

ISSN 2224-5308

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ  
ҰЛТТЫҚ ҒЫЛЫМ АКАДЕМИЯСЫНЫҢ

# Х А Б А Р Л А Р Ы

---

---

## ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК  
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

## NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES  
OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

**БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ МЕДИЦИНА  
СЕРИЯСЫ**



**СЕРИЯ  
БИОЛОГИЧЕСКАЯ И МЕДИЦИНСКАЯ**



**SERIES  
OF BIOLOGICAL AND MEDICAL**

**1 (313)**

**ҚАҢТАР – АҚПАҢ 2016 ж.  
ЯНВАРЬ – ФЕВРАЛЬ 2016 г.  
JANUARY – FEBRUARY 2016**

**1963 ЖЫЛДЫҢ ҚАҢТАР АЙЫНАН ШЫҒА БАСТАҒАН  
ИЗДАЕТСЯ С ЯНВАРЯ 1963 ГОДА  
PUBLISHED SINCE JANUARY 1963**

**ЖЫЛЫНА 6 РЕТ ШЫҒАДЫ  
ВЫХОДИТ 6 РАЗ В ГОД  
PUBLISHED 6 TIMES A YEAR**

АЛМАТЫ, ҚР ҰҒА  
АЛМАТЫ, НАН РК  
ALMATY, NAS RK

Б а с р е д а к т о р

ҚР ҰҒА академигі

**Ж. А. Арзықұлов**

Р е д а к ц и я а л қ а с ы:

биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Айтхожина Н.А.**; биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Байгулин И.О.** (бас редактордың орынбасары); биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Берсімбаев Р.И.**; биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Бишімбаева Н.К.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Күзденбаева Р.С.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Рахышев А.Р.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Ақшолақов С.К.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Алшынбаев М.К.**; биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Березин В.Э.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Ботабекова Т.К.**; биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Жамбакин К.Ж.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Қайдарова Д.Р.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Локшин В.Н.**; биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Огарь Н.П.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Рахыпбеков Т.К.**

Р е д а к ц и я к ең е с і:

**Абжанов Архат** (Бостон, АҚШ); **Абелев С.К.** (Мәскеу, Ресей); **Лось Д.А.** (Мәскеу, Ресей); **Бруно Луненфелд** (Израиль); доктор, проф. **Харун Парлар** (Мюнхен, Германия); философия докторы, проф. **Стефано Перни** (Кардиф, Ұлыбритания); **Саул Пуртон** (Лондон, Ұлыбритания); **Сапарбаев Мурат** (Париж, Франция); **Сарбассов Дос** (Хьюстон, АҚШ); доктор, проф. **Гао Энджун** (Шэньян, ҚХР)

Главный редактор

академик НАН РК

**Ж. А. Арзыкулов**

Редакционная коллегия:

доктор биол. наук, проф., академик НАН РК **Н.А. Айтхожина**; доктор биол. наук, проф., академик НАН РК **И.О. Байтулин** (заместитель главного редактора); доктор биол. наук, проф., академик НАН РК **Р.И. Берсимбаев**; доктор биол. наук, проф., академик НАН РК **Н.К. Бишимбаева**; доктор мед. наук, проф., академик НАН РК **Р.С. Кузденбаева**, доктор мед. наук, проф., академик НАН РК **А.Р. Рахисhev**, доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **С.К. Акшулаков**, доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **М.К. Алчинбаев**; доктор биол. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **В.Э. Березин**; доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **Т.К. Ботабекова**; доктор биол. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **К.Ж. Жамбакин**; доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **Д.Р. Кайдарова**; доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **В.Н. Локшин**; доктор биол. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **Н.П. Огарь**; доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **Т.К. Рахыпбеков**

Редакционный совет:

**Абжанов Архат** (Бостон, США); **С.К. Абелев** (Москва, Россия); **Д.А. Лось** (Москва, Россия); **Бруно Луненфельд** (Израиль); доктор, проф. **Харун Парлар** (Мюнхен, Германия); доктор философии, проф. **Стефано Перни** (Кардиф, Великобритания); **Саул Пуртон** (Лондон, Великобритания); **Сапарбаев Мурат** (Париж, Франция); **Сарбассов Дос** (Хьюстон, США); доктор, проф. **Гао Энджун** (Шэньян, КНР)

«Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская». ISSN 2224-5308

Собственник: РОО «Национальная академия наук Республики Казахстан» (г. Алматы)

Свидетельство о постановке на учет периодического печатного издания в Комитете информации и архивов Министерства культуры и информации Республики Казахстан №5546-Ж, выданное 01.06.2006 г.

Периодичность: 6 раз в год

Тираж: 300 экземпляров

Адрес редакции: 050010, г. Алматы, ул. Шевченко, 28, ком. 219, 220, тел. 272-13-19, 272-13-18,  
[www.nauka-nanrk.kz/biological-medical.kz](http://www.nauka-nanrk.kz/biological-medical.kz)

---

© Национальная академия наук Республики Казахстан, 2016

Адрес типографии: ИП «Аруна», г. Алматы, ул. Муратбаева, 75

Editor in chief

**Zh.A. Arzykulov**,  
academician of NAS RK

Editorial board:

**N.A. Aitkhozhina**, dr. biol. sc., prof., academician of NAS RK; **I.O. Baitulin**, dr. biol. sc., prof., academician of NAS RK (deputy editor); **R.I. Bersimbayev**, dr. biol. sc., prof., academician of NAS RK; **N.K. Bishimbayeva**, dr. biol. sc., prof., academician of NAS RK; **R.S. Kuzdenbayeva**, dr. med. sc., prof., academician of NAS RK; **A.R. Rakhishev**, dr. med. sc., prof., academician of NAS RK; **S.K. Akshulakov**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK; **M.K. Alchinbayev**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK; **V.E. Berezin**, dr. biol. sc., prof., corr. member of NAS RK; **T.K. Botabekova**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK; **K.Zh. Zhambakin**, dr. biol. sc., prof., corr. member of NAS RK; **D.R. Kaidarova**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK; **V.N. Lokshin**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK; **N.P. Ogar**, dr. biol. sc., prof., corr. member of NAS RK; **T.K. Rakhypbekov**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK

