

ӘОЖ: 633.85:632.3:577.1

Д.А. Юсаева<sup>1\*</sup>, Е.Г. Горьковая<sup>2</sup>, К.М. Булатова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Қазақ егіншілік және өсімдік шаруашылығы ғылыми зерттеу институты, Қазақстан, Алматыбақ а.

<sup>2</sup>Шығыс Қазақстан ауыл шаруашылығы ғылыми-зерттеу институты, Қазақстан, Өскемен қ.

\*E-mail: damira.yusaeva.74@mail.ru

### Күнбағыстың жалған ақ ұнтақ ауруына төзімді түрлерінің биохимиялық ерекшеліктері

Жүргізілген зерттеулердің нәтижесінде күнбағыстың жапырақ мүшесінде сабақ пен тамырға қарағанда пероксидазаның жалпы белсенділігінің жоғарылығы және изоформа құрамы бойынша едәуір гетерогенділігі анықталды. Экзогенді элиситор салицил қышқылымен әсер еткенде пероксидазаның жалпы белсенділігі мен оның жекелеген изоформаларының қатынасты белсенділігі жалған ақ ұнтақ ауруына төзімді түрлерінде артаыны көрсетілген.

**Түйін сөздер:** күнбағыс, жалған ақ ұнтақ ауруы, пероксидаза, изофермент, электрофоретикалық спектрлер, маркер.

D.A. Jusaeva, E.G. Gor'kovaya, K.M. Bulatova

#### Biochemical features of sunflower varieties resistant to powdery mildew

It is shown that under the influence of exogenous salicylic acid is the total activity of peroxidase and relative activity of separate isoforms enzyme increased the sunflower varieties resistant to powdery mildew.

**Key words:** sunflower powdery mildew, peroxidase, isoenzyme, electrophoretic spectra, marker.

Д.А. Юсаева, Е.Г. Горьковая, К.М. Булатова

#### Биохимические особенности сортов подсолнечника, устойчивых к ложной мучнистой росе

Показано что, под влиянием экзогенного элиситора салициловой кислоты общая активность пероксидазы и относительная активность отдельных изоформ фермента возрастала у сортов подсолнечника, устойчивых к ложной мучнистой росе.

**Ключевые слова:** подсолнечник, ложная мучнистая роса, пероксидаза, изофермент, электрофоретические спектры, маркер.

Күнбағыс дақылы бактериалы, вирусты және саңырауқұлақ аурулары қоздырғыштарының 40 шақты түрімен зақымданады және осының әсерінен шаруашылыққа 80% -ға дейін ысырап әкеледі [1, 2, 3, 4].

Пероксидаза ферментінің салыстырмалы белсенділігі өсімдік мүшелерінің стресті факторларға төзімділігінің көрсеткіші болып табылады, яғни фотосинтез процесінің негізгі тыныс алу және кілтті ферменті бола отырып, өсімдіктің өсу процестерін реттеуге қатысады.

Сыртқы ортаның экстремальды өзгерістеріне жауабы ретінде пероксидаза спектрінің өзгеру деңгейі сорттың генетикалық табиғатымен байланысты [5]. Пероксидаза ереже бойынша молекулалық салмағы, заряды және өзге де қасиеттері бойынша ерекшеленетін бірнеше изозимдерден тұрады. Изозим құрамының өзгермелілігі нақты ұлпаның, мүшенің, мүше жасының ферменттік жүйесіне қарай және абиотикалық және биотикалық табиғаттың әртүрлі стресті факторларының әсеріне де

байланысты [6]. Пероксидаза ферментінің белсенділігі бұл өсімдіктің патоген әсеріне ерте жауап беру көрсеткіші ретінде [7,8] және дақылдардың суыққа төзімділігін алдын ала бақылауда қолдануға болады, яғни суыққа төзімді үлгілерде пероксидаза белсенділігі жоғары деңгейді көрсетеді [9].

