

Динамика активности пероксидазы и ее изоформ в листьях разных сортов яблони

DOI: 10.30901/2227-8834-2021-3-37-43

УДК 634.11:581.1

Поступление/Received: 29.12.2020

Принято/Accepted: 02.09.2021



А. Е. МИШКО*, Е. О. ЛУЦКИЙ

Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, 350901 Россия, г. Краснодар, ул. 40-летия Победы, 39
*✉ mishko-alisa@mail.ru

Dynamics in the activity of peroxidase and its isoforms in leaves of different apple cultivars

А. Е. MISHKO*, Е. О. LUTSKIY

North-Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Wine-making, 39 40-letiya Pobedy St., Krasnodar 350901, Russia
*✉ mishko-alisa@mail.ru

Актуальность. Выявление наиболее устойчивых сортов плодовых культур на определенных территориях произрастания включает различные подходы исследования, в числе которых немалую роль играют физиолого-биохимические показатели. В настоящей работе представлены результаты расчета активности пероксидазы, одного из основных ферментов антиоксидантной системы защиты растений, при естественных изменениях гидротермического режима в летний период, которые были приняты в качестве контрольных условий, и при искусственном воздействии экстремально высоких температур.

Материалы и методы. Изучены три сорта яблони отечественной селекции 'Фортуна', 'Союз', 'Прикубанское' и сорт 'Лигол' польского происхождения. В отобранных листьях в течение летнего периода 2018, 2019 г. определяли активность пероксидазы и ее изоферментный состав в контрольных и стрессовых условиях (при искусственном прогреве листьев). Для разделения пероксидаз на изоформы использовали нативный электрофорез на полиакриламидном геле. Оценку интенсивности развития окислительного стресса в листьях проводили по показателю перекисного окисления липидов, а именно по содержанию малонового диальдегида.

Результаты. Установлено, что исследованные показатели характеризуются высокой степенью неоднородности, обусловленной как сортовой спецификой, так и изменчивостью погодных условий. Были выделены изоформы пероксидаз с молекулярной массой от 70 до 60 кДа, отличающиеся максимальным уровнем изменчивости – от одной до четырех изоформ. К двум другим группам отнесли изоформы с молекулярной массой ~130–100 кДа (1–3 изоформы) и ~55 кДа (1 изоформа). Наибольшая активность фермента была выявлена в самый жаркий месяц за исследованный период (июль 2018 г.) у сортов 'Фортуна' и 'Союз', но в лабораторных условиях наименее восприимчивым к воздействию стрессового фактора оказался триплоидный сорт 'Союз'.

Ключевые слова: плодовая культура, ферменты антиоксидантной системы защиты, устойчивость, высокотемпературный стресс.

Background. Various approaches are used for identification of the most resistant fruit crop cultivars, including the analysis of different physiological and biochemical indicators. In Krasnodar Territory, Russia, one of the major stressors in summer is the hydrothermal stress. Drought and heat lead to an oxidative stress, as reactive oxygen species are produced in plant cells. Plants respond to oxidative damage by activating antioxidant enzymes, such as superoxide dismutase, catalase, and various peroxidases. Peroxidase is able to decompose hydrogen peroxide. Peroxidase activity was calculated under natural summertime changes in the hydrothermal pattern (control) and in simulated high-temperature conditions.

Materials and methods. Three apple cultivars of Russian breeding, 'Fortuna', 'Soyuz' and 'Prikubanskoe', and cv. 'Ligol' of Polish origin were studied. In the summers of 2018–2019, their leaf samples were analyzed to assess peroxidase activity and its isozyme composition under control and stress conditions. Native electrophoresis in polyacrylamide gel was used for separation of peroxidase isoforms. Malondialdehyde content was measured to identify oxidative stress levels in apple leaves.

Results. The tested indicators demonstrated a high degree of heterogeneity induced by both cultivar specificity and seasonal weather dynamics. Peroxidase isoforms with a molecular weight of 70 to 60 kDa, characterized by the maximum level of variability (1–4 isoforms), were isolated. Two other groups included 1–3 isoforms with a molecular weight of ~130–100 kDa, and one with a molecular weight of ~55 kDa. The highest enzyme activity was found in cvs. 'Fortuna' and 'Soyuz' in July 2018, the hottest month during the period of research. Under simulated conditions, the triploid cultivar 'Soyuz' was least susceptible to the stress impact.

Key words: fruit crop, antioxidant enzyme, resistance, high-temperature stress.

Введение

Яблоня (*Malus domestica* Borkh.) на территории Краснодарского края нередко испытывает гидротермический стресс в течение летнего периода. С начала 1970-х годов число жарких и засушливых дней в регионе возросло более чем на 60%. В связи с этим особую актуальность представляют работы по выявлению наиболее устойчивых сортов к стрессовым температурам как в моделируемых условиях, так и в естественных. Важно отметить, что искусственное воздействие на растение определенным стрессором дает возможность оценить влияние конкретного негативного фактора, что в естественной среде сделать очень сложно из-за совместного воздействия целого спектра абиотических и биотических стрессоров на растение (Yamada et al., 1996).

