

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ И ИЗОФЕРМЕНТНОГО СПЕКТРА ПЕРОКСИДАЗЫ В ЛУБЕ ПРИВИТЫХ ЧЕРЕНКОВ ВИНОГРАДА В ПРОЦЕССЕ ИХ РЕГЕНЕРАЦИИ

ДЕРЕНДОВСКАЯ А.И., ШТИРБУ А.В.
Государственный Аграрный Университет Молдовы

Abstract. The activity and isoenzymatic spectrum of proteins of the peroxidase have been studied in the phloem of vine, grafted cuttings of different scion-stock combinations. It was showed the direct dependence between the enzyme activity and the capacity of callus formation of cuttings. In the cuttings before experiments we didn't find the essential distinctions in the isoenzymes of peroxidase. We suppose, that the isoenzymatic spectrum of proteins of the peroxidase (on the 12th day of callusing) can be used, to some degree, for prognostication of compatibility of the vine varieties in the grafting.

Ключевые слова: привитые черенки винограда, регенерация, каллусообразование, активность пероксидазы, изоферменты пероксидазы

ВВЕДЕНИЕ

Белки виноградной лозы обладают пероксидазной, полифенолоксидазной и цитохромоксидазной активностью, содержат сложный набор молекулярных форм, количественный и качественный состав которых варьирует в зависимости от сорта и физиологического состояния растений (Левит, Кириллов, Козьмик, 1989).

Луи Рив (1923) впервые предпринял попытку прогнозировать совместимость прививаемых компонентов, используя для этих целей серологический анализ белков. Еремеева Н.Е. (1967), Николенко В.Г., Кондратенко Л.Ф. (1979) для определения совместимости сортов винограда используют иммунохимический анализ белков. Masa Vasques (1985; 1986; 1989) предлагает рассчитывать индексы совместимости между привоем и подвоем по электрофоретической подвижности белков. Полагает, что для определения совместимости привоев и подвоев у винограда может служить *кислая и щелочная фосфатаза*. Bachmann O., Blaich K. (1988) для определения генетических различий овощных, плодовых культур и винограда предлагают использовать изоферментный спектр *пероксидазы*. В связи с этим, целью исследований явилось определение активности и изоферментного спектра белков пероксидазы в лубе привитых черенков винограда в процессе их регенерации, в зависимости от сочетания компонентов прививок.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследований проведены на сортах Шасла белая и Сурученский белый, привитых на подвоях РхР 101-14; БхР СО₄ и БхР Кобер 5ББ. Контролем служили автопластические прививки «сам на себя» – Шасла белая на Шаслу белую и Сурученский белый на Сурученский белый. В лубе черенков до прививки, а также у привитых компонентов в процессе их регенерации (на 12-й день стратификации), отдельно в привое, верхней и

нижней частях подвоя проводили определение активности и изоферментного спектра белков пероксидазы. Активность фермента определяли по Бояркину А.М. (Ермаков и др., 1987). Белки пероксидазы извлекали 0,1М трис-буфером в щелочной среде (рН=9,2). Разделение проводили методом вертикального диск-электрофореза в 12% полиакриламидном геле (ПААГ) (Сафонов, Сафонова, 1971).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Растительные клетки реагируют на ранение повышенной активностью пероксидазы. Нами выявлена прямая зависимость между активностью фермента в лубе привитых компонентов и интенсивностью процесса каллусообразования у разных сорто-подвойных комбинаций (Дерендовская, 1992). Установлено, что активность фермента выше у привоев и ниже – у подвоев. Компоненты прививок, характеризующиеся высокой каллусообразовательной способностью (Шасла белая и Сурученский белый на БхР СО₄ и БхР Кобер 5ББ) отличаются и высоким уровнем пероксидазы (рис.1).

