

УДК 581.19:582.951.4

В. А. Топтіков¹, канд. біол. наук, ст. наук. співроб., **Л. Ф. Дьяченко**¹, канд. біол. наук, пров. наук. співроб., **В. М. Тоцький**¹, д-р біол. наук, проф., зав. каф., **Л. Т. Бабаянц**², канд. біол. наук, гол. наук. співроб.

¹ Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра генетики та молекулярної біології, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

² Селекційно-генетичний інститут УААН, відділ фітопатології та ентомології, Овідіопольська дорога, 3, Одеса, 65036, Україна

ЕЛЕКТРОФОРЕТИЧНІ СПЕКТРИ ПЕРОКСИДАЗИ У РІЗНИХ ЗА СТІЙКІСТЮ ДО БУРОЇ ЛИСТОВОЇ ІРЖІ ТА ТВЕРДОЇ САЖКИ ЛІНІЙ ОЗИМОЇ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ ТА ЇХ БАТЬКІВ

Проведено електрофоретичний розподіл ізоформ пероксидази вихідних форм та ліній озимої м'якої пшениці, які містять інтрогресовані від *Aegilops cylindrica* і *Triticum erebuni* гени стійкості до збудників бурої листової іржі та твердої сажки. З'ясовано якісні та кількісні особливості спектрів ферменту досліджених рослин. Встановлено, що кількісні показники окремих ізоформ пероксидази з низькою електрофоретичною рухливістю (R_f від 0,02 до 0,10–0,12) достовірно корелюють зі стійкістю рослин до мікопатогенів. Наведено нові дані щодо генетико-біохімічних механізмів стійкості пшениці. Пропонуються методичні підходи до розробки ефективної тест-системи прогнозування ознаки стійкості рослин до мікопатогенів

Ключові слова: пшениця, пероксидаза, множинні молекулярні форми, бура листовая іржа, тверда сажка, стійкість

В Україні захворювання пшениці, виникаючі під впливом мікопатогенів, призводять до значного зниження врожаю зерна та погіршення його якості, тому дуже актуальним є створення стійких сортів. Створення таких сортів є неперервним процесом, оскільки в природі має місце постійна зміна рас патогенів з виникненням все більш вірулентних штамів. Успіх цієї роботи залежить від вихідного селекційного матеріалу з високоефективними генами резистентності та від надійних тест-систем на стійкість до мікопатогенів. Серед таких тест-систем велику роль грають ті, що мають прогностичний характер.

Оксидоредуктази, зокрема пероксидаза, приймають участь у захисних реакціях рослини у відповідь на інфекцію [1, 2]. Відомо, що ураження рослин патогенами призводить до істотних змін у стані окиснювально-відновлювальних ферментів, і що особливості систем оксидоредуктаз та їх змін за інфекції корелюють з рівнем стійкості рослин [3–8].

В зв'язку з цим метою роботи було вивчення особливостей функціонування структурних генів пероксидази (КФ 1.11.1.7) вихідних

та гібридних форм озимої м'якої пшениці, що містять інтрогресовані гени стійкості до бурої листової іржі та твердої сажки від *Aegilops cylindrica* Host. і *Triticum erebuni* Gand. Роботу виконували за рахунок договірних бюджетних коштів (держбюджет, код КПКВ 2201030 "Надання грантів Фондом фундаментальних досліджень", КЕКВ 1170).

Матеріали і методи

Досліджували вихідні форми та 21 лінію, що отримані у відділі фітопатології Одеського селекційно-генетичного інституту.

Аналізували наступні групи ліній:

- 1) 7/31-91, ф182/04, ф14 М/04, ф18 М/04, ф25 М/04, ф29 М/04, ф30 М/04, ф38 М/04, ф41 М/04, ф54 М/04, ф97 М/04,
- 2) 5/55-91, ф134/04, ф63/04, ф67/04, ф225/04, ф278/04, ф279/04, ф284/04,
- 3) 41/46-95, ф87/04.

Лінії 7/31-91 і 5/55-91 отримано шляхом схрещування сорту озимої м'якої пшениці Одеська напівкарликова з *Ae. cylindrica* [9, 10]. Решта ліній першої та другої групи є результатом схрещування вищезазначених міжвидових гібридів з Одеською напівкарликовою та лінією пшениці Л23397. Стійкість зазначених ліній до мікопатогенів походить від егілопсу [11, 12].

Лінія 41/46-95 походить від схрещування сорту озимої м'якої пшениці Обрій з *T. erebuni* [13]. В родовіді лінії ф87/04, крім Обрью, приймали участь інші сорти озимої м'якої пшениці: [41/46-95 (*T. erebuni* х Обрій) х Одеська 162 х Українка]. Стійкість до мікопатогенів ліній третьої групи пов'язана з *T. erebuni*.

Всі досліджувані лінії є вирівняні і цитогенетично стабільні [11, 13].

Фітопатологічну оцінку провадили за загальноприйнятими методиками [14].

Одеська напівкарликова є еталоном чутливості до бурої листової іржі, а Одеська 162 — до твердої сажки. В цілому сорти, які використовувались у схрещуваннях, мали невисоку стійкість до обох патогенів.

Екстракцію, електрофоретичний розподіл та виявлення множинних молекулярних форм (ММФ) пероксидази провадили, як було вказано раніше [8]. Для аналізу електрофореграм використовували комп'ютерну програму АнаИС, з допомогою якої для кожної ізоформи досліджуваного ферменту визначали коефіцієнт відносної електрофоретичної рухливості (*Rf*), відносну частку у загальному спектрі ферменту (%), загальну та максимальну активність в умовних одиницях (пикселях).

Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel.

Результати досліджень та їх аналіз

Практично всі лінії зберегли ознаку високої резистентності до захворювань, яка отримана від видів-донорів. При цьому більшість використаних ліній має високу резистентність до обох мікопатогенів.

На рисунках 1 і 2 представлені електрофоретичні спектри пероксидази досліджуваних ліній та вихідних рослинних форм, які брали участь у схрещуваннях при отриманні цих ліній.

Всього в досліджуваних рослинах за допомогою бензидину виявляється 16 ізоформ пероксидази, причому більшість з них спостерігається у представників всіх видів, сортів та ліній (рис. 1). В цілому, за винятком ліній 7/31-91 і 5/55-91, спектри ММФ пероксидази гібридів дуже подібні між собою і спектрами ММФ вихідних сортів пшениці, що використовувались у схрещуваннях. Відмінності спектрів ферменту торкалися головним чином кількісних показників.

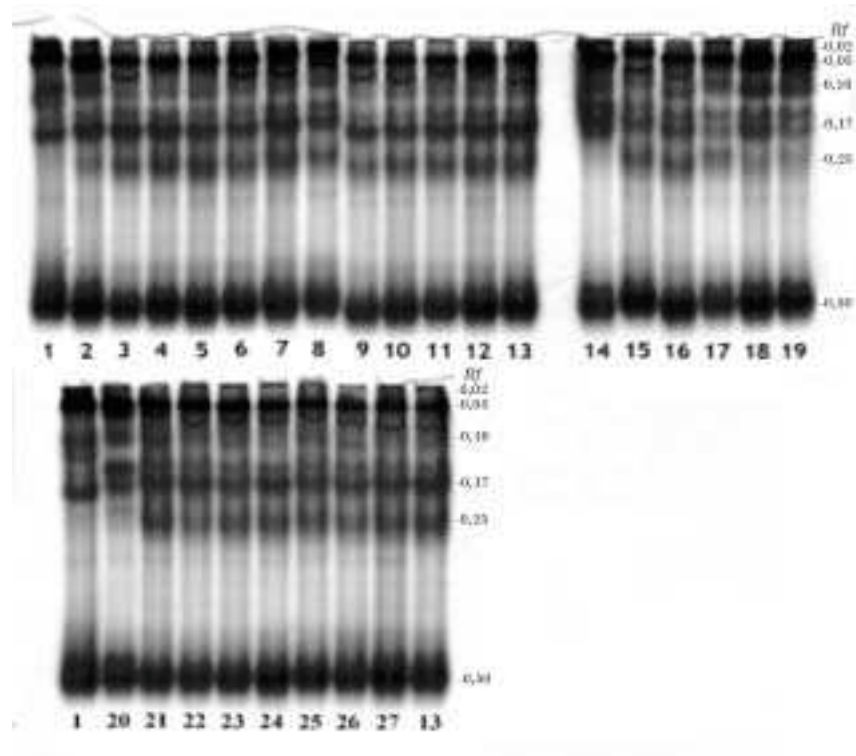


Рис. 1. Електрофоретичні спектри пероксидази (субстрат — бензидин):

1 — *Aegilops cylindrica*, 2 — 7/31-91, 3 — ф182, 4 — ф14, 5 — ф18, 6 — ф25, 7 — ф 29, 8 — ф30, 9 — ф38, 10 — ф41, 11 — ф54, 12 — ф97, 13 — Одеська напівкарликова, 14 — *Triticum erebuni*, 15 — 41/46-95, 16 — ф87, 17 — Обрій, 18 — Українка, 19 — Одеська 162, 20 — 5/55-91, 21 — ф134. 22 — ф63, 23 — ф67, 24 — ф225, 25 — ф278, 26 — ф279, 27 — ф284

Якісною особливістю спектрів пероксидаз дикого злаку *Ae. cylindrica* є наявність у них ізоформ з відносною рухливістю 0,02 і 0,12. Ці дві форми ферменту разом не зустрічаються у гібридів. Поодиноці ці ознаки проявляються у частини гібридних ліній, у формуванні яких брав участь дикий родич пшениці. У дев'яти ліній із дев'ятнадцяти (7/31-91, ф182, ф18, ф25, ф29, ф30, 5/51-91, ф63, ф284) експресується молекулярна форма пероксидази з Rf 0,02; ізоформа з Rf 0,12 проявляється лише у рослин однієї лінії — ф134.

Спектр пероксидази у *T. erebuni* має ті ж якісні особливості, що й у егілопсу. Однак у гібридних форм, що є похідними від цієї пшениці, ознаки батька — донора стійкості, яким є *T. erebuni*, не проявляються. Можливо, це пов'язано з невеликою кількістю досліджуваних ліній (всього дві) від даного схрещування.

За допомогою пірокатехіну виявляється до п'яти ізоформ пероксидази (рис. 2). В даному випадку між дослідженими рослинами спостерігається ще менше розбіжностей і визначити якісь специфічні якісні особливості, які були б властиві різним рослинним формам, не вдається.