Высокие температуры воздуха, превышающие сезонные оптимальные показатели для конкретного региона, нарушают нормальный клеточный гомеостаз растений, приводя к задержке роста и развития, а в экстремальных случаях – к их гибели. В таких условиях снижается фотосинтетическая активность, изменяется водный режим, нарушается целостность клеточных мембран, синтезируются различные защитные соединения, а также накапливаются активные формы кислорода (Møller et al., 2007). Для подавления окислительного стресса в клетках растений запускается синтез антиоксидантных ферментов, одним из которых является пероксидаза (POD) (Blokina et al., 2003). Этот фермент способен проявлять как пероксидазную, так и оксидазную активность. В первом случае в качестве акцептора электронов выступает пероксид водорода, восстанавливаясь до воды. Оксидазные свойства проявляются в способности катализировать окисление целого ряда соединений за счет молекулярного кислорода (Andreeva, 1988). Пероксидаза разнообразна своими изоформами, которые определяют ее широкий спектр ферментативных реакций и обладают родством к различным субстратам.

Среди растений наиболее многочисленное семейство пероксидаз относится к третьему классу суперсемейства растительных, бактериальных и грибных пероксидаз, содержащих общий гем, образованный протопорфирином IX и железом Fe(III) (Cosio, Dunand, 2009). Пероксидазы третьего класса проявляют наибольшее родство к фенольным соединениям. Они задействованы в разнообразных физиологических процессах на протяжении всей жизни растительного организма.

Во многих работах, посвященных исследованию стрессоустойчивости растений, уровень активности пероксидазы семейства третьего класса в совокупности с другими физиолого-биохимическими параметрами был определен как маркерный признак. Так, при изучении влияния гипертермического стресса в вегетативных органах пшеницы исследователями было установлено увеличение гетерогенности изоферментного состава пероксидазы (Krivobochek et al., 2015). Антивирусная устойчивость картофеля сопровождалась увеличением активности пероксидазы, но при этом не наблюдалось ее молекулярной гетерогенности (Yanchevskaya et al., 2018). В условиях дефицита железа в листьях подсолнечника преимущественно снижалась активность изоформ пероксидазы, вовлеченных в процесс детоксикации (Ranieri et al., 2001). Рост уровня активности пероксидазы был отмечен в листьях молодых растений табака в ответ на повышение интенсивности освещения (Rácz et al., 2018). Согласно результатам изучения гетерогенности изоформ

пероксидазы в вегетативных органах айвы японской при воздействии гидротермического стресса, было выявлено, что изменение состава изоформ фермента связано с повышением или снижением его активности в течение вегетационного периода (Prisedsky et al., 2017).

В отношении яблони были проведены исследования по изучению активности фермента в совокупности с другими параметрами системы защиты растения при реакции на изменение температурного и водного режимов (Ma et al., 2008; Jia et al., 2019; Gao et al., 2020; Zhu et al., 2020), воздействие патогенов (Araujo, Stadnik, 2013), а также на засоление и химический стресс (Wei et al., 2018). Авторы отмечали повышение активности антиоксидантных ферментов, таких как каталазы (CAT), супероксиддисмутазы (SOD) и аскорбат-пероксидазы (APX), совместно с увеличением активности пероксидазы (POD) в стрессовых условиях.

В отечественных работах приведены результаты изучения изоферментного состава пероксидазы в листьях, коре и побегах у разных сортов яблони в отсутствие негативных факторов среды и при инфицировании патогеном (Golyshkina, 2007; Rachenko et al., 2014). Исходя из полученных результатов, авторы предлагают использовать полиморфизм пероксидаз в качестве сортоспецифического признака.

В ходе настоящего исследования были изучены сорта яблони, распространенные на территории Краснодарского края, для которых впервые был проведен изоферментный анализ пероксидаз листа в условиях искусственного высокотемпературного стресса и в полевых условиях на территории агроценоза в течение летнего периода. Цель работы заключалась в оценке сортовой специфичности к стрессовому фактору – высоким температурам воздуха – по показателям пероксидазной активности в листьях яблони и варибельности ее изоформ.

Материалы и методы

Объектами исследований служили сорта яблони 'Лигол', 'Прикубанское' 2009 года посадки на подвое СК4 при схеме посадки 0,9 × 4,5 м и 'Фортуна', 'Союз' 2000 г. посадки на подвое М9 при схеме посадки 2,0 × 5,0 м. Среди исследованных сортов 'Лигол' имеет польское происхождение, остальные выведены отечественными селекционерами (Ulyanovskaya, 2020).

Сбор материала проводили на базе ЗАО ОПХ «Центральное» г. Краснодар (45.15893°N; 38.93253°E) в летний период 2018, 2019 г. С однолетних побегов, число междоузлий которых в среднем варьировало от 10 до 12, отбирали по 5-6 листьев, начиная с 3–5 междоузлия от основания побега. Листья помещали в холодильные переноски и немедленно доставляли в лабораторию для дальнейшей изучения.

Погодные сведения (средняя температура воздуха, относительная влажность, сумма осадков) были взяты за период июль – август 2018 и 2019 г. с метеостанции Краснодар (Круглик, № 34927).

