшеницы с фрагментами ячменных хромосом.

При окраске на активность глюкозофосфатизомеразы почти всегда в нижней части зимограммы проявляются изоферменты 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (рис. 9, б). Это явление, которое отмечают многие исследователи на разных объектах, обусловлено, по всей видимости, примесью 6-фосфоглюконовой кислоты во фруктозо-6-фосфате, который используется в качестве субстрата при окраске на активность GPI (Генетика изоферментов, 1977).

По трем ферментам (изоцитратдегидрогеназа, глутаматдегидрогеназа и малик-фермент, а также глюкозофосфатизомеразы) обнаружены отличия спектров ржи от спектров мягкой пшеницы (рис. 8, а, б; 9, а, б). Эти отличия можно использовать для исследований по локализации

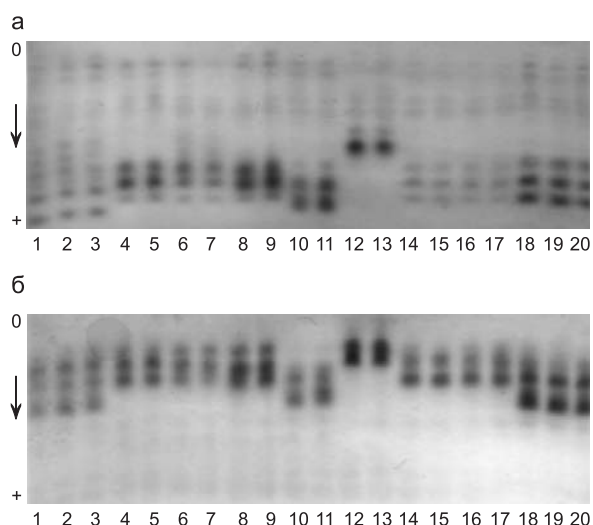


Рис. 5. Зимограмма ароматической алкогольдегидрогеназы (ААДН) (а) и шикиматдегидрогеназы (SKDN) (б) у пшенично-ржаных замещенных линий на основе разных сортов мягкой пшеницы.

1–3 – 5R(5D); 4, 5 – 5Rviet (5A); 6, 7 – 5R(5A); 8, 9 – 5R(5A)сиб; 10, 11 – Саратовская 29; 12, 13 – Онохойская; 14, 15 – *Vrn6^{Sc}*; 16, 17 – *Vrn7^{Sc}*; 18–20 – линия 7829.

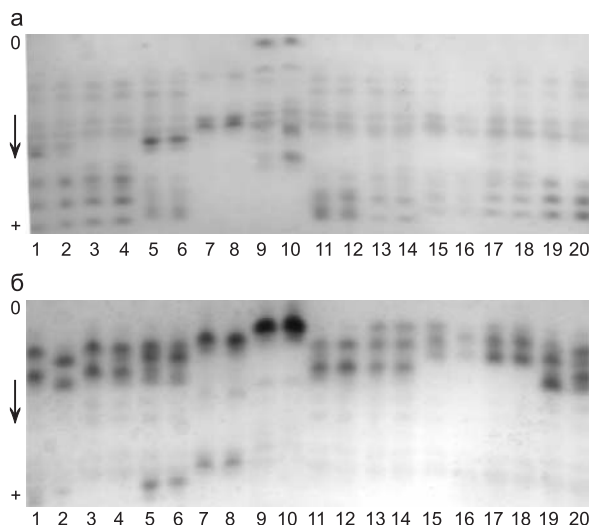


Рис. 6. Зимограмма ароматической алкогольдегидрогеназы (ААДН) (а) и шикиматдегидрогеназы (б) у пшенично-ржаных замещенных линий и разногенетических образцов × *Tritordeum*.

1, 2 – × *Tritordeum* 6x; 3, 4 – × *Tritordeum* 6x; 5, 6 – × *Tritordeum* 8x; 7, 8 – *Hordeum vulgare* L.; 9, 10 – Онохойская; 11, 12 – Саратовская 29; 13, 14 – 5R(5D); 15, 16 – 5Rviet (5A); 17, 18 – *Vrn7^{Sc}*; 19, 20 – линия 7829.

соответствующих генов (кроме GPI, которая локализована в хромосомах 1-й гомеологической группы). Для этого необходимы наборы замещений по всем хромосомам.