Статистичний аналіз отриманих результатів провадили після групування окремих ізоформ ферменту згідно з показниками їх рухливості в електричному полі. В малорухливій зоні виділено три групи ізоформ: 1) ММФ з Rf біля 0,02, 2) ізоформи з відносною електрофоретичною рухливістю 0,04–0,05, 0,06 та 0,07–0,08, 3) форми ферменту з Rf 0,10 та 0,12. Середньорухлива зона представлена двома групами: першу складають ізоформи з Rf 0,15, 0,17–0,18 і 0,20–0,23; другу — форми з рухливістю від 0,26 до 0,30. В швидкорухливу групу об'єднували ММФ пероксидази з Rf 0,34–0,37 та з Rf 0,42–0,50.

В таблицях 1–6 представлено дані, які дозволяють зіставити кількісні особливості спектрів пероксидази у резистентних та чутливих форм досліджуваних рослин. Видно, що груповою особливістю стійких рослин є наявність за фарбування бензидином ізоформи з Rf 0,02. Ця ознака позитивно корелює з рівнем стійкості до бурої листової іржі. Коефіцієнт (r) цієї кореляції за аналізу активності ферменту складає 0,43, за аналізу вмісту зазначеної ізоформи у загальному спектрі — 0,41, що відповідає рівню достовірності кореляції при $P < 0,05$. Показник стійкості до іржі одночасно виявляє зворотний зв'язок з відносним вмістом у спектрі ізоформ пероксидази з рухливістю 0,05–0,08: у чутливих рослин частка цієї фракції в середньому на 3,5 % більша, ніж у стійких генотипів ($P = 0,039$). Зазначений взаємозв'язок також є статистично достовірним ($r = -0,43$, $P < 0,05$). Асоціацій між стійкістю до твердої сажки та кількісними характеристиками спектрів пероксидази за фарбування пероксидази бензидином встановлено не було.

За виявлення пероксидази пірокатехіном резистентні та чутливі рослини відрізняються тільки однією молекулярною формою ферменту з Rf 0,10: у стійких форм її активність та відносна частка в загальному спектрі достовірно нижчі, ніж у нестійких до мікопатогене-

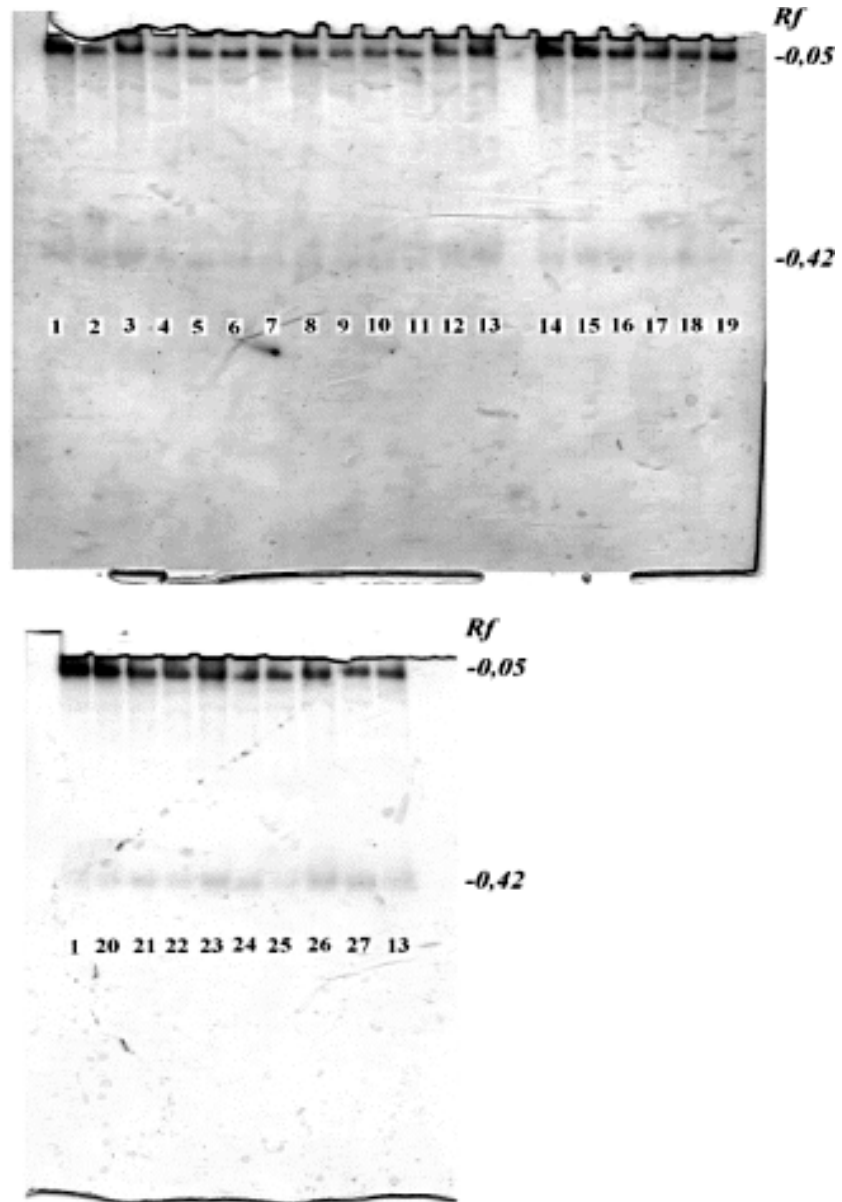


Рис. 2. Електрофоретичні спектри пероксидази (субстрат — пірокатехін):

