

«Сейфуллин оқулары–12: Ғылым жолындағы жастар - болашақтың инновациялық әлеуеті" атты Республикалық ғылыми-теориялық конференциясының материалдары = Материалы Республиканской научно-теоретической конференции «Сейфуллинские чтения–12: Молодежь в науке-инновационный потенциал будущего». – 2016. – Т.І, ч.1. – С. 11-15

ТҰЗДЫ СТРЕСС ЖАҒДАЙЫНДА АЖЫРЫҚ ЖӘНЕ АРПА ӨСІМДІКТЕРІНДЕ АЛЬДЕГИДОКСИДАЗА ФЕРМЕНТІ МЕН ПРОЛИННІҢ САЛЫСТЫРМАЛЫ АКТИВТІЛІГІН ЗЕРТТЕУ

*Мырзабаева М.Т., Жұмахан Т.,
Алтынбасова Г.А.*

Өсімдіктер қоршаған ортаның көптеген қолайсыз факторларының әсеріне тап болады. Олар жоғары және төмен температура, ылғалдың жетіспеушілігі (құрғақшылық), топырақтың тұздануы (сор топырақ), ауаның газдануы, минералдық заттардың жетістеушілігі немесе, керісінше, шектен тыс көбеюі т.с.с. Бұл факторлар өте көп болғандықтан өсімдіктердің олардан қорғану жолдары да– физиологиялық қасиеттерден құрылымдық өзгерістерге дейін әр түрлі [1].

Тұзды топырақтар жер шарындағы мемлекеттердің көптеген аймақтарын алып жатыр. Жалпы құрлықтың шамамен 25% тұзды аймақтар үлесіне тиеді. Тұзды топырақтардың көп бөлігі, негізінен, Орта Азия мемлекеттерінде орын алады. Осы мемлекеттердің суармалы аймақтары (егістігінің), шамамен 65% азды-көпті тұзды топырақтардан тұрады. Соның ішінде Түркменстанда-89%, Өзбекстанда-70%, Қазақстанда-30%, Қырғызстанда-25% [2].

Топырақ құрамында тұздар басым болған жағдайда гликофиттерде жасушалық деңгейде және бүтіндей өсімдік деңгейінде судың және иондардың гомеостазы бұзылады. Бұл өз кезегінде цитоплазма биополимерлерінің зақымдануынан көрініс табатын түрлі уыттануларға жол береді. Толықтай алғанда топырақтың тұздануы өсімдіктердің жетілуін тежеп, олардың жойылуына әкеледі. Өсімдіктің тұзға төзімділігін зерттеудің практикалық маңызы зор, себебі, құрамында 3 - 4 % тұз кездесетін мұхиттар жер бетінің 75%- ын қамтыса, әлемдік топырақтың төрттен бір бөлігі тұзданып, үштен бір бөлігінде тұздану беталысы жоғары екендігі анықталды [3].

Ажырық (лат.*Aeluropus*)– астық тұқымдасына жататын көп жылдық өсімдіктер туысы. Республикамыздың барлық сортаң және шөлді өңірлерінде өседі, тұзға өте төзімді келеді. Қазақстанда сортаңдық ажырық

және жатаған ажырық деп аталатын екі түрі кездеседі. Сортаңдық ажырықтың (*A. litoralis* L) биіктігі- 20-60 см, сабағы көлбеу не көтеріле өседі. Бұтақтары бұдырлы, жапырағы жалпақтау, түкті келеді. Көп гүлді масақтары сатылана орналасқан, ұзындығы 3-5 мм болады. Жатаған ажырықтың (*A. repens* L) биіктігі 7-30 см, жапырақтары түкті, гүл сыпыртқысы тығыз, шоғырлана орналасқан, ұзындығы 2-2,5 см келеді. Ажырық — ең маңызды мал азығы. Өскен жерінің құнарлылығына байланысты бір га алқаптан 2-40 ц. шөп жиналады. Оның гүлінің құрамында: протеин, белок, май, азотсыз активті заттар көптеп кездеседі. Ажырықты арнайы да өсіреді [4].

