

Характеристика изоферментных спектров пероксидазы, ИУК-оксидазы и фенолоксидазы пшеницы в норме и при высокотемпературном воздействии

Французова Вера Петровна, Томилин Михаил Вадимович, Олюнина Любовь Николаевна

аспирант (без степени), студент (без степени), сотрудник (к.б.н., доцент)
Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского,
Биологический факультет, Нижний Новгород, Россия

E-mail: vpfrantsuzova@rambler.ru

Изменения в уровне фитогормонов - важный компонент ответа клеток на внешнее воздействие. Тепловой шок (ТШ) вызывает быстрый (10-15 мин) концентрационный всплеск свободной формы индолилуксусной кислоты (ИУК), с последующим снижением [1]. Повышение уровня ИУК происходит за счет распада (деконъюгации) неактивных форм; механизм снижения термоиндуцированного всплеска ИУК неясен. В деградации ИУК участвует ИУК-оксидазная ферментная система: фермент, по данным многих авторов – изоформы пероксидазы (ПО), и ингибитор фенольной природы, уровень которого могут контролировать как фенолоксидаза (ФО), так и пероксидаза (мультисубстратный фермент). В данной работе была исследована динамика изменений в спектре изоформ ИУК-оксидазы (ИУКО), ПО, ФО и сумме растворимых фенольных соединений (ФС) у проростков пшеницы при действии ТШ. Объект исследований – 5 дневная этиолированная пшеница сорта «Московская-35». Тепловой шок (42 °С) варьировали от 0 до 60 минут. Содержание ФС определяли колориметрическим методом с реактивом Фолина-Дениса. Концентрацию белка определяли по методу Lowry. Ферментативную активность белков после нативного диск-электрофореза в ПААГ определяли методом Endo для ИУКО, ПО и реакцией с пирокатехином и, затем, с фенилендиамином для ФО [2,3].

Выявлено, что в корнях 11 растворимых форм ПО и 7 ионсвязанных; из них 4 с Rf 0.11, 0.15, 0.73 и 0.77, общие для обеих фракций, обладают ИУК-оксидазной активностью; фенолоксидазную активность проявляли 9 растворимых форм и 8 ионсвязанных. В побегах зафиксированы 7 растворимых и 5 ионсвязанных ФО, для обеих белковых фракций характерны 7 изопероксидаз и 3 зоны с ИУК-оксидазной активностью. Тепловой шок резко изменял активность отдельных изоформ ПО, ИУКО; наибольшие изменения отмечены для зон с Rf 0.11, 0.77, и максимум их активации зарегистрирован после 5 (растворимая фракция) либо 30 (связанная) минут экспозиции. Появления или исчезновения новых изоферментов в спектре ПО, ИУКО при высокотемпературном воздействии не обнаружено. Накопление растворимых ФС зафиксировано при 30 (корни) и 60 (листья) минутной гипертермии. Интересно, что 30 минутный ТШ сопровождался падением активности ФО корней на 50% (связанная) и 73% (растворимая фракция) по сравнению с контролем. Высокое содержание ФС коррелировало с ранее выявленным снижением уровня ИУК, данную реакцию можно рассматривать как часть механизма защитного торможения роста растений при действии высоких (стрессующих) температур.

1. Веселов А.П., Лобов В.П., Олюнина Л.Н. Изменение в содержании фитогормонов в ответной реакции растений при тепловом шоке и в период его последствий // Физиология растений. – 1998. – Т. 45, № 6. – С. 709–715.
2. Гавриленко В.Ф., Ладыгина М.Е., Хандобина Л.М. Большой практикум по физиологии растений. М.: Высшая школа, 1975. 327 с.
3. Чернавина И.А., Потапов Н.Г., Косулина Л.Г., Кренделева Т.Е. Большой практикум по физиологии растений. М.: Высшая школа, 1978. 408 с.