1 — *Aegilops cylindrica*, 2 — 7/31-91, 3 — ф182, 4 — ф14, 5 — ф18, 6 — ф25, 7 — ф 29, 8 — ф30, 9 — ф38, 10 — ф41, 11 — ф54, 12 — ф97, 13 — Одеська напівкарликова, 14 — *Triticum erebuni*, 15 — 41/46-95, 16 — ф87, 17 — Обрій, 18 — Українка, 19 — Одеська 162, 20 — 5/55-91, 21 — ф134. 22 — ф63, 23 — ф67, 24 — ф225, 25 — ф278, 26 — ф279, 27 — ф284

нів (табл. 5, 6). Ця кількісна характеристика спектру пероксидази за фарбування пірокатехином з високим рівнем достовірності ($P < 0,001$) корелює зі стійкістю як до бурої листової іржі, так і до твердої сажки.

Таблиця 1

**Активність ізоформ пероксидази (субстрат — бензидин)
у резистентних рослин**

Види, сорти, лінії	<i>R_f</i> окремих ізоформ							Стійкість до	
	0,02	0,05- 0,08	0,10- 0,12	0,15- 0,23	0,25- 0,30	0,34- 0,37	0,42- 0,50	іржі (бал)	сажки (бал)
<i>Ae. cylindrica</i>	133,7	346,19	276,72	308,81	95,62	129,20	521,5	9	9
7/31-91	84,52	363,2	221,2	376,37	97,09	81,39	585,76	9	9
Ф182	52,67	355,85	96,13	476,8	70,95	68,17	431,69	8	9
Ф14	0	328,4	143,4	449,3	105,27	76,63	510,92	8	8
Ф18	57,21	369,39	105,1	459	104,98	66,86	530,6	8	8
Ф25	62,48	391,7	107,8	413,31	78,53	82,7	480,61	8	8
Ф29	83,01	404,49	113,3	496,2	96,08	73,17	487,53	7	7
Ф30	164,6	263,3	121,6	377,4	78,95	50,89	402,14	8	6
Ф38	0	366,5	65,72	355,35	70,61	52,61	386,34	8	9
Ф41	0	409,57	73,22	312,59	83,86	75,26	428,75	8	8
Ф54	0	351,7	76,5	394,8	94,05	57,96	398,83	8	9
Ф97	0	506,06	65,31	445,9	89,09	85,36	485,71	6	6
5/55-91	96,02	475,4	291,2	420,37	50,22	123,38	566,27	9	9
Ф134	0	537,02	324,3	414,87	109,29	63,78	496,04	9	9
Ф63	41,99	492,74	71,88	447,3	72,88	75,03	424,84	8	9
Ф67	0	528,27	81,71	403,66	94,09	63,19	437,17	7	9
Ф225	0	464,26	51,49	455	99,02	59,98	564,14	8	9
Ф278	0	379,8	101,9	404,5	99,11	60,84	473,69	8	8
Ф279	0	401,59	101	368,28	81,89	65,14	482,5	8	9
Ф284	61,9	414,89	63,46	428,48	118,36	81,72	603,38	9	8
<i>T. erebuni</i>	105,9	393	244,3	301,25	25,77	33,22	427,82	9	9
41/46-95	0	386,2	76,43	380,02	66,87	70,13	483,83	6	8
Ф87	0	353,2	108,3	352,43	85,83	78,85	475,99	8	8
Середнє	41,04	403,60	129,65	401,83	85,58	72,85	482,00	8,04	8,30
<i>Помилка середньої</i>	<i>10,54</i>	<i>14,21</i>	<i>16,93</i>	<i>11,11</i>	<i>4,25</i>	<i>4,33</i>	<i>12,61</i>	<i>0,17</i>	<i>0,19</i>

Таблиця 2

Активність ізоформ пероксидази (субстрат — бензидин) у чутливих рослин

Види, сорти, лінії	<i>Rf</i> окремих ізоформ							Стійкість до	
	0,02	0,05-0,08	0,10-0,12	0,15-0,23	0,25-0,30	0,34-0,37	0,42-0,50	іржі (бал)	сажки (бал)
Одеська напівкарликова	0	489,04	78,56	511,15	92,67	78,67	558,405	1	3
Українка	0	436,6	205,5	366,41	73,55	71,48	489,76	2	3
Одеська 162	0	436,7	145,4	248,93	73,87	68,37	421,22	2	1
Обрій	0	343	108,3	284,93	64,37	41,87	353,46	3	3
Середнє	0	426,34	134,44	352,86	76,12	65,10	455,71	2,00	2,50
<i>Помилка середньої</i>	0	30,40	27,35	58,21	5,94	8,04	44,11	0,41	0,50
P	0,001	=	=	=	=	=	=	2·10⁻⁴	4·10⁻⁴
Коефіцієнт кореляції між кількісними показниками ізоформи і рівнем стійкості рослин до захворювання									
до іржі	0,43	-0,20	-	-	-	-	-		
до сажки	0,22	-0,04	-	-	-	-	-		

Примітки: P — рівень значимості різниці між чутливими і стійкими рослинами,
 = означає відсутність різниці,
 - коефіцієнт кореляції не розраховувався