Editorial staff:

**Abzhanov Arkhat** (Boston, USA); **S.K. Abelev** (Moscow, Russia); **D.A. Los** (Moscow, Russia); **Bruno Lunenfeld** (Israel); **Harun Parlar**, dr., prof. (Munich, Germany); **Stefano Perni**, dr. phylos., prof. (Cardiff, UK); **Saparbayev Murat** (Paris, France); **Saul Purton** (London, UK); **Sarbassov Dos** (Houston, USA); **Gao Endzhun**, dr., prof. (Shenyang, China)

**News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of biology and medicine.**  
**ISSN 2224-5308**

Owner: RPA "National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan" (Almaty)

The certificate of registration of a periodic printed publication in the Committee of information and archives of the Ministry of culture and information of the Republic of Kazakhstan N 5546-Ж, issued 01.06.2006

Periodicity: 6 times a year

Circulation: 300 copies

Editorial address: 28, Shevchenko str., of. 219, 220, Almaty, 050010, tel. 272-13-19, 272-13-18,  
<http://nauka-nanrk.kz/biological-medical.kz>

---

© National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, 2016

Address of printing house: ST "Aruna", 75, Muratbayev str, Almaty

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 313 (2016), 164 – 171

**FEATURES OF ACTIVITY AND ISOZYME COMPOSITION  
OF  $\beta$ -1,3-GLUCANASE OF WHEAT IN NORMAL CONDITION  
AND UNDER THE ACTION OF CULTURAL FILTRATE  
OF PHYTOPATHOGENIC FUNGUS *Fusarium graminearum***

**B. Tilegen, Zh. D. Beskempirova, A. Dalelhankhyzy,  
N. S. Mamytova, V. A. Kuzovlev, A. A. Khakimzhanov**

M. A. Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemisrtry CS MES RK, Almaty, Kazakhstan.  
E-mail: a.khakimzhanov@mail.ru

**Keywords:** wheat,  $\beta$ -1,3-glucanase, isoenzymes, *Fusarium graminearum*, cultural filtrate

**Abstract.** In plants,  $\beta$ -1,3-glucanase is involved in the cell proliferation, growth and development of tissues and organs, carrying out the hydrolysis of cell walls  $\beta$ -polyglucans. In addition to these basic physiological functions,  $\beta$ -1,3-glucanase is involved in plants protecting from fungal and microbial pathogens. Therefore, the investigation of this enzyme in crops paid much attention. In plants,  $\beta$ -1,3-glucanase represented by multiple molecular forms. High enzyme polymorphism in cereals, including wheat, poorly studied isoenzymes, is one of the major obstacles to study its regulation and functioning.

The aim of study was to determine the characteristics of the activity and isozyme composition of  $\beta$ -1,3-glucanase in different organs of wheat seedlings (seed, stem, root) is normal, as well as the impact of cultural filtrate (CF) pathogenic fungus *F. graminearum*.

It was found that the highest activity of  $\beta$ -1,3-glucanase had seed, and the lowest roots. Significant differences between the organs were found in the isoenzyme compounds of  $\beta$ -1,3-glucanase. The germinating grains enzyme contains 2 to basic components with pI~9,0 and 3 with acidic pI (3.5-4.0), while in stem and root 8-9 neutral isoenzymes. Synthesis of  $\beta$ -1,3-glucanase in grain is hormone-dependent and enhanced in the presence of gibberellic acid. Treatment of seedlings and head by CF *F. graminearum* resulted in a significant increase activity of  $\beta$ -1,3-glucanase. In the maturing grains, and especially in their integument increase of activity was mainly due to increased certain constitutive isoforms, and not as a result of additional isoforms. Activation of  $\beta$ -1,3-glucanases in the shells of ripening wheat in response to fungal infection may indicate their barrier function and participate in the defense mechanism.

Results may be used in enzymology interactions of plants and phytopathogenic fungi.

УДК 581.19:633.1

**ОСОБЕННОСТИ АКТИВНОСТИ И ИЗОФЕРМЕНТНОГО  
СОСТАВА  $\beta$ -1,3-ГЛЮКАНАЗЫ ПШЕНИЦЫ В НОРМЕ  
И ПРИ ДЕЙСТВИИ КУЛЬТУРАЛЬНОГО ФИЛЬТРАТА  
ФИТОПАТОГЕННОГО ГРИБА *Fusarium graminearum***

**Б. Тилеген, Ж. Д. Бескемпинова, А. Далелханкызы,  
Н. С. Мамытова, В. А. Кузовлев, А. А. Хакимжанов**

Институт молекулярной биологии и биологии им. М. А. Айтхожина КН МОН РК, Алматы, Казахстан

**Ключевые слова:** пшеница,  $\beta$ -1,3-глюканаза, изоферменты, *Fusarium graminearum*, культуральный фильтрат.

**Аннотация.** В растениях  $\beta$ -1,3-глюканаза участвует в клеточной пролиферации, росте и развитии тканей и органов, осуществляя гидролиз  $\beta$ -полиглюканов клеточных стенок. Помимо этих основных физиологических функций,  $\beta$ -1,3-глюканаза участвует в защите растения от микробных и грибных патогенов. В связи с этим, исследованию этого фермента у сельскохозяйственных культур уделяется большое внимание. В растениях  $\beta$ -1,3-глюканаза представлена множественными молекулярными формами. Высокая полиморфность фермента у злаковых, в том числе пшеницы, слабая изученность изоферментов, является одним из основных препятствий в изучении его регуляции и функционирования.

Целью работы явилось выявление особенностей активности и изоферментного состава  $\beta$ -1,3-глюканазы в различных органах проростка пшеницы (зерновка, стебель, корень) в норме, а также при воздействии культурального фильтрата (КФ) патогенного гриба *F. graminearum*.

