

8 Алыбаева Р.А. Исследование содержания эдотоксикантов в почве и товарной части сельскохозяйственных растений // Биологические основы селекции и генофонда растений. Материалы международной конференции. -Алматы: «Алейрон». – 2005. - С. 18-21.

9 Беркинбаев Г.Д., Алыбаева Р.А. Накопление цинка проростками различных генотипов пшеницы в условиях загрязнения среды // «Проблемы экологии и экологического образования в современных условиях». Материалы международной научно-практической конференции - Актобе, Актюбинский государственный педагогический институт, 2008 - с.447-452.

10 Wilkins D.S. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth // *New Phytol.* -1978. -V. 80 - №3. - . 623-633.

11 Калдыбаев Б.К. Эколого-генетическая оценка последствий загрязнения агроценозов восточной части зоны земледелия Исск-Кульской области. Автор.дисс ... канд. биол. наук. –Алматы, 2000. -28 С.

12 RE Knox, CJ Pozniak, FR Clarke, JM Clarke, S. Houshmand, and AK Singh RE. Chromosomal location of the cadmium uptake gene (*Cdu1*) in durum wheat // *Genome.* -2009. - № 52 (9). -P.741 –747.

13 Гамзикова О.И., Барсукова В.С. Потенциал пшеницы по устойчивости к тяжелым металлам // Сиб. эколог. журн. 1994. - № 3. - С.245-251.

14 Гамзикова О.И. Генетический потенциал пшеницы по устойчивости к тяжелым металлам // Наука агропром. Комплексу Сибири : Матер. общ. собр. и науч. сесс. СО РАСХН, Абакан, 1-3 авг. 1996. – Новосибирск. – 1996. - С. 32-34.

15 Гамзикова О.И. Использование генофонда выских растений – эффективный подход к решению экологических проблем. // Генет. ресурсы и эффектив. методы создания нов. селекц. матер. с.-х. раст.: Тез.докл. генет.-селекц. шк., Новосибирск, 12-17 дек. 1994. Новосибирск. -1994. - С.13-14.

ӘОЖ 573.086.83.;581.085

Амирова А.К., Сартбаева И.Ә., Бишімбаева Н.К.

### БИДАЙДЫҢ КЛЕТКАЛЫҚ СУСПЕНЗИЯСЫНЫҢ ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРЛЫҚ БЕЛОКТЫ ФРАКЦИЯЛАРЫНЫҢ ФИЗИОЛОГИЯЛЫҚ БЕЛСЕНДІЛІГІ

(Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты, Алматы қ., Қазақстан)

Бидайдың клеткалық суспензиясының экстрацеллюлярлық гидрофильді (ГФЛ) және гидробобты (ГФБ) белокты фракциялардың антиауксинді белсенділігі анықталды, әсіресе ГФБ белокты фракциясының белсенділігі едәуір жоғары болды. Цитокининтәрізді белсенділікті белокты фракциялардың ГФЛ фракциясы көрсетті. Стресс жағдайында (0,5% NaCl) қышы дәндерінің өсу қабілеттілігін ГФБ фракциясының күшейте түсетіндігі анықталды. Ал, белокты ГФЛ және ГФБ фракцияларының ауксинтәрізді белсенділігі табылмады.

Бағдарланып жойылуы (БЖ) белгісі бар клеткаларды зерттеу негізінен сыртқы факторлар мен сигналдардың көмегімен апоптоз процесін реттеу ерекшеліктеріне бағытталған. Қызанақтың *in vitro* өсірілетін клеткалық суспензиясында табиғаты пептидті заттардың апоптозды тежейтіндігі көрсетілген [1]. Сондай-ақ, патогендерге қарсы өсімдіктердің қорғаныш реакциясы кезінде БЖ процесіне ықпал беретін белоктар жөнінде мәліметтер бар. Мысалы, сабақтың тат саңырауқұлақтарының элиситорлары бидайдың төзімді генотиптерінің клеткаларында БЖ процесін күшейте [2, 3], саңырауқұлақты жұқпалы ауруларға қарсы клеткалардың қорғаныш реакциясын жоғарылататын G белоктар күршітегі БЖ процесін стимуляциялайды [4].

