

УДК 578.851.86

Айме РИЙКОЯ, Улрих ХЁДРЕЯРВ

## ОБРАЗОВАНИЕ СТРЕССОВЫХ БЕЛКОВ У РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ ПОД ДЕЙСТВИЕМ СОЛЕЙ КАДМИЯ, РТУТИ И СЕРЕБРА

Aime RIIKOJA, Ulrich HÖDREJÄRV. Cd-, Hg- JA Ag-SOOLADE MÕJUL INDUTSEERITUD UUDIK-  
VALGUD KARTULI LEHTEDES

Aime RIIKOJA and Ulrich HÖDREJÄRV. Cd<sup>2+</sup>-, Hg<sup>2+</sup>-, AND Ag<sup>+</sup>-INDUCED FORMATION OF  
STRESS-PROTEINS IN POTATO PLANTS

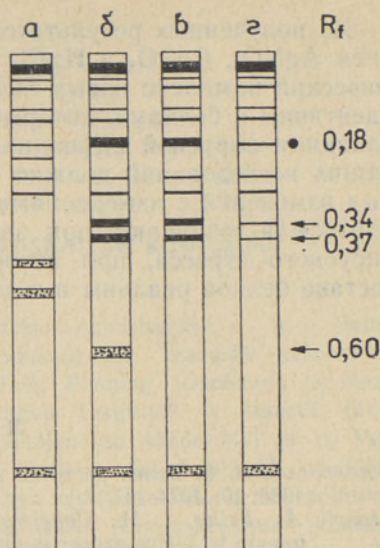
У растений под воздействием различных факторов (резкие колебания температуры и влажности, инвазия вирусов, бактерий и грибов, химические соединения) развивается стрессовое состояние, характеризующееся комплексом общих изменений в их биохимических и физиологических процессах. Одним из типичных проявлений стрессового состояния является образование новых белков (Косаковская, 1988). Установлено, что под влиянием вирусов, виридов, бактерий и химических соединений в растениях образуются одинаковые новые белки (Pierpoint et al., 1981; van Loon, 1983; Taria et al., 1986; Granell et al., 1987).

Предварительные исследования нашей лаборатории с растениями картофеля показали, что стрессовое состояние, вызванное обработкой солями серебра и тяжелых металлов выражено четче, чем состояние, вызванное воздействием на растения вирусами. Это наглядно проявилось также в изменениях на уровне белков. У обработанных растений под влиянием названных солей легко образовались новые фракции белков и быстро развивалась типичная для стрессорных воздействий картина общих изменений в составе белкового комплекса.

В настоящей работе исследован этот феномен с тем, чтобы выяснить базовые белковые характеристики у растений картофеля в условиях стресса и на основе этого создать предпосылки для расшифровки физиологических механизмов действия вирусов, поражающих картофель. Работа была выполнена на оздоровленных методами термотерапии и меристемной культуры растениях 12 различных сортов картофеля ('Адретта', 'Андо', 'Агра', 'Эба', 'Йыгева коллане', 'Матс', 'Мавка', 'Олев', 'Премьер', 'Превалент', 'Сулев' и 'Вигри'). В качестве стрессорных агентов использовали 0,5%-ные растворы AgNO<sub>3</sub>, CdSO<sub>4</sub> и HgCl<sub>2</sub>.

Опытные растения опрыскивали указанными растворами в фазе 5—6 листьев. Через 5—6 дней после обработки листья собирали и подвергали вакуумной инфльтрации (30 мин при комнатной температуре) в буферном растворе 0,025 М Tris-HCl (pH 7,8) в смеси с 0,5 М сахарозы, 0,01 М MgCl<sub>2</sub>, 0,01 М CaCl<sub>2</sub> и 0,005 М 2-меркаптоэтанола. Инфильтрированный раствор вместе с растворенными в нем белками выделяли из листьев центрифугированием в течение 20 мин при 1000 g (Parent, Asselin, 1984). Таким же образом экстрагировали белки и из листьев здоровых (контрольных) растений. Полученные экстракты подвергали электрофорезу в 10%-ном полиакриламидном геле (буфер Tris-глицина, pH 8,3, напряжение 200 В). Локализация отдельных фракций белков в геле устанавливалась путем их окрашивания кумасси синим.





Электрофореограмма растворимых белков картофеля сорта 'Превалент' в 10%-ном полиакриламидном геле: а — необработанное растение; б — обработанное  $\text{HgCl}_2$ ; в — обработанное  $\text{CdSO}_4$ ; г — обработанное  $\text{AgNO}_3$ . Стрелками показаны новые белки, точкой отмечен белок, количество которого увеличивается.

