

Н. Е. БОГДАНОВА, Э. В. ЗАВЬЯЛОВА, Л. П. ЛОГИНОВА
**К ВОПРОСУ ОБ ИНДУЦИРОВАННОМ СИНТЕЗЕ
ДИФЕНОЛОКСИДАЗЫ (1.10.3.1) ПРИ АЭРАЦИИ ТКАНЕЙ
КАРТОФЕЛЯ, ЗДОРОВОГО И ПОРАЖЕННОГО X- ВИРУСОМ**

(Представлено академиком А. Л. Курсановым 18 X 1969)

Развитие вирусной инфекции приводит к значительным сдвигам в активности многих окислительных ферментов. Однако природа индуцированной ферментной активности не установлена: неясно, синтезируются ли ферменты *de novo* или происходит активация «латентных» форм ферментов. С целью выяснения способностей тканей, пораженных вирусной инфекцией, к индуцированному синтезу окислительных ферментов нами исследовалось влияние аэрации на индуцированное образование *o*-дифенолоксидазы (*o*-ДФО) в дисках, вырезанных из клубней картофеля. Литература, посвященная проблеме так называемого раневого дыхания, весьма обширна. Известно, что при аэрации дисков, вырезанных из клубней картофеля, корней батата, моркови, цикория происходят глубокие изменения, затрагивающие все звенья дыхательной цепи⁽¹⁾. Установлено также, что развитие индуцированного дыхания зависит от белкового синтеза, который начинается уже через два часа после начала аэрации, т. е. задолго до того, как может быть отмечено возрастание интенсивности дыхания⁽²⁾. Предполагается, что синтез белка *de novo* является следствием процесса дегрессии, сопровождающего разрезание тканей⁽³⁾.

Вопрос о том, с помощью каких ферментных систем осуществляется терминальное окисление в аэрируемых дисках, нельзя считать решенным. Некоторые авторы считают, что в этом случае на первый план выступают ферменты цитохромного типа, нечувствительные к СО и KCN, или флавопротеиды нового типа с высоким сродством к кислороду. Возможно, в аэрируемых дисках начинает функционировать В-шунт к кислороду. В настоящее время считается доказанным факт возрастания активности и появления изоферментов пероксидазы и *o*-ДФО в аэрируемых дисках из корней батата⁽⁴⁾. Хироши и Уритани⁽⁵⁾ считают, что существует два возможных механизма активации *o*-ДФО: синтез *de novo* и активация проэнзима. Авторы отдают предпочтение первой возможности, основываясь на результатах предварительных опытов с ингибиторами белкового синтеза. Вместе с тем многими исследователями категорически отрицается возможность участия фенолоксидаз в терминальном окислении^(6, 11). Таким образом, нет единой точки зрения относительно участия *o*-ДФО в дыхании аэрируемых дисков.

В литературе не подвергается обсуждению вопрос о способности пораженных вирусной инфекцией тканей к индуцированному синтезу окислительных ферментов при аэрации, поэтому представляется весьма важным проведение сравнительного исследования способности здоровых и пораженных тканей картофеля к индуцированному возрастанию фенолоксидазной активности.

В данной работе объектами служили диски картофеля сорта Берлихинген (материал был любезно предоставлен нам В. И. Садовниковой). Из здоровых и пораженных *x*-вирусом клубней вырезали диски диаметром 7 и высотой 1 мм⁽¹¹⁾. Контрольные диски аэрировали на воде. В опытных вариантах диски помещали на раствор хлорамфеникола (4 мг/мл), часть

экспериментального материала находилась при температуре 4°. Диски аэрировали в течение 72 час. Через каждые 24 часа производили определение монофенолоксидазной (¹²) и дифенолоксидазной (¹³) активностей *o*-ДФО. В первом случае субстратом служил пирокатехин, во втором — *n*-крезол.

Результаты изучения дифенолоксидазной активности в дисках из клубней здорового картофеля представлены на рис. 1а. Как видно из приведенных данных, в первые 24 часа аэрации происходит резкое падение активности *o*-ДФО, на вторые сутки активность фермента начинает восстанавливаться и через 72 часа составляет 84% от активности фермента в свежих

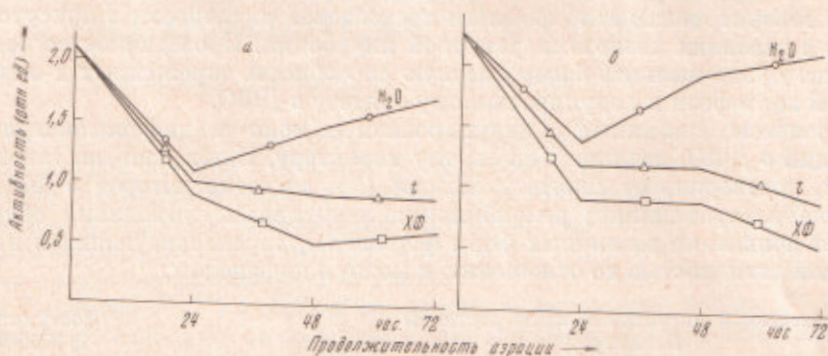


Рис. 1. Влияние аэрации на дифенолоксидазную активность в зараженных (а) и здоровых (б) тканях картофеля