Бұрынғы жүргізілген жұмыстарда бидай және арпаның ұзақ мерзім өсірілген эмбриогенді каллус ұлпаларындағы морфогенез процесін зерттеу кезінде эмбриогенділікке қабілеттіліктің индукциясы және сақталуы БЖ белгісі бар клеткалардың және экстрацеллюлярлық заттардың пайда болуымен байланысты екендігі анықталды [5, 6]. Цитохимиялық әдістер арқылы ультражұқа кесінділерде БЖ белгісі бар клеткалардың айналасында бромфенол көк арқылы анықталған табиғаты белокты, ішкі қабаты фибриллярлы және сыртқы қабаты гранулярлы құрылымнан тұратын екі қабатты экстрацеллюлярлық матрикс (ЭЦМ) табылды [7, 8]. Бұл нәтижені жарық микроскобы көмегімен алынған ЭЦМ полисахаридтері туралы мәліметтермен бірге жалпылай отырып, БЖ белгісі бар клеткалар алдымен гликопротеиндерді бөледі, кейін олар гликанды және белокты бөліктерге ыдырайды деп болжаймыз. Осыған байланысты бидай және арпаның ұзақ мерзім өсірілген эмбриогенді каллус ұлпаларында эмбриогенділікке қабілеттіліктің сақталуы экстрацеллюлярлық заттардың пайда болуымен байланысты екендігі көрсетілді [9]. Сонымен қатар, бидайдың клеткалық суспензиясының сұйықтығында БЖ белгісі бар клеткалардың жойылу процесінде бөлінген экстрацеллюлярлық полисахаридтердің биологиялық белсенділігі анықталды [10]. Жұмыстың мақсаты экстрацеллюлярлық белокты заттардың *in vivo* жағдайында физиологиялық белсенділігін анықтау болды.

#### Материалдар мен әдістер

Зерттеу объектісі ретінде 5,0 мг/л 2,4-Д қосылған Мурасиге және Скуг (МС) [11] ортасында өсірілген бидайдың клеткалық суспензиясының экстрацеллюлярлық ГФЛ және ГФБ белокты фракциялары алынды.

Бидайдың клеткалық суспензиясы 5,0 мг/л 2,4-Д қосылған сұйық МС ортасында экстрацеллюлярлық заттарды сыртқа бөлетін БЖ белгісі бар клеткалардың саны жоғары болған (21-ші күн) күні, яғни

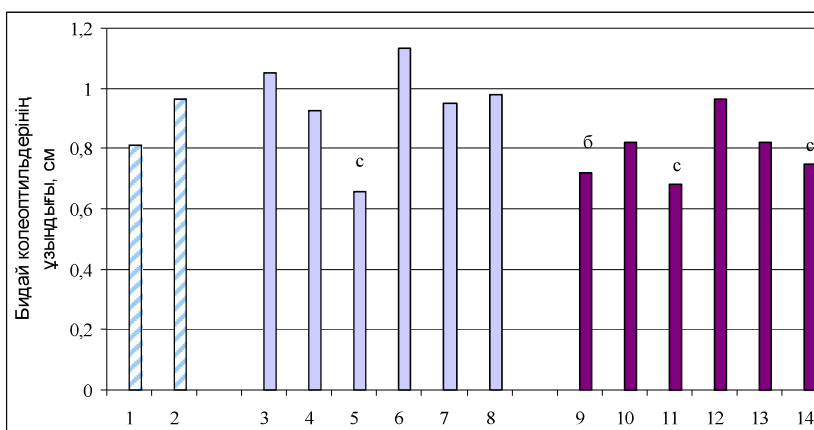
клеткалардың өсу қисық сызығының экспоненциалды фазасына дейін өсіріліп, суспензия сұйықтығы капронды фильтр арқылы сүзіліп алынды.

Гидрофобты сорбенті бар хроматографиялық колонкада бөлінген ГФЛ және ГФБ белокты фракциялардың физиологиялық белсенділігі *in vivo* деңгейінде өсімдіктер физиологиясындағы тұрақты биотестердің көмегімен анықталды [12].

#### Нәтижелер және оларды талдау

Бидайдың клеткалық суспензиясының экстрацеллюлярлық ГФЛ және ГФБ фракцияларында антиауксинді белсенділігі 2,4-Д арқылы ырықтанған бидай колеоптильдерінің ұзара өсуінің тежелуі бойынша анықталды. Ол үшін бидай колеоптильдерінің ұзаруын максималды стимуляциялайтын 2,4-Д гормонының минималды концентрациясы (2μM) анықталды. 2μM 2,4-Д қатысында экстрацеллюлярлы ГФЛ және ГФБ белокты фракциялардың әртүрлі концентрациялары (0,1, 0,02, 0,05, 0,01, 0,001, 0,0001 мкг/мл) алынды.