Искусственный высокотемпературный стресс проводили в лабораторных условиях, помещая листья в термостат на 60 мин при 55°C. Данные условия эксперимента были подобраны с учетом нескольких работ по изучению устойчивости растений к высоким температурам, в которых в качестве стрессового фактора использовали нагревательные тары с листьями от 40 до 60°C в течение 40–120 мин (Yamada et al., 1996; Liu et al., 2011). Применение листьев в экспериментальных условиях также было основано на не-

давних исследованиях по развитию окислительного стресса в листьях яблони под воздействием неселективного гербицида – метилвиологена (Wei et al., 2018; Mei et al., 2020). Исследователи отбирали с взрослых растений отдельные листья и в течение двух суток после обработки листьев препаратом изучали физиолого-биохимические параметры – уровень перекиси, содержание малонового диальдегида (MDA), активность SOD, CAT, POD и APX.

В качестве контроля в настоящей работе использовали листья без прогрева, принимая во внимание, что их анализируемые параметры соответствовали показателям растений в естественных условиях.

Для получения белкового экстракта листья яблони измельчали в жидком азоте. Количество белка в пробах определяли по методу M. Bradford (1976). Активность пероксидазы измеряли в листьях при отсутствии видимых поражений, используя колориметрический метод, основанный на определении скорости реакции окисления бензидина по методике А. М. Бояркина с некоторыми модификациями (Ермаков, 1987). Экстракты, содержащие 10–15 мкг белка, разделяли нативным электрофорезом в 12-процентных пластинах с последующим окрашиванием бензидином и добавлением пероксида водорода (Radyukina et al., 2012). В качестве белкового маркера использовали Thermo Scientific PageRuler Plus Prestained Protein Ladder (Thermo Scientific, USA).

Степень повреждения клеточных мембран вследствие развития окислительного стресса оценивали по накоплению МДА, который является одним из конечных продуктов окисления полиненасыщенных жирных кислот (Møller et al., 2007). Содержание МДА определяли спектрофотометрическим методом с образованием окрашенных комплексов с тиобарбитуровой кислотой (Heath, Packer, 1968).

Работа выполнена на приборном обеспечении Центра коллективного пользования технологичным оборудованием по направлениям: геномные и постгеномные технологии; физиолого-биохимические и микробиологические исследования; почвенные, агрохимические и экотоксикологические исследования; пищевая безопасность.

Для интерпретации полученных данных использовали методы описательной статистики. Исследования были проведены в 2-кратной повторности. Результаты

представлены в виде средних и их ошибок. Для выявления статистически значимых различий использовали сравнительный тест Тьюки с уровнем значимости 0,05, применяя программное обеспечение Statistica 13.3.

Результаты

Было установлено, что в летние месяцы 2018 г. погодные условия отличались более высокой средней температурой воздуха и более низкими показателями относительной влажности и суммы осадков по сравнению с данными 2019 г. (рис. 1). На менее благоприятные гидротермические условия 2018 г. исследуемые сорта ‘Союз’ и ‘Фортуна’ отреагировали с большей интенсивностью за счет повышения активности пероксидазы (3,8–4,9 уе. мг⁻¹ белка) по сравнению с сортами ‘Лигол’ и ‘Прикубанское’ (рис. 2). В 2019 г. высокий уровень активности фермента был отмечен только у сорта ‘Фортуна’ (2,7–3,1 уе. мг⁻¹ белка). Сорта яблони ‘Лигол’ и ‘Прикубанское’ в исследованный период 2018 и 2019 г. не имели резко выраженных изменений в активности пероксидазы, за исключением максимального пика сорта ‘Лигол’ за июль 2019 г. (2,6 уе. мг⁻¹ белка). Искусственный высокотемпературный стресс способствовал росту активности пероксидазы в 1,5 раза только у сортов ‘Союз’ и ‘Лигол’ в августе 2019 г. (см. рис. 2) и незначительному увеличению данного показателя у сорта ‘Прикубанское’ в июле 2018 г. Сорт ‘Союз’ проявил себя как наиболее устойчивый сорт к воздействию высоких температур в экспериментальных условиях. Для сорта ‘Фортуна’ было установлено, что стресс подавлял активность пероксидазы в исследованный период в 1,5–1,8 раз, что было отмечено и у сорта ‘Лигол’ в августе 2018 г. и июле 2019 г. Сорт ‘Прикубанское’ отличался относительной однородностью показателей, полученных как в стрессовых, так и в контрольных условиях на протяжении всего периода исследования. Активность пероксидазы этого сорта не превышала 1,5 уе. мг⁻¹ белка.