Таким образом, по большинству ферментов обнаружены различия ржаных, пшеничных и

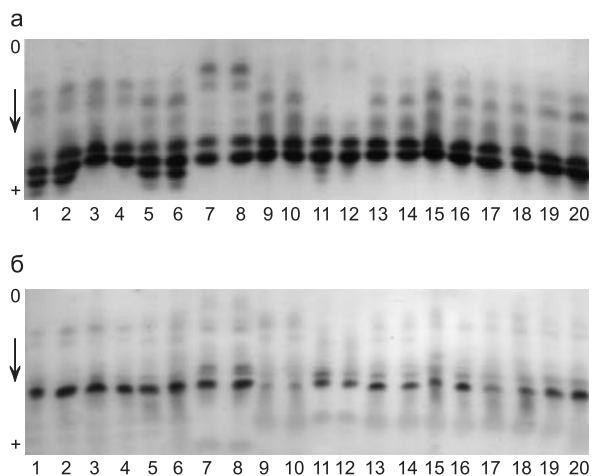


Рис. 7. Зимограмма изоцитратдегидрогеназы (IDH) (а) и малик-фермента (МЕ) (б) у ржи, пшеницы, ячменя, пшенично-ржаных замещенных линий и образцов *×Tritordeum*.

1, 2 – *×Tritordeum* 6x; 3, 4 – *×Tritordeum* 6x; 5, 6 – *×Tritordeum* 8x; 7, 8 – *Hordeum vulgare* L.; 9, 10 – Саратовская 29; 11, 12 – Онохойская; 13, 14 – 5R(5D); 15, 16 – 5Rviet(5A); 17, 18 – Vm7^{Sc}; 19, 20 – 7829.

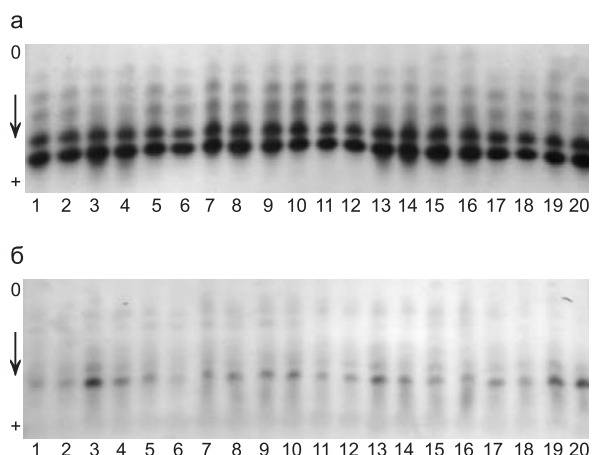


Рис. 8. Зимограмма изоцитратдегидрогеназы (IDH) (а) и малик-фермента (б) у пшенично-ржаных замещенных линий.

1, 2 – 1R(1A); 3, 4 – 2R(2D); 5, 6 – 1R(1D); 7, 8 – 1Rv(1A); 9, 10 – 6R(6A)₁; 11, 12 – 5R(5A); 13, 14 – 2R(2D)₁; 15, 16 – 3R(3B); 17, 18 – 5R(5A)сиб; 19, 20 – Vm7^{Sc}.

ячменных вариантов исследованных ферментных белков. Заметных различий не обнаружено по алифатической алкогольдегидрогеназе и неспецифической ароматической алкогольдегидрогеназе.

Наиболее интересным результатом проведенных исследований является обнаружение полиморфизма между однотипными замещенными линиями. Так, например, наблюдаются различия между линиями с замещением по 5-й хромосоме по спектрам шикиматдегидрогеназы и ароматической алкогольдегидрогеназы. Возможно, эти различия отражают полиморфизм исходных форм ржи и пшеницы. Однако не исключена и другая возможность: одни и те же генетические элементы по-разному экспрессируются в различном генотипическом окружении.