Установлено, что наибольшей активностью  $\beta$ -1,3-глюканазы обладали зерновки, а наименьшей – корни. Существенные различия между органами были обнаружены в изоферментном составе  $\beta$ -1,3-глюканазы. В прорастающих зернах фермент представлен 2-мя щелочными компонентами с ИЭТ~9,0 и 3-мя кислыми с ИЭТ (3,5-4,0), в то время как в стебле и корне 8-9 изоферментами, в основном нейтральных. Синтез  $\beta$ -1,3-глюканазы в зерне гормон-зависимый и усиливается в присутствии гибберелловой кислоты. Обработка проростков и колосьев КФ *F. graminearum* приводила к значительному увеличению активности  $\beta$ -1,3-глюканазы. В созревающих зерновках, и особенно в их покровах возрастание активности происходило в основном за счет усиления некоторых конститутивных изоформ, а не в результате появления добавочных изоформ. Активизации  $\beta$ -1,3-глюканаза в оболочках созревающего зерна пшеницы в ответ на грибное инфицирование может указывать на их барьерную функцию и участие в защитном механизме.

Результаты могут быть использованы в энзимологии взаимодействия растений и фитопатогенных грибов.

**Введение.** Глюканазы широко распространены у растений и включают в себя несколько типов, главные из которых  $\beta$ -1,3-глюканазы и  $\beta$ -1,4-глюканазы. Эти два типа глюканаз отличаются по ряду физико-химических характеристик, специфичности к поли- $\beta$ -глюкановым субстратам и функциональным особенностям. [1, 2].  $\beta$ -1,3-Глюканаза (ЕС 3.2.1.39) является частью многокомпонентной системы защитного механизма против различных патогенов. Активность этого фермента значительно изменяется при поражении растений различного рода патогенами: вирусами, бактериями, грибами. Выявлена строгая компартментация двух основных форм  $\beta$ -1,3-глюканазы – внутриклеточных вакуолярных и внеклеточных аполастных, сосредоточенных в межклеточном пространстве. Для обеих форм показаны отличительные свойства и особенности функционирования при патогенезе [3, 4].  $\beta$ -1,3-Глюканазы ингибируют рост болезнетворных грибов, так как их субстраты –  $\beta$ -полиглюканы являются одними из основных компонентов клеточных стенок патогенов. Главный структурный полисахарид грибных клеточных стенок – хитин разрушается хитиназами. Оба гидролитических фермента входят в состав обширного семейства защитных PR (связанных с патогенезом) белков, при этом  $\beta$ -1,3-глюканазы принято относить ко 2-й группе этих белков [5-7].

К настоящему времени, несмотря на обширные данные о механизмах действия  $\beta$ -1,3-глюканазы при грибном патогенезе, их защитная роль при инфицировании пшеницы грибами рода *Fusarium* остается не достаточно исследованной. Имеются сведения о том, что в растениях пшеницы, зараженных грибом *F. graminearum*, вызывающим фузариоз колоса, происходит активирование кислой формы хитиназы и  $\beta$ -1,3-глюканазы Иммунохимическими методами установлена их тканевая и клеточная локализация [8,9]. В трансгенных линиях пшеницы выявлено совместное (синергетическое) действие ферментов  $\beta$ -1,3-глюканазы и хитиназы на снижение симптомов поражения фузариозом колоса [10, 11].

Растительные  $\beta$ -1,3-глюканазы представлены несколькими изоформами, которые можно подразделить на конститутивные и индуцибельные. Первые из них имеют важное значение в физиологии и развитии растения в норме. Вторые, как правило, могут индуцироваться в ответ на всевозможные внешние стрессовые факторы и, в частности, при грибном патогенезе [12]. В связи с этим, поиск и выявление изоферментов, участвующих в ответных реакциях пшеницы при инфицировании распространенными в Казахстане патогенными грибами рода *Fusarium* является важным для их применения в качестве надежных биохимических маркеров резистентности к данной болезни.

**Методы исследования.** Объекты исследований – растения пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Шортандинская, штаммы фитопатогенных грибов *F. graminearum*, полученные из Республиканской коллекции микроорганизмов КН МОН РК.

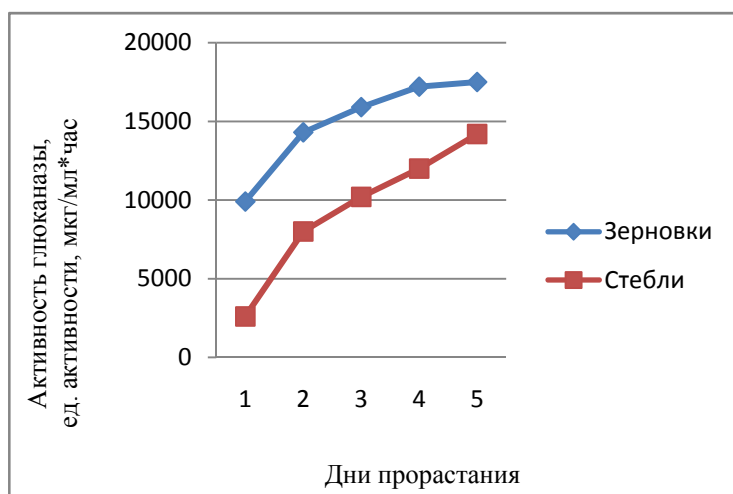
Культуральный фильтрат (КФ) *F. graminearum* получали, культивируя смыв конидий грибов на жидкой питательной среде Чапека на круговой качалке при комнатной температуре в течение 2 недель. Мицелий отделяли от среды культивирования, фильтруя через 4 слоя марли. В КФ подсчитывали количество макроконидий и использовали для инфицирования КФ с плотностью конидий около  $50 \times 10^6$  конидий в мл.

Процедуру обработки пшеницы КФ проводили следующим образом. Зерновки стерилизовали 15% раствором Белизны в течение 15 мин, затем промывали дистиллированной водой 3 раза по 15 мин. Для проращивания и заражения в чашку Петри стелили 2 слоя фильтровальной бумаги, вносили 3-5 мл КФ и высевали по 10-20 зерен. Проращивание вели при 24°C в течение 5 дней. В качестве контроля использовали проростки, выращенные на воде. Обработку созревающих колосьев КФ производили путем опрыскивания пульверизатором.