Жапырақтың оптимальды және құрғақшылық жағдайда хлорофилл құрамы мен пероксидаза белсенділігінің әсер еткендегі өзгеру қасиеті анықталған [10]. Күнбағыстың фитопатогенді саңырауқұлақтармен залалдануына жүйелі төзімділігін алдын ала споралардың қосжарнақтарымен инокуляциялау арқылы немесе оларды абиотикалық элиситорлармен, оның ішінде ең әсерлі деп саналатын салицил қышқылымен өңдеу арқылы индукциялайды [11].

Күнбағыстың көптеген ауруларға төзімді және ауылшаруашылық-құнды белгілері бар түрлерін сұрыптауда биохимиялық әдістерді қолдану селекцияның тиімділігін арттырады.

Зерттеу жұмысының мақсаты: күнбағыс дақылының пероксидаза ферментінің белсенділігін анықтау және оның төзімділікпен байланысын зерттеу.

### Зерттеу материалдары және әдістері

«ШҚ АШҒЗИ» ЖШС-нің «Күнбағыс селекциясы мен тұқым шаруашылығы» бөлімінің төзімді және төзімсіз будандары мен линияларының екі жапырақшалы, нағыз екі-

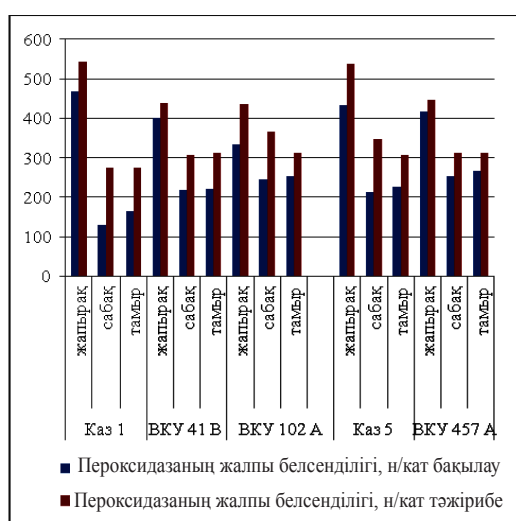
үш жапырақшалы және себеттік кезендеріндегі өскіндері алынды.

Екі жапырақшалы өскіндердің тәжірибелік нұсқасы 3мМ салицил қышқылымен 3 күн өнделді. Алынған өскіндердің жапырақ, сабақ және тамыр мүшелерінен пероксидаза ферменті Liu E.A [12] әдісі арқылы рН – 8,3 трис-глицинді буферімен экстракцияланды, пероксидаза ферментінің жалпы белсенділігі Бояркин әдісімен анықталынып [13], электрофорез 7,5% полиакриламидті геледе жүргізілді. Катодты және анодты изоформаларының қатынасты электрофоретикалық жылжымалылығын санау Кабжанова С.Б., Перуанский Ю.В. әдістерімен жүргізілді [14].

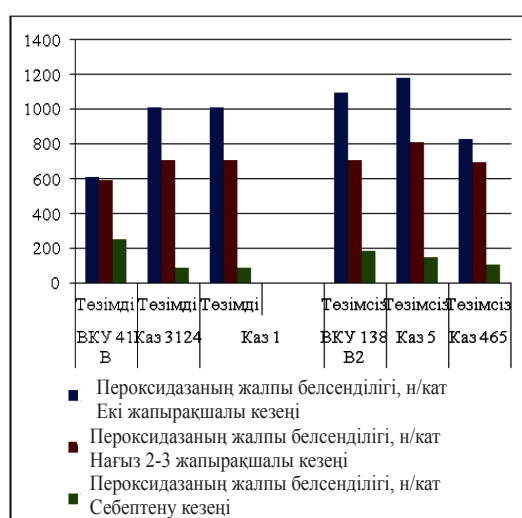
### Зерттеу нәтижелері және оларды талдау

Күнбағыстың 2 жапырақшалы өскін кезеңінде оның әртүрлі мүшелеріндегі пероксидазаның жалпы белсенділігі генотиптердің ауруларға төзімділігіне тәуелсіз түрде өзгергені байқалды. Яғни экзогенді элиситор салицил қышқылымен әсер еткендегі пероксидаза ферментінің жалпы белсенділігі төзімді және төзімсіз формаларда да артты.