По результатам электрофоретического разделения пероксидаз в полиакриламидном геле было выделено несколько групп изоформ. К первой группе относятся пероксидазы, масса которых варьирует в пределах 130–100 кДа, вторая группа включает изоформы массой от 70 до 60 кДа. Третью группу составляют пероксидазы массой ~55 кДа, представленные только одной изоформой (рис. 3). Первая и третья группы обнаружены у всех ис-

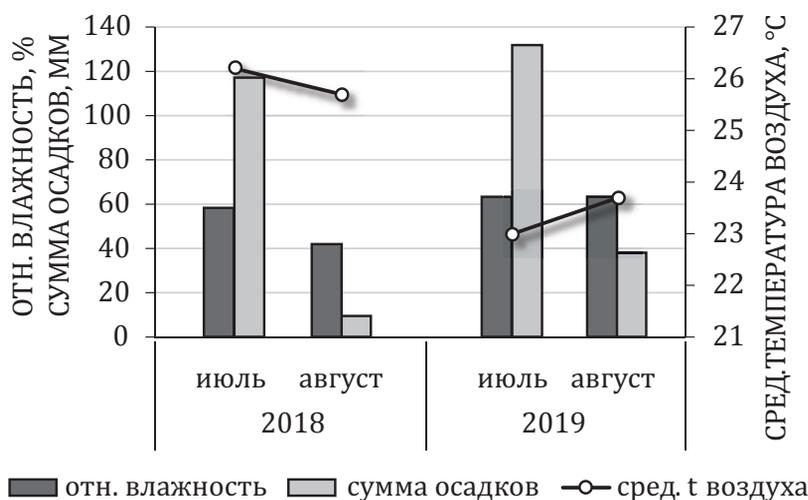


Рис. 1. Погодные условия за летний период 2018–2019 гг. (Круглик, Краснодар)

Fig. 1. Weather conditions in the summer months of 2018–2019 (Kruglik, Krasnodar)

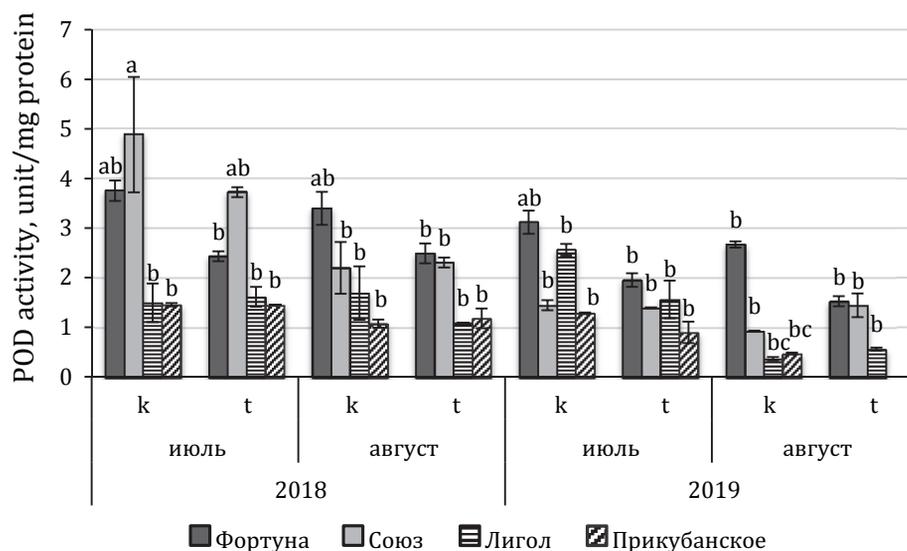


Рис. 2. Активность пероксидазы (POD) в листьях сортов яблони в контрольных условиях (к) и при воздействии высокотемпературного стресса (t).

Достоверные различия ($p < 0.05$) отмечены строчными буквами

Fig. 2. Peroxidase (POD) activity in leaves of apple cultivars under control (k) and high-temperature stress (t) conditions.