Экстрацеллюлярлық белоктардың екі фракциясында да, әсіресе ГФБ фракциясында жақсы байқалатын антиауксинді белсенділік табылды. Дәлірек айтатын болсақ, белокты қосылыстардың ГФЛ фракциясының бір варианты (0,05мкг/мл), ал ГФБ фракцияның үш варианты (0,1, 0,05, 0,001мкг/мл) 2,4-Д арқылы ырықтанған бидай колеоптильдерінің ұзаруын сенімді тежейтіндігін көрсетті (сурет 1).



1 – Т ортасы; 2 – Т ортасы +2,4-Д; ГФЛ: 3 – 0,1; 4 – 0,02; 5 – 0,05; 6 – 0,01; 7 – 0,001; 8 – 0,0001; ГФБ: 9 – 0,1; 10 – 0,02; 11 – 0,05; 12 – 0,01; 13 – 0,001; 14 – 0,0001 мкг/мл. Ескерту: a –  $P \geq 0,999$ ; б –  $0,99 \leq P \leq 0,999$ ; c –  $0,95 \leq P \leq 0,99$

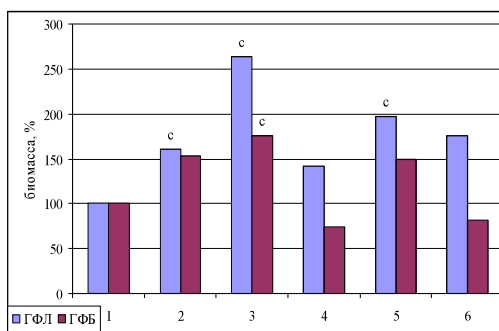
Сурет 1 – Белокты фракциялардың бидай колеоптильдерінің ұзаруына антиауксинді әсері

Бидайдың клеткалық суспензиясының экстрацеллюлярлық ГФЛ және ГФБ белокты фракциялардың ауксинтәрізді белсенділігі бидай колеоптильдерінің созыла өсуі бойынша зерттелді [12]. Зерттеу барысында ГФЛ және ГФБ белокты фракцияларының ауксинтәрізді белсенділігі байқалмады. Бақылаумен салыстырғанда ГФЛ және ГФБ фракцияларының барлық концентрациялары бидай колеоптильдерінің созыла өсуіне тежегіш әсер көрсетті.

Дәннің өсіп-өнуіне экстрацеллюлярлық ГФБ белокты фракциясының әсерін зерттеу үшін тәжірибеге қышы дәндері алынды. Белокты фракцияның 0,05 мкг/мл концентрациясы қышы дәнінің өнуін (өскіндердің түзілуі) сенімді тежейтін әсер көрсетті, ал 0,02 мкг/мл және 0,1 мкг/мл концентрацияларда дәннің өнуі толығымен тежелді. ГФБ белокты фракциясының төменгі концентрациясында (0,001 мкг/мл) дәннің өнуі бақылау деңгейінен жоғары болды. Ал, 0,01 мкг/мл концентрациясы өнуге қойылған қыш дәндерінде тамырдың түзілуін тежейді. ГФБ-ның қыша өскіндерінің өсуіне әсерін зерттеу кезінде 0,01 мкг/мл және 0,05 мкг/мл концентрацияларында өскіндердің ұзындығы 80-50%-ға дейін төмендейді, ал 0,02 және 0,1 мкг/мл концентрацияларында нөлге жетеді.

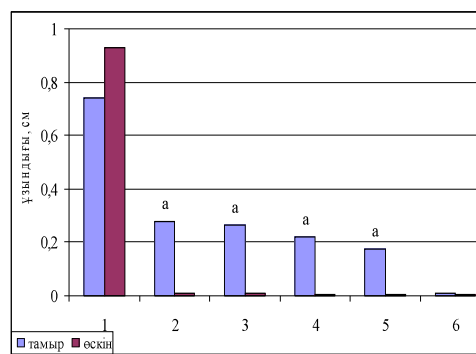
Бидайдың клеткалық суспензиясының экстрацеллюлярлық ГФЛ және ГФБ белокты фракциялардың цитокинтәрізді белсенділігі шалғам тұқымжарнағының биомассасының өсуіне әсері бойынша анықталды. Белокты қосылыстардың ГФЛ фракциясының 0,01 мкг/мл концентрациясы ғана тұқымжарнақ биомассасының жоғарылауын сенімді ырықтандырады (сурет 2).