При создании и поддержании генетических коллекций необходимо проводить типификацию и паспортизацию образцов, контролировать сохранение генетической конституции (или отслеживать изменения, если таковые будут

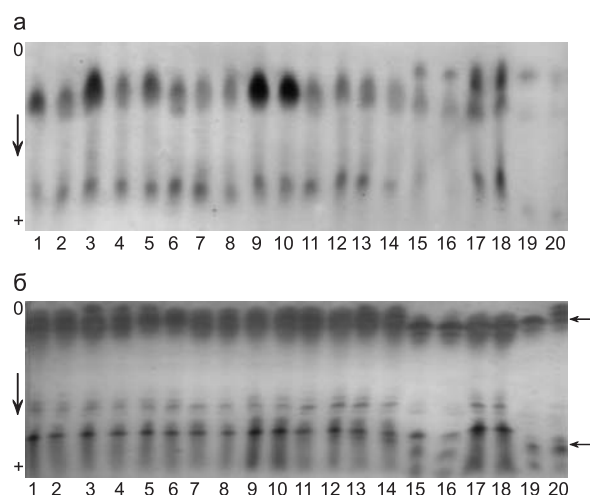


Рис. 9. Зимограмма глутаматдегидрогеназы (GDH) (а) и глюкозофосфатизомеразы (б) у пшенично-ржаных замещенных линий, ржи, пшеницы-однозернянки и пшеницы Синской (на (б) – зона в верхней части зимограммы; в нижней части зимограммы проявляются изоферменты 6-фосфоглюконатдегидрогеназы).

1, 2 – 1R(1A); 3, 4 – 1R(1D); 5, 6 – 1Rv(1A); 7, 8 – 2R(2D)₃; 9, 10 – 3R(3B); 11, 12 – 5R(5D); 13, 14 – 6R(6A)₁; 15, 16 – *T. monococtum* K-2097; 17, 18 – *T. sinskajae*; 19, 20 – *S. cereale* (Онохойская).

происходить в процессе репродукции). Такую работу необходимо проводить на всех уровнях структурно-функциональной организации организмов: молекулярном, биохимическом, цитологическом, онтогенетическом, репродуктивном и популяционном.

Ферментные маркеры отличаются тем, что несут конкретную функциональную нагрузку, которая, как правило, хорошо известна (особенно для генов «домашнего хозяйства»). В этом качестве зимограммы образцов могут быть использованы не только как формально-генетические маркеры, но и для построения генетических моделей тех или иных признаков.

Литература

- Генетика изоферментов / Под ред. Д.К. Беляева. Новосибирск: Наука, 1977. 275 с.
- Гончаров Н.П. Сравнительная генетика пшениц и их сородичей. Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2002. 252 с.
- Гончаров Н.П., Коновалов А.А. Наследование глюкозофосфатизомеразы, остистости, опушения колоса и типа развития у *Aegilops speltoides* и *Ae. aucheri* // Генетика. 1996. Т. 32. № 5. С. 656–662.
- Классификация и номенклатура ферментов. М.: Изд-во иностр. лит., 1962. 200 с.
- Сибикеев С.Н., Сибикеева Ю.Е., Крупнов В.А. Передача хромосомы 5R через гаметы и ее влияние на эмбриогенез у яровой мягкой пшеницы // Генетика. 2005. Т. 41. № 12. С. 1650–1655.
- Силкова О.Г., Добровольская О.Б., Дубовец Н.И. и др. Создание пшенично-ржаных замещенных линий с идентификацией хромосомного состава кариотипов методами С-бэндинга, GISH и SSR-маркеров // Генетика. 2006. Т. 42. № 6. С. 793–802.
- Силкова О.Г., Добровольская О.Б., Дубовец Н.И. и др. Получение пшенично-ржаных замещенных линий на основе озимых сортов ржи с идентификацией кариотипов методами С-бэндинга, GISH и SSR-маркеров // Генетика. 2007. Т. 43. № 8. С. 1149–1152.
- Alvarez J.B., Ballesteros J., Sillero J.A., Martin L.M. Tritordeum: a new crop of potential importance in the flood industry // Hereditas. 1992. V. 116. № 3. P. 193–197.
- De Bustos A., Rubio P., Jouve N. Characterisation of two gene subunits on the 1R chromosome of rye as orthologs of each of the Glu-1 genes of hexaploid wheat // Theor. Appl. Genet. 2001. V. 103. P. 733–742.
- Driscoll C.S., Sears E.R. Individual addition of the chromosomes of Imperial rye to wheat // Agron. Abstr. 1971.
- Dundas, I.S., Frappell D.E., Crack D.M., Fisher J.M. Deletion mapping of a nematode resistance gene on rye chromosome 6R in wheat // Crop Sci. 2001. V. 41. P. 1771–1778.
- Friebe B., Larter E.N. Identification of a complete set of isogenic wheat/rye D-genome substitution lines by means of Giemsa C-banding // Theor. Appl. Genet. 1988. V. 76. P. 473–479.
- Goncharov N.P. Genetics of growth habit (spring vs. winter) in common wheat: confirmation of the existence of dominant gene *Vrn4* // Theor. Appl. Genet. 2003. V. 107. P. 768–772.
- Goncharov N.P., Konovalov A.A., Chikida N.N. Genetic variation at the *Gpi-1* loci among *Aegilops* and *Triticum* genera and phylogeny of polyploid wheats // Журн. общ. биологии. 1998. Т. 59. № 3. С. 318–324.
- Jaaska, V. NADP-dependent aromatic alcohol dehydrogenase in polyploid wheats and their relatives: on the origin and phylogeny of polyploid wheats // Theor. Appl. Genet. 1978. V. 53. P. 209–217.
- Jaaska V. Electrophoretic survey of seedling esterases in wheats in relation to their phylogeny // Theor. Appl. Genet. 1980. V. 56. P. 273–284.
- Kuspira J., Maclagan J., Bhambhani R. N. *et al.* Genetic and cytogenetic analyses of the A genome of *Triticum monococcum* L. V. Inheritance and linkage relationships of genes determining the expression of 12 quantitative characters // Genome. 1989. V. 32. № 5. P. 869–881.
- Schlegel R., Melz G. Genetic linkage map of rye (*Secale cereale*). Genetic maps. 6th Cold Spring Harbor Lab. Press. 1993. P. 6.235–6.255.
- Shchapova A.I., Kravtsova L.A. The production of wheat-rye substitution lines by using the Giemsa staining technique // Cereal Res. Commun. 1982. V. 1/2. P. 33–39.
- Stelmakh A.F., Avsenin V.I. Alien introgression of spring habit dominant genes into bread wheat // Euphytica. 1996. V. 89. P. 65–68.
- Taenzler B., Esposti R.F., Vaccino P. *et al.* Molecular linkage map of einkorn wheat: mapping of storage-protein and soft glume genes and bread-making quality QTLs // Genet. Res. (Camb.). 2002. V. 80. P. 131–143.

