

УДК 577.151:581.19:634.25

И.К. КУДРЕНКО, Г.П. КАШЕВАРОВ, П.А. МОРОЗ

Национальный ботанический сад им. Н.Н. Гришко НАН Украины
Украина, 01014 г. Киев, ул. Тимирязевская, 1

ИЗОФЕРМЕНТНЫЙ СОСТАВ ПЕРСИКА (*PERSICA VULGARIS* MILL.)

*Изложены результаты изучения изоферментного состава селекционного фонда *Persica vulgaris* Mill. Приведена история создания коллекции персика в Национальном ботаническом саду им. Н.Н. Гришко НАН Украины, определены возможности применения изоферментного анализа в селекционной работе. Сделан вывод, что изофермент пероксидазы можно использовать как маркер для селекции персика на зимостойкость.*

Работы по селекции персика в Национальном ботаническом саду им. Н.Н. Гришко НАН Украины были начаты И.М. Шайтаном. Исходным материалом для выведения стойких сортов персика явилась группа североазиатских персиков, западноевропейские и американские сорта. В селекции также был использован генофонд персика академика Н.Ф. Кащенко. Благодаря селекционному процессу, направленному на повышение зимостойкости персика, стало возможным его культивирование в Лесостепи Украины.

Отбор "августовских" персиков Н.Ф. Кащенко (названных так по срокам их созревания) дал возможность выделить несколько сортов, выдающихся по вкусу и размерам плода. Это в основном плоды с белой мякотью, косточкой, которая отстает, и красной опушенной кожицей. Но почти все сорта имели недостаток — они сильно поражались мучнистой росой. Поэтому в селекционную работу в течение 1950—1960 гг. И.М. Шайтаном были привлечены новые сорта, полученные из Китая, Северной Америки и Восточной Европы. От этих сортов киевские селекционные формы унаследовали такие качества плодов, как повы-

шенная зимостойкость, крупные размеры, желтоплодность, транспортабельность. Новые гибриды получены от сортов и форм как североазиатской, так и иранской групп, с розоцветным (большинство) и колокольчатый типом цветения.

В отделе акклиматизации плодовых растений Национального ботанического сада НАН Украины им. Н.Н. Гришко выведено 11 сортов персика, отличающихся повышенной зимостойкостью.

Кроме того, на основе интродуцированных дикорастущих видов персика (*Persica vulgaris* × *P. davidiana* Carr.) методом отдаленной гибридизации выведен новый сорт персика — Подвойный. Дикорастущие виды обладают ценными качествами — зимостойкостью, иммунитетом к вирусным и другим заболеваниям. Передача этих качеств от дикорастущих растений скрещиванием их с культурными сортами — важнейшая задача. Наиболее морозостойкие гибриды были выведены при использовании дикорастущего персика, а именно, вида *Persica vulgaris* форма Мао-тха-ор и *P. davidiana*. Один из доноров морозостойкости для гибридизации — сорт Полесский (Августовский Кащенко 163 × Мао-тха-ор).

Многолетние наблюдения показывают, что несмотря на критические для персика

условия произрастания в Лесостепи Украины, надземная часть редко повреждается, а культура персика как быстрорегенерирующая и не имеющая периодичности дает урожай почти каждый год. За последние 15 лет урожая плодов не было после зимы 1986—1987 гг., а также в 1997 г., когда весенние заморозки повредили генеративные почки у некоторых сортов, в частности у Нектарина киевского. Можно считать, что в условиях Лесостепи Украины урожай плодов персика не имеет периодичности, природные аномалии, вызывающие потерю урожая наблюдались один раз в 7—10 лет. Однако при этом необходимо отметить, что формы и сорта отличаются по зимостойкости. Поэтому для селекционной работы очень важно выделить гибриды, обладающие повышенной зимостойкостью. Полигенный характер наследования морозостойкости затрудняет генетическое маркирование конкретного индивидуума [14].