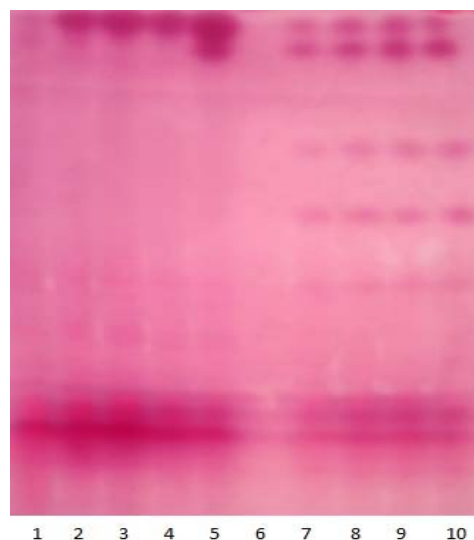
Активность  $\beta$ -1,3-глюканазы определяли с помощью специфического субстрата ламинарина (Sigma-Aldrich, США) по модифицированному методу [3]. Изоэлектрофокусирование (ИЭФ)  $\beta$ -1,3-глюканазы и ее окрашивание в геле проводили с использованием амфолитов pH 3-10 (Serva, Германия) по методу [13].

### Результаты исследования

Анализ активности и изоферментного состава  $\beta$ -1,3-глюканазы в норме. Исследовалась активность  $\beta$ -1,3-глюканазы в различных органах пшеницы – покоящихся и прорастающих зерновках, стеблях и корнях 5-ти дневных проростков. В прорастающем зерне активация  $\beta$ -1,3-глюканазы происходила постепенно и достигала максимального значения на 4-5 день (рисунок 1А). Аналогичное изменение активности фермента наблюдалось в ростках с максимумом также на 5 день. Активность  $\beta$ -1,3-глюканазы ростков на этот срок проращивания сопоставима с таковой зерна и составляла около 80% от уровня зернового фермента. Следует отметить, что покоящиеся зерновки практически не содержали активной  $\beta$ -1,3-глюканазы. Таким образом, активирование фермента в зерновке в период прорастания происходило в основном за счет его синтеза *de novo*. Данные по активности  $\beta$ -1,3-глюканазы хорошо иллюстрировались ИЭФ-спектром фермента. На рисунке 1Б прослеживается постепенное возрастание активности и степени гетерогенности фермента в обоих органах, особенно в ростках.



А



Б

Рисунок 1 – Динамика изменения  $\beta$ -1,3-глюканазы в проростках пшеницы: А – активность  $\beta$ -1,3-глюканазы; Б – ИЭФ-спектр изоферментов  $\beta$ -1,3-глюканазы: 1-5 – зерновки, 6-10 – ростки с 1 по 5 день проращивания

В прорастающем зерне  $\beta$ -1,3-глюканаза состояла из 2-х, четко обособленных групп изоферментов – слабокислых с ИЭТ 3,5-4,0 (3 компонента) и основных в районе рН 9,0 (2 компонента). Обе группы представлены мажорными изоферментами. В отличие от зерновок, ростки кроме этих двух групп содержали еще 3 дополнительных изофермента в нейтральной области рН от 5,5 до 8,0. Спектр кислых и щелочных  $\beta$ -1,3-глюканаз обоих органов идентичен по числу изоферментов, однако в ростках их активность была выражена несколько слабее.

Исследована активность  $\beta$ -1,3-глюканазы в различных анатомических частях прорастающего семени – зародыше, алейроновом слое и эндосперме. Зародыши вычленили после 24 ч замачивания зерна в дистиллированной воде при 22°C. Одну часть изолированных зародышей инкубировали 24 ч в дистиллированной воде (контроль), другую часть – в воде с добавлением 1мкМ гибберелловой кислоты (ГК, опыт). Половинки зерна с удаленными зародышами инкубировали 48 ч также на 2-х вариантах среды - в присутствии 1 мкМ ГК и в отсутствии гормона. По окончании инкубации из половинок выделяли алейроновый слой и крахмалистый эндосперм.

Из диаграммы рисунка 2А видно, что ГК повышала синтез фермента, как в алейроне, так и в зародыше. Кроме того, в присутствии гормона стимулировалась секреция фермента, который обнаруживался в инкубационной среде. На изоэлектрофореграмме (рисунок 2Б) видно, что в беззародышевых половинках (алеирон) ГК активировала верхний катодный компонент щелочных  $\beta$ -1,3-глюканаз и кислые изоферменты, а в зародыше – нейтральные компоненты. Следует подчеркнуть слабую активность в зародыше (как и в ростке) анодной группы изоформ.

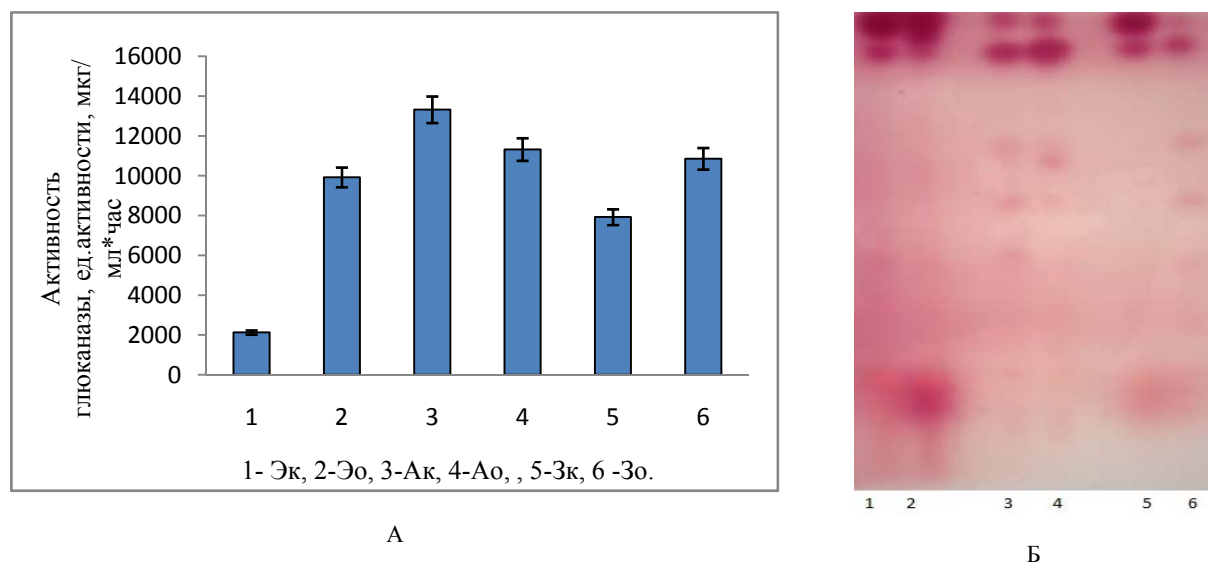


Рисунок 2 – Активность  $\beta$ -1,3-глюканазы в различных анатомических частях прорастающей зерновки.

