

Эви ПАДУ

ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ И ИЗОФЕРМЕНТНОГО СОСТАВА ДЕГИДРОГЕНАЗ КАРТОФЕЛЯ В СВЯЗИ С ЗАРАЖЕНИЕМ КАРТОФЕЛЬНОЙ НЕМАТОДОЙ

Результаты многих исследований приводят к выводу, что изменения в активности дегидрогеназ являются характерным признаком заболевания растений (Staples, Stahmann, 1963; Рубин и др., 1964; Malca и др., 1965; Rudolph, Stahmann, 1968; Rudolph, 1971). Этот факт указывает на то, что дегидрогеназы участвуют в регуляции метаболизма инфицированного растения. Однако мы еще практически ничего не знаем о значении этих ферментов в определении характера отношений между хозяином и паразитом. Ряд исследователей считает, что активность дегидрогеназ растения-хозяина и болезнеустойчивость его обратно пропорциональны. Дегидрогеназы активируются при заражении восприимчивых растений. Устойчивость сопровождается уменьшением активности дегидрогеназ (Kiraly, Farkas, 1962; Иванова, Рубин, 1963). Предполагается, что дегидрогеназы двояко реагируют на заражение: либо изменяют химический состав тканей растения-хозяина, либо увеличивают или уменьшают окислительно-восстановительный потенциал тканей растения (Rudolph, Stahmann, 1968). Роль дегидрогеназ в заболеваниях, вызванных нематодами, почти не изучена. Следовательно, в данной области нужны дополнительные экспериментальные исследования. В нашей работе изучалось влияние нематодной инвазии на активность глютамат-, алкоголь-, малат-, глюкозо-6-фосфат-, изоцитрат- и лактатдегидрогеназы и на изоэнзимный состав глюкозо-6-фосфат-, малат- и глютаматдегидрогеназы в корнях и листьях устойчивых и восприимчивых к картофельной нематоды сортов картофеля.

Материал и методы

В работе использовались два сорта картофеля (*Solanum tuberosum* L.): восприимчивый к картофельной нематоды (*Heterodera rostochiensis* Wollenweber) сорт 'Сулев' и устойчивый к патотипу А этой нематоды сорт 'Спекула'.

Растения картофеля выращивались в литровых сосудах в вегетационном домике в песчаной культуре на питательной среде Роббинса (Robbins, 1946). Для заражения использовалась местная популяция картофельной нематоды из очага Лавассааре, состоящая только из патотипа А. Инфекционная нагрузка составляла 300 цистов нематоды на литр песка. В целях стимуляции выхода личинок цисты перед опытом в течение трех суток обрабатывались свежеприготовленной 2М пикролоновой кислотой. Цисты с активированными личинками вносили в песок непосредственно перед посадкой глазков картофеля.

Приготовление гомогената для определения активности дегидрогеназ. 2 г корней картофеля растирали в 12 мл холодной буферной смеси (рН 7,8) с толченым стеклом

в охлажденной до -10°C фарфоровой ступке. Состав буфера: 6,05 г трис, 3,4 г KH_2PO_4 и 2 мл 0,1 М MgSO_4 в 500 мл дистиллированной воды. Полученный гомогенат сохраняли на ледяной бане.

Определение активности дегидрогеназ в гомогенате. Активность дегидрогеназ определяли колориметрически с помощью трифенилтетразолиевого хлористого (ТТХ) (Ермаков и др., 1972).

В пробирку для определения активности фермента вливали 0,1 мл ТТХ (1,0%), 0,3 мл НАД или НАДФ (0,17 г/50 мл), 0,2 мл субстрата (0,1 М) и 1,0 мл гомогената (Растворы органических кислот нейтрализовали с 8 М КОН по фенолфталеину.) В контрольные кюветы вместо субстрата добавляли дистиллированную воду. Все пробирки ставили в вакуумный эксикатор, откуда вакуумным насосом удаляли воздух в течение 15 мин. Затем эксикатор помещали в темноту в термостат и инкубировали при комнатной температуре в течение 2 ч. После этого в каждую пробирку добавляли 5 мл растворителя формазана, состоящего из 95 мл этанола и 5 мл ледяной уксусной кислоты, и раствор фильтровали через обычный бумажный фильтр. Интенсивность возникшей окраски формазана измеряли на спектрофотометре СФ-16 при 520 нм.