Многолетние наблюдения показывают, что в одной интродукционной популяции независимо существует несколько форм, отличающихся по своим экологическим требованиям. Отбор наиболее стойких к стрессовым факторам среды (для персика в наших условиях это прежде всего низкие температуры и резкая смена высоких и низких температур при зимних и весенних оттепелях) особой помог создать сорта, приспособленные к условиям Лесостепи Украины. Как известно, сорт является определяющим фактором повышения продуктивности культуры.

Селекционная работа, особенно у плодовых видов растений, требует длительного времени. Иногда результат можно получить через десятки лет. Применение таких методов исследования, как электрофорез, ускоряет выявление селекционных номеров с заданными качествами [1, 7]. Потому использование метода изоферментного анализа позволило быстрее отбирать особи с ценными признаками. Те гибриды, которые благодаря рекомбинации генов смогли выжить в стрессовых условиях среды,

генетически закрепили эти свойства в белковых молекулах. Белок, а точнее полипептид — первичный продукт реализации наследственного кода, — по своей сути является фенотипическим признаком, который значительно лучше и полнее отражает специфические особенности конкретного индивидуума, чем любые морфологические признаки [15].

Метод электрофоретического разделения белков и в особенности изоферментов как молекулярно-генетических маркеров является наиболее точным, эффективным и надежным при изучении полиморфизма популяций, так как каждая белковая молекула обладает определенным строго индивидуальным размером, молекулярным весом и т.д. [12]. Поэтому в настоящее время он часто применяется для определения генетических особенностей конкретной особи, описания генетической структуры и дифференциации популяции [3, 16].

С целью генотипической идентификации различных сортов селекции НБС им. Н.Н. Гришко НАН Украины для персика был проведен сравнительный анализ трех ферментных систем у растений 16 генотипов (на стадии распускания почек исследованы их гомогенаты). Электрофоретическое разделение ферментов проводили на приборе ЭЛФ-2 в вертикальных пластинках 7,5% полиакриламидного геля по методике М.Т. Conkle с соавт. [19] в модификации Г.Г. Гончаренко, В.Е. Падутова [4]. Гистохимическое проявление зон ферментативной активности изучали по стандартным методикам [8, 11].

Была установлена неоднородность исследуемого материала по интенсивности окрашивания зон активности ферментных систем. Однако при этом сорта, принадлежащие к *Persica vulgaris*, имели одинаковое количество зон активности ферментных систем: пероксидаза — 3, эстераза — 3; лейцинаминопептидаза — 2.

Одним из основных изоферментов, определяющих многие функции растительного

организма, является пероксидаза [2, 5, 10], потому особый интерес у нас вызывало сравнительное изучение содержания пероксидазы в различных сортах персика, так как считается, что ее большее количество соответствует более зимостойким формам [6, 9]. Выявление таких гибридов особенно важно для селекции персика на зимостойкость.

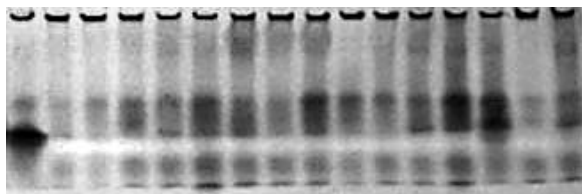
Изофермент пероксидаза на электрофореграмме представлен двумя зонами активности, из которых наиболее интенсивно окрашена вторая. По более интенсивному окрашиванию второй зоны активности PRX выделялись наиболее зимостойкие растения: дикорастущий вид *P. davidiana*, созданный с его участием сорт Подвойный (Спутник) (*Persica vulgaris* × *P. davidiana*), а также сорт Киевский желтоплодный селекции НБС им. Н.Н. Гришко. На электрофореграмме видно, что именно у упомянутых форм прослеживается наибольшая интенсивность окрашивания спектров этого изофермента (рис. 1). Ранее было доказано на примере пшеницы, что активность пероксидазы возрастает у наиболее зимостойких сортов. В то же время, наиболее слабое окрашивание зон активности имеют сорта Антоциановый и Редхейвен, не отличающиеся достаточной зимостойкостью. Сорт Днепровский, полученный многолетними отборами из семян сорта Дружба, более морозостойкий и имеет более насыщенные спектры пероксидазы. Изменения метаболизма этого сорта в результате интродукции его в северные условия свидетельствует об успешной адаптации сорта Днепровский, который является более зимостойким, чем сорт Дружба. Сравнивая электрофореграммы этих сортов по разным изоферментам можно видеть сходные линии, что также отражает их близкородственное происхождение. По интенсивности окрашивания зон активности выделяется и сорт Киевский ранний, имеющий длительную историю произрастания в Лесостепи Украины (элиминирующий отбор среды действовал около 90 лет).

