XIII. FIATAL MŰSZAKIAK TUDOMÁNYOS ÜLÉSSZAKA

Kolozsvár, 2008. március 14-15.

A *VITIS VINIFERA* L. PONTUSZI FAJTÁKRA JELLEMZŐ ÚJ SAVAS FOSZFATÁZ IZOENZIM MINTÁZAT

Jahnke Gizella, Deák Edit, Györffyné Molnár Júlia, Kocsis László, Lakatos Anita,
Májer János, Stefanovits-Bányai Éva, Varga Zsuzsanna

Abstract

The range of grapevine cultivars traditionally grown in Hungary differs from the western European assortments, as they mostly belong to the Pontican cultivars. During the last years 20 grapevine cultivars were investigated to determine their isoenzyme patterns. We used vertical polyacrylamide gel system for the separation of the soluble isoenzymes of acid phosphatase (AcP). Comparing the banding patterns of the tested genotypes four cultivars showed a characteristic banding pattern of acid phosphatase in the woody stems which had not been mentioned in the literature yet. Analysis of the leaf extracts showed that 4 cultivars have one additional band in their zymogram as well. It may mean, that this additional form of acid phosphatase in these cultivars is controlled by an additional locus. As all these 4 cultivars are of Pontican origin, we extended the range of cultivars to 48 to clarify if this phenotype appears only in the range of Pontican cultivars, or can be encountered in other groups of *Vitis vinifera*.

Összefoglalás

A Magyarországon hagyományosan termesztett szőlőfajták köre eltér a Nyugat-Európában termesztett fajtáktól, minthogy ezek többsége a pontuszi fajtákhoz tartozik. Az elmúlt két évben 20 szőlőfajtát vizsgáltunk izoenzim analízissel. Három részből álló vertikális poliakrilamid gél rendszert használtunk a savas foszfatáz izoenzimjeinek elkülönítésére. A fás rész savas foszfatáz mintázatait összehasonlítva egy olyan speciális izoenzim mintázatot figyeltünk meg 4 fajta esetében, amelyet az irodalomban nem találtunk. Ennél a 4 fajtánál a gyorsabban vándorló régióban 4 sávot találtunk, míg a többinél csak hármat. A levélkivonatok vizsgálatánál, ezeknél a fajtáknál a zimogrammon egy plussz sávot találtunk. Ez valószínűleg azt jelenti, hogy ez a további savas foszfatáz forma ezeknél a fajtáknál egy további lokusz által szabályozott. Ezekre az eredményekre alapozva elkezdtük további hagyományos magyar szőlőfajta vizsgálatát, hogy megállapítsuk, hogy ez a fenotípus csak a pontuszi fajták körében jelenik meg, vagy a *Vitis vinifera* más csoportjainál is előfordul.

Bevezetés

Kevés olyan termesztett növényfajunk van, amelynél a fajta neve az előállított termék nevében hangsúlyozottan szerepel. Mindez csak aláhúzza azt a tényt, hogy a fajta a szőlőtermesztés meghatározó eleme. A fajták rendszerezésére több próbálkozás történt, a legelterjedtebb rendszerek a szőlőfajták származását veszik alapul. Közülük a legismertebb Negrul [4] rendszere, melyet Mémeth Márton átdolgozott és továbbfejlesztett [5]. A morfológiai bélyegeket a környezeti hatások kisebb-nagyobb mértékben módosítják, ami rontja az ezekre támaszkodó fajtaazonosítás megbízhatóságát. Az elmúlt mintegy harminc évben alkalmazott molekuláris markerek különböző típusai ugyanakkor nem, vagy csak minimális mértékben függenek a környezeti hatásoktól, ezért a fajtaazonosítás megbízhatóbb módszerét adják [2].

Az FVM badacsonyi Szőlészeti és Borászati Kutatóintézetében vizsgáltunk néhány badacsonyi vonatkozású szőlőfajtát izoenzimes markerekkel. A kapott eredmények értékelésénél feltűnt, hogy néhány fajta esetében olyan savas foszfatáz mintázatot kaptunk, ahol a gél középső részénél négy sáv volt megfigyelhető, míg a többi fajtánál csak három [3]. Szőlőfajták jellemzésére korábban is használták a savas foszfatáz rendszert [8], de az irodalmi hivatkozásokban csak a három sávós mintázatot találtuk [6,7]. Mivel az említett munkákban a vizsgált fajták közül egyik sem tartozott a pontuszi fajtakörbe, és az általunk vizsgált fajták közül csak a pontuszi fajtáknál fordult elő a négysávós mintázat, feltételeztük, hogy az említett mintázat csak a *conv. pontica* fajták között fordul elő. A feltételezés igazolására kísérletet állítottunk be, melynek során 48 fajta savas foszfatáz izoenzim mintázatát vizsgáltuk.