Наявні кількісні дані дають можливість визначити субстратну специфічність окремих ізоформ пероксидази. Розраховували співвідношення частки даної ізоформи у загальному спектрі за фарбування пероксидази одним субстратом (бензидином) і частки за виявлення ферменту іншим субстратом (пірокатехіном). Таке співвідношення ми назвали відносною специфічністю ізоформи. Дані представлені в таблицях 7 і 8. Видно, що різні за стійкістю рослини відрізняються не тільки активністю і вмістом у спектрі певних ізоформ пероксидази, але і специфічністю до субстратів. Фракція пероксидази з *Rf* 0,05–0,08 у резистентних рослин менш специфічна до штучного субстрату, яким є бензидин, ніж у чутливих (коефіцієнти 0,38 і 0,44 відповідно). Отже, у стійких рослинних форм вони мають більше спорідненості до природного субстрату — пірокатехіну. Спостерігаються також статистично достовірні розходження щодо ізоформ з електрофоретичною рухливістю 0,10–0,12. В даному випадку, однак, специфічність ізоформ пероксидази до субстратів у різних за стійкістю рослин має протилежний характер.

Розрахунок коефіцієнта кореляції (табл. 8) показує, що існує статистично достовірний взаємозв'язок між кількісними параметрами субстратної специфічності ізоформ з *Rf* 0,05–0,08 і стійкістю досліджених рослин до обох захворювань.

Група резистентних рослин містить як форми, що мають дуже високу та високу стійкість (9 і 8 балів), так і стійкі форми (7 і 6 ба-

лів). В зв'язку з цим в подальшому аналізі зіставляли зазначені дві групи. Результати (дані не наведено) підтвердили вище наведені узагальнення. Як правило, характеристики стійких рослин займають проміжне положення між високо стійкими та чутливими до захворювань формами.

Таблиця 3

**Відносні частки ізоформ в спектрі пероксидази (субстрат — бензидин)
у резистентних рослин**

Види, сорти, лінії	Rf окремих ізоформ							Стійкість до	
	0,02	0,05- 0,08	0,10- 0,12	0,15- 0,23	0,25- 0,30	0,34- 0,37	0,42- 0,50	іржі (бал)	сажки (бал)
<i>Ae. cylindrica</i>	7,385	18,99	15,33	17,11	5,25	7,055	28,87	9	9
7/31-91	4,67	20,03	12,2	20,78	5,37	4,49	32,38	9	9
Ф182	3,39	22,95	6,19	30,69	4,57	4,39	27,79	8	9
Ф14	0	20,39	8,88	27,79	6,52	4,75	31,64	8	8
Ф18	3,38	21,84	6,21	27,06	6,2	3,95	31,32	8	8
Ф25	3,86	24,21	6,66	25,54	4,86	5,12	29,74	8	8
Ф29	4,73	23,04	6,46	28,28	5,48	4,18	27,76	7	7
Ф30	11,3	18,02	8,34	25,87	5,41	3,48	27,54	8	6
Ф38	0	28,29	5,07	27,42	5,45	4,06	29,83	8	9
Ф41	0	29,64	5,29	22,59	6,07	5,44	31,04	8	8
Ф54	0	25,57	5,57	28,75	6,85	4,22	29,02	8	9
Ф97	0	30,14	3,89	26,61	5,31	5,09	28,94	6	6
5/55-91	4,75	23,5	14,4	20,78	2,48	6,1	28,08	9	9
Ф134	0	27,57	16,67	21,33	5,62	3,27	25,53	9	9
Ф63	2,58	30,34	4,42	27,53	4,48	4,61	26,13	8	9
Ф67	0	32,81	5,08	25,07	5,85	3,93	27,19	7	9
Ф225	0	27,45	3,04	26,81	5,85	3,57	33,24	8	9
Ф278	0	25	6,71	26,66	6,52	4	31,17	8	8
Ф279	0	26,73	6,73	24,53	5,46	4,34	32,21	8	9
Ф284	3,49	23,44	3,58	24,18	6,68	4,61	33,99	9	8
<i>T. erebuni</i>	6,92	25,7	15,95	19,67	1,68	2,17	27,94	9	9
41/46-95	0	26,39	5,22	25,97	4,57	4,79	33,06	6	8
Ф87	0	24,28	7,45	24,24	5,91	5,42	32,7	8	8
Середнє	2,45	25,06	7,80	25,01	5,32	4,48	29,87	8,04	8,30
<i>Помилка середньої</i>	<i>0,65</i>	<i>0,80</i>	<i>0,86</i>	<i>0,69</i>	<i>0,25</i>	<i>0,21</i>	<i>0,51</i>	<i>0,17</i>	<i>0,19</i>

Таблиця 4

Відносні частки ізоформ в спектрі пероксидази (субстрат — бензидин) у чутливих рослин

Види, сорти, лінії	Rf окремих ізоформ							Стійкість до	
	0,02	0,05-0,08	0,10-0,12	0,15-0,23	0,25-0,30	0,34-0,37	0,42-0,50	іржі (бал)	сажки (бал)
Одеська напівкарликова	0	27,06	4,36	28,24	5,13	4,35	30,86	1	3
Українка	0	26,61	12,5	22,3	4,47	4,35	29,84	2	3
Одеська 162	0	31,3	10,4	17,86	5,3	4,9	30,26	2	1
Обрій	0	28,72	9,05	23,82	5,39	3,5	29,55	3	3
Середнє	0	28,42	9,08	23,06	5,07	4,28	30,13	2,00	2,50
<i>Помилка середньої</i>	0	1,06	1,73	2,14	0,21	0,29	0,28	0,41	0,50
P	0,001	0,039	=	=	=	=	=	2·10⁻⁴	4·10⁻⁴
Коефіцієнт кореляції між кількісними показниками ізоформи і рівнем стійкості рослин до захворювання									
до іржі	0,41	-0,43	-	-	-	-	-		
до сажки	0,19	-0,25	-	-	-	-	-		