Significant differences ($p < 0.05$) are marked with lowercase letters

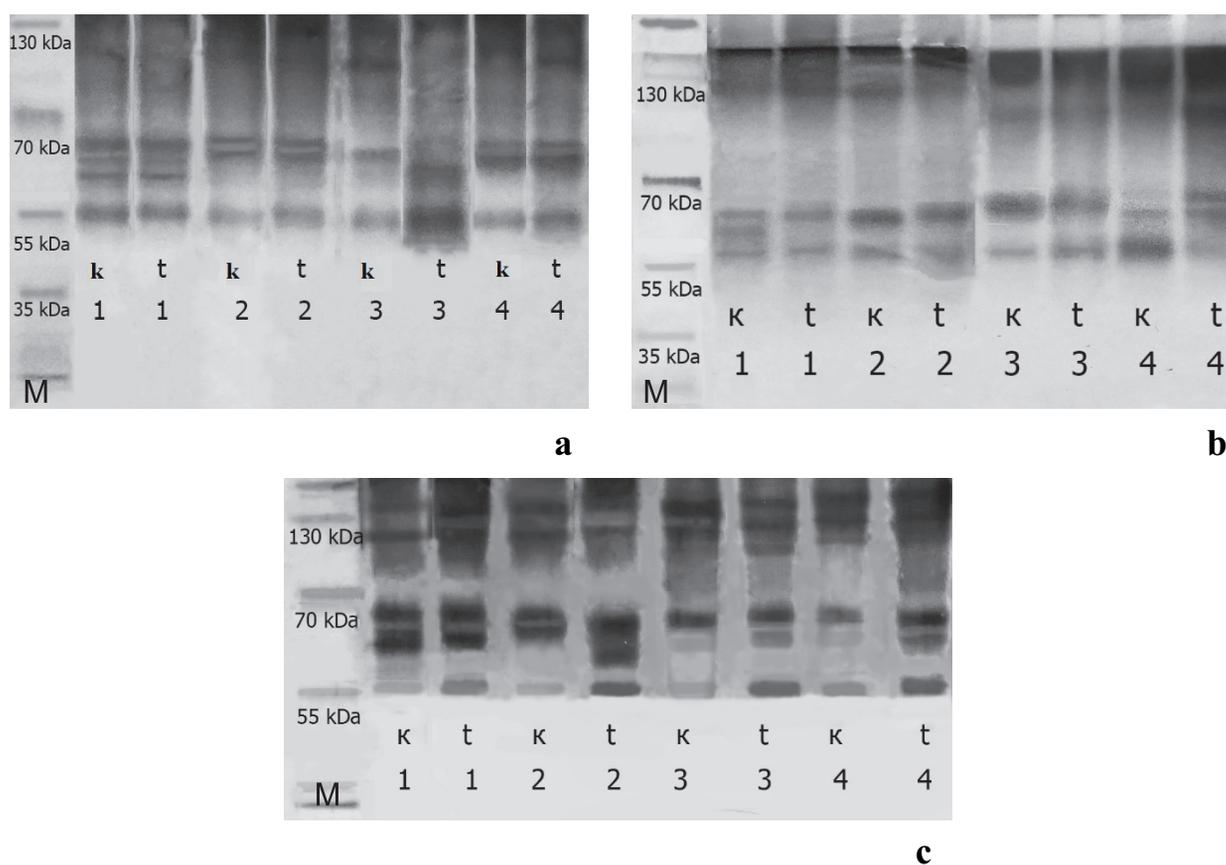


Рис. 3. Электрофоретические энзимограммы изоформ пероксидаз в листьях сортов яблони в контрольных условиях (к) и при воздействии высокотемпературного стресса (t):

а – июль 2018 г., б – июль 2019 г., с – август 2018 г.; 1 – Фортуна, 2 – Союз, 3 – Лигол, 4 – Прикубанское; М – белковый маркер

Fig. 3. Electrophoretic enzymography of peroxidase isoforms in leaves of apple cultivars under control (k) and high-temperature stress (t) conditions:

а – July 2018, б – July 2019, с – August 2018; 1 – Fortuna, 2 – Soyuz, 3 – Ligol, 4 – Prikubanskoie; М – protein marker

следованных сортов, а вторая группа включает несколько изоформ, число которых изменяется в зависимости от сорта и влияния стрессового фактора.

В июле 2018 г. у сорта 'Союз' были обнаружены четыре изоформы, относящейся ко второй группе пероксидаз, две из которых были более интенсивно окрашены, с молекулярной массой ~70–65 кДа, а две другие – слабоокрашенные, с молекулярной массой меньше 65 кДа (см. рис. 3, а). Для сорта 'Фортуна' характерно наличие трех изоформ второй группы, для сорта 'Прикубанское' – двух.

мечена изоформа с молекулярной массой 60 кДа. Кроме того, высокотемпературный стресс способствовал увеличению числа изоформ первой группы пероксидаз у сортов 'Лигол' и 'Прикубанское' – до трех с молекулярной массой ~130–100 кДа.

Данные по содержанию МДА в листьях яблони в исследованный летний период позволяют оценить интенсивность развития окислительного стресса в тканях растений под влиянием погодных условий, взятых в качестве контроля, и при искусственном прогреве (рис. 4).

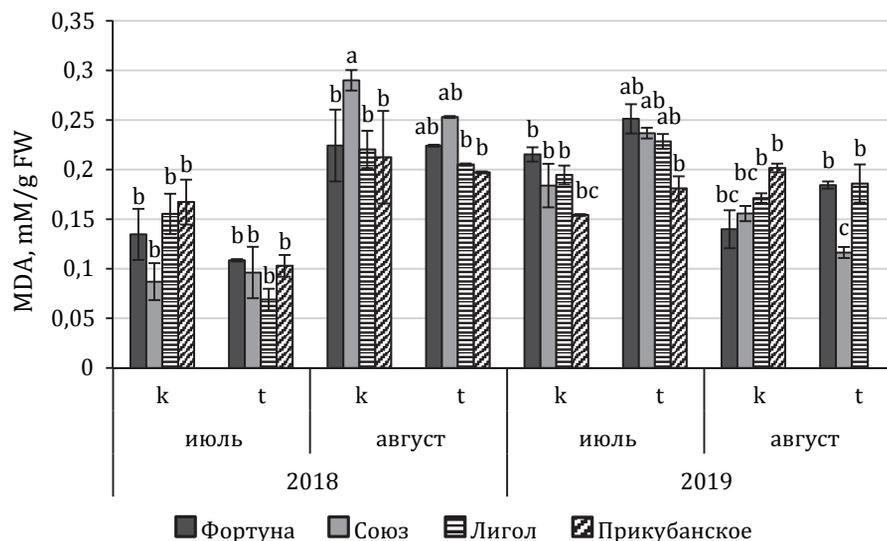


Рис. 4. Содержание малонового диальдегида (MDA) в листьях сортов яблони в контрольных условиях (k) и при воздействии высокотемпературного стресса (t).