Барлық будандар мен линиялардың жапырақ мүшесінде пероксидазаның жалпы белсенділігінің көрсеткіштері жоғары деңгейді көрсетсе, сабақ пен тамырдағы пероксидаза белсенділігінің көрсеткіштері біршама төмен деңгейде болды (1а-сурет).



а

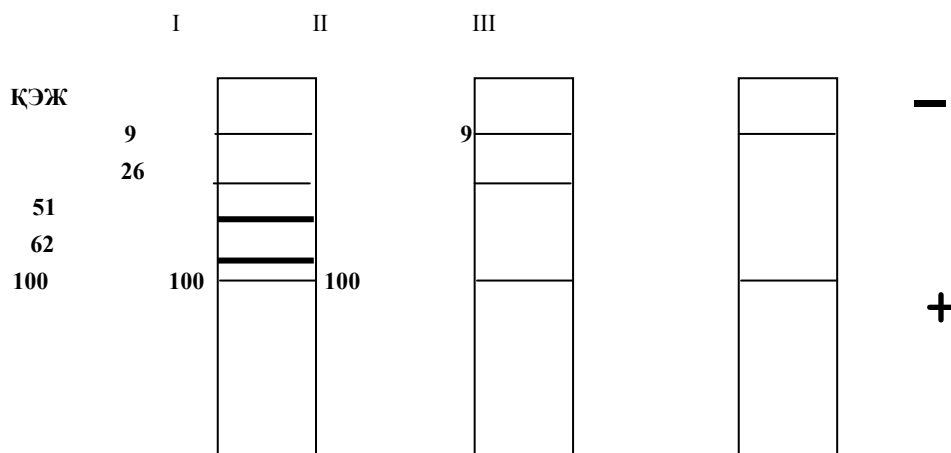


б

1-сурет – Күнбағыстың екі жапырақшалы өскін кезеңінде экзогенді элиситормен әсер еткендегі әртүрлі мүшелеріндегі (а) және вегетациялық кезеңнің әртүрлі сатыларындағы (б) пероксидазаның жалпы белсенділігінің өзгеруі

Әрі қарай үлгілердің ауруға төзімділігін анықтау мақсатында экзогенді элиситормен әсер еткендегі жапырақшалардың жекелеген изоформдарының белсенділігі анықталды. Пластиналы гельде анод-

ты изопероксидаза құрамының талдауы жапырақ пероксидазасының сабақ және тамыр изоформаларының құрамымен салыстырғанда анағұрлым гетерогенді екендігі анықталды (2-сурет).



**2-сурет** – Күнбағыстың Казахстанский 1 буданының екі жапырақшалы өскін кезеңіндегі әртүрлі мүшелерінің анодты изопероксидазасы спектрлерінің схемасы: I – жапырақ; II – сабақ; III – тамыр

Жапырақ мүшесіндегі анодты пероксидаза ҚЭЖ 9,26,51,62,100 изоформаларынан тұрса, сабақ пен тамыр мүшелеріндегі пероксидаза ҚЭЖ 9,26,100 изоформаларынан ғана тұрды, яғни екі жапырақшалы өскін жапырақтарының анодты пероксидазасының спектрлері сабақ пен тамыр изоформаларының құрамына қарағанда анағұрлым гетерогенділік танытты (2-сурет).

Анодты және катодты бағытта түтікшелі

гельде фракцияланған екі жапырақшалы өскін кезеңіндегі жапырақ, сабақ және тамыр мүшелеріндегі пероксидазаның құрамы анықталды.