Примітки: P — рівень значимості різниці між чутливими і стійкими рослинами,
= означає відсутність різниці,
- коефіцієнт кореляції не розраховувався

Таким чином, отримані дані свідчать за те, що існує взаємозв'язок між особливостями конститутивного спектру пероксидази з ознакою стійкості — чутливості рослин до захворювань бурюю листовою іржею та твердою сажкою. Під конститутивними розуміли спектри, які властиві рослинам, що зростали в нормальних умовах. Встановлено статистично достовірні асоціації між кількісними показниками (загальною активністю та їх відносною часткою в загальному спектрі ферменту) окремих ізоформ, їх субстратною специфічністю і рівнем стійкості до бурої іржі та твердої сажки. Такими "тест" — ізоформами пероксидази є форми, які розташовані в повільно рухливій зоні спектра досліджуваного ферменту, тобто з Rf 0,02, 0,05–0,08 та 0,10–0,12.

Однак, слід зазначити, що хоч групові, узагальнені показники стійких рослин достовірно відрізняються від показників чутливих рослин, вони не є абсолютними. У певної частки стійких рослинних форм (в том числі й дуже високо стійких) вищезазначені кількісні параметри спектра пероксидази не відрізняються від таких, що властиві дуже чутливим до захворювань рослинам. Це свідчить про те, що конститутивні особливості електрофоретичних спектрів пероксидази не можуть слугувати абсолютно надійними маркерами стійкості рослин до мікопатогенів.

Раніше нами було показано [7, 8], що за зараження рослин збудником фузаріозу більш важливим та вирішальним тестом, який відзначає стійкі та чутливі рослинні форми, є зіставлення характеру і напрямку змін в ферментних системах при інфікуванні.

Таблиця 5

**Активність та відносні частки ізоформ в спектрі пероксидази
(субстрат — пірокатехін) у резистентних рослин**

Види, сорти, лінії	Активність			Відносні частки		
	<i>R_f</i> окремих ізоформ			<i>R_f</i> окремих ізоформ		
	0,05-0,08	0,10	0,37-0,42	0,05-0,08	0,10	0,37-0,42
<i>Ae. cylindrica</i>	84,495	11,135	26,2575	71,25	8,555	20,225
7/31-91	52,35	11,86	38,48	50,9	11,6	37,4
Ф182	61,54	10,22	30,489	60,1	10	29,86
Ф14	44,59	11,21	28,09	53,2	13,4	33,5
Ф18	48,346	8,076	25,619	59	9,84	31,2
Ф25	46,293	7,614	23,544	59,81	9,83	30,44
Ф29	47,77	7,245	17,061	66,3	10,1	23,64
Ф30	47,88	8,313	21,974	61,2	10,6	28,09
Ф38	45,96	8,745	18,585	62,7	11,9	25,37
Ф41	42,7	8,365	24,818	56,3	11	32,7
Ф54	43,509	8,27	19,597	61	11,6	27,4
Ф97	44,52	10,98	20,346	58,7	14,5	26,8
5/55-91	85,73	9,879	24,965	71,1	8,19	20,7
Ф134	54,52	7,364	7,382	78,7	10,6	10,7
Ф63	57,194	6,448	6,242	81,8	9,23	8,93
Ф67	59,85	9,329	10,97	74,6	11,6	13,7
Ф225	50,8	6,689	8,411	77,1	10,2	12,8
Ф278	52,24	7,794	13,166	71,4	10,6	18,02
Ф279	52,099	5,518	20,449	66,8	7,07	26,15
Ф284	42,857	7,981	21,433	59,3	11	29,6
<i>T. erebuni</i>	86,34	7,381	6,799	85,9	7,34	6,76
41/46-95	85,38	9,317	7,366	83,6	9,13	7,22
Ф87	72,04	11,55	6,491	80	12,8	7,21
Середнє	56,91	8,75	18,63	67,42	10,46	22,11
<i>Помилка середньої</i>	<i>3,14</i>	<i>0,37</i>	<i>1,86</i>	<i>2,14</i>	<i>0,38</i>	<i>2,00</i>

Таблиця 6

**Активність та відносні частки ізоформ в спектрі пероксидази
(субстрат — пірокатехін) у чутливих рослин**

Види, сорти, лінії	Активність			Відносні частки		
	<i>Rf</i> окремих ізоформ			<i>Rf</i> окремих ізоформ		
	0,05-0,08	0,10	0,37-0,42	0,05-0,08	0,10	0,37-0,42
Одеська напівкарликова	51,025	6,8965	19,2615	66,2	8,85	24,92
Українка	59,67	18,85	26,301	57	18	25,08
Одеська 162	74,73	19,47	7,292	73,6	19,2	7,18
Обрій	62,44	16,32	25,29	60	15,7	24,3
Середнє	61,97	15,38	19,54	64,20	15,44	20,37
<i>Помилка середньої</i>	4,90	2,91	4,37	3,67	2,31	4,40
P	=	0,04	=	=	0,05	=
Коефіцієнт кореляції між кількісними показниками ізоформи і рівнем стійкості рослин до захворювання						
до іржі	- 0,07	- 0,70	0,05	0,09	- 0,61	0,10
до сажки	- 0,03	- 0,63	- 0,01	0,19	- 0,70	0,02