**ENZYME POLYMORPHISM IN GENETIC COLLECTIONS
OF THE RYE–WHEAT SUBSTITUTION LINES AND THE ACCESSIONS
OF \times TRITORDEUM WITH DIFFERENT GENOME RATIOS**

A.A. Konovalov, O.G. Silkova, A.I. Shchapova, E.A. Moiseeva, E.Ya. Kondratenko

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: konov@bionet.nsc.ru

Summary

The isozyme pattern of 6-phosphogluconate dehydrogenase (6PGD, EC 1.1.1.44), shikimate dehydrogenase (SKDH, EC 1.1.1.25), alcohol dehydrogenase (ADH, EC 1.1.1.1), aromatic alcohol dehydrogenase or cinnamyl alcohol dehydrogenase (AADH, EC 1.1.1.90 and EC 1.1.1.91), isocitrate dehydrogenase (IDG, EC 1.1.1.42), malik-enzyme (ME, E.C. 1.1.1.40), glutamate dehydrogenase (GDH, EC 1.4.1.2), glucose-6-phosphate isomerase (GPI, EC 5.3.1.9) were studied in the rye – wheat substitution lines *T. aestivum* cv. Saratovskaya 29/*S. cereale* cv. Onokhoyskaya: 1R (1A), 1Rv (1A), 1R (1D), 2R (2D)₁, 2R (2D)₃, 3R (3B), 5R (5A), 5R (5D), 5Rviet (5A), 6R (6A)₁ (Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Science); Vrn6^{Sc}, Vrn7^{Sc}, 7829 (Breeding and Genetics Institute, The Ukraine); 5R(5A)sib (Agricultural Institute of The South-East, Saratov), and in the accessions of \times Tritordeum with different genome ratios. The presence of alien genetic material (rye and barley) is revealed with all studied markers except alcohol dehydrogenase and nonspecific aromatic alcohol dehydrogenase. Distinction between the lines with the same replacements on rye chromosome 5R has been drawn. As the donors of chromosome 5R are different, this distinction may be due to polymorphism of the initial samples used in hybridization.