Бидайдың клеткалық суспензиясының экстрацеллюлярлық ГФБ фракциясына қарағанда (бақылаудан 180%-ға дейін) ГФЛ фракциясындағы (бақылаудан 150 ден 260%-ға дейін жоғарылайтын) цитокинтәрізді белсенділік жоғары болды. ГФЛ фракциясындағы цитокинтәрізді белсенділіктің секірмелі түрде өзгеруі фракция концентрацияларының төмендеуі немесе жоғарылауы кезінде байқалды. Шалғам тұқымжарнағы биомассасының сенімді жоғарылауы ГФЛ фракциясының 0,01 мкг/мл концентрациясында көрінді. Ал, гидрофобты фракциялар үшін цитокинтәрізді белсенділік фракция концентрацияларынан тәуелді емес. Бұл олардың химиялық құрамының әртүрлілігіне ғана емес, сондай-ақ шалғам тұқымжарнағы биомассасының жинақталуына әсер ету механизмдерінің әртүрлілігіне де байланысты болуы мүмкін.



1 – бақылау; 2 – 0,001; 3 – 0,01; 4 – 0,05; 5 – 0,02; 6 – 0,1 мг/мл. Ескерту: а –  $P \geq 0,999$ ; б –  $0,99 \leq P \leq 0,999$ ; с –  $0,95 \leq P \leq 0,99$

**Сурет 2** – Шалғам тұқымжарнағының биомассасына ГФЛ және ГФБ фракцияларының әсері



1 – бақылау – 0,5 % NaCl; 2 – 0,001; 3 – 0,01; 4 – 0,05; 5 – 0,02; 6 – 0,1 мг/мл. Ескерту: а –  $P \geq 0,999$ ; б –  $0,99 \leq P \leq 0,999$ ; с –  $0,95 \leq P \leq 0,99$ .

**Сурет 3** – Стресс жағдайында қышы дәнінің өнуіне ГФБ фракцияларының әсері

Бидайдың клеткалық суспензиясының экстрацеллюлярлық ГФБ фракцияларының антистрестік белсенділігі қышы дәнінің өнуі мен өскіндерінің өсуіне NaCl-дың стрестік әсерін тежеу бойынша анықталды. Зерттеу барысында экстрацеллюлярлық ГФБ фракцияларының әртүрлі концентрациялары (0,001; 0,01; 0,05; 0,02; 0,1 мг/мл) қосылған антистрестік белсенділігі 0,5 % NaCl қатысында жүргізілді. Қышы дәнінің судағы бастапқы өнуі орташа есеппен 50%-ға тең болды, ал 0,5 % NaCl қосылған бақылау вариантында өну қарқындылығы екі есеге (26%-ға дейін) төмендеді.

ГФБ белокты фракцияларының барлық зертеуге алынған концентрациялары (0,001, 0,01, 0,05, 0,02, 0,1 мг/мл) NaCl-дың стрестік әсерін күшейтеді және қыша дәндерінің өнуін нөлге дейін төмендетеді (сурет 3).

Сонымен, 2,4-Д қосылған ортадан алынған белокты қосылыстардың ГФЛ және ГФБ фракцияларында бидай колеоптильдерінің ұзара өсуін ырықтандыратын ауксинтәрізді белсенділік байқалмады және фракциялардың абсциз қышқылының әсеріне ұқсас бидай колеоптильдерінің ұзаруын тежейтін әсері анықталды. Экстрацеллюлярлық белокты қосылыстардың цитокининтәрізді белсенділігі ГФБ фракциясына қарағанда ГФЛ фракциясында жоғары болды. Сонымен қатар, экстрацеллюлярлық ГФЛ және ГФБ белокты фракциялардың антиауксинді белсенділігі анықталды. Стресс жағдайында ГФБ керісінше NaCl-дың стрестік әсерін күшейтеді және кейбір сұйытылған варианттарда дәнің өнуі мен өскіннің өсуін аздап немесе толығымен тежейтіндігі анықталды.