Арпа (*Hordeum vulgare* L) – дәнді дақылдар ішіндегі ең тұзға төзімді және құрғақшылыққа төзімді өсімдік. Дегенмен жеке сорттары құрғақшылыққа төзімділігі жағынан айтарлықтай ерекшеленеді. Құрғақшылыққа төзімділікке жапырақтардағы, сабақтары және масақтардағы балауыздың қатты ұшуы, масақтың ригидтілігі (бетінің қаттылығы) және т.б. сияқты морфологиялық ерекшеліктері әсер етеді. Ерте фазалардағы жылдам өсуі көктемгі ылғалдылықтың қорын жақсы қолдануға, ал ерте пісуі – жазғы құрғақшылықтан құтылуға мүмкіндік береді. Жеке сорттар көктемгі және жазғы құрғақшылыққа шыдамдылығына қарай айырмашылығы болады.[5]

Өсімдіктерде тұзға төзімділікті түрлі физиологиялық өзара байланыстардың жиынтығы анықтайды және оны анықтау әрқашанда мүмкін емес, мысалы сыртқы белгілер (өсімдіктің өсуі) және түрлі биохимиялық факторлар (токсинді иондардың әсері, осмотикалық потенциал, ферменттік жүйенің активтенуі мен ингибируленуі) [6]. Топырақтың тұздануы тікелей фотохимиялық және биохимиялық үрдістерге, сонымен қатар лептесіктердің көмірқышқыл газын өткізгіштігі төмендейді [1].

Жақында жүргізілген зерттеулер адаптацияның негізгі фитогормоны – абсциз қышқылы (АБК) биосинтезінде молибдофермент альдегидоксидаза қатысатындығы белгілі болды. Сол себепті осы фермент тұзды стресс жағдайларына бейімделуде маңызды рөлдердің бірін атқарады. Стресті жағдайларда өсімдіктерде оттегінің активті формалары түрленеді. Оттегінің белсенді формаларының мөлшерін бақылап отыру және жасушаларды қорғап тұру үшін өсімдіктер бірнеше төмен молекулалы антиоксиданттар мен ферменттерден тұрады. Тұздың әсеріне өсімдіктің реакциясының келесі деңгейі липидтер мен ақуыздардың асқын тотықты немесе бос-радикалды тотығуы болып табылады [7].

Біздің зерттеу жұмыстарымыздың негізгі мақсаты - тұзды стресс жағдайында ажырық және арпа өсімдігіндегі альдегид оксидаза ферментінің

активтілігін және тұзды стресс жағдайында осмостық қысымның қалыпты жұмыс істеуін реттейтін осмолит – пролиннің мөлшерін анықтау.

Материалдар және әдістер

Пролин мөлшерін анықтау

Пролин мөлшері колориметриялық әдіс арқылы пролиннің нингидринмен реакциясы арқылы анықталды (Bates et al 1973). Пролинді колориметрия әдісі бойынша анықтау 1:1:1 қатынасында пролин:нингидрин:сірке қышқылымен 1 сағатқа 100°C-қа инкубацияланады. Инкубацияланған экстрактқа 4 мл тулен құйып, спектрофотометрде толқын ұзындығы 520 нм оқылады.

Альдегид оксидаза ферментін анализдеу

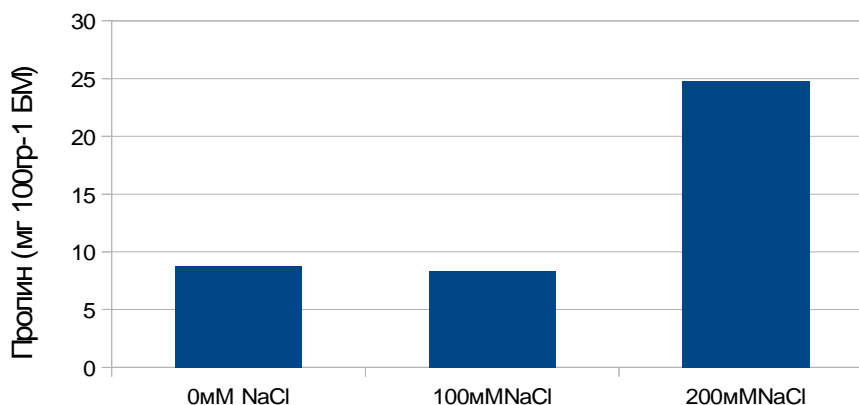
Альдегид оксидаза ферментінің активтілігі нативті полиакриламидті гел электрофорезде M.Sagi және тағы басқалардың (1998ж) әдісі бойынша жүргізіледі [8]. Аталған галофиттердің қатынасы жапырақтар үшін 1:4, тамыр үшін 1:2 болатын экстрактті буфферлі ерітіндімен: 250мМ Tris-HCl (рН 8.48), 1 мМ ЭДТА, 1мМ дититрейтол (ДТТ), 5мМ L-цистеин, 10мМ глутатион (ГЛТ), 0.05мМ Na₂MoO₄, 0.1мМ фенил метил сульфонил флуорид және 250мМ сахарозамен гомогенирленеді. Гомогенизирленген өсімдік сынамаcы 14, 000 айналымда 4°C-та 20 минутқа центрифугаланады (Z233 МК-2, HERMLE). Центрифугалағаннан кейін, жапырақ супернатантын 65°C-та 90 секундқа қыздырып, қайта 14,000 айналымда 4°C-та 5 минутқа центрифугалаймыз. Ерігіш ақуыздардың жалпы мөлшері Брэдфорд әдісі бойынша Bio-Rad Protein Assay көмегімен және кристалды бұқа сарысу арқылы өлшенді [8].