А – активность  $\beta$ -1,3-глюканазы: 1, 2 - эндосперм (контроль, ГК), 3, 4 - алейрон (контроль, ГК), 5, 6 - зародыш (контроль, ГК); Б – ИЭФ-спектр изоферментов  $\beta$ -1,3-глюканазы (обозначения те же, что и для А)

Дальнейшие эксперименты показали, что ГК усиливала синтез  $\beta$ -1,3-глюканазы не только в прорастающей зерновке, но и в стебле и корне. ИЭФ профили фермента 4-х дневного проростка приведены на рисунке 3. Следует также отметить, что изоферментные составы корня и стебля за небольшим исключением (компоненты в нейтральной области) весьма похожи.

Анализ активности и изоферментного состава  $\beta$ -1,3-глюканазы при обработке культуральным фильтратом гриба *F. graminearum*. Следующей задачей исследования явилось изучение изменчивости активности и изоферментного состава  $\beta$ -1,3-глюканазы при воздействии КФ *F. graminearum*. Известно, что одним из главных повреждающих и угнетающих факторов при грибном инфицировании являются токсические вещества, выделяемые патогеном. При культивировании гриба *in vitro* токсины, наряду с другими продуктами жизнедеятельности экскретируются в инкубационную среду. В экспериментальной практике отфильтрованная культуральная жидкость, или КФ часто используют в качестве фактора, имитирующего атаку гриба. Помимо токсинов и других компонентов полученный нами КФ содержал споры и мелкие фрагменты конидий гриба.



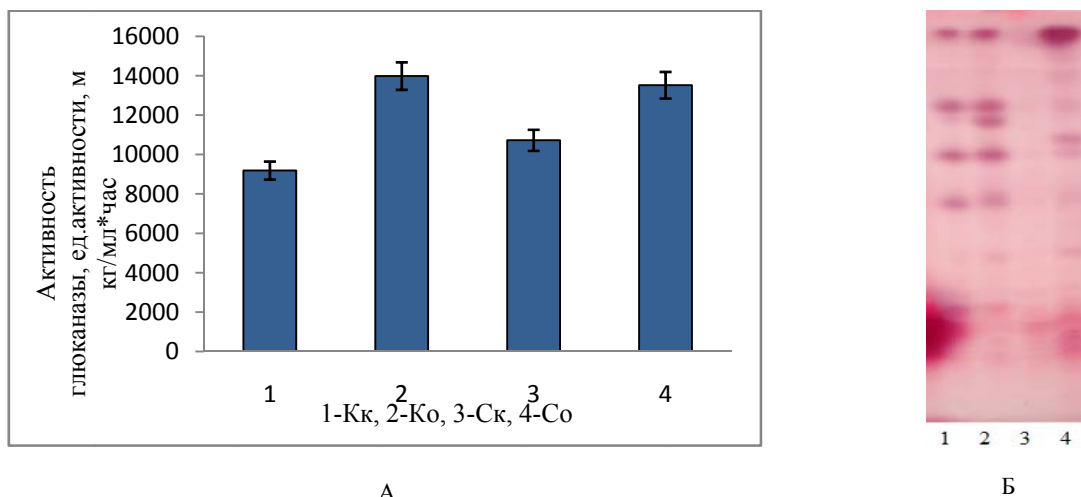


Рисунок 3 – Влияние ГК на активность  $\beta$ -1,3-глюканазы в стебле и корне проростка:  
 А – активность  $\beta$ -1,3-глюканазы: 1,2 - корни (контроль, ГК), 3,4 - стебли (контроль, ГК);  
 Б – ИЭФ-спектр изоферментов  $\beta$ -1,3-глюканазы (обозначения те же, что и для А)

В работе использовались три варианта КФ, полученных от трех штаммов гриба. Для изучения действия КФ на активность  $\beta$ -1,3-глюканазы зерна пшеницы замачивали в дистиллированной воде на 1 ч и затем проращивали двумя способами. В первом варианте семена высаживались сразу на среду с КФ, во втором – сначала 24 ч на дистиллированную воду, а затем пересаживались на КФ. Проращивание в общей сложности длилось в течение 5 дней. Активность фермента определяли в экстрактах ростков. Из данных рисунка 4А видно, что обработка всеми 3-мя образцами КФ приводила к возрастанию активности  $\beta$ -1,3-глюканазы ростков, но в разной степени. Наибольший подъем фермента происходил в присутствии 1-го КФ, 3-й и, особенно, 2-й фильтраты вызывали меньший отклик в ферментной активности. Следует также отметить, что прямое проращивание на КФ способствовало большему увеличению активности  $\beta$ -1,3-глюканазы, по сравнению с вариантом предварительного 1-дневного проращивания в воде.

Данные по активности подтвердились результатами ИЭФ (рисунок 4Б), из которых видно усиление некоторых зон активности. Появление в спектре каких-либо добавочных компонентов фермента не наблюдалось.