Жапырақтардың анодты изопероксидазасының қатынасты белсенділігінің өзгеруінің талдауы бойынша Казахстанский 1, Казахстанский 3124, ВКУ 41В ауруларға төзімді түрлерінде ҚЭЖ 51 және 62 изопероксидаза белсенділігінің артатыны анықталды (1-кесте).

**1-кесте** – Экзогенді элиситормен әсер еткендегі күнбағыс жапырағының анодты изопероксидазасының қатынасты белсенділігінің (%) өзгеруі

ҚЭЖ	Күнбағыс нұсқалары									
	Казахстанский 1 төзімді		Казахстанский 3124 төзімді		Казахстанский 465 төзімсіз		ВКУ 41В төзімді		ВКУ138 В2 төзімсіз	
Белсенділігі %										
	бақылау	тәжірибе	бақылау	тәжірибе	бақылау	тәжірибе	бақылау	тәжірибе	бақылау	тәжірибе
9	6,1	4,5	11,7	9,4	8,6	8,1	8,8	9,6	6,4	5,6
26	3,0	3,8	12,1	3,1	8,6	8,7	11,7	9,6	6,2	8,1

## 1-кестенің жалғасы

51	30,3	32,3	26,7	31,4	34,2	32,2	29,5	32,3	33,2	27,0
62	30,3	32,3	26,7	34,5	34,2	32,2	29,5	32,3	33,2	27,0
100	18,1	18,7	16,8	21,8	22,6	18,7	20,5	16,2	21,0	27,0

Күнбағыстың жапырақ, сабақ және тамыр мүшелерінің катодты пероксидазасының спектрлерін зерттегенде жапырақ мүшесіндегі изоформа саны 9 болса (ҚЭЖ 15,27,40,50,55,60,75,85,100), сабақ мүшелеріндегі спектрлерінің изоформа саны 2 (ҚЭЖ 15,100), ал тамыр мүшесінде пероксидаза

спектрлерінің біршама гетерогенді 4 изоформадан тұратындығы анықталды (ҚЭЖ 15, 27, 60 және 100). Салицил қышқылымен әсер еткендегі жалған ақ ұнтақ ауруына төзімді күнбағыстың будандары мен линияларында фермент изоформасының қатынасты белсенділігі ҚЭЖ 40 және 50 артады (2-кесте).

**2-кесте** – Салицил қышқылымен әсер еткендегі күнбағыс жапырағының катодты изопероксидазасының қатынасты белсенділігінің өзгеруі (%)

ҚЭЖ	Казахстанский 1		Казахстанский 3124		ВКУ 41В		ВКУ 138В		ВКУ 102А		ВКУ 101 А		ВКУ 25А	
	бақылау	тәжірибе	бақылау	тәжірибе	бақылау	тәжірибе	бақылау	тәжірибе	бақылау	тәжірибе	бақылау	тәжірибе	бақылау	тәжірибе
15	2.6	2.6	9.0	5.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	4.0	3.0	9.6	6.5	-	-	-	-	9.3	7.1	8.2	7.4	6.2	6.6
40	45	38	24	25	13	21	19	20	17	22	24	26	13	21
50	14	29	14	11	15	18	15	11	17	22	24	28	16	22
55	11	6,0	6,6	6,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	-	-	-	-	15	13	13	20,2	11	8,2	12	9,2	8,5	10,7
75	8,9	4,6	11	9,7	11	15	18	14	14	18	17	14	9,5	16,4
85	4,5	3,4	5,8	4,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
100			6,2	13	46	35	34	35	31	23	14	19	47	25

Биохимиялық зерттеулердің нәтижесінде күнбағыстың барлық будандары мен линияларының жапырақ мүшесіндегі пероксидаза ферменті белсенділігінің көрсеткіші сабақ пен тамырға қарағанда жоғары деңгейді көрсететіні анықталды. Сондай-ақ күнбағыстың өсу мерзімінің әр сатысында да әртүрлі. Экзогенді элиситорлармен әсер еткенде ауруларға төзімді түрлерде оның белсенділігі артатыны байқалды.