Anyag és módszer

A vizsgálatokhoz a növényanyagot (vessző) az FVM SZBKI, Badacsony, illetve Pécs fajtagyűjteményeiből szedtük. Néhány fajta esetében Badacsonyból és Pécsről is gyűjtöttünk mintákat annak eldöntésére, hogy a környezeti tényezők milyen mértékben befolyásolják az izoenzimmintázatot. 20 fajta esetén a vegetációs periódusban virágzás előtt is gyűjtöttünk fiatal leveleket, hogy megállapítsuk, hogy a hancs és a levél izoenzimmintázata között van-e hasonlóság.

A begyűjtött vesszők élő hancs szöveteiből, illetve a fiatal levelekből aktív enzimeket izoláltunk az alábbiak szerint: A hancs, illetve levelek 1,5 g-jához 750 mg policlar AT-t adtunk és 5 ml 4 °C-os kivonó pufferrel [1] homogenizáltuk az anyagot, majd 1 400 rpm-en 3 percig centrifugáltuk, és a felülúszót használtuk a vizsgálatokhoz, illetve -70 °C-on tároltuk a későbbi vizsgálatokhoz.

Vertikális poliakrilamid gél elektroforézist (PAGE) használtunk a savas foszfatáz izoenzimjeinek elkülönítésére. Három részből álló gél-rendszert alkalmaztunk [7]. A kivonatok elektroforézise 4 °C-on zsebenként 2 mA áramerősség mellett 3 óráig tartott. Az elektroforézis után a géleket savas foszfatázra festettük [1]. A kapott izoenzim mintázatokat vizuálisan értékeltük.

Eredmények

A minták használhatóságának vizsgálata során megállapítottuk, hogy a nyugalmi időszakban gyűjtött vessző, illetve a vegetációban virágzás előtt gyűjtött levélmintákban a savas foszfatáz enzim jó aktivitást mutatott, és hogy a nyugalmi periódus alatt gyűjtött minták izoenzimmintázata nem függött a mintaszedés helyétől és idejétől. A hancs minták elektroforézise során a vizsgált 48 fajta esetén 6 féle izoenzimmintázatot azonosítottunk (**1. ábra**). A 4-6-os mintázatoknál a gél alsó részében a 1-3-as mintázatoktól eltérően három sáv helyett négy sáv található. Míg a pontuszi fajtáknál a vizsgált fajták közel 70%-ánál megtalálható az említett negyedik sáv, addig a nem pontuszi származású (*orientalis* vagy *occidentalis*) fajták közül egyedül a Cirfandli-nál találtunk ilyen mintázatot (**1. táblázat**).

A hancs és a levél savas foszfatáz izoenzimmintázatának összehasonlításánál (**2. ábra**) megállapítható, hogy azoknál a fajtáknál, ahol a hancs kivonatok esetén három helyett négy sávot detektáltunk, ott

a levél kivonatok elektroforézise során is egyel több sávot találtunk. Ez a tény arra enged következtetni, hogy ezekben a fajtákban működik egy olyan gén (vagy gének), melynek terméke a savas foszfatáz enzim egy másik izoenzimje. Ez a gén a hancsban és a fiatal levélben is kifejeződik, és az említett fajták eltérő genotípusára utal.

1. ábra A szőlő hancs szöveteinek savas foszfatáz izoenzim zimogrammjának típusai. A 4-6. típusú mintázat a pontuszi fajtákra jellemző.

ssz.	Fajtanév	AcP mint. típusa	ssz.	Fajtanév	AcP mint. típusa	ssz.	Fajtanév	AcP mint. típusa
1	Cabernet franc	3	17	Pintes	4	33	Kövidinka	4
2	Cabernet sauvignon	3	18	Leányka	2	34	Királyleányka	1
3	Cirfandli	6	19	Medoc noir	3	35	Kövérszőlő	6
4	Olasz rizling	1	20	Oportó	2	36	Kékfrankos	3
5	Pinot blanc	1	21	Sárga muskotály	3	37	Picolit	5
6	Pinot gris	1	22	Ottonel muskotály	1	38	Pozsonyi fehér	3
7	Pinot noir	3	23	Arany sárfehér	6	39	Rajnai rizling	3
8	Sauvignon	3	24	Bakator	4	40	Chardonnay	1
9	Semillon	3	25	Budai	3	41	Zenit	1
10	Tramini	1	26	Csomorika	1	42	Zengő	3
11	Zöld veltelini	1	27	Ezerjő	2	43	Zefir	1
12	Zöldszilváni	3	28	Fehér góhér	1	44	Zeus	3
13	Bouvier	1	29	Furmint	5	45	B-15	1
14	Zéta	5	30	Hárslevelű	4	46	Rózsakő	3
15	Chasselas	3	31	Kadarka	3	47	Vulcanus	1
16	Juhfark	1	32	Kéknyelű	1	48	B-43	2