Примітки: P — рівень значимості різниці між чутливими і стійкими рослинами,
= відзначає відсутність різниці

Таблиця 7

**Відносна субстратна специфічність ізоформ пероксидази
у резистентних рослин**

Види, сорти, лінії	<i>Rf</i> окремих ізоформ		
	0,05-0,08	0,10	Швидкорухлива зона
<i>Ae. cylindrica</i>	0,27	1,79	1,78
7/31-91	0,39	1,05	0,99
Ф182	0,38	0,62	1,08
Ф14	0,38	0,66	1,09
Ф18	0,37	0,63	1,13
Ф25	0,40	0,68	1,15
Ф29	0,35	0,64	1,35
Ф30	0,29	0,79	1,10
Ф38	0,45	0,43	1,34
Ф41	0,53	0,48	1,12
Ф54	0,42	0,48	1,21
Ф97	0,51	0,27	1,27
5/55-91	0,33	1,76	1,65
Ф134	0,35	1,57	2,69

Закінчення таблиці 7

Види, сорти, лінії	Rf окремих ізоформ		
	0,05-0,08	0,10	Швидкорухлива зона
Ф63	0,37	0,48	3,44
Ф67	0,44	0,44	2,27
Ф225	0,36	0,30	2,88
Ф278	0,35	0,63	1,95
Ф279	0,40	0,95	1,40
Ф284	0,40	0,33	1,30
<i>T. erebuni</i>	0,30	2,17	4,45
41/46-95	0,32	0,57	5,24
Ф87	0,30	0,58	5,29
Середнє	0,38	0,80	2,05
Помилка середньої	0,01	0,11	0,28

Таблиця 8

**Відносна субстратна специфічність ізоформ пероксидази
у чутливих рослин**

Види, сорти, лінії	Rf окремих ізоформ		
	0,05-0,08	0,10	Швидкорухлива зона
Одеська напівкарликова	0,41	0,49	1,41
Українка	0,47	0,69	1,36
Одеська 162	0,43	0,54	4,90
Обрій	0,48	0,58	1,36
Середнє	0,44	0,58	2,26
Помилка середньої	0,02	0,04	0,88
P	0,013	0,057	=
Коефіцієнт кореляції між кількісними показниками ізоформи і рівнем стійкості рослин до захворювання			
до іржі	- 0,46	0,35	- 0,11
до сажки	- 0,38	0,27	- 0,06

Примітка: P — рівень значимості різниці між чутливими і стійкими рослинами,
= означає відсутність різниці

В зв'язку з вищезазначеним впливає необхідність пошуку ефективних надійних тест-систем на стійкість рослин до мікопатогенів на підставі з'ясування проявів експресії ген-ензимних систем пероксидази в умовах провокаційного інфекційного фону.

Висновки

1. Більшість досліджуваних ліній, що містять інтрогресовані гени стійкості від *Aegilops cylindrica* і *Triticum erebuni*, зберігають високу резистентність до бурої листової іржі та твердої головної. Частина їх має високу стійкість до обох збудників.
3. Електрофоретичні спектри пероксидази досліджуваних рослинних форм відрізняються як якісними, так і кількісними параметрами.
4. Кількісні показники окремих повільно рухливих форм пероксидази (активність та відносний вміст у спектрі), а також їх субстратна специфічність достовірно корелюють зі стійкістю рослин до бурої листової іржі та твердої сажки.
5. З метою пошуку ефективних критеріїв стійкості генотипів пшениць до мікопатогенів необхідно з'ясувати експресію досліджуваних ген-ензимних систем на провокаційному інфекційному фоні.

Література

1. Андреева В. А. Фермент пероксидаза. Участие в защитном механизме растений. — М.: Наука, 1988. — 128 с.
2. Запроматов М. Н. Фенольные соединения растений и их биогенез. "Биологическая химия". — Т. 27. (Итоги науки и техники. ВИНТИ АН СССР). — М., 1988. — 188 с.
3. Venere R. J. Role peroxidase in cotton resistant to bacterial blight // Plant Sci. Lett. — 1980. — V. 20, N 1. — P. 47–56
4. Gay P. A. Tuzun S. Temporal and spatial assessment of defense responses in resistant and susceptible cabbage varieties during infection with *Xanthomonas campestris* // Physiol. And Mol. Plant Pathol. — 2000. — V. 57, N 5. — P. 201–210.
5. Georgieva D., Edreva A., Rodeva R., Sotirova V., Stoimenova E. Peroxidase and β -glucosidase responses of tomato fruits to viral, bacterial and fungal infections // Plant peroxidase newsletter. — 2000. — N 15. — P. 29–35.
6. Monfalbini P. Superoxide dismutases and peroxidase activities in rust infected *Vicia faba* and *Phaseolus vulgaris* leaves // Rev. Pathol. veg. — 1987. — V. 23. — P. 99–108.
7. Дьяченко Л. Ф., Топтіков В. А., Мирьсь С. Л., Бабаянц Л. Т., Тоцький В. М. Множинні молекулярні форми деяких оксидоредуктаз і резистентність м'якої пшениці до фузаріозу // Вісник ОНУ. — 2001. — Т. 6, № 1. — С. 59–66.
8. Топтіков В. А., Мирьсь С. Л., Дьяченко Л. Ф., Тоцький В. Н., Залогина М. А. Сопряженность устойчивости озимых мягких пшениц к *Fusarium graminearum* Schwabe. и множественных молекулярных форм некоторых ферментов // Цитология и генетика. — 2002. — Т. 36, № 3. — С. 3–11.
9. Бабаянц Л. Т., Рыбалка О. І., Аксельруд Д. В. Нове джерело стійкості пшениці до основних хвороб // Реалізація потенційних можливостей сортів і гібридів Селекційно-генетичного інституту в умовах України: Зб. наук. праць. — Одеса, 1996. — С. 111–116.
10. Аксельруд Д. В., Рыбалка А. И., Карпюк Ю. Н., Хохлов А. Н., Нагуляк О. И. Создание гибридов озимой мягкой пшеницы с *Aegilops cylindrica*, их изучение и перспективы // Цитология и генетика. — 1997. — Т. 31, № 4. — С. 45–51.
11. Бабаянц Л. Т., Дубинина Л. А., Ющенко Г. М. Выявление неаллельных известным генов устойчивости к *Tilletia caries* (DC) Tul. линий пшеницы от межвидовой гибридизации (*Triticum aestivum* x *Aegilops cylindrica*) // Цитология и генетика. — 2000. — Т. 34, № 4. — С. 32–40.

