

У.Д.К.:634.8:[581.19+631.541.12] (478)

**ОСОБЕННОСТИ ИЗОФЕРМЕНТНОГО СПЕКТРА ПЕРОКСИДАЗ
ЛИСТЬЕВ У ПОДВОЙНЫХ СОРТОВ И ПРИВОЙНО-ПОДВОЙНЫХ
КОМБИНАЦИЙ ВИНОГРАДА**

АНТОНИНА ДЕРЕНДОВСКАЯ, А. ШТИРБУ

Государственный аграрный университет Молдовы

Abstract. The investigations were carried out on grape rootstock varieties B×R 5BB, B×R SO4 (*Vitis berlandieri* × *Vitis riparia*), R×R 101-14 (*Vitis riparia* × *Vitis rupestris*) and 44-53 M (*Vitis riparia* × 144M (*Vitis cordifolia* × *Vitis rupestris*)), and grafted on their table grape varieties, originating from different ecological and geographical zones: Loose Perlette and Summer Muscat (hybrids between varieties of the Euro-Asian species *Vitis vinifera* L.), Monukka (representative of the eastern varieties *Convar orientalis* Negr.), Italia (representative of the northern Africa varieties *Convar nord Africa* Gram.). It is established, that isoenzymes spectrum of peroxidase in the leaf tissues on rootstock varieties varies, depending on their genetic origin. At grafting scion varieties on different rootstocks in the leaf tissues is observed the activity of isoenzymes in the spectral zones characteristic for the rootstock varieties.

Key words: Grafting, Peroxidase, Isoenzymes Rootstock, Scion.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно гипотезе G.W. Beadle и E.L. Tatum определение гена заключается в формуле «1 ген = 1 фермент». Таким образом, ген контролирует синтез и функции одного фермента. Данное открытие послужило началом нового направления в ампелографии по проблеме идентификации различных сортов (клонов) винограда. Перспективы использования генетических маркеров в определении сортов растений значительно расширились с открытием полиморфизма белков. Оказалось возможным определять по белкам-маркерам принадлежность растения к виду, сорту, биотипу, устанавливать степень родства или генетической совместимости культурных растений с их дикими сородичами, выявлять генетическую гетерогенность в морфологически однородных популяциях и др. (Рисованная и др., 1996; Rotaru, 2005; Трошин и др., 2008).

Следует отметить, что изоферментный состав растений непостоянен. Отдельные изоферменты различаются по температурным факторам, оптимумам pH, отношению к ингибиторам и другим свойствам. Одновременное присутствие в клетках множественных молекулярных форм, одного и того же фермента, способствует согласованности процессов обмена веществ в растениях и быстрой их адаптации к изменениям как условий внешней среды, так и эндогенных факторов (Плешков, 1987; Белицкий и др., 1986; Негру и др., 1991; Graskova и др., 2006; Gonzalez-Verdejo etc., 2006; Орлова и др., 2007).

Учитывая индуцибельность фермента пероксидазы, катализирующего большое число реакций и отличающегося множественностью молекулярных форм (Садвакасова, Кунаева, 1987), нами исследованы особенности его изоферментного спектра в тканях листьев у подвойных сортов и привитых на них столовых сортов винограда.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на подвойных сортах винограда В×R 5ВВ и В×R SO4 (*Vitis berlandieri* × *Vitis riparia*), R×R 101-14 (*Vitis riparia* × *Vitis rupestris*) и 44-53 М (*Vitis riparia* × 144М (*Vitis cordifolia* × *Vitis rupestris*)), а также привитых на них столовых сортах винограда, происходящих из различных эколого-географических зон: Loose Perlette и Summer Muscat (гибриды между сортами европейско-азиатского вида *Vitis vinifera* L.), Monukka (представитель группы восточных сортов *Convar orientalis* Negr.), Italia (представитель группы сортов Северной Африки *Convar nord Africa* Gram.).

Определение изоферментного спектра пероксидазы в образцах тканей листьев нами проведено в стадии их морфологической стабилизации, совпадающей с фазой созревания ягод (Рисованная и др., 1996). Белки пероксидазы извлекали 0,1 М трис-буфером в щелочной среде (pH=9,2). Разделение проводили методом вертикального диск-электрофореза в 12% полиакриламидном геле (Сафонов, Сафонова, 1971).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что изоэнзимы пероксидазы листьев у подвойных сортов винограда, гибридов между американскими видами, используемых в качестве

подвоев, различаются, в зависимости от их генетического происхождения. Так, в тканях листьев у сортов В×R 5BB, В×R SO4 и 44-53М изоферментный спектр пероксидазы представлен 7-ю, у R×R 101-14 - 6 фракциями, с различной электрофоретической подвижностью. В области спектра медленно подвижных фракций белков (Rf от 0,01 до 0,33) выявлено 3 зоны, которые слабо различимы между подвойными сортами.