Достоверные различия ($p < 0.05$) отмечены строчными буквами

Fig. 4. Malondialdehyde (MDA) content in leaves of apple cultivars under control (k) and high-temperature stress (t) conditions.

Significant differences ($p < 0.05$) are marked with lowercase letters

Сорт 'Лигол' в контрольных условиях имел одну изоформу пероксидазы с молекулярной массой ~65 кДа и вторую с меньшим уровнем активности, молекулярная масса которой была ниже 65 кДа. При стрессовом воздействии активность последней возросла, а первой снизилась.

В июле 2019 г. для всех исследованных сортов изменилось число изоформ второй группы пероксидаз относительно данных за июль 2018 г. (см. рис. 3, б). Так, у сортов 'Союз' и 'Лигол' были выделены только по одной изоформе как в контрольных условиях, так и при воздействии высоких температур. Сорт 'Фортуна' в контроле имел две изоформы второй группы пероксидаз, при высокотемпературном стрессе – одну. У сорта 'Прикубанское' под влиянием стрессового фактора было отмечено увеличение числа изоформ второй группы с одной до двух и усиление их активности.

Для августа 2018 г. было характерно увеличение активности изоформ пероксидаз в стрессовых условиях среди всех исследованных сортов (см. рис. 3, с). Причем число изоформ второй группы пероксидаз в контрольных условиях осталось неизменным относительно июля 2018 г. и составило для сорта 'Фортуна' три изоформы, для сортов 'Лигол' и 'Прикубанское' – две. Вариабельность числа изоформ второй группы была отмечена у сорта 'Союз'. В контрольных условиях у данного сорта были две изоформы с молекулярной массой в диапазоне от 70 до 65 кДа. При повышении температуры была от-

Было выявлено, что в среднем показатели МДА возрастали с июля по август 2018 г. и, напротив, незначительно снижались с июля по август 2019 г. Максимальный пик в контрольных условиях по содержанию МДА в листьях яблони установлен для августа 2018 г. и составил 0,21–0,29 мМоль г⁻¹ сырой массы.

При воздействии высокотемпературного стресса наибольший рост МДА наблюдали в июле 2019 г. для всех исследованных сортов. В остальных случаях увеличение данного показателя отмечено не было.

Обсуждение результатов

Наши данные о полиморфизме изоформ пероксидаз третьего класса согласуются с данными других исследователей, изучавших как дикие виды, так и культурные сорта и гибриды яблони (Manganaris, Alston, 1992; Barnes, 1993; Petrokas, Stanys, 2008; Rachenko et al, 2014). Причем наибольшее разнообразие свойственно для пероксидаз с молекулярной массой от 70 до 65 кДа, которых мы определили в отдельную группу. Ее, по-видимому, можно соотнести с группами пероксидаз II и III, выделенными английскими исследователями на гибридных формах яблони (Manganaris, Alston, 1992). Для них, как отмечают авторы, свойственна наибольшая вариабельность.

Полученные результаты характеризуются значительной сортовой неоднородностью и динамическими

изменениями в течение летнего периода. Из-за более засушливых и жарких условий в июле – августе 2018 г. исследованные сорта обладали более высоким уровнем активности фермента и содержанием малонового диальдегида и большим числом изоформ пероксидазы при сравнении с данными 2019 г. Засухоустойчивые летние сорта 'Фортуна' и 'Союз' имели повышенные показатели активности фермента и набора его изоформ. При воздействии экстремально высоких температур наблюдалось снижение активности пероксидазы у сорта 'Фортуна', а в некоторых случаях и уменьшение числа ее изоформ, тогда как у сорта 'Союз' стресс значительно не подавлял пероксидазные свойства фермента, что, возможно, связано с триплоидностью данного сорта, усиливающей его устойчивость относительно внешних неблагоприятных факторов (Zhang et al., 2015). Сорта зимнего срока созревания 'Лигол' и 'Прикубанское' характеризуются меньшим разнообразием изоформ пероксидазы и слабой активностью, но в экспериментальных условиях сорт 'Прикубанское' проявил большую однородность показателей.

Заключение

Активность пероксидазы и гетерогенность ее изоформ в листьях яблони являются динамическими параметрами, зависящими от сортовой специфики, периода вегетационного роста и развития, а также от степени влияния стрессового фактора. Полученные данные позволили выделить наименее восприимчивый триплоидный сорт 'Союз' и наиболее подверженные влиянию высокотемпературного стресса сорта 'Лигол' и 'Фортуна'. Для первого из них, сорта 'Лигол', характерны низкие значения исследованных показателей и слабое повышение активности при стрессе, для второго – высокие показатели активности и числа изоформ и их снижение в стрессовых условиях.

Полученные результаты дополняют данные полевых наблюдений, а также могут служить маркерными признаками в дальнейших исследованиях, позволяя более детально исследовать устойчивость сортов к определенным стрессовым факторам.

Работа выполнена в рамках Государственной программы № 0689-2019-0003 Министерства науки и высшего образования РФ.

The research was implemented within the framework of the State Program of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, No. 0689-2019-0003.