Күнбағыс екі жапырақшалы анодты және катодты изопероксидазаларын зерттеу негізінде жапырақшалардың анодты пероксидазасы мен тамырдың катодты пероксидазасының изоформа құрамы бойынша едәуір гетерогенді екендігі анықталды. Бақылау және тәжірибе нұсқаларындағы (салицил қышқылымен өңделген) өскіндердің пероксидаза ферменті изоформаларының ақпаратты аумақтары анықталды, түтікшелі және пластиналы

полиакриламидті гелдерде фракцияланған 9 катодты және 5 анодты изопероксидазаның қатынасты белсенділігіне сандық және сапалық бағалаулар жүргізілді. Келешекте күнбағыстың ауруларға төзімді түрлерін сұрыптауда екі

жапырақшалы өскін кезеңіндегі пероксидаза ферментінің ҚЭЖ 51,62 анодты және ҚЭЖ 40 және 50 катодты изоформдарының белсенділігін маркер ретінде қолдануға болатыны анықталды.

#### Әдебиеттер

- 1 Дьяков Ю.Т., Озерецковская О.Л., Джавахия В.Г., Багирова С.Ф. Общая и молекулярная фитопатология. – М.: Общество фитопатологов, 2001. – 301 с.
- 2 Шмаль В.В. Об итогах работы службы государственного сортоиспытания // Селекция и семеноводство. – 2002. – № 1. – С.4-5.
- 3 Ментюков Н.С., Пивень В.Т. Товарные и посевные качества семян подсолнечника в зависимости от степени поражения белой гнилью // Научно-технический бюллетень. ВНИИ масл. культур. – 2004. – №2. – С.58-95.
- 4 Мурадасилова Н.В. Влияние поражения склеротиниозом подсолнечника на посевные качества семян // Научно-технич. бюлл. ВНИИ масл. культур. – 2006. – №2. – С. 61-168.
- 5 Перуанский Ю.В., Алимгазинова Б.Ш. Изменения компонентного состава пероксидазы в процессе получения растений сахарной свеклы на искусственных средах // Физиология и биохимия культурных растений. – 1992. – №24-23. – С.140-146.
- 6 Сарсенбаев К.Н., Полимбетова Ф.А. Роль ферментов в устойчивости растений. – Алма-Ата: Наука, 1986. – С.184.
- 7 Mader M., Amber-Fixer V. Role of Peroxidase in Lignification of Tobacco Cells. I. Oxidation of Nicotinamide Dinucleotide and Formation of Hydrogen Peroxide by Cell Wall Peroxidase by Cell Wall Peroxidase // Plant Physiol. – 1982. – Vol. 70. – P.1128-1131.
- 8 Vassilyev A. A reductive analysis of factors limiting growth of Cd treated barley plants // Abstrs. 11 th Congress of the Federation of the european Societes of Plant Physiology. – Varna, 1998. in Bulg. J. Plant. Physiol. – 1998. – P.246.
- 9 Dudareva N., Evrard J.-L., Datta T.N., Steinmetz A. Nucleotide sequence of a pollen-specific cDNA from Helianthus annuus L. encoding a highly // Plant Physiol. – 1994. – Vol.106, №1. – P.403-404.
- 10 Белецкий Ю.Д., Карнаухова Т.Б. Шевякова Н.И. Изоферменты пероксидазы у солеустойчивого пластомного мутанта подсолнечника и его гибрида // Физиол. раст. – 1986. – Т. 33, №6. – С. 1159-1165.
- 11 Dmitriev A., Tena M., Jorin J. Systemic acquired resistance in sunflower (Helianthus annuus L.) // Цитология и генетика. – 2003. – Т.37. – №3. – С.9-15.
- 12 Liu E.A. A simple method for determining the relative activities of individual peroxidase isozymes in a tissue extracts // Analyt. Biochem. – 1973. – №56. – P.149-154.
- 13 Бояркин А.Н. Быстрый метод определения активности пероксидазы. Биохимия. – 1951. – №16. – С. 352-357.
- 14 Кабжанова С.Б., Перуанский Ю.В. Состав и активность изозимов пероксидаз и эстераз гетерозисных гибридов кукурузы // Вестник с.-х. науки Казахстана. – 1975. – №9. – С.33-37.