В зоне среднеподвижных белков у исследуемых подвойных сортов выявлена идентичная фракция изоэнзимов с Rf – 0,36 указывающая, по-видимому, на наличие родительских генов от вида *Vitis riparia*. У сортов, включающих родительские гены вида *Vitis berlandieri* (В×R 5BB и В×R SO4), выделяется зона с Rf – 0,26, у сорта 44-53М, сложного гибрида (*Vitis riparia* × (*Vitis cordifolia* × *Vitis rupestris*)) - Rf – 0,31.

Фракция с быстроподвижными изоферментами у исследуемых подвойных сортов представлена 2-мя зонами с Rf от 60 до 64 (рис. 1).

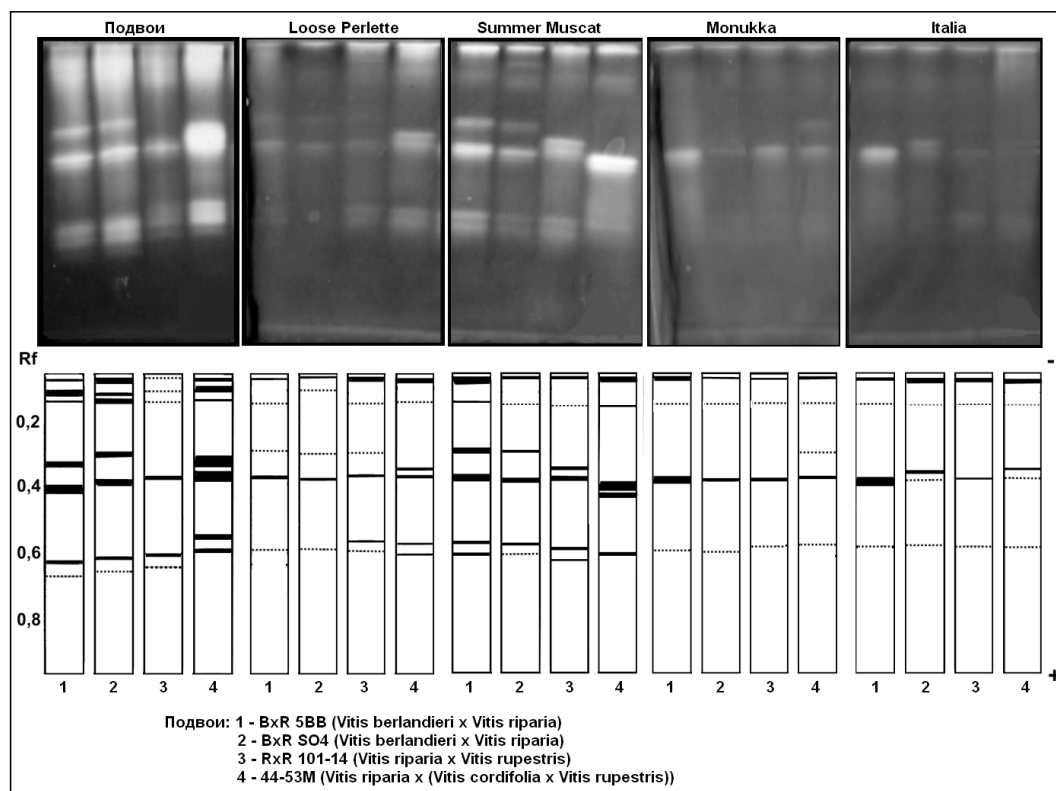


Рис. 1. Электрофоретический спектр изоэнзимов пероксидазы листьев у подвойных и привитых на них столовых сортов винограда. 2008 г.

Показано, что изоферментный спектр пероксидаз в тканях листьев у привойных сортов сильно варьирует в зависимости от их биологических особенностей, а также сорта подвоя, на котором они привиты. Так, в зоне медленно-подвижных энзимов у всех исследуемых сортов винограда выделяется фракция с Rf - 0,02 и слабопроявляющаяся зона с Rf - 0,12. В зоне

средне подвижных белков у Loose Perlette и Summer Muscat, гибридов между сортами европейско-азиатского вида, выявлено две четкие фракции белков, с R_f - 0,26-0,36. У сортов Monukka (из восточной эколого-географической зоны) и Italia (из группы сортов Северной Африки) в этой зоне отчетливо проявляется одна фракция изоэнзимов с R_f - 0,36. Фракции быстроподвижных белков у сортов Loose Perlette и Summer Muscat представлены, в основном 2-мя зонами, с R_f - 0,58-0,62. У сортов Monukka и Italia в этой зоне обнаружена минорная фракция с R_f - 0,60.