References / Литература

- Andreeva V.A. Peroxidase enzyme: participation in the protective mechanism of plants (Ferment peroksidaza: uchastie v zashchitnom mekhanizme rasteniy). Moscow; 1988. [in Russian] (Андреева В.А. Фермент пероксидазы: участие в защитном механизме растений. Москва; 1988).
- Araujo L., Stadnik M.J. Cultivar-specific and ulvan-induced resistance of apple plants to *Glomerella* leaf spot are associated with enhanced activity of peroxidases. *Acta Scientiarum: Agronomy*. 2013;35(3):287-293. DOI: 10.4025/actasciagron.v35i3.16174
- Barnes M.F. Leaf peroxidase and catechol oxidase polymorphism and the identification of commercial apple varieties. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 1993;21(2):207-210. DOI: 10.1080/01140671.1993.9513769
- Blokhina O., Virolainen E., Ferstedt K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*. 2003;91(2):179-194. DOI: 10.1093/aob/mcf118
- Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 1976;72:248-254. DOI: 10.1016/0003-2697(76)90527-3
- Cosio C., Dunand C. Specific functions of individual class III peroxidase genes. *Journal of Experimental Botany*. 2009;60(2):391-408. DOI: 10.1093/jxb/ern318
- Ermakov A.I. (ed.). Methods of biochemical research on plants (Metody biokhimicheskogo issledovaniya rasteniy). Leningrad; 1987. [in Russian] (Методы биохимического исследования растений / под ред. А.И. Ермакова. Ленинград; 1987).
- Gao T., Zhang Z., Liu X., Wu Q., Chen Q., Liu Q. et al. Physiological and transcriptome analyses of the effects of exogenous dopamine on drought tolerance in apple. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2020;148:260-272. DOI: 10.1016/j.plaphy.2020.01.022
- Golyshkina L.V. Electrophoresis in polyacrylamide gel of protein systems of fruit crops (Elektroforez v poliakrilamidnom gele belkovykh sistem plodovykh kultur). In: *Breeding and variety investigation of horticultural crops (Seleksiya i sortorazvedeniye sadovykh kultur)*. Orel: VNIISPK; 2007. p.56-63. [in Russian] (Гольшикина Л.В. Электрофорез в полиакриламидном геле белковых систем плодовых культур. В кн.: *Селекция и сорто-разведение садовых культур*. Оrel: ВНИИСПК; 2007. С.56-63).
- Heath R.L., Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1968;125(1):189-198. DOI: 10.1016/0003-9861(68)90654-1
- Jia D., Jiang Q., van Nocker S., Gong X., Ma F. An apple (*Malus domestica*) NAC transcription factor enhances drought tolerance in transgenic apple plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019;139:504-512. DOI: 10.1016/j.plaphy.2019.04.011
- Krivobochek V.G., Statsenko A.P., Gorehnik I.D., Kapustin D.A., Yurova Y.A. Use of variation peroxidase in evaluation of drought resistant spring wheat. *Innovative Machinery and Technology*. 2015;4:34-40. [in Russian] (Кривобочек В.Г., Стаценко А.П., Горешник И.Д., Капустин Д.А., Юрова Ю.А. Использование изменчивости пероксидазы в оценке засухоустойчивости яровой пшеницы. *Инновационные техники и технологии*. 2015;4:34-40).
- Liu S., Chen S., Chen Ya, Guan Z., Yin D., Chen F. *In vitro* induced tetraploid of *Dendranthema nankingense* (Nakai) Tzvel. shows an improved level of abiotic stress tolerance. *Scientia Horticulturae*. 2011;127(3):411-419. DOI: 10.1016/j.scienta.2010.10.012
- Ma Y.H., Ma F.W., Zhang J.K., Li M.J., Wang Y.H., Liang D. Effects of high temperature on activities and gene expression of enzymes involved in ascorbate-glutathione cycle in apple leaves. *Plant Science*. 2008;175(6):761-766. DOI: 10.1016/j.plantsci.2008.07.010
- Manganaris A.G., Alston F.H. Inheritance and linkage relationships of peroxidase isoenzymes in apple. *Theoretical*