Зерттеу жұмысының нәтижесінде алғаш рет бидайдың *in vitro* өсірілетін клеткалық суспензиясының экстрацеллюлярлық белокты заттарының физиологиялық белсенділігі көрсетілді. Осы уақытқа дейін өсімдік клетка құрамындағы белокты заттар жақсы зерттеліп, олардың биологиялық қасиеттері анықталған [13, 14, 15]. Бірақ, экстрацеллюлярлық белокты заттардың белсенділігі жөнінде мәліметтер өте аз кездеседі [16]. Бұл алынған белокты заттардың маңызы зор. Оларды биотехнология саласында фитогормондармен қатар өсімдіктер морфогенезін реттейтін маңызды факторлар ретінде қолдануға болады.

#### Әдебиеттер

- 1 De Jong A.J., Hoeberichts F.A., Yakimova E.T., Maximovova E., Woltering E.J. Chemical-induced apoptotic cell death in tomato cells involvement of caspase-like proteases // *Planta*. – 2000. – V. 211. – P. 656-662.
- 2 Marticke K.H., Reisener H.J., Fischer R., Hippe-Sanwald S. In situ detection of a fungal glycoprotein-elicitor in stem rust-infected susceptible and resistant wheat using immunogold electron microscopy // *Eur. J. Cell Biol.* – 1998. – V. 76, №4. – P. 265-273.
- 3 Menden B., Kohlhoff M., Moerschbacher B.M. Wheat cells accumulate a syringyl-rich lignin during the hypersensitive resistance response // *Phytochemistry* – 2006. – V. 21. – P. 75-80.
- 4 Ko Shimamoto, Utut Suharsono, wong Hann Ling, Masayuki Fujiwara, Ayako Nakashima, Kenichi Wakabayashi, Nguen Phuong Thao, Reinhard pinontoan, and Tsutomu Kawasaki. G-proteins in cell death and disease resistance of rice // *Abstracts of the conference a plant apoptosis*. – Colorado. – 2002. – P. 35.
- 5 Бишимбаева Н. К., Денебаева М. Г., Амирова А. К., Рахимова Е.В. Особенности гистологического строения рыхлых эмбриогенных каллусов ячменя // *Известия АН РК, серия биологическая и медицинская*. – 2001. – №1-2. – С.7-14.
- 6 Bishimbaeva N.K. A role for apoptosis and polysaccharides secretion in the long-term somatic embryogenesis of cereals // *Bull. Of State Nikit. Bot. Gard.* – 2002. – 86. – P. 47-52.
- 7 Бишимбаева Н.К., Рахимова Е.В., Амирова А.К., Рахимбаев И.Р. Электронно-микроскопическое изучение клеток эмбриогенных каллусов пшеницы // *Известия НАН РК МОН РК*. – 2007. – №1. – С. 41-48.
- 8 Бишимбаева Н.К. Электронно-микроскопическое изучение программированной гибели клеток в культуре ткани зерновых злаков // *Доклады НАН РК, 2007*. - №2. – С. 75-79.
- 9 Бишимбаева Н.К. Регуляция соматического эмбриогенеза и длительное поддержание тотипотентности в культуре тканей пшеницы и ячменя // *Доклады НАН РК МОН РК*. – 2007. – №4. – С. 71-76.

10 Бишимбаева Н.К. Цитофизиологические основы биотехнологии длительной регенерации растений в культуре тканей зерновых злаков /Автореф. дисс. на соиск. уч. ст. док. биол. наук., Алматы, 2007. – 38 с.

11 Murashige T., Scoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.*, 1962. – V.15, №13. – P. 473-497.

12 Головацкая И.Ф., Карначук Р.А. Практикум по физиологии растений. Ростовые вещества. Учеб. пособие. – Томск, 1995. – 113 с.

13 Arjon J. van Hengel, Zewdie Tadesse, Peter Immerzeel, Henk Schols, Ab van Kammen, and Sacco C. de Vries. N-Acetylglucosamine and Clucosamine-Containing Arabinogalactan Proteins Control Somatic Embryogenesis // *Plant Physiol.*, 2001. – V. 125. – P. 1880-1890.

14 Cammue B.E., De Bolle M.F., Schoots H.M., Terras F.R., Osborn R.W. Gene-encoded antimicrobial peptides from plants // *Cuba Found Symp.* 186. – 1994. – P 91-101.