Для определения дегидрогеназной активности из показателей оптической плотности опытной кюветы высчитывали показатели оптической плотности контрольной пробы. Активность ферментов выражали интенсивностью возникшей за 2 ч окраски в расчете на 1 г сырого веса или на 1 мг белка.

Определения в большинстве опытов проводились в трехкратной повторности. Результаты экспериментов обрабатывали статистически с помощью теста Стьюдента. Достоверные различия (при 5%-ном уровне значимости) в активности дегидрогеназ между здоровыми и зараженными растениями в таблице отмечены звездочками.

Определение изоэнзимного состава дегидрогеназ. Экстракцию растворимого белка для электрофореза и электрофорез в полиакриламидном геле проводили согласно описанной ранее методике (Хаберман, 1972). Количество белка в экстракте определяли по методу Лоурн (Lowry и др., 1951) с некоторыми изменениями (Яска, 1968).

Дегидрогеназы выявляли на нефиксированных гелях с помощью гистохимической реакции. Состав инкубационной среды: 15 мл 0,1 М трис-фосфатного буфера (6,05 г трис, 3,4 г KH_2PO_4 , 2 мл 0,1 М MgSO_4 в 500 мл дистиллированной воды), 1 мл 0,1 М субстрата, 1 мл 0,5%-ного НАД или НАДФ, 1,0 мл 0,2%-ного гидрохлорида нитросинего тетразолия (НСТ), приготовленного на диметилформамиде, и 1 мл 0,025%-ного феназинметосульфата (ФМС). Инкубирование проводили в темноте при $35-40^{\circ}\text{C}$ в течение 2—4 ч. Количество белка, нанесенного на гель, составляло 150—200 мкг. Гели фотографировали на проходящем свете на фотопленку «Микрат-200».

Результаты и обсуждение

Из взятых под наблюдение дегидрогеназ в корнях картофеля наиболее активной оказалась НАДФ-специфическая глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа. Несколько меньшую активность показали глутамат- и алкогольдегидрогеназы, а малат-, изокитрат- и лактатдегидрогеназы в корнях картофеля имели низкую активность (таблица). О наличии в тканях картофеля обнаруженных нами дегидрогеназ сообщают и другие исследователи (Ваггон и др., 1950; Рубин, Озерецковская, 1969; Яска, Яска, 1971).

Следует отметить, что в наших опытах образование окраски формазана наблюдалось также в контрольных вариантах, т. е. без прибавления субстрата. Причиной этого явления могло быть присутствие эндогенных субстратов или наличие других восстанавливающих краски соединений (Пирс, 1962). В наших опытах, по-видимому, окраска образовывалась на основе эндогенных субстратов, потому что прокипяченный гомогенат окрашивания не вызывал.

Влияние заражения картофельной нематодой на активность дегидрогеназ картофеля

Возраст растений, дни	Фермент	Активность дегидрогеназ (на 1 г сырого веса)					
		Контроль		Зараженный		% от контроля	
		'Спекула'	'Сулев'	'Спекула'	'Сулев'	'Спекула'	'Сулев'
9	Глютаматдегидрогеназа	1,383±0,049	4,484±0,106	0,455±0,057	5,622±0,173	33*	125*
	Алкогольдегидрогеназа	0,579±0,050	4,745±0,124	0,072±0,008	6,684±0,243	12*	141*
	Малатдегидрогеназа	0	2,208±0,042	0	1,748±0,061	—	79*
	Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа	10,875±0,114	12,033±0,886	13,625±0,083	11,670±0,289	125*	97
	Лактатдегидрогеназа	0,018±0,003	0,103±0,014	0,011±0,001	0,012±0,011	61	12*
	Изоцитратдегидрогеназа	0,034±0,004	0,129±0,018	0,004±0,004	0	12	0
12	Глютаматдегидрогеназа	0,489±0,033	2,838±0,145	0,321±0,010	3,373±0,162	66*	119
	Алкогольдегидрогеназа	0,138±0,013	3,608±0,390	0,079±0,020	4,446±0,147	57	123
	Малатдегидрогеназа	0	1,284±0,076	0	0,883±0,017	—	69*
	Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа	6,532±0,010	6,593±0,203	7,913±0,312	6,301±0,597	121	96
	Лактатдегидрогеназа	0,149±0,075	0,293±0,033	0,021±0,000	0,188±0,049	14	64
	Изоцитратдегидрогеназа	0,217±0,052	0,982±0,049	0	1,463±0,035	0	148
18	Глютаматдегидрогеназа	0,393±0,057	2,668±0,084	0,266±0,035	3,119±0,016	68	117*
	Алкогольдегидрогеназа	0,207±0,057	3,357±0,132	0,120±0,010	3,774±0,022	58*	112
	Малатдегидрогеназа	0,026±0,002	0,802±0,086	0,040±0,006	0,647±0,048	154	81
	Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа	3,834±0,000	6,018±0,076	5,623±0,118	7,394±0,000	147*	122*
	Лактатдегидрогеназа	0,122±0,020	0,404±0,057	0,042±0,030	0,459±0,146	34	113
	Изоцитратдегидрогеназа	0,152±0,014	1,496±0,014	0	1,876±0,076	0	125