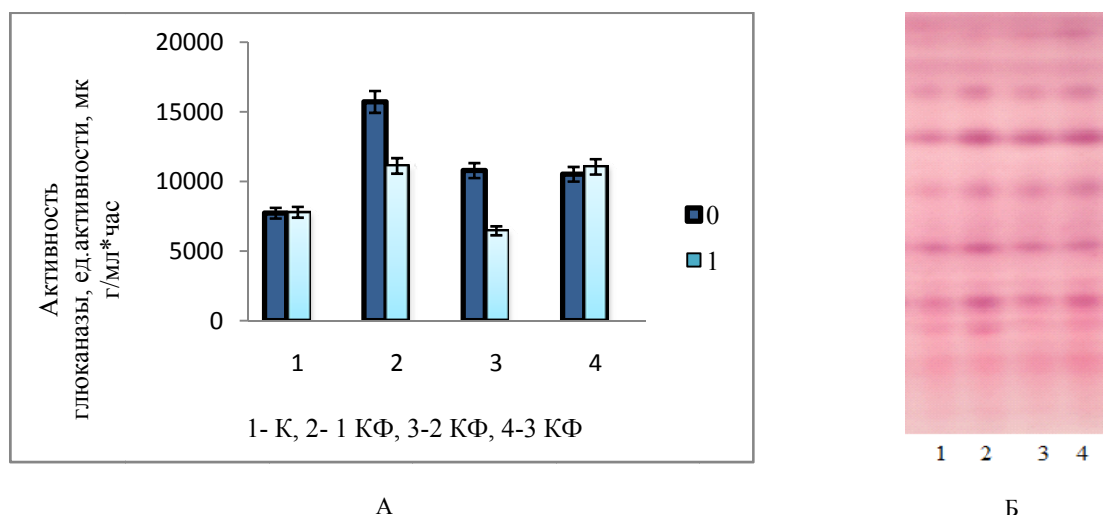


Рисунок 4 – Действие различных КФ гриба *F. graminearum* на  $\beta$ -1,3-глюканазу стеблей 5-ти дневных проростков:  
 А – активность  $\beta$ -1,3-глюканазы: 1,2,3,4 – контроль, КФ1, КФ2 и КФ3 соответственно;  
 темные столбцы – прямое проращивание на КФ, светлые столбцы – предварительное проращивание на воде 1 сутки;  
 Б – ИЭФ  $\beta$ -1,3-глюканазы (обозначения те же, что и для А)

В следующем эксперименте исследовалось действие КФ на изменение активности  $\beta$ -1,3-глюканазы в созревающих зерновках и покровах (оболочках) зерна. Для этой цели колосья в фазе восковой спелости опрыскивали в течение разного периода времени. Контролем служили растения, колосья которых опрыскивали дистиллированной водой. На рисунке 5А представлена картина изменения активности  $\beta$ -1,3-глюканазы при обработке КФ №1 в течение 4 и 7 дней. Видно, что активность фермента после 4-х дневной обработки КФ в покровах зерна и в самих зерновках возрастала. Более длительная обработка колосьев КФ (в течение 7 дней) приводила к росту ферментной активности только в оболочках, в самих зерновках активность, напротив, несколько снижалась.

Данные диаграммы подтвердились результатами ИЭФ (рисунок 5Б). Следует отметить несколько важных моментов, вытекающих из анализа картины ИЭФ. Удельная активность  $\beta$ -1,3-глюканазы в оболочках зерна была существенно выше, чем в семенах, спектр фермента из обоих органов в целом имел значительное сходство. Ответная реакция оболочек в синтезе фермента была более выражена, чем у самого зерна. Это происходило за счет активации анодных (кислых) изоферментов, в то время как активность катодных (щелочных) изоформ несколько снижалась (вариант 7-дневной обработки).

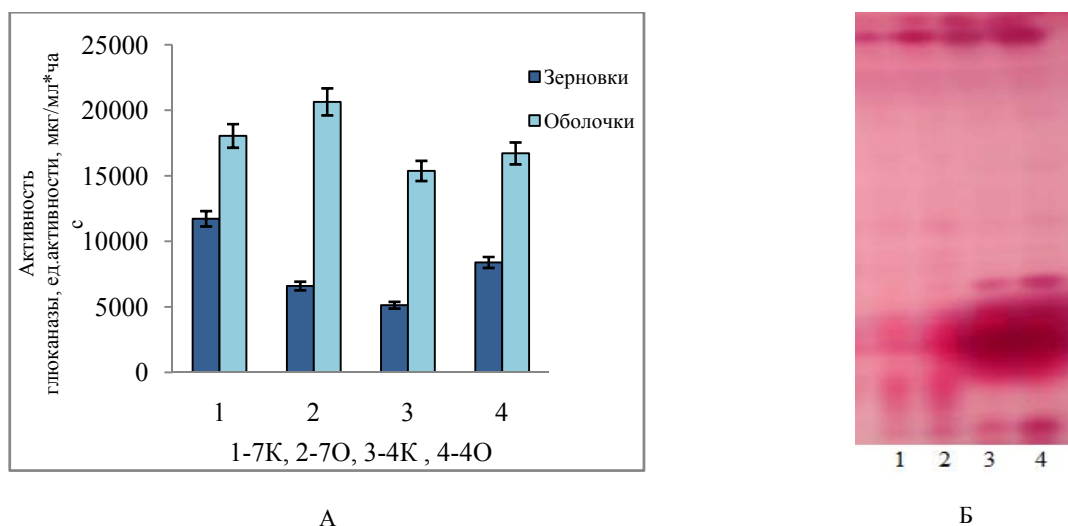


Рисунок 5 – Действие КФ гриба *F. graminearum* на активность  $\beta$ -1,3-глюканазы в созревающих зерновках и их покровах: А – Активность  $\beta$ -1,3-глюканазы: 1,2 – обработка колосьев КФ1 в течение 7 дней, 3,4 – обработка колосьев КФ1 в течение 4 дней, К - контроль, О - опыт (КФ); Б – ИЭФ  $\beta$ -1,3-глюканазы: 1,2 - зерновки (контроль, опыт) и 3,4 – оболочки (контроль, опыт) после 4-х дневной обработки КФ1

### Обсуждение результатов

В результате проведенной работы определена активность  $\beta$ -1,3-глюканазы в различных органах растения пшеницы. Наибольшей активностью ферментов характеризовались зерновки, а наименьшей – корни. Существенные различия между органами обнаружены в изоферментном составе  $\beta$ -1,3-глюканазы. В прорастающих зернах фермент представлен 2-мя мажорными компонентами в щелочной области (с ИЭТ ~9,0) и 3-мя компонентами в кислой области рН (ИЭТ 3,5-4,0), в то время как в вегетативных органах (в стебле и корне) насчитывалось до 8-9 изоферментов. ИЭФ-спектр  $\beta$ -1,3-глюканазы зародышей более гетерогенен по сравнению с эндоспермом и алейроновым слоем и напоминал спектр фермента стебля. В зерновке синтез  $\beta$ -1,3-глюканазы гормон-зависимый и усиливался в присутствии экзогенной ГК. В корне и стебле ГК также стимулировала и ускоряла активацию некоторых изоформ фермента. Таким образом, полученные ИЭФ-спектры свидетельствуют о выраженном характере тканеспецифичности изоферментов  $\beta$ -1,3-глюканазы как в самом растении, так и в отдельных анатомических частях зерновки пшеницы.