15 Matsubayashi Y., Sakagami, Y. Phytosulfokine, sulfated peptides that induce the proliferation of single mesophyll cells of *Asparagus officinalis* L. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996. – V. 93. – P. 7623-7627.

16 Stirn S., Mordhorst A. P., Fuchs S., Lorz H. Molecular and biochemical markers for embryogenic potential and regenerative capacity of barley (*Hordeum vulgare* L.) cell cultures // *Plant Science*, 1995. – V. 106. - P. 195-206.

#### Резюме

Выявлена антиауксиновая активность экстрацеллюлярных гидрофильных (ГФЛ) и гидрофобных (ГФБ) белковых фракций, выделенных из суспензии клеток пшеницы, особенно наибольшую антиауксиновую активность показала ГФБ фракция. Цитокининподобный эффект выявлен у ГФЛ фракции белков. Выявлена способность внеклеточных ГФБ белков повышать всхожесть семян горчицы в условиях стресса (0,5% NaCl). Ауксиноподобная активность экстрацеллюлярных ГФЛ и ГФБ фракций не обнаружено.

#### Summary

Antiauxin activity extracellular hydrophilic (HPL) and hydrophobic (HPB) protein fractions isolated from wheat cell suspension have been revealed. Especially HPB fraction has more antiauxin activity. revealed Cytokinin like effect of HPL protein fraction have been showed. Ability of extracellular HPB fraction to stimulate the germination of mustard seeds in stress conditions (0,5 % NaCl) have been revealed. Auxin like activity of extracellular HPL and HPB fractions haven't revealed.

УДК582.473:57.086.833

Андреева А.П.

### ВЛИЯНИЕ ГИДРОЛИЗАТА КАЗЕИНА НА ПРОДУКТИВНОСТЬ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ АНАБАЗИНА В УСЛОВИЯХ *in vitro*

(Карагандинский государственный медицинский университет, г. Караганда, Казахстан)

Для получения штамма-продуцента анабазина в культуре клеток *Anabasis aphylla* L. (*A. aphylla* L.) важную роль играют факторы химической природы, такие как органические добавки- гидролизат казеина (источник лизина) и витамины группы В. Для оптимизации условий культивирования предложена математическая модель для многофакторного эксперимента "Нетрадиционный метод построения многомерных моделей на ПЭВМ по программе ANETR 21".

Цель проведенного исследования, оценить степень влияния органических добавок на биосинтез анабазина в культуре клеток *A. aphylla* L. в условиях *in vitro*.

Анабазис безлистный (*Anabasis aphylla* L.), является единственным источником нового антигрибкового препарата "Антилишай", разработанного на основе пиперидинового алкалоида - анабазина. Анабазин обладает ярко выраженной избирательной противгрибковой активностью. Препарат прошел клинические испытания и показал эффективность в лечении грибковых заболеваний молодняка крупного рогатого скота. Разработка технологического регламента биотехнологического производства анабазина в условиях *in vitro* позволит заложить основу для создания сырьевой базы препарата «Антилишай».

Культура клеток анабазиса, является источником алкалоида анабазина [1]. Биосинтез и накопление продукта зависит от степени вторичной дифференцировки каллусной ткани и наличия в составе питательной среды ряда промежуточных продуктов метаболизма анабазина: лизина и витаминов группы В. Известно, что процесс биосинтеза алкалоидов начинается с появления в культуре морфогенных структур ответственных за вторичный метаболизм. Первые этапы метаболизма анабазина начинаются с аспартата, затем образуется промежуточный продукт L-лизин. Реакция превращения L-4-аспартилфосфата в L-аспарат 4-семиальдегид идет с участием аспаратсемиальдегиддегидрогеназы, коферментом является рибофлавин [2,3]. Образование конечного продукта метаболизма алкалоида анабазина зависит от количества лизина – исходного продукта реакции (Рисунок 1).

Важное биологическое значение лизина было открыто Drechsel (1889) он сформулировал гипотезу, что концентрация лизина оказывает существенное изменение в биохимических процессах живых организмов [4]. Недостаток лизина в растительных клетках сопровождается низкой продуктивностью биохимических превращений. Гипотеза Drechsel получила убедительное подтверждение в работах В.Л.Кретовича и сотр. (1958-