* Достоверность на 5%-ном уровне значимости.

Экстракты без добавления НАД и НАДФ показывали низкую активность дегидрогеназ. Это, очевидно, свидетельствует о том, что дегидрогеназы, деятельность которых связана с наличием флавиновых кофакторов, в картофеле малоактивны.

Необходимо подчеркнуть, что активность всех изученных дегидрогеназ в здоровых растениях восприимчивого сорта превышает активность их в растениях устойчивого сорта. Единственное исключение составляет глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, имеющая в обоих сортах во время первых этапов заражения одинаковую активность. Особенно сильные сортовые различия наблюдаются в активности глютамат-, алкоголь- и малатдегидрогеназы. Активность малатдегидрогеназы в молодых растениях устойчивого сорта не проявлялась.

Заражение картофельной нематодой особенно резко выявило разницу в сортах по активности дегидрогеназ (таблица). В инфицированных корнях восприимчивого сорта сразу после заражения увеличивалась активность глутамат- и алкогольдегидрогеназы. Активность изоцитратдегидрогеназы повышалась несколько позже. Активность малат- и лактатдегидрогеназы снижалась, активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы практически не изменялась. В корнях устойчивого сорта активность дегидрогеназ сильно уменьшалась, а активность изоцитратдегидрогеназы отсутствовала полностью; увеличивалась только активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы.

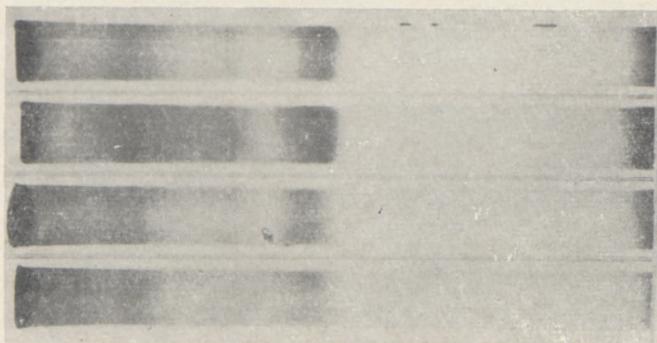
Аналогичные результаты получены в исследовании, где гистохимическим методом изучалось действие галловой и соевой нематод на активность дегидрогеназ фасоли и томата. В восприимчивых растениях активность дегидрогеназ заметно возросла. В тканях устойчивых сортов активность ферментов не увеличивалась (Endo, Veech, 1970).

По всей вероятности, увеличение активности дегидрогеназ в корнях восприимчивого картофеля базируется на увеличении количества ферментативно активного белка, поскольку в зараженных растениях имеет место накопление белка (Хаберман, 1972). Не исключено активирование ферментов путем перехода их в растворимое состояние (Farkas, Lovrekovich, 1965; Bates, Chant, 1970). Инициаторами изменения активности ферментов, очевидно, являются экскреты нематод, потому что по гистохимическим данным активность дегидрогеназ возрастает в зонах, прилегающих к ротовому и анальному отверстиям нематоды (Endo, Veech, 1970).