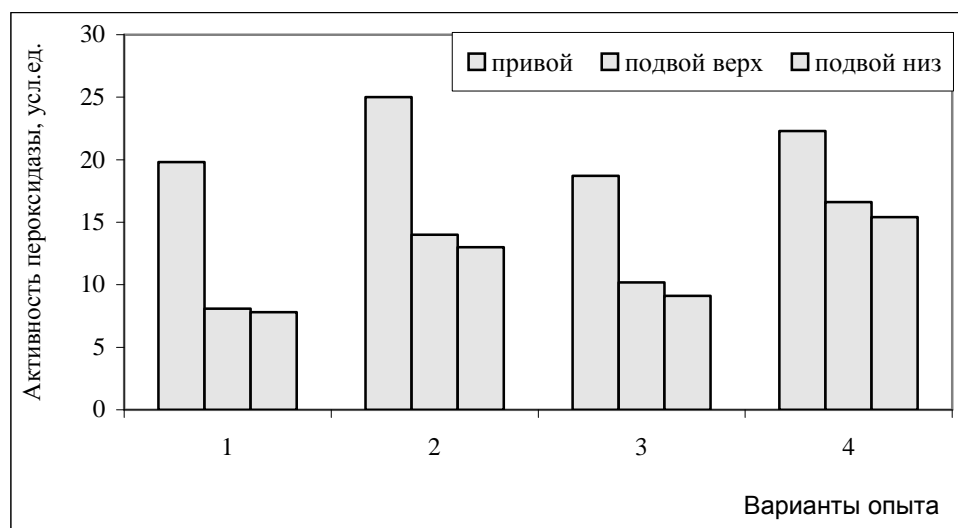


Рис. 1. Активность пероксидазы в лубе компонентов прививок (12-й день стратификации). Варианты опыта: 1-Шасла на РхР 101-14; 2-Шасла на БхР Кобер 5ББ; 3-Сурученский белый на РхР 101-14; 4-Сурученский белый на БхР Кобер 5ББ

По данным ряда авторов (Гриненко, Бютнер, 1965) причина физиологической совместимости двух разных организмов, объединенных прививкой в один целостный организм, следует искать в степени координаций функций отдельных органов, тканей, которая находит выражение в характерной для данного органа специфике обмена веществ. Гриненко В.В., Поспелова Ю.С., Бютнер Е.Г. (1985); Гриненко В.В., Поспелова Ю.С., Ефимова Н.С. (1985) считают, что физиологическое несоответствие привоев и подвоев определяется, прежде всего, составом белковых соединений в коре подвоя и привоя

плодовых компонентов. Для оценки адаптационной совместимости прививаемых компонентов предлагают использование диск-электрофореза для анализа белков, выделенных из корней подвоя до и после прививки, но в критический для растений период – засухи.

В свою очередь, учитывая свойство виноградного растения усиливать активность пероксидазы, в ответ на раздражение клеток ранением, мы использовали изоферментный спектр пероксидазы для прогнозирования совместимости прививаемых компонентов. Установлено, что до прививки сорта незначительно различаются набором изоформ пероксидазы. Изоферментный спектр представлен 9-ю фракциями у привойных и 7-ю – у подвойных сортов, которые, в основном относятся к медленно-, средне- и малоподвижным белкам.

В период сращивания компонентов (12-й день стратификации) количество изоформ пероксидазы возрастает как у привойных, так и подвойных сортов. В привоях обнаружено 11-12, в подвоях - 9-10 зон. Изоформы пероксидазы у привоев выражены мало- и среднеподвижными белками, при этом у них выявлен ряд одинаковых зон с ОЭП – 0,050; 0,088; 0,188; 0,400; 0,425; 0,450; 0,475; 0,513 и 0,550. Не обнаружено существенных различий в изоэнзимах пероксидазы у компонентов в автопластических прививках (Шасла белая на Шаслу белую). В данном варианте у привоя и подвоя зоны одинаковые, характерные для привойного сорта. При прививке Шаслы белой на РхР 101-14 и БхР Кобер 5ББ привои и подвои отличаются двумя зонами с ОЭП - 0,188 и 0,213, присутствующими только у привойных сортов. В то же время при прививке Шаслы белой на БхР СО₄ наблюдаются некоторые различия: в подвое отсутствуют зоны с ОЭП-0,188 и 0,213, а также – 0,550, в привое – 0,513. Все остальные зоны идентичные.