Электрофорез әдісінен кейін альдегид оксидаза активтілігін анықтауға қажетті реакциялық ерітінді құрамы: 50мМ рН-7.5 ТРИС-HCl, 0,1мМ ФМС, 1мМ МТТ және 1мМ субстрат ретінде - ванилин, индол-3-карбоксияльдегид, циннамальдегид қолданылды. Алынған нәтиже сканерде (Microtek scanner, ScanMaker 5800) NIH Image Software (Version 1.6) бағдарламасы бойынша активтілігі анықталды.

Зерттеу нәтижелері және талдау

Тұзды стресс жағдайында пролин жасушаның осмос қысымын реттеуде, мембрана тұрақтылығын сақтауда, және түрлі иондардың уытты әсерін сақтаудағы маңызы әдебиеттерде көптеп түсіндіріледі. Түрлі абиотикалық стрестерге қарсы өсімдік жасушаларында пролиннің жиналуы өсімдіктердің бейімделу механизмдерінің бірі болып табылады. Көптеген зерттеулердің нәтижелері бойынша пролин метаболизмі даму және стреске жауап ретінде комплексті әсер етіп, қоршаған ортаның қолайсыз

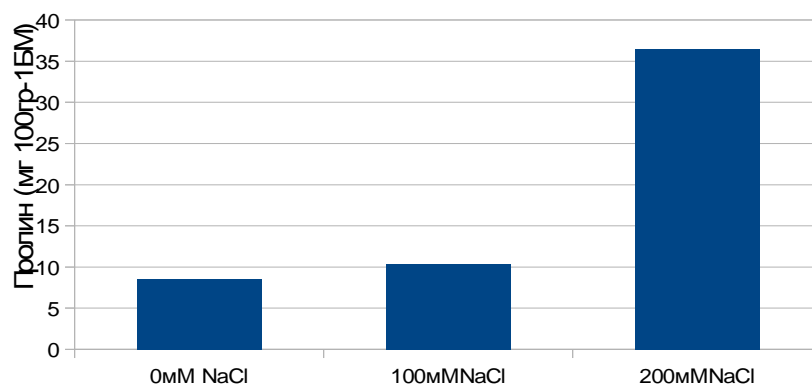
жағдайларында, тұзды стресте өсімдіктерде пролин, бетаин, полиаминдердің жиналуы байқалады [9]. Тұзды стреске өсімдіктердің бейімделуі барысында пролиннің жиналуын біз өз зерттеулерімізде *ажырық* және *арпа* өсімдіктерінде бақыладық. *Арпа* өсімдігінде 100мМNaCl-да пролин мөлшері төмендеп, 200мМNaCl -да пролин синтезі 2,5 есеге артты (сурет 1).



1 Сурет. Тұзды стресс барысында арпа өсімдігінде пролин синтезінің мөлшері

Ал пролиннің синтезі *ажырық* өсімдігінде тұзды стресте айтарлықтай артты. Мысалы, пролиннің мөлшері бақылау өсімдігіне қарағанда 200мМ тұзда 7 есеге дейін артты (Сурет 2).

Өсімдіктерде абиотикалық стрестерге қарсы пролиннің жиналуы, өсімдіктің түріне қарай алуан түрлі бейімділікті көрсетті, және олардың осмопротектанттық маңызының жоғары екендігін білдіреді. Осмопротектанттық қызметінен басқа, пролин тағы да оттегінің активті формаларын детоксификациялап, антиоксиданттық қызмет атқарады және ақуыз, ақуызды комплекстердің тұрақтылығын қамтамасыз етіп, сигналды - реттеуші молекулалар ретінде де маңызы зор [10].