Чем вызвано уменьшение активности дегидрогеназ в устойчивом сорте? Известно, что снижение активности ферментов при заражении может быть вызвано уменьшением концентрации кофакторов (Solymosy, Farkas, 1964), а также репрессией синтеза ферментов и их инактивацией (Farkas, Kiraly, 1962). Иногда аккумуляция ингибиторов ферментов в больных тканях является главным фактором, ведущим к уменьшению активности ферментов (Shaw, 1963). По Рубину с сотрудниками (Иванова, Рубин, 1963) различная реакция дегидрогеназ в различных по устойчивости сортах тесно связана с образованием в ткани продуктов окисления фенольных соединений. Однако следует отметить, что наблюдаемое в наших опытах изменение активности дегидрогеназ нельзя, очевидно, объяснить только действием продуктов окисления фенольных соединений. Известно, что такие продукты оказывают на ферменты в основном неспецифическое действие, блокируя их активные группировки. Поэтому непонятно, почему фенольные соединения и продукты их окисления не уменьшают активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы растений устойчивого сорта, когда все другие дегидрогеназы инактивируются.

Наши результаты показывают, что активность НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в восприимчивом сорте картофеля выше по сравнению с таковыми устойчивого сорта. Это явление может иметь ряд последствий, существенных для определения характера отношений между растением и паразитом. Считается, что активирование оксидаз не является единственным решающим фактором в реакции некрозообразования. Важную роль играют также редуцирующие системы. По данным ряда авторов (Kertesz, Zito, 1962; Solymosy, Farkas, 1964), восстановленные НАД и НАДФ, возникающие в ходе дегидрогеназных реакций, могут реагировать с α -хинонами, восстанавливая их и препятствуя развитию некротической реакции. Поэтому предполагается, что продуцируемые дегидрогеназами восстановленные НАД и НАДФ являются

Листья
Б

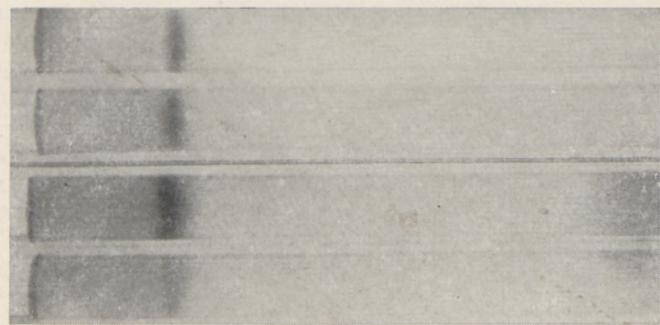


1 2 3 4



1 2 3 4

В

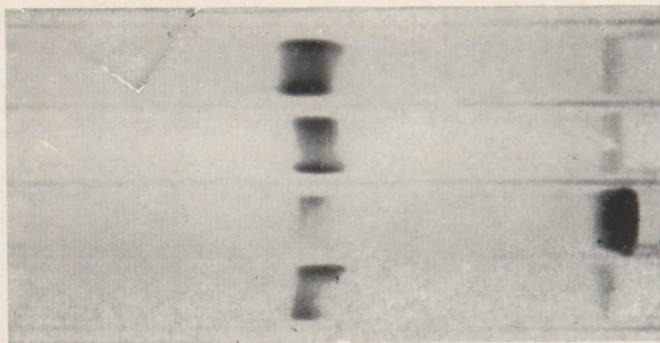


1 2 3 4

Энзимогаммы дегидрогеназ картофеля, А — глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, Б — малатдегидрогеназа, В — глутамат-дегидрогеназа, 1 — 'Спекула' незараженный, 2 — 'Спекула' зараженный, 3 — 'Сулев' незараженный, 4 — 'Сулев' зараженный.