При прививке Сурученского белого на БхР СО₄, БхР Кобера 5ББ и Сурученский белый появляется фракция трудноподвижных белков с ОЭП-0,025. Зона с ОЭП-0,188 – минорная, стабильно присутствует у привоев при прививке на РхР 101-14, появляется у привоев других вариантов и полностью отсутствует у подвойных сортов. Наименьшие различия между компонентами по изоэнзимам пероксидазы наблюдаются при прививке Сурученского белого на РхР 101-14 и БхР Кобера 5ББ. Изоэнзимы привойных и подвойных сортов одинаковы, однако у подвоев отсутствует зона с ОЭП-0,188, присутствующая у привоев.

При прививке Сурученского белого на БхР СО₄ наблюдаются различия в изоферментном составе пероксидазы во фракции трудно- и среднеподвижных белков. Различия касаются зон с ОЭП-0,025; 0,088; 0,275; 0,325 и 0,350. Зоны легко подвижных белков идентичны. Незначительные различия отмечены в автопластических прививках Сурученский белый на Сурученский белый, в основном во фракции среднеподвижных белков. У подвоя отсутствует зона 0,300, однако присутствует - 0,350.

Следовательно, изоферментный спектр белков пероксидазы дает возможность прогнозировать, до некоторой степени, совместимость привойных и подвойных сортов винограда в прививке.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Растительные клетки реагируют на ранение повышенной активностью пероксидазы. Выявлена прямая зависимость между активностью фермента в лубе привитых компонентов и интенсивностью процесса каллусообразования у разных сорто-подвойных комбинаций.

Учитывая свойство виноградного растения усиливать активность пероксидазы в ответ на раздражение клеток ранением, полагаем, что анализ изоферментного спектра данного фермента можно использовать для прогнозирования совместимости прививаемых компонентов, особенно в период, когда в привитом черенке напряженно протекают процессы обмена веществ, связанные с регенерацией, образованием каллуса и срастанием компонентов (10-12 дни стратификации).

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Гриненко В.В., Поспелова Ю.С., Бютнер Ю.Г. О сходстве и различии некоторых физиологических признаков у прививочных компонентов у яблони // Эндогенная и экзогенная регуляция роста и развития растений. Кишинев, 1985, 32-40с.
2. Дерендовская А.И. Регенерационные процессы у привитых черенков винограда и их гармональная регуляция. Дисс. докт.-хаб. с.-х. наук, Кишинев, 1992, 366с.
3. Еремеева Н.Е. Серологическая реакция как показатель аффинитета привоя и подвоя в прививках винограда // Сельскохозяйственная биология, 1967, №1, 22-25с.
4. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.М. Методы биохимического исследования растений. Л.: Агропромиздат, 1987, 430с.
5. Левит Т.Х., Кирилов А.Ф., Козьмик Р.А. Метаболизм виноградной лозы в условиях закаливания. Кишинев: Штиинца, 1989, 243с.
6. Ноколенко В.Г., Кондратенко Л.Ф. Выход привитых саженцев по различным комбинациям привоев и подвоев в зависимости от их произрастания // Садоводство, виноградарство и виноделие Молдовы, 1979, №2, 5-7с.
7. Сафонов В.И., Сафонова Н.П. Исследование белков и ферментов растений методом электрофореза в полиакриламидном геле // Биохимические методы в физиологии растений. М.: Наука, 1971, 113-136с.
8. Bachman O., Blaich K. Isoelectric focusing of grapevine peroxidases as a tool for ampelography. Vitis, №3, 1988, 147-155p.
9. Masa A. Affinite biochimique entre le greffon du cultivar Albarino (Vitis Venifera L.) et diferents porte greffes // Connais vigne et vin, №4, 1989, 207-213p.
10. Rives L. Sur l'emploi de seridiagnostic pour la determinacion de l'affinite. Le progres agricole et viticole., 1923.