Проведен анализ ответных реакций пшеницы на воздействие фитопатогенного гриба *F. graminearum*. Обработка проростков и растений в стадии колошения культуральным фильтратом гриба приводила значительному увеличению активности  $\beta$ -1,3-глюканазы в созревающих зерновках и, особенно, в их покровах. Это возрастание активности происходило в основном за счет усиления активности некоторых имеющихся в норме (конститутивных) изоформ, но не в результате появления новых добавочных компонентов в составе фермента. Высокий уровень активизации  $\beta$ -1,3-глюканаз в оболочках созревающего зерна пшеницы в ответ на грибное инфицирование может указывать на их барьерную функцию и участие в защитном механизме.

**Источник финансирования исследований.** Министерство образования и науки Республики Казахстан.

#### ЛИТЕРАТУРА

- [1] Hrmova M., Fincher G.B. Purification and properties of three (1-3)-  $\beta$ -d-glucanase isoenzymes from young leaves of barley (*Hordeum vulgare*) // Biochem. J. 1993. V. 289. P.453-461.
- [2] Leubner-Metzger G. Functions and regulation of  $\alpha$ -1,3-glucanases during seed germination, dormancy release and afterripening // Seed Sci. Res. 2003. V.13. P.17-34.
- [3] Fink W., Liefland M., Mendgen K. Chitinases and  $\beta$ -1,3-glucanases in the apoplastic compartment of oat leaves (*Avena sativa* L.) // Plant Physiol. 1988. V.88. P. 270-275.
- [4] Kang Z., Buchenauer H. Immunocytochemical localization of  $\beta$ -1,3-glucanase and chitinase in *Fusarium culmorum*-infected wheat spikes // Physiol. Mol. Plant Pathol. 2002. V.60. P.141-153.
- [5] Leubner-Metzger G., Meins F. Functions and regulation of plant  $\beta$ -1,3-glucanases (PR-2) // Review in: Pathogenesis-related protein in plants, Datta S.K., Muthucrishnan S. (eds), Boca Raton, Florida. 1999. P.49-76.
- [6] Ebrahim S., Usha K., Singh B. Pathogenesis related (PR) proteins in plant defense mechanism // In: Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances, A.Mendez-Vilas (ed.). 2011. P.1043-1054.
- [7] Sharma N., Sharma K.P., Gaur R.K., Gupta V.K. Role of chitinase in plant defense // Asian J. Biochem. 2011. V.6. P.29-37.
- [8] Li W.L., Faris J.D., Muthukrishnan S., Liu D.J., Chen P.D., Gill B.S. Isolation and characterization of novel cDNA clones of acidic chitinases and  $\beta$ -1,3-glucanases from wheat spikes infected by *Fusarium graminearum* // Theor. Appl. Genet. 2001. V.102. P.353-362.
- [9] Kang Z., Huang Li., Buchenauer H. Subcellular localization of chitinase and  $\beta$ -1,3-glucanase in compatible and incompatible interactions between wheat and *Puccinia striiformis* f. sp. tritici // J. Plant Dis. Protect. 2003. V.110. P.170-183.
- [10] Anand A., Zhou T., Trick H.N., Bikram S.G, Bockus W.W., Muthukrishnan S. Greenhouse and field testing of transgenic wheat plants stably expressing genes for thaumatin-like protein, chitinase and glucanase against *Fusarium graminearum* // J. Exp. Botany. 2003. V.54. P.1101-1111.
- [11] Wani S. H. Inducing fungus-resistance into plants through biotechnology // Not Sci Biol. 2010. V.2. P.14-21
- [12] Sock J., Rohringer R., Kang Zh. Extracellular  $\beta$ -1,3-glucanases in stem rust-affected and abiotically stressed wheat leaves // Plant Physiol. 1990. V.94. P.1376-1389.
- [13] Shen Q. Pan, Xiang S.Ye, Kuc J. A technique for detection of chitinase,  $\beta$ -1,3-glucanases, and protein patterns after a single separation using polyacrylamide gel electrophoresis or isoelectrofocusing // Phytopathology. 1991. V.9. No.9. P.970-974.

#### REFERENCES

- [1] Hrmova M., Fincher G.B. Biochem. J. 1993. V. 289. P.453-461.
- [2] Leubner-Metzger G. Seed Sci. Res. 2003. V.13. P.17-34.
- [3] Fink W., Liefland M., Mendgen K. Plant Physiol. 1988. V.88. P. 270-275.
- [4] Kang Z., Buchenauer H. Physiol. Mol. Plant Pathol. 2002. V.60. P.141-153.
- [5] Leubner-Metzger G., Meins F. Review in: Pathogenesis-related protein in plants, Datta S.K., Muthucrishnan S. (eds), Boca Raton, Florida. 1999. P.49-76.
- [6] Ebrahim S., Usha K., Singh B. In: Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances, A.Mendez-Vilas (ed.). 2011. P.1043-1054.
- [7] Sharma N., Sharma K.P., Gaur R.K., Gupta V.K. Asian J. Biochem. 2011. V.6. P.29-37.
- [8] Li W.L., Faris J.D., Muthukrishnan S., Liu D.J., Chen P.D., Gill B.S. Theor. Appl. Genet. 2001. V.102. P.353-362.
- [9] Kang Z., Huang Li., Buchenauer H. J. Plant Dis. Protect. 2003. V.110. P.170-183.
- [10] Anand A., Zhou T., Trick H.N., Bikram S.G, Bockus W.W., Muthukrishnan S. J. Exp. Botany. 2003. V.54. P.1101-1111.