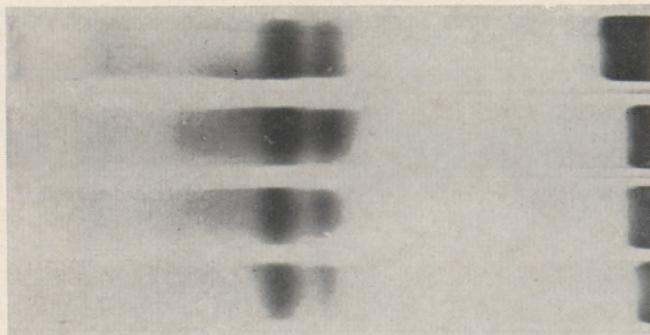
Корни
Б

А



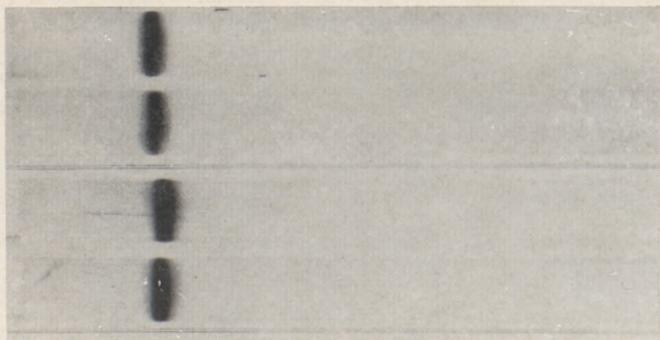
1 2 3 4

Б



1 2 3 4

В



1 2 3 4

Энзимогаммы дегидрогеназ картофеля. А — глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, В — малатдегидрогеназа, В — глютамаг-дегидрогеназа, 1 — 'Спекула' незараженный, 2 — 'Спекула' зараженный, 3 — 'Сулев' незараженный, 4 — 'Сулев' зара-женный.

показателем редуцирующей способности тканей. Следует отметить, однако, что этот вопрос полностью не решен. Хотя наличие в тканях восстановленных НАД и НАДФ и их способность редуцировать хиноны как ферментативным, так и неферментативным путем хорошо известны, из-за их малого количества такие редуцирующие вещества, как аскорбиновая кислота или глутатион, могут иметь большее значение. Но, несомненно, значительная активность пероксидазы (и аскорбатоксидазы) в пораженных картофельной нематодой растениях устойчивого сорта и низкая активность дегидрогеназ в этом сорте по сравнению с восприимчивыми сортами (Хаберман, 1972) показывают, что после заражения в устойчивом сорте происходит сдвиг в окислительно-восстановительных реакциях в сторону преобладания окислительных процессов. В восприимчивом сорте такой сдвиг выражен, очевидно, намного слабее, потому что увеличение активности оксидаз сопровождается высокой активностью дегидрогеназ.

Разница в активности депидрогеназ между устойчивым и восприимчивым сортами картофеля, кроме сдвига окислительно-восстановительного потенциала, может иметь и другие последствия. Как известно, у нематод выделение аммиака представляет главный способ экскреции азота. Аммиак в растениях обезвреживается путем присоединения к соответствующим кетокислотам, а также присоединением к карбоксильным группам глутаминовой и аспарагиновой кислот, образуя соответствующие амиды. Увеличение содержания различных аминокислот и амидов в зараженных нематодами восприимчивых растениях, доказанное в ряде исследований (Kannan, 1968; Бумбу, 1970), может происходить на основе описанных реакций. Глутаматдегидрогеназа вместе с транс-аминазами принимает участие в синтезе аминокислот из кетокислот и аммиака. И хотя накопление аммиака в пораженных тканях может индуцировать увеличение активности глутаматдегидрогеназы (Wakiuchi и др., 1971), в устойчивом сорте картофеля, пораженного картофельной нематодой, вполне возможно, что не происходит связывания выделяемого нематодами аммиака из-за недостаточного количества соответствующих кислот. Низкое содержание кислот может быть следствием падения активности соответствующих ферментов. Накопление аммиака в пораженных тканях может быть добавочной причиной появления некроза (Рубин, 1969).

Единственной депидрогеназой, которая активизируется в корнях устойчивого к картофельной нематоды сорта картофеля, является дегидрогеназа глюкозо-6-фосфата (таблица). Увеличение активности этого фермента считают доказательством активирования пентозомонофосфатного цикла дыхания в зараженных растениях (Рубин, Озерецковская, 1969). Как известно, пентозомонофосфатный цикл выполняет в растениях две главные функции. Во-первых, обеспечивает альтернативный путь окисления глюкозы, во-вторых, создает продукты для синтеза различных соединений, в том числе и фенольных. Возможно, что более сильным активированием пентозомонофосфатного цикла в устойчивых растениях объясняется большее накопление фенольных соединений в этом сорте по сравнению с восприимчивым, доказанное ранее (Хаберман, 1973).