Недостаточно зимостойкие для условий Лесостепи Украины сорта Нектарин киевский, Желтоплодный ранний, Редхейвен и Антоциановый по изоферментным спектрам довольно сходны. Их спектры менее интенсивны, чем у описанных ранее зимостойких сортов. Таким образом, изофермент пероксидазы можно использовать как маркер в селекции персика на зимостойкость.

Лейцинаминопептидаза (LAP) — один из представителей большой группы аминопептидаз. Эти ферменты разрывают пептидные связи между различными аминокислотными остатками белковой молекулы с образованием L-аминокислот. При анализе наших образцов LAP проявилась в виде двух зон ферментативной активности, причем первая зона, наиболее интенсивно окрашенная, имеет и более высокую активность у всех 16 сортов. Данный фермент является мономером и контролируется у косточковых двумя генами — LAP-1 и LAP-2. На фоне примерно одинаковых изоферментных спектров сортов на основе *Persica vulgaris* выделялись Нектарин киевский (голоплодный персик) и персик Давида (рис. 2).

Наиболее многокомпонентна эстераза (EST), проявляющая себя как мономер [13]. Сорта хорошо различимы по электрофоретическому спектру эстеразы, а наличие четко выделяющихся зон активности доказывает, что они контролируются разными локусами. Наиболее интенсивно окрашенными зонами активности эстеразы обладали сорт Полесский (в родословную которого входила дикорастущая форма Мао-тха-ор), дикорастущий вид персик Давида, сорт Днепровский и гибрид, полученный с его участием, — Спутник. Более высокую степень активности имел сорт Днепровский (рис. 3).

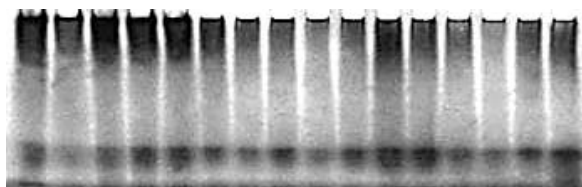
Анализ генотипических особенностей 16 лучших сортов и гибридов персика показал неоднородность изучаемых особей. По интенсивности окрашивания зон активности изоферментов персика разных сортов чет-



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16

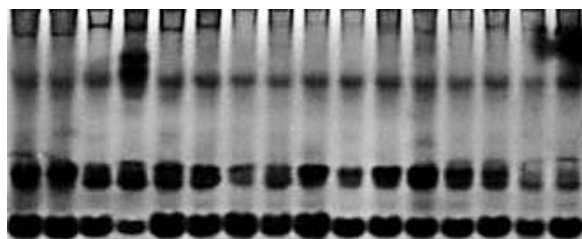
Рис. 1. Peroксидаза. Тут и на рис. 2 и 3:

1 — персик Давида; 2 — Антоциановый; 3 — Ред-хейвен; 4 — Полесский; 5 — Инжирный желтоплодный; 6 — Светозар; 7 — Осенний сюрприз; 8 — Славутич; 9 — Киевский ранний; 10 — Дружба; 11 — Нектарин киевский; 12 — Днепровский; 13 — Киевский желтоплодный; 14 — Спутник; 15 — Инжирный белоплодный; 16 — Желтоплодный ранний