1. táblázat A vizsgált fajták savas foszfatáz izoenzim mintázat típusai az 1. ábra alapján

2. ábra Hancs (balra) és levél (jobbra) savas foszfatáz izoenzim mintázatok 10 fajta esetében

Összefoglalás

Az FVM badacsonyi Szőlészeti és Borászati Kutatóintézetében 48 szőlőfajtát vizsgáltunk savas foszfatáz izoenzim markerre. Vizsgálataink alapján az alábbi megállapításokat tehetjük:

A nyugalmi időszakban hancsból készített kivonatok esetén a savas foszfatáz enzim izoenzimmintázata nem függött a mintavétel idejétől és a környezettől, ezért ez a módszer ismétellhető,

és szőlőfajták összehasonlítására, elkülönítésére felhasználható. A nyugalmi időszakban vett hancsminták és a vegetációban virágzás előtt fiatal levélből nyert kivonatok savas foszfatáz izoenzimintázata hasonló, amely arra utal, hogy néhány azonos gén a hancsban, és a levélben egyaránt működik. Szoros összefüggést találtunk a fajták származása (pontuszi fajták esetén) és savas foszfatáz izoenzimintázata között.

Irodalom

- [1] Arulsecar S., D.E. Parfitt. *Isozyme analysis procedures for stone fruits, almond, grape, walnut, pistachio, and fig*. HortScience. 1986: 21(4): 928.-933.
- [2] Bretting P. K., M. P. Widrechner. *Genetic Markers and Horticultural Germplasm Management*. HortScience 1995: 30(7) 1349-1356
- [3] Györffyné Jahnke G, Korbuly J., Májer J. *Isoenzymatic Characterisation of some Grapevine Cultivars Bred in Badacsony*. Acta Horticulturæ 2003: No. 603: 593-599 pp.
- [4] Negrul A., M. *Семейство Vitaceae LINDLEY (Ampelidae KUNTH)*. In: Ампелография СССР 1946: I:45-432
- [5] Németh M.: *Ampelográfiai album I-III*. Budapest 1967, 1970, 1975
- [6] Royo J. B., Cabello F., Miranda S., Gogorcena Y., Gonzalez J., Moreno S., Itoiz R., Ortiz J. M.: *The use of isoenzymes in characterisation of grapevines (Vitis vinifera L.). Influence of the environment and time of sampling*. Scientia Horticulturæ 1997:69: 145-155.
- [7] Sánchez-Escribano E., J. M. Ortiz, J. L. Cenis. *Identification of table grape cultivars (Vitis vinifera L.) by the isozymes from the woody stems*. Genetic Resources and Crop Evolution 1998: 45: 173-179.
- [8] Stefanovits-Bányai É, S. Lakatos, M. Hajós-Novák, E. Hajdu, I. Balogh *Recent developments in biochemical characterisation of Vitis vinifera L. varieties in Hungary*. Int. J. Hort. Sci. 2002: 8(2): 57-61.

¹Jahnke Gizella, PhD., ^{1,2} Deák Edit PhD. hallgató, ¹Györffyné Molnár Júlia, PhD., ³Kocsis László, CSc., ¹Lakatos Anita, MSc., ¹Májer János, PhD., ²Stefanovits-Bányai Éva, PhD. ⁴Varga Zsuzsanna PhD. hallgató

¹FVM Szőlészeti és Borászati Kutatóintézete, Badacsony H-8261 Badacsonytomaj, Római út 165.
Tel: 36.87-532-200
E-mail: vitihill@mail.iif.hu;

²BCE, Élelmiszertudományi Kar, Alkalmazott Kémia Tanszék, H-1114 Budapest, Villányi út 41-43.

³PE, Georgikon Mezőgazdaságtudományi Kar, Kertészeti Tanszék, H-8360 Keszthely, Deák F. u. 16.

⁴BCE, Kertészettudományi Kar, Szőlészeti Tanszék, H-1114 Budapest, Villányi út 41-43.