Данные, полученные нами об изоферментном составе дегидрогеназ, в общих чертах совпадают с результатами более ранних работ (Яска, Яска, 1971). НАД-зависимая глутаматдегидрогеназа картофеля относится к стабильным ферментам и выявляется как в корнях, так и в листьях обоих сортов в виде одной четкой полосы с относительной электрофоретической подвижностью (ОЭП) 0,22 в течение всего вегетационного периода (рисунок). Вторая изученная нами НАД-зависимая

дегидрогеназа — малатдегидрогеназа — оказалась молекулярно гетерогенной. В корнях фермент имел две изоэнзимы с ОЭП 0,34 и 0,43, в листьях также две изоэнзимы с ОЭП 0,35 и 0,47. В корнях более молодых растений в некоторых опытах, но не всегда, появлялся изофермент с ОЭП 0,51. Изоферментный состав малатдегидрогеназы как у устойчивого, так и у восприимчивого сортов картофеля оказался идентичным.

НАДФ-зависимая глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа в корнях обоих сортов выявлялась в виде одной полосы (ОЭП 0,43), а в листьях разделялась на два изофермента с ОЭП 0,28 и 0,41. Следовательно, растворимая форма этого фермента показывает тканевую, а не сортовую специфику.

На энзимопрамах всех дегидрогеназ листьев картофеля всегда появлялась полоса с желто-лиловой окраской (ОЭП около 0,20). Появление этой полосы может быть обусловлено наличием в экстракте ферментов белка с сульфгидрильными группами, за счет которых происходит восстановление краски (Пирс, 1962). Это предположение доказывается наличием на протеинограммах листьев мощной полосы белка с такой же электрофоретической подвижностью.

Полученные нами результаты показывают, что среди изученных дегидрогеназ отсутствует сортовая специфичность. Поскольку биологическое значение отдельных изоферментов не выяснено, нельзя ничего определенного сказать о значении гетерогенности молекулярной структуры дегидрогеназ картофеля в определении характера взаимоотношений между картофелем и картофельной нематодой. Отсутствие сортовой специфичности в изоферментном спектре дегидрогеназ позволяет предполагать, что на взаимосвязь между хозяином и паразитом оказывает более существенное влияние общая активность дегидрогеназ по сравнению с их качественным составом.

В заключение, можно сказать, что из всех изученных нами показателей метаболической активности растений картофеля (фенольный обмен, активность оксидаз и дегидрогеназ) наибольшие различия между устойчивым и восприимчивым к картофельной нематодой сортами картофеля обнаруживаются в активности дегидрогеназ. Предполагается, что дегидрогеназы играют существенную роль в определении характера взаимосвязей между картофелем и картофельной нематодой. Эти ферменты как в здоровых, так и зараженных корнях восприимчивого сорта по сравнению с устойчивым сортом имеют более высокую активность. В устойчивом сорте, наоборот, оксидазы активируются сильнее, чем в восприимчивом. Этим в устойчивом сорте созданы хорошие условия для развития реакции сверхчувствительности (накопление токсических продуктов, некротизация тканей). В восприимчивом сорте высокая редуцирующая способность уменьшает возможность окисления фенольных соединений и создает тем самым условия для накопления аминокислот, способствующих питанию паразита.

ЛИТЕРАТУРА

- Бумбу И. В., 1970. Дегидрогеназная активность растительных тканей, пораженных фитопаразитическими нематодами. Паразиты животных и растений (Кишинев) (5) : 130—132.
- Методы биохимического исследования растений, 1972. (Изд. 2-е, перераб. и доп. Под ред. А. И. Ермакова), Л.
- Иванова Т. М., Рубин Б. А., 1963. Об участии дегидрогеназ в защитных реакциях капусты против *Botrytis cinerea*. Биохимия 28 (2) : 288—294.
- Овчаров К. Е., Ахмедов А., 1972. Алкоголь-, лактат- и пируватдегидрогеназ-

ная активность семян кукурузы, прорастающих в анаэробных условиях. Физиол. раст. 19 (2) : 360—367.