- and *Applied Genetics*. 1992;83(3):392-399. DOI: 10.1007/BF00224288
- Mei Y., Sun H., Du G., Wang X., Lyu D. Exogenous chlorogenic acid alleviates oxidative stress in apple leaves by enhancing antioxidant capacity. *Scientia Horticulturae*. 2020;274:109676. DOI: 10.1016/j.scienta.2020.109676
- Møller I.M., Jensen P.E., Hansson A. Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annual Review of Plant Biology*. 2007;58:459-481. DOI: 10.1146/annurev.arplant.58.032806.103946
- Petrokas R., Stanys V. Leaf peroxidase isozyme polymorphism of wild apple. *Agronomy Research*. 2008;6(2):531-541.
- Prisedsky Y., Kabar A., Lykholat Y., Martynova N., Shupranova L. Activity and isoenzyme composition of peroxidase in the vegetative organs of Japanese quince under steppe zone conditions. *Biologija*. 2017;63(2):185-192. DOI: 10.6001/biologija.v63i2.3530
- Rachenko M.A., Rachenko Ye.I., Zhivetiev M.A., Romanova I.M., Graskova I.A. Activity and isoforms of peroxidase in leaves of apple tree varieties, distinguished by resistance to scab. *Vestnik of the Russian Academy of Agricultural Sciences*. 2014;5:20-25. [in Russian] (Раченко М.А., Раченко Е.И., Живетьев М.А., Романова И.М., Граскова И.А. Активность и изоформы пероксидазы в листьях сортов яблони, различающихся по устойчивости к парше. *Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук*. 2014;5:20-25).
- Rácz A., Hideg É., Czégény G. Selective responses of class III plant peroxidase isoforms to environmentally relevant UV-B doses. *Journal of Plant Physiology*. 2018;221:101-106. DOI: 10.1016/j.jplph.2017.12.010
- Radyukina N.L., Ivanov Y.V., Shevyakova N.I. Methods for assessing the content of reactive oxygen species, low molecular weight antioxidants and the activities of the main antioxidant enzymes (Metody otsenki soderzhaniya aktivnykh form kisloroda, nizkomolekulyarnykh antioksidantov i aktivnostey osnovnykh antioksidantnykh fermentov). In: Vl.V. Kuznetsov, V.V. Kuznetsov, G.A. Romanov (eds). *Molecular-genetic and biochemical methods in modern plant biology (Molekulyarno-geneticheskiye i biokhimicheskiye metody v sovremennoy biologii rasteniy)*. Moscow; 2012. p.355-356. [in Russian] (Радюкина Н.Л., Иванов Ю.В., Шевякова Н.И. Методы оценки содержания активных форм кислорода, низкомолекулярных антиоксидантов и активностей основных антиоксидантных ферментов. В кн.: *Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений* / под ред. Вл.В. Кузнецова, В.В. Кузнецова, Г.А. Романова. Москва; 2012. С. 355-356).
- Ranieri A., Castagna A., Baldan A., Soldatini G.F. Iron deficiency differently affects peroxidase isoforms in sunflower. *Journal of Experimental Botany*. 2001;52(354):25-35. DOI: 10.1093/jexbot/52.354.25
- Ulyanovskaya E.V. Summer apple varieties: Souz, Zolotoe letnee, Feua, Fortuna. *Fruit Growing and Viticulture of South Russia*. 2020;65(5):1-18. [in Russian] (Ульяновская Е.В. Летние сорта яблони: Союз, Золотое летнее, Фея, Фортуна. *Плодоводство и виноградарство Юга России*. 2020;65(5):1-18). DOI: 10.30679/2219-5335-2020-5-65-1-18
- Wei Z., Gao T., Liang B., Zhao Q., Ma F., Li C. Effects of exogenous melatonin on methyl viologen-mediated oxidative stress in apple leaf. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(1):316. DOI: 10.3390/ijms19010316
- Yamada M., Hidaka T., Fukamachi H. Heat tolerance in leaves of tropical fruit crops as measured by chlorophyll fluorescence. *Scientia Horticulturae*. 1996;67(1-2):39-48. DOI: 10.1016/S0304-4238(96)00931-4
- Yanchevskaya T.G., Grits A.N., Kolomiets E.I., Romanovskaya T.V., Yarullina L.G., Ibragimov R.I. et al. Stimulation of cellular mechanisms of anti-virus stability of potatoes by the action of the preparation based on *Bacillus subtilis* bacteria. *Applied Biochemistry and Microbiology*:2018;54(3):324-330. DOI: 10.7868/S0555109918030108
- Zhang F., Xue H., Lu X., Zhang B., Wang F., Ma Y. et al. Autotetraploidization enhances drought stress tolerance in two apple cultivars. *Trees*. 2015;29:1773-1780. DOI: 10.1007/s00468-015-1258-4
- Zhu Y., Jia X., Wu Y., Hu Y., Cheng L., Zhao T. et al. Quantitative proteomic analysis of *Malus halliana* exposed to salt-alkali mixed stress reveals alterations in energy metabolism and stress regulation. *Plant Growth Regulation*. 2020;90(2):205-222. DOI: 10.1007/s10725-019-00563-6

Прозрачность финансовой деятельности / The transparency of financial activities

Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

The authors declare the absence of any financial interest in the materials or methods presented.

Для цитирования / How to cite this article

Мишко А.Е., Луцкий Е.О. Динамика активности пероксидазы и ее изоформ в листьях разных сортов яблони. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2021;182(3):37-43. DOI: 10.30901/2227-8834-2021-3-37-43

Mishko A.E., Lutskiy E.O. Dynamics in the activity of peroxidase and its isoforms in leaves of different apple cultivars. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2021;182(3):37-43. DOI: 10.30901/2227-8834-2021-3-37-43

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы / The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work

Дополнительная информация / Additional information

Полные данные этой статьи доступны / Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2021-3-37-43>

Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы / The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employer

Авторы одобрили рукопись / The authors approved the manuscript

Конфликт интересов отсутствует / No conflict of interest

ORCID

Mishko A.E. <https://orcid.org/0000-0002-8425-5216>

Lutskiy E.O. <https://orcid.org/0000-0003-0521-0827>