- [11] Wani S. H. Not Sci Biol. 2010. V.2. P.14-21  
[12] Sock J., Rohringer R., Kang Zh. Extracellular Plant Physiol. 1990. V.94. P.1376-1389.  
[13] Shen Q. Pan, Xiang S. Ye, Kuc J. A Phytopathology. 1991. V.9. No.9. P.970-974.

**БИДАЙДЫҢ ҚАЛЫПТЫ ЖАҒДАЙДАҒЫ ЖӘНЕ *Fusarium graminearum*  
ФИТОПАТОГЕНДІ САҢЫРАУҚҰЛАҒЫНЫҢ ДАҚЫЛДЫҚ СҮЗІНДІСІМЕН  
ӘСЕР ЕТКЕНДЕГІ  $\beta$ -1,3-ГЛЮКАНАЗАНЫҢ БЕЛСЕНДІЛІГІ МЕН  
ИЗОФЕРМЕНТТІК ҚҰРАМЫНЫҢ ЕРЕКШЕЛІКТЕРІ**

**Б. Тілеген, Ж. Д. Бескемпірова, А. Далелханқызы,  
Н. С. Мамытова, В. А. Кузовлев, А. А. Хакімжанов**

ҚР БҒМ ҒК М. А. Айтхожин атындағы молекулалық биология және биохимия институты,  
Алматы, Қазақстан

**Тірек сөздер:** бидай,  $\beta$ -1,3-глюканаза, изоферменттер, *Fusarium graminearum*, дақылдық сүзінді.

**Аннотация.** Өсімдіктерде  $\beta$ -1,3-глюканаза жасуша пролиферациясына, ұлпалар мен ағзалардың өсуі және дамуына жасуша қабығының  $\beta$ -полиглюкандар гидролизін іске асыра отырып қатысады.  $\beta$ -1,3-глюканаза негізгі физиологиялық қызметтермен қатар өсімдіктерді микроб және саңырауқұлақ патогендерінен қорғауға қатысады. Осыған байланысты, бұл ферментті ауылшаруашылық дақылдарында зерттеуге үлкен көңіл бөлінеді. Өсімдіктерде  $\beta$ -1,3-глюканаза көптеген молекулалық формалармен сипатталады. Астық-тұқымдастарда, соның ішінде бидайда ферментінің жоғарғы полиморфтылығы, изоферменттерді зерттеудің аздығы, оның реттелуін және функциялануын зерттеудегі негізгі кедергінің бірі болып табылады.

Жұмыстың мақсаты бидай өскінінің әртүрлі ағзаларындағы (дән, сабақ, тамыр) қалыпты жағдайдағы және *F. graminearum* патогенді саңырауқұлағының дақылдық сүзіндісімен (ДС) әсер еткендегі  $\beta$ -1,3-глюканазаның белсенділігі және изоферменттік құрамының ерекшеліктерін анықтау болып табылады.

$\beta$ -1,3-глюканаза белсенділігінің бидай дәндерінде жоғары болатындығы, ал тамырда төмен екендігі анықталды. Ағзалар арасында айтарлықтай айырмашылықтар  $\beta$ -1,3-глюканазаның изоферменттік құрылымында анықталды. Өсу кезіндегі дәндерде фермент 2 сілтілік ИЭН~9,0 және 3 қышқылдық ИЭН (3,5-4,0) компонентпен сипатталса, ал сабақ пен тамырда негізінен нейтралды болып келетін 8-9 изоферментпен сипатталған. Дәндердегі  $\beta$ -1,3-глюканазаның синтезі гормон-тәуелді және гибберелл қышқылының қатысуымен күшейеді. Өскіндерді және масақтарды *F. graminearum* ДС өндеу  $\beta$ -1,3-глюканаза белсенділігінің біршама өсуіне алып келді. Пісіп-жетілу кезіндегі дәндерде, әсіресе олардың жабындарында белсенділіктің өсуі қосымша изоформалардың пайда болуынан емес, негізінен кейбір конститутивті изоформалардың күшейуі нәтижесінде іске асты. Саңырауқұлақпен зақымдағанда пісіп-жетілу кезіндегі бидай дәндерінің қабығындағы жауап ретінде  $\beta$ -1,3-глюканаза белсенділігінің артуы, оның барьерлік қызметін және қорғаныштық механизмге қатысатынын көрсетеді.

Нәтижелер өсімдіктер мен фитиопатогенді саңырауқұлақтардың өзара қарым-қатынасы энзимологиясында пайдаланылуы мүмкін.

Поступила 02.02.2016 г.

## **Publication Ethics and Publication Malpractice in the journals of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan**

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

Submission of an article to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan implies that the described work has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. In particular, translations into English of papers already published in another language are not accepted.

No other forms of scientific misconduct are allowed, such as plagiarism, falsification, fraudulent data, incorrect interpretation of other works, incorrect citations, etc. The National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan follows the Code of Conduct of the Committee on Publication Ethics (COPE), and follows the COPE Flowcharts for Resolving Cases of Suspected Misconduct ([http://publicationethics.org/files/u2/New\\_Code.pdf](http://publicationethics.org/files/u2/New_Code.pdf)). To verify originality, your article may be checked by the Cross Check originality detection service <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

The authors are obliged to participate in peer review process and be ready to provide corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. All authors of a paper should have significantly contributed to the research.

The reviewers should provide objective judgments and should point out relevant published works which are not yet cited. Reviewed articles should be treated confidentially. The reviewers will be chosen in such a way that there is no conflict of interests with respect to the research, the authors and/or the research funders.

The editors have complete responsibility and authority to reject or accept a paper, and they will only accept a paper when reasonably certain. They will preserve anonymity of reviewers and promote publication of corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. The acceptance of a paper automatically implies the copyright transfer to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan.

The Editorial Board of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan will monitor and safeguard publishing ethics.

Правила оформления статьи для публикации в журнале смотреть на сайте:

[www.nauka-nanrk.kz](http://www.nauka-nanrk.kz)

<http://www.biological-medical.kz/index.php/ru/>

Редактор *М. С. Ахметова*  
Верстка на компьютере *Д. Н. Калкабековой*

Подписано в печать 12.02.2016.  
Формат 60x881/8. Бумага офсетная. Печать – ризограф.  
13,25 п.л. Тираж 300. Заказ 1.