- Пирс Э., 1962. Гистохимия. М.
- Рубин Б. А., 1969. Биохимия иммунитета растений. С.-х. биология 4 (5) : 643—655.
- Рубин Б. А., Иванова Т. М., Давыдова М. А., 1964. Влияние окисленных фенолов на дегидрогеназы капусты и гриба *Botrytis cinerea*. В кн.: Биохимия плодов и овощей. Иммунитет и покой картофеля, плодов и овощей. М. : 3—17.
- Рубин Б. А., Озерцековская О. Л., 1959. Гексозомонофосфатный путь дыхания в клубнях картофеля. Изв. АН СССР, сер. биол. 2 : 257—264.
- Хаберман Э., 1972. Изучение активности и изоэнзимного состава окислительных ферментов картофеля в связи с заражением картофельной нематодой. Изв. АН ЭССР. Биол. 21 (4) : 348—356.
- Хаберман Э., 1973. Об изменении фенольного комплекса картофеля при заражении картофельной нематодой. Изв. АН ЭССР. Биол. 22 (3) : 244—254.
- Яска В. Х., 1968. Биохимическая характеристика аденозинтрифосфатазных систем корней проростков пшеницы и кукурузы. Канд. дисс. Тарту.
- Яска Вильве, Яска Велло, 1971. Изоферментные системы вегетативных органов картофеля. Изв. АН ЭССР. Биол. 20 (3) : 195—201.
- Barron E. S. G., Link G. K. K., Klein R. M., Michel B. E., 1950. The metabolism of potato slices. Arch. Biochem. 28 : 377—398.
- Bates D. C., Chant S. R., 1970. Alterations in peroxidase activity and peroxidase isozymes in virus infected plants. Ann. Appl. Biol. 65 (1) : 105—110.
- Endo B. Y., Veech I. A., 1970. Morphology and histochemistry of soy-bean roots, infected with *Heterodera glycines*. Phytopathol. 60 (10) : 1493—1498.
- Farkas G. L., Kiraly Z., 1962. Role of phenolic compounds in the physiology of plant disease and disease resistance. Phytopathol. Z. 44 : 105—150.
- Farkas G. L., Lovrekovich L., 1965. Enzyme levels in tobacco tissues affected by the wildfire toxin. Phytopathol. 55 : 519—524.
- Kannan S., 1968. Studies in the nematode infected root-knots of the tomato plant. Ind. J. Exptl Biol. 6 (3) : 153—154.
- Kertes D., Zito R., 1962. Phenolase. In: Oxygenases. New York : 307—354.
- Kiraly Z., Farkas G. L., 1962. Relation between phenol metabolism and stem rust resistance in wheat. Phytopathol. 52 : 657—664.
- Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. I., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193 (1) : 265—275.
- Malca I., Huffacer R. C., Zscheile F. P., 1965. Changes in enzyme activity in relation to powdery mildew disease development in barley. Phytopathol. 55 (4) : 442—447.
- Robbins W. R., 1946. Growing plants in sand cultures for experimental work. Soil Sci. 62 (1) : 3—22.
- Rudolph K., Stahmann M. A., 1968. Changes in activity and isozyme patterns of soluble dehydrogenases in bean leaves after infection with *Pseudomonas phaseolicola* and *Uromyces phaseoli*. Phytopathol. 58 : 1065.
- Rudolph K., 1971. Qualitative und quantitative Enzymveränderungen nach Infektion von Bohnenblättern mit *Pseudomonas phaseolicola* und *Uromyces phaseoli*. Angew. Bot. 44 (5—6) : 347—359.
- Shaw M., 1963. The physiology and host — parasite relations of the rusts. Ann. Rev. Phytopathol. 1 : 259—294.
- Solymosy F., Farkas G. L., 1964. Effect of virus infection on glycolic acid oxidase in tobacco. Phytopathol. 51 : 153—161.
- Staples R. C., Stahmann M. A., 1963. Malate dehydrogenases in the rusted bean leaf. Science 140 (3573) : 1320.
- Wakiuchi N., Natsumoto H., Takahashi E., 1971. Changes of some enzyme activities of cucumber during ammonium toxicity. Physiol. Plant. 24 (2) : 248—253.

Evi PADU

KARTULI-KIDUUSSIGA (*HETERODERA ROSTOCHIENSIS* WOLL.)
NAKATATUD KARTULI DEHÜDROGENAASIDE AKTIIVSUS JA
ISOENSÜUMNE KOOSTIS

Resümee

Uuriti kartuli-kiduussi patotüüp A suhtes resistentse kartulisordi 'Spekula' ja sustseptiilse sordi 'Sulev' glutamaat-, alkohol-, malaat-, glükoos-6-fosfaat-, isotsitraat- ja laktaat-dehüdrogenaasi aktiivsuse ning glükoos-6-fosfaat-, malaat- ja glutamaatdehüdrogenaasi isoensüümse koostise muutusi kiduussiga nakatumise korral.