Характерно, что при прививке столовых сортов винограда на различные подвои происходит изменение электрофоретической подвижности изоферментного спектра пероксидаз, особенно среднеподвижных фракций. Наблюдается специфическое проявление зон изоэнзимов в листьях привойных сортов, с электрофоретической подвижностью фракций, свойственных подвойным сортам.

По-видимому, характер данных изменений связан с влиянием подвоев на экспрессию генов в привое. Так, исследованиями P.J. Jensen и др. (2003) с растениями яблони *Malus domestica* Borkh. показано, что одним из молекулярных эффектов прививки является изменение экспрессии генов в привое, что и приводит к различным физиологическим реакциям растения. Установлено, что при прививке на M9T337 в привое активируется экспрессия ряда генов, отвечающих за процессы фотосинтеза, транскрипции/трансляции и деления клеток. В то же время, при прививке на M7EMLA в привое наблюдается высокая активность некоторых генов, связанных с ответом на стрессовые воздействия.

Подобная зависимость наблюдалась в исследованиях Ч.Ц. Чжан и др. (2008). Авторы прививали растения баклажана *Solanum melongena* Linn. на томат *Lycopersicon esculentum* Mill. Показано, что влияние подвоя (томат) на экспрессию ряда генов в привое (баклажан) проявляется в их стимуляции или подавлении, которые выполняют различные функции: регуляцию общего метаболизма, ответы на стрессовые воздействия, регуляцию клеточного цикла/деления и транскрипции/трансляции.

ВЫВОДЫ

Установлено, что изоферментный спектр пероксидазы в тканях листьев варьирует у подвойных сортов, в зависимости от их генетического происхождения. При прививке на них столовых сортов в тканях их листьев проявляется активность изоэнзимов в области спектра, характерного для подвойных сортов.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Graskova I.A., Kolesnichenko A.V., Voinikov V.K. The effect of hypo- and hyperthermia on the infection of potato by *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. In: Journal of Stress Physiology & Biochemistry. 2006, Vol. 2, No. 2, p. 17-22.
2. Gokbayrak Z. etc. Determination of grafting compatibility of grapevine with electrophoretic methods. In: Scientia Horticulturae. 2007, Vol. 113, p. 343-352.
3. Gonzalez-Verdejo C.I. etc. A peroxidase gene expressed during early developmental stages of the parasitic plant *Orobanche ramosa*. In: Journal of Experimental Botany. 2006, Vol. 57, No. 1, p. 185-192.
4. Jensen P.J. etc. Rootstock Effects on Gene Expression Patterns in Apple Tree Scions.

- In: *Plant Molecular Biology*. 2003, Vol. 53, p. 493-511.
5. Rotaru L. Caracterizarea soiurilor și selecțiilor de vițe portaltol prin studiul profilului enzimatic al lăstarilor, cu ajutorul electroforezei. În: *Revista Politică Științei și Scientometrie*. 2005, Număr special.
 6. Андреева В.А. Фермент пероксидаза. Москва: Наука, 1988, 128 с.
 7. Дерендовская А.И., Штирбу А.В. Изменение активности изоферментного спектра пероксидазы в лубе привитых черенков винограда в процессе их регенерации. În: *Lucrări științifice, UASM. Chișinău*, 2007, vol. 15 (2), p. 89-92.
 8. Негру П.В. и др. Особенности эндогенной регуляции ростовых процессов, компонентного состава белков, пероксидазы и о-дифенолоксидазы в связи с действием ТУРа, условиями произрастания, продуктивностью и зимостойкостью растений. В: *Метаболизм, зимостойкость и продуктивность винограда при различных условиях произрастания*. Кишинев: Штиинца, 1991, с. 3-27.
 9. Орлова А.Г. и др. Влияние гипертермии на активность пероксидазы и ИУК-оксидазы проростков пшеницы. В: *Биология: Вестник нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского*. 2007, №3, с. 116-118.
 10. Рисованная В.И., Трошин, Л.П. и др. Идентификация фенотипов винограда по спектрам изоферментов. В: *Виноград и вино России*. 1996, № 4, с. 14-17.
 11. Садвакасова Г.Г., Кунаева Р.М. Некоторые физико-химические и физиологические свойства пероксидазы растений. В: *Физиология и биохимия культурных растений*. 1987, т. 19, № 2, с. 107-119.
 12. Сафонов В.И., Сафонова М.П. Исследование белков и ферментов растений методом электрофореза в полиакриламидном геле. В: *Биохимические методы в физиологии растений*. Москва: Наука, 1971, с. 113-136.
 13. Трошин Л.П., Звягин А.С., Подваленко П.П. Проблемы идентификации винограда. В: *Виноделие и виноградарство*. 2008, № 1, с. 34-35.
 14. Чжан Ч.Ц. и др. Влияние подвоя (томат) на экспрессию генов в привое (баклажан). В: *Физиология растений*. 2008, т. 55, № 1, с. 100-107.