#### References

- 1 D'jakov Ju.T., Ozereckovskaja O.L., Dzhavahija V.G., Bagirova S.F. Obshhaja i molekularnaja fitopatologija. – M.: Obshhество фитопатологов, 2001. – 301 p.
- 2 Shmal' V.V. Ob itogah raboty sluzhby gosudarstvennogo sortoispytaniya. Selekcija i semenovodstvo. – 2002. – № 1. – P.4-5.
- 3 Mentjukov N.S., Piven' V.T. Tovarnye i posevnye kachestva semjan podsolnechnika v zavisimosti ot stepeni porazhenija beloju gnil'ju // Nauchno – tehničeskij bjulleten'. VNII masl.kul'tur. – 2004. – №2. – P.58-95.
- 4 Muradasilova N.V. Vlijanie porazhenija sklerotiniomom podsolnechnika na posevnye kachestva semjan // Nauchno-tehnič. bjull. VNII masl. kul'tur. – 2006. – №2. – P. 61-168.
- 5 Peruanskij Ju.V., Alimgazinova B.Sh. Izmenenija komponentnogo sostava peroksidazy v processe poluchenija rastenij saharnoj svekly na iskustvennyh sredah // Fiziologija i biohimija kul'turnyh rastenij. – 1992. – №24-23. – P.140-146.
- 6 Sarsenbaev K.N., Polimbetova F.A. Rol' fermentov v ustojchivosti rastenij. – Alma-Ata: Nauka, 1986. – P.184.
- 7 Mader M., Amber-Fixer V. Role of Peroxidase in Lignification of Tobacco Cells. I. Oxidation of Nicotinamide Dinucleotide and Formation of Hydrogen Peroxide by Cell Wall Peroxidase by Cell Wall Peroxidase // Plant Physiol. – 1982.- Vol. 70. – P.1128-1131.
- 8 Vassilyev A. A reductive analysis of factors limiting growth of Cd treated barley plants // Abstrs. 11 th Congress of the Federation of the european Societes of Plant Physiology. – Varna, 1998. in Bulg. J. Plant. Physiol. – 1998. – P.246.
- 9 Dudareva N., Evrard J.-L., Datta T.N., Steinmetz A. Nucleotide sequence of a pollen-specific cDNA from Helianthus annuus L. encoding a highly // Plant Physiol. – 1994. – Vol.106, №1. – P.403-404.
- 10 Beleckij Ju.D., Karnauhova T.B. Shevjakova N.I. Izofermenty peroksidazy u soleustojchivogo plastomnogo mutanta podsolnechnika i ego gibrida // Fiziol.rast. – 1986. – Т. 33, №6. – P. 1159-1165.
- 11 Dmitriev A., Tena M., Jorin J. Systemic acquired resistance in sunflower (Helianthus annuus L.) // Citologija i genetika. – 2003. – Т.37, №3. – P.9-15.
- 12 Liu E.A. A simple method for determining the relative activities of individual peroxidase isozymes in a tissue extracts // Analyt. Biochem. – 1973. – №56. – P.149-154.
- 13 Bojarkin A.N. Bystryj metod opredelenija aktivnosti peroksidazy. Biohimija. – 1951. – №16. – P. 352-357.
- 14 Kabzhanova S.B., Peruanskij Ju.V. Sostav i aktivnost' izozimov peroksidaz i jesteraz geterozisnyh gibridov kukuruzy // Vestnik s.-h. nauki Kazahstana. – 1975. – №9. – P.33-37.