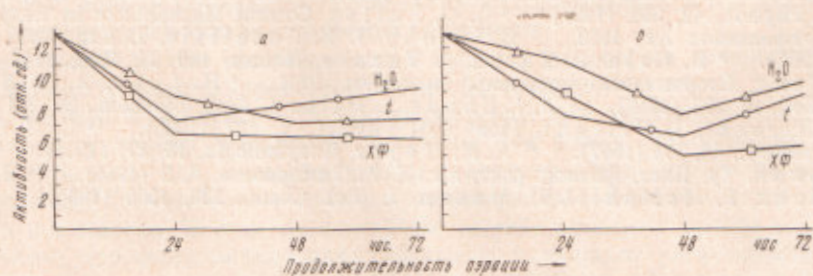


Рис. 2. Влияние аэрации на монофенолоксидазную активность в зараженных (а) и здоровых (б) тканях картофеля

тканях. Хлорамфеникол (ХФ) и низкая температура в первые сутки не оказали ингибирующего воздействия на активность *o*-ДФО. Через 48 час. аэрации картина резко изменяется: ХФ и низкая температура вызвали падение активности на 61 и 37% соответственно. Через 72 часа индуцированный синтез *o*-ДФО продолжался, но по ходу кривых видно, что темп этого процесса замедляется.

При изучении *o*-дифенолоксидазной активности в аэрируемых дисках из тканей зараженного *x*-вирусом картофеля (рис. 1б) выявилось закономерное падение активности в первые сутки; затем дифенолоксидазная активность начинает возрастать и к 72 часу достигает уровня активности в свежих тканях. ХФ снижает скорость окисления пирокатехина на $\frac{1}{3}$ уже в первые 24 часа аэрации, что свидетельствует о начале индуцированного синтеза ферментного белка в более ранние сроки, чем это можно было наблюдать в тканях здорового картофеля.

Данные по изучению особенностей монофенолоксидазной активности при аэрации дисков из здоровых и инфицированных тканей приводятся на рис. 2. При аэрации происходит резкий спад монофенолоксидазной актив-

ности за первые 24 часа, затем она постепенно восстанавливается. Такого рода явление наблюдалось ранее (9).

ХФ проявил ингибирующий эффект только через 48 час. Следует отметить особо, что в течение всего времени аэрации низкая температура стимулировала монофенолоксидазную активность в тканях здорового картофеля.

Различие в поведении двух ингибирующих агентов — ХФ и низкой температуры, по-видимому, обусловлено различными молекулярными механизмами воздействия их на белковый синтез.

В зараженных тканях индукция монофенолоксидазной активности начинается через 48 час.; к 72 часу процесс становится более интенсивным, о чем говорит факт ингибирования крезолоксидазной активности в присутствии ХФ и в условиях низкотемпературной инкубации. Проведенное исследование позволило выявить более высокую способность зараженных х-вирусом тканей картофеля к индуцированному синтезу *o*-ДФО.

Процессы, связанные с индуцированием моно- и дифенолоксидазных функций *o*-ДФО, различны по своему характеру. Наши данные, таким образом, подтверждают гипотезу Мэсона (14), согласно которой *o*-ДФО построена из субъединиц; рекомбинация идентичных субъединиц обуславливает появление различных форм ферментов, характеризующихся неодинаковой активностью по отношению к моно- и дифенолам.

Всесоюзный институт защиты растений
Ленинград

Поступило
13 X 1969

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ H. Beevers, *Respiratory Metabolism in Plants*, 1961. ² R. E. Click, D. Hackett, *Pros. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **50**, 243 (1963). ³ C. Willemot, P. K. Stumpf, *Plant. Physiol.*, **42**, 391 (1967). ⁴ G. G. Laties, *Control Mechanisms in Respiration, and Fermentation AP*, 1963. ⁵ B. Jacoby, J. E. Sutcliffe, *J. Exp. Bot.*, **13**, 39, 335 (1962). ⁶ N. Cole, J. Marks, J. Varner, *Nature*, **180**, № 4595, 1142 (1957). ⁷ Э. Гейл, *Современные проблемы биохимии*, 1961. ⁸ H. Levy, A. L. Shade, *Ann. Bot.*, **19**, 273 (1948). ⁹ A. L. Shade, L. Hilton, *Arch. Biochem.*, **20**, 211 (1949). ¹⁰ H. Hiroshi, I. Uritani, *Plant Cell Physiol.*, **7**, 137 (1966). ¹¹ C. C. Craft, *Am. Potato J.*, **44**, 174 (1967). ¹² A. M. Mayer, *Enzymologia*, **16**, 277 (1954). ¹³ A. K. Бояркин, *Тр. Инст. физиол. раст. им. К. А. Тимирязева*, **8**, 2 (1954). ¹⁴ S. Bouchilloux, P. McMahon, H. Mason, *J. Biol. Chem.*, **238**, 1966 (1964).