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16

Рис. 2. Лейцинаминопептидаза



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16

Рис. 3. Эстераза

ко различаются. Наиболее насыщенной и информативной является вторая зона для всех изоферментов. Сорт Полесский резко отличается от других сортов и гибридов по третьей зоне у эстеразы, а персик Давида и сорт Спутник имеют отличия в окрашивании спектра между первой и второй зонами. При этом общее количество зон на электрофореграммах трех изоферментов у разных сортов и гибридов одинаково, так как они

принадлежат к одному виду. Дикорастущий вид *P. davidiana* и созданный с его участием сорт Подвойный (Спутник) (*Persica vulgaris* × *P. davidiana*) несколько отличаются по спектрам от сортов на основе *Persica vulgaris*.

Современный уровень селекции требует привлечения знаний из различных областей науки — физиологии, биохимии, почвоведения, микробиологии, генетики, экологии и др. Использование изоферментного анализа при изучении генофонда *Persica vulgaris* показало его перспективность для выявления зимостойких гибридов, а также возможность идентификации селекционных номеров по зонам активности изоферментов. В связи с тем, что персик является одной из приоритетных плодовых культур в странах-производителях плодов, проводятся исследования его ДНК, генетической карты [18, 20, 22]. Особый интерес вызывает за рубежом изучение закономерностей наследования ферментного состава у гибридов персика для улучшения их качества [17, 21]. Качественное определение спектра доступной отбору генотипической изменчивости особенно актуально для южных плодовых культур.

1. Айала Д. Введение в популяционную и эволюционную генетику. — М.: Мир, 1984. — 232 с.

2. Бонюк З.Г., Кучеренко В.П. Поліморфізм інтродукованих видів роду *Spirea* L. секцій *Chamaedryon* Ser. та *Calospira* K. Koch. і їх діагноз за допомогою молекулярних форм пероксидази // Вісн. Київ. ун-ту імені Тараса Шевченка. Серія "Біологія". — 2000. — Вип. 30. — С. 77—81.

3. Глазко В.И., Созинов И.А. Генетика изоферментов животных и растений. — К.: Урожай, 1993. — 528 с.

4. Гончаренко Г.Г., Падуттов В.Е. Руководство по исследованию древесных видов методом электрофоретического анализа изоферментов. — Белорусский научно-исследовательский институт лесного хозяйства (БелНИИЛХ), 1988. — 67 с.

5. Гуськов А.В., Тихомиров И.А., Поликарпова Ф.Я. Активность пероксидазы как биохимический критерий способности к вегетативному раз-

ножению клоновых подвоев яблони // 2-й съезд Всесоюз. об-ва физиологов растений: Тез. докл. — М., 1992. — Ч. 2. — С. 60.

6. Капустян А.В. Изоферментный склад пероксидазы озимих зерновых за умов низькотемпературного стресу // Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — Київ, 2002. — 12 с.

7. Конарев В.Г. Белки растений как генетические маркеры. — М.: Колос, 1983. — 320 с.

8. Корочкин Л.И., Серов О.Л., Пудовкин А.И. и др. Генетика изоферментов. — М.: Наука, 1977. — 278 с.

9. Кучеренко В.П., Бонюк З.Г. Прогнозування зимостійкості таволги (*Spirea* L.) за показниками фенологічних спостережень та пероксидазним способом // Вісн. Київ. ун-ту імені Тараса Шевченка. Серія "Інтродукція та збереження рослинного різноманіття". — 2001. — Вип. 4. — С. 11—13.

10. Лавриненко І.А., Лавриненко О.В. Изоферментный спектр пероксидаз у сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) // Генетика, 1997. — 33. — С. 40—45.