Kõige aktiivsemaks dehüdrogenaasiks mõlema kartulisordi juurtes osutus glükoos-6-fosfaatdehüdrogenaas, mõnevõrra vähem aktiivsed olid glutamaat- ja alkoholdehüdrogenaas. Malaat-, isotsitraat- ning laktaatdehüdrogenaasi aktiivsus oli madal. Kartuli-kiduussiga nakatumine muutis oluliselt dehüdrogenaaside aktiivsust, kuid kummaski sordis erinevalt. Sustseptiilse sordi juurtes suurenes glutamaat- ja alkoholdehüdrogenaasi aktiivsus, nakatumise hilisematel etappidel ka isotsitraat- ja glükoos-6-fosfaatdehüdrogenaasi aktiivsus. Malaat- ja laktaatdehüdrogenaasi aktiivsus vähenes. Resistentse sordi juurtes vähenes kõigi dehüdrogenaaside, välja arvatud glükoos-6-fosfaatdehüdrogenaas, aktiivsus tunduvalt.

Dehüdrogenaaside isoensüümne koostis mõlema sordi taimedes ei erine. Glutamaatdehüdrogenaasi valk osutus homogeenseks ja andis geelil ühe riba. Malaatdehüdrogenaas koosnes nii juurtes kui ka lehtedes kahest isoensüümist. Lehtede glükoos-6-fosfaatdehüdrogenaas jagunes kaheks isoensüümiks. Sama ferment juurtes ilmus geelil ühe ribana.

Oletatakse, et nakatatud kudedes nihkub redokspotentsiaali tasakaal oksüdeerivate protsesside ülekaalu suunas. Nihe on tõenäoliselt suurem resistentse sordis.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Zooloogia ja Botaanika Instituut

Toimetusse saabunud
6. I 1975

Evi PADU

ERFORSCHUNG DER AKTIVITÄT UND DES ISOENZYMISCHEN BESTANDES
DER DEHYDROGENASEN IN DER VOM KARTOFFELNEMATODEN (*HETERODERA*
ROSTOCHIENSIS WOLL.) BEFALLENEN KARTOFFEL

Zusammenfassung

Es wurden die Veränderungen der Aktivität der Glutamat-, Alkohol-, Apfelsäure- Glykose-6-phosphat-, iso-Zitronensäure- und Laktatdehydrogenasen und des isoenzymischen Bestandes der Glutamat-, Apfelsäure- und Glykose-6-phosphatdehydrogenasen in den Geweben der Kartoffelsorten 'Spekula' und 'Sulev' bei ihrem Befall durch den Kartoffelnematoden untersucht. In bezug auf *Heterodera rostochiensis* (die Population enthielt nur den Pathotyp A) ist die Sorte 'Spekula' resistent, die Sorte 'Sulev' anfällig.

Die Aktivität der Dehydrogenasen in den befallenen Geweben veränderte sich stark, aber in den beiden Sorten verschiedenartig. In den Wurzeln der anfälligen Sorte wuchs die Aktivität der Glutamat- und Alkoholdehydrogenasen, später auch die Aktivität der iso-Zitronensäure- und Glykose-6-phosphatdehydrogenasen, die Aktivität der Apfelsäure- und Laktatdehydrogenasen dagegen nahm ab. In den Wurzeln der resistenten Sorte verminderte sich die Aktivität aller untersuchten Dehydrogenasen außer der Glykose-6-phosphatdehydrogenase.

Der isoenzymische Bestand der Dehydrogenasen in beiden Kartoffelsorten wies keinen Sortenunterschied auf. Das Protein der Glutamatdehydrogenase erwies sich als homogen und ergab in dem Polycrylamidgel eine Zone. Die Apfelsäuredehydrogenase bestand sowohl in den Wurzeln als auch in den Blättern aus zwei Isoenzymen. Die Glykose-6-phosphatdehydrogenase teilte sich in den Blättern in zwei Isoenzyme. In den Wurzeln entwickelte dieses Enzym sich als eine Zone.

Es wird vermutet, daß in den befallenen Geweben eine Gleichgewichtsverschiebung der Redoxpotentiale in der Richtung eines Übergewichts oxydativer Prozesse stattfindet. Die Verschiebung ist in der resistenten Sorte vermutlich größer.

Institut für Zoologie und Botanik
der Akademie der Wissenschaften der Estnischen SSR

Eingegangen
am 6. Jan. 1975