12. Міресь С. Л., Бабаянц Л. Т. Генетичні основи стійкості ліній озимої м'якої пшениці до збудника фузаріозу колоса *Fusarium graminearum* LK. // Вісник ОНУ. — 2001. — Т. 6, Вип. 1. — С. 67–71.
13. Бабаянц Л. Т., Дубинина Л. А., Барановская В. Л., Палясний В. А. Интрогрессия в пшеницу новых генов устойчивости к возбудителю твердой головни. Зб. наук. праць СГИ. — Одеса, Вип. 2 (42). — 2002. — С. 70–75.
14. Бабаянц Л. Т., Мештерхази А. и др. Методы селекции и оценка устойчивости пшеницы и ячменя к болезням. — Прага, 1988. — С. 125–208.

В. А. Топтиков¹, Л. Ф. Дьяченко¹, В. Н. Тоцкий¹, Л. Т. Бабаянц²,

¹Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

²Селекционно-генетический институт,
Овидиопольская дор., 3, Одеса, 65036, Украина

ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИЕ СПЕКТРЫ ПЕРОКСИДАЗЫ У РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО УСТОЙЧИВОСТИ К БУРОЙ ЛИСТОВОЙ РЖАВЧИНЕ И ТВЕРДОЙ ГОЛОВНЕ ЛИНИЙ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ И ИХ РОДИТЕЛЕЙ

Резюме

Проведено електрофоретическе роздєленє ізоформ пероксидази ісходних форм і ліній озимої м'якої пшениці, єодержаєих інтрогрєссированніє от *Aegilops cylindrica* і *Triticum erebuni* гєны устійності к возбудитєлям бурой листової ржавчини і твердої головної. Опредєленє єаєствєнніє і єолієствєнніє особєнності спектров фермєнта ісєодєванных растєній. Установлєно, єо єолієствєнніє єаєактерістїєкі опрєдєлєнних ізоформ пероксидази с нїзкої електрофоретичєскої подвїжностію (*Rf* от 0,02 до 0,10–0,12) достовєрно єоррєлірують с устійністю растєній к мікопатогєнам. Прїведєны новєє дєннєє отнєсїтєльнє гєнетїєко-біохїмїєєскїє мехєнізмєв устійності пшєнієы. Прєдлєгаютьсє мєтєдїєєскїє подєходь для разрабєткі єффєктивної тєст-сїстємы прєгнозіровєнїє прїзнєкє устійності растєній к мікопатогєнам.

Ключєвєє слєвє: пшєнієа, пероксидаза, мнєжєствєннєє мєлєкулєрнєє формє, бурєа листовєа ржавчїна, твердєа голоვნєа, устійність

V. A. Toptikov¹, L. F. Diachenko¹, V. N. Totsky¹, L. T. Babayants²

¹ Odessa Mechnikov National University,
Department of Genetics and Molecular Biology,
Dvoryanskaya str., 2, Odessa, 65026, Ukraine

² Plant Breeding and Genetic Institute,
Ovidiopolskaya St., 3, Odessa, 65036, Ukraine

**ELECTROPHORETICAL PEROXIDASE SPECTRA IN THE LINES
OF WINTER COMMON WHEAT AND PARENTAL FORMS WITH
DIFFERENT RESISTANCE TO LEAF RUST AND HARD FIREBRAND**

Summary

The electrophoretical division of peroxidase initial isoforms and lines of winter common wheat has been made. The investigated lines contain the genes of resistance to leaf rust and hard firebrand which have been introgressed from *Aegilops cylindrica* and *Triticum erebuni*. The qualitative and quantitative peculiarities of enzyme spectra of the investigated plants have been determined. It was shown, that quantitative characteristics of definite peroxidase isoforms with low electrophoretical mobility (Rf 0,02 — 0,10–0,12) were reliable correlated with plant resistance to mycopathogenes. The new data of genetic-biochemical mechanisms of wheat resistance have been given. The methodical approaches for development of effective test-system of plant resistance forecasting to mycopathogene signs have been suggested.

Keywords: wheat, peroxidase, multiple molecular forms of enzymes, leaf rust, hard firebrand, resistance.