11. Левитес Е.В. Генетика изоферментов растений. — Новосибирск: Наука, 1986. — 144 с.

12. Лісневич Л.О. Запасні білки насіння буряків: гетерогенність, функціональна роль, поліморфізм. — К.: Логос, 2001. — 192 с.

13. Мардамшин А.Г., Мустафина А.Р., Иштирякова Р.А. Сравнительный анализ изоферментного состава эстераз и гормонального баланса в двух типах каллусной ткани гороха посевного // Биотехнология. — 1997. — № 2. — С. 15—18.

14. Роне В.М. Генетический анализ лесных популяций. — М.: Наука, 1980. — 160 с.

15. Созинов А.А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции. — М.: Наука, 1985. — 272 с.

16. Тунда С.Н., Коршиков И.И. Генотипические особенности плюсовых деревьев *Pinus sylvestris* L. var. *cretaceae* Kalenicz. ex Kom. // Интродукция и акклиматизация растений. — 1999. — Вып. 32. — С. 176—179.

17. Arulsekhar S., Parfitt D.E. et al. Comparison of isozyme variability in peach (*Prunus persica*) and almond (*Prunus dulcis*) cultivars // J. Heredity. — 1986. — 77 (4). — P. 272—274.

18. Baird, W.V., Estager A.S. et al. Estimating nuclear DNA content in peach and related diploid species using laser flow cytometry and DNA hybridization // J. Am. Soc. Hortic. Sc. — 1994. — 119 (6). — P. 1312—1316.

19. Conkle M.T., Hodgskiss P.D. et al. Starsh gelelectrophoresis of conifer seeds a laboratory

manual // USDA For. Serv. Gen. Tech. Rep. PSW. — 1982. — 64. — 18 p.

20. Foolad M.R., Arulsekhar S. et al. A genetic map of *Prunus* based on an interspecific cross between peach and almond // Theor. Appl. Genetics. — 1995. — 91 (2). — P. 262—269.

21. Mowrey B.D., Werner D.J. et al. Inheritance of isocitrate dehydrogenase, malate dehydrogenase, and shikimate dehydrogenase in peach and peach × almond hybrids // J. Am. Soc. Hortic. Sc. — 1990. — 115 (2). — P. 312—319.

22. Warburton J.L., Becerra V.V.L. et al. Utility of RAPD markers in identifying genetic linkages to genes of economic interest in peach // Theor. Appl. Genetics. — 1996. — 93 (5-6). — P. 920—925.

Рекомендовал к печати
Б.А. Левенко

І.К. Кудренко, Г.П. Кашеваров, П.А. Мороз

Національний ботанічний сад
ім. М.М. Гришка НАН України,
Україна, м. Київ

ИЗОФЕРМЕНТНЫЙ СКЛАД ПЕРСИКА (*PERSICA VULGARIS* MILL.)

Викладено результати вивчення ізоферментного складу селекційного фонду *Persica vulgaris* Mill. Наведено історію створення колекції персика у Національному ботанічному саду ім. М.М. Гришка НАН України, визначено можливості застосування ізоферментного аналізу у селекційній роботі. Зроблено висновок, що ізофермент пероксидазу можна використовувати як маркер для селекції персика на зимостійкість.

I.K. Kudrenko, G.P. Kashevarov, P.A. Moroz

M.M. Gryshko National Botanical Gardens,
National Academy of Sciences of Ukraine,
Ukraine, Kyiv

ISOZYMES COMPOSITION OF PEACH (*PERSICA VULGARIS* MILL.)

The article is dedicated to investigation of isozymes composition of *Persica vulgaris* Mill. breeding pool. History of creation of peach collection in M.M. Gryshko National Botanical Gardens is given. Potentiality of using isozymes analyze in breeding work was determined. Conclusion is made about the possibility of using peroxidase isozymes as a molecular marker for breeding of peach for wintertolerance.