При сравнении между собой полученных электрофореграмм (рисунок) выяснилось, что под влиянием  $\text{CdSO}_4$  и  $\text{HgCl}_2$  всегда появлялись два новых белка ( $R_f$  0,34—0,36 и 0,37—0,39). Те же самые фракции новых белков регулярно образовывались и в результате действия  $\text{AgNO}_3$ , лишь у сортов 'Эба' и 'Йыгева коллане' этого не наблюдалось. Однако у некоторых сортов появлялась еще и фракция нового белка с большей подвижностью ( $R_f$  0,60—0,61), например, у сортов 'Адретта' и 'Премьер' под действием  $\text{CdSO}_4$ , у сортов 'Адретта', 'Матс' и 'Премьер' под действием  $\text{AgNO}_3$ . При обработке растений раствором  $\text{HgCl}_2$  указанный третий белок индуцировался у большинства сортов и лишь у растений сортов 'Эба', 'Сулев' и 'Вигри' появление его не было установлено.

Дополнительно к появлению трех новых белков у всех сортов почти во всех случаях обнаруживалось увеличение количества фракции белка с  $R_f$  0,18—0,21.

Итак, изменения в составе белков, индуцированные тремя изученными ионами, были в принципе аналогичными, различаясь только количественно. Самое сильное влияние оказывала соль  $\text{Hg(II)}$  (рисунок), на воздействие которой реакция растений была более выраженной, чем в случае других металлов. Самым слабым оказалось влияние соли  $\text{Ag(I)}$ . На основе этого можно предположить, что изменения, вызываемые в белковом комплексе растений под влиянием солей тяжелых металлов зависят не столько от типа указанных металлов, сколько от степени окисления их ионов. Оба двухвалентных иона обладали более сильными индуцирующими свойствами, чем одновалентный ион серебра.

Если сравнивать между собой изученные сорта картофеля, то они по ответной реакции к использованной химической обработке друг от друга существенно не отличались. Все обнаруженные на электрофореограммах различия отдельных сортов можно считать часто количественными, которые вытекали, по-видимому, из несколько различной их чувствительности к воздействию. Слабее всего на обработку реагировали, как правило, сорта 'Эба' и 'Йыгева коллане', сильнее других — сорта 'Адретта' и 'Премьер'.



Из полученных результатов следует, таким образом, что под влиянием  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{CdSO}_4$  и  $\text{HgCl}_2$  в растениях картофеля образуется специфический комплекс новых белков. Эти белки с большой вероятностью идентичны с белками, которые возникают в растениях картофеля под влиянием вирусной инфекции. Исходя из этого, дальнейшей задачей наших исследований должно служить детальное сравнение обнаруженных изменений с изменениями, которые в белковом комплексе растений картофеля возникают при заражении вирусами, и выявление условий вирусного стресса, при которых такие изменения во фракционном составе белков реальны и с достаточной четкостью развиваются.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Косаковская И. В. Белки растений при стрессах. — Физиол. и биох. культ. растений, 1988, 20, 107—117.
- Granell, A., Belles, J. M., Conejero, V. Induction of pathogenesis-related proteins in tomato by citrus exocortis viroid, silver ion and ethephon. — *Physiol. Mol. Plant. Path.*, 1987, 31, 83—90.
- Loon, L. C. van. The induction of pathogenesis-related proteins by pathogens and specific chemicals. — *Neth. J. Plant. Path.*, 1983, 89, 265—273.
- Parent, J.-G., Asselin, A. Detection of pathogenesis-related proteins (PR or b) and of other proteins in the intercellular fluid of hypersensitive plants infected with tobacco mosaic virus. — *Can. J. Bot.*, 1984, 62, 564—569.
- Pierpoint, W. S., Robinson, N. P., Leason, M. B. The pathogenesis-related proteins of tobacco: their induction by viruses in intact plants and their induction by chemicals in detached leaves. — *Physiol. Plant. Path.* 1981, 19, 85—97.
- Tapia, M., Bergmann, P., Awade, A., Burkard, G. Analysis of acid extractable bean leaf proteins induced by mercuric chloride treatment and alfalfa mosaic virus infection. Partial purification and characterization. — *Plant. Sci.*, 1986, 45, 167—177.

Институт экспериментальной биологии  
Академии наук Эстонии

Поступила в редакцию  
11/X 1990