2 Сурет. Тұзды стресс барысында ажырық өсімдігінде пролин синтезінің мөлшері

Пролиннің жоғары мөлшерде жиналуы абиотикалық стрестерге; тұзды, құрғақшылық, ауыр металдармен зақымданған *S. portulacastrum* өсімдігінде де анықталды. Пролиннің жиналуы арқылы осмотикалық реттелу тағы басқа да өсімдік түрлерінде: *Plantago crassiflora*, *Salicornia europaea*, *Atriplex halimus*, *A. Halimus subsp. schweinfurthii*, *Avicennia marina*, *Hordeum maritimum*, *Ipomoea pes-caprae*, *Paspalum vaginatum*, *Phragmites australis*, және *Suaeda* табылды.

Біздің келесі тәжірибелерімізде қолданылған келесі молибдофермент - альдегидоксидаза. Альдегидоксидаза цитоплазмада кездесетін, молекулалық салмағы 300кДа болатын гомодимерлі фермент. Өсімдік АО - ферменті субстратты ауқымы кең, өсімдік фитогормоны, абсциз қышқылының соңғы сатысын катализдеуші фермент.

Кесте 1.

Ажырық және арпа өсімдігінде тұзды стресс жағдайында альдегидоксидаза ферментінің активтілігіне әсері,

Өсімдік түрлері	Тұздылығы	Альдегидоксидаза активтілігі
	0mM NaCl	33.4 ±2.6

АО -	<i>Ажырық</i>	100мМNaCl	41.5±2.0
		200мМNaCl	48.4±1.0
	<i>Арпа</i>	0мМNaCl	53.4±2.8
		100мМNaCl	62.5±1.7
		200мМNaCl	68.9±2.5

ферментінің активтілігі ажырық және арпа өсімдігінің жапырағында түрлі тұз концентрациясында анықталды. АО - ферментінің оптималды активтілігі тұзды стресте анықталды. Ажырық өсімдігінің жапырағында тұзды стресс барысында АО активтілігі бақылаумен салыстырғанда 24 және 45 пайызға дейін артты, ал арпа өсімдігінде 17 және 29 пайызға дейін жоғарылады (1-кесте).

Альдегид оксидаза ферменті жоғары сатылы өсімдіктерде абсциз альдегидті абсциз қышқылына айналдыратын молибдофермент [8]. Берілген өсімдіктердің тұзды және басқа да абиотикалық стрестерге төзімділігі олардың физиологиялық және генетикалық ерекшеліктеріне байланысты. Тұзды стрестің әсері жапырақ ұлпасында АО – ферментінің активтілігіне қарқынды әсер етті (1 кесте). Стрестер тудырған гормондық тұрақтылықтың өзгеруі өсімдіктің стресске төзімділік деңгейіне тікелей байланысты. АО - ферментінің тұзды стресте өсімдік ұлпасында артуы өсімдік ұлпасындағы абсциз қышқылының артуымен тікелей байланысты.

Әдебиеттер тізімі

1. Salinity Stress and Salt Tolerance // Petronia Carillo, Maria Grazia Annunziata, Giovanni Pontecorvo, Amodio Fuggi and Pasqualina Woodrow II University of Naples, Department of Life Science, Italy.
2. Уәлиханова Г.Ж. Өсімдік биотехнологиясы, Алматы: «Қазақ университеті», -2001жыл.
3. Қалекенұлы.Ж, Өсімдіктер физиологиясы. Алматы, 2004жыл.
4. http://www.board74.ru/kormovie_rasteniya/korma_314.htm

5.<https://kk.wikipedia.org/wiki/.htm>

6.Строгонов Б. П. Физиологические основы солеустойчивости растений. Москва: «АН СССР», -1962. – С.366.

7.Sagi M., Fluhr R., Herman Lips S. Aldehyde Oxidase and Xanthine Dehydrogenase in a flacca Tomato Mutant with Deficient Abscisic Acid and Wilty Phenotype. // Plant Physiology. 1999. - №120. – P. 571–577.

8.Sagi M., Omarov R., Lips H. The Mo-hydroxylases xanthine dehydrogenase and aldehyde oxidase in ryegrass as affected by nitrogen and salinity. // Plant Science. 1998. - №135. – P. 125-135.

9.Клышев Л.К. Биохимические и молекулярные аспекты исследования солеустойчивости растений. //Проблемы солеустойчивости растений. 1989. - С. 195.

10.Delauney A.J., Verma D.P. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. // Plant J. 1993. - №4. – P. 215-223.

11.Zimmer W., Mendel R. Molybdenum metabolism in Plants. // Plant biol.1999. - № 1. – P. 160 - 168.