

REPORTS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES  
OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

ISSN 2224-5227

Volume 3, Number 313 (2017), 130 – 139

**B.A. Zhumabayeva, E.D. Dzhangalina, Z.G. Aytasheva,  
L.P. Lebedeva, Zh.T. Zulpukhar, M. Tuysqanova**

Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan

E-mail: [beibutgul@mail.ru](mailto:beibutgul@mail.ru)

**DETERMINATION OF PROTEIN COMPONENTS ACTIVITIES  
FOR COMMON BEAN HARVESTED IN ALMATY REGION**

**Abstract.** In 2015-2016 comparative study of common bean, *Phaseolus vulgaris* L. specimens has been carried out to ascertain protein content, lectin activity, proteinase inhibitory effect under the steppe zone of Almaty Region. Cultivars and lines of Kazakhstan, Russian, and other external accessions have exhibited rather high protein concentrations. Lectin activity has been shown to be dependent on cultivar's origin, and specific features of genotype, whereas climate conditions during these two years research have been demonstrated to have no influence. Reliable differences in the data obtained over the whole period of the study have not been determined. The most substantial lectin activity has been observed for Russian cvs ("Jubileynaya belaya", and "Zhuravushka"), Kazakhstan cv. "Assol" (Potato Research Institute) and cv. "Iranian" which was brought in from Turkey. Trypsin inhibitors activity has been found to higher than chemotrypsin activity, though both the activity of trypsin inhibitors and the chemotrypsin activity directly correlated to lectins activity. It has been shown that external foreign specimens would possess the activities of trypsin and chemotrypsin inhibitors in the range of 2.8- 5.7 mg/g and 1.9 mg/g, respectively.

The data obtained allow to sort out perspective cultivars and lines with greater protein content, higher lectin activities and proteinase inhibiting activities. These cultivars and lines may serve as potential sources of common bean protein components to be used for plant protection and related research.

**Key words:** *Phaseolus vulgaris* L., common bean, protein, lectins, proteinase inhibitors, plant protection.

УДК 581.1

**Б.А. Жумабаева, Э.Д. Джангалина, З.Г. Айташева,  
Л.П. Лебедева, Ж.Т. Зулпухар, М. Туысқанова**

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ БЕЛКОВЫХ КОМПОНЕНТОВ  
СЕМЯН ФАСОЛИ ОБЫКНОВЕННОЙ В УСЛОВИЯХ  
АЛМАТИНСКОЙ ОБЛАСТИ**

**Аннотация.** В 2015-2016 годах было проведено сравнительное изучение сортообразцов фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.) по содержанию белков, активности лектинов и ингибиторов протеиназ в степной зоне Алматинской области. Изученные сортообразцы казахстанской, российской и зарубежной селекции имели высокое содержание белка. Активность лектинов зависела от происхождения сортообразцов и особенностей генотипа, при этом, климатические условия в разные годы проведения исследований не оказывали влияния. Достоверных отличий между полученными данными за два года не установлено. Наибольшей лектиновой активностью обладали сортообразцы российской («Юбилейная белая», «Журавушка»), казахстанской («Ассоль», КАЗНИИ КОХ) и зарубежной селекции (фасоль «Иранская», ввезена из Турции). Активность ингибиторов трипсина была выше, чем химотрипсина, при этом активность ингибиторов трипсинов и химотрипсинов прямо коррелировали с активностью лектинов. Показано, что у сортов зарубежной селекции активность ингибиторов трипсина и химотрипсина варьировала в пределах 2,8 мг/г-5,7 мг/г и 1,9 мг/г - 3,2 мг/г соответственно.

По результатам изучения активности белковых компонентов отобранные перспективные образцы с наибольшим содержанием белка, активностью лектинов и ингибиторов протеиназы, которые могут служить потенциальными источниками получения белковых компонентов фасоли и дальнейшего их использования при проведении исследований в области защиты растений.

**Ключевые слова:** *Phaseolus vulgaris* L., фасоль, белок, лектины, ингибиторы протеиназы, защита растений.

## Кіріспе

Дәнді-бұршақтар өзіндік бірегей биологиялық құрамына, жоғары ақуыздық мөлшеріне байланысты азықтық дақылдардың ішінде ерекше орын алады. Қазақстанда дәнді-бұршақтарды егуге қызығушылық, астық бағасының тұрақтылығына және сыртқы нарықтағы сұранысына шартталған.

Қазіргі таңда заманауи ауыл шаруашылық өндірістің дамуының перспективті бағыттарының бірі өсімдіктерді қорғауда кешенді әдістерді қолдану және экологиялық қауіпсіздіктің деңгейін жоғарылату болып табылады. Осыған орай, әртүрлі белоктық компоненттер негізінде ауыл шаруашылығы мен медицина үшін фитопрепараттарды жасап шығару өзекті мәселе болып отыр. Қазақстан Республикасы биопрепараттарды тиімді қолдану үшін үлкен нарықтық потенциалға ие – ауыл шаруашылығында, мал шаруашылығында, мұнай-газ секторында және тағы басқа. Бірақ қазіргі таңда республикада биопрепараттардың ретке келтірілген өндірісі жоқ, ал тұтынушылық қажеттілік шетелдің импортымен өтелуде. Өнеркәсіптің, ауыл шаруашылығының, мал шаруашылығының және қоршаған ортаны қорғаудың қажеттіліктері үшін микробиологиялық препараттардың бірқатар спектрі сәтті қолданылуда. Оның өзінде өсімдіктекті биопрепараттардың өндірісі жеткіліксіз болып отыр. Фитопрепараттарды қазіргі агротехникамен бірге кешенді қолдану тек қана жердің потенциалын біршама толық қолдануды ғана емес, сонымен қатар сол өсімдіктердің биологиялық потенциалын да толық қолдануға мүмкіндік береді.

Қазақстан үшін үрмебұршақ дәстүрлі дақыл болып табылмайды, дегенмен соңғы жылдары оған деген сұраныс жылдан-жылға ұлғаюда. Бұршақ тұқымдастардың құрамына құнарлы құндылықтарға ие белоктармен қатар табиғаты белок болып келетін антиалиментарлы қосылыстар да кіреді. Көбінесе лектиндер және глюконаза, хитиназа сияқты ферменттер, протеаза мен  $\alpha$ -амилаза ингибиторлары кіреді. Олар өсімдіктердің фитоаурулары мен абиотикалық стресстік факторлардың әсеріне деген тұрақтылықты қалыптастыруда маңызды рөл атқарады.

Соңғы екі онжылдықта патогендерге, нематодтарға, әсіресе зиянкес жәндіктерге қарсы өсімдіктердің лектиндерінің белсенділіктері зерттеліп үлкен прогресс жасалды [1, 2].

Протеолитикалық ферменттер тірі организмде әртүрлі физиологиялық функциялар атқарады. Тағамның белоктары мен дәндердің қор белоктарының қорытылуынан бастап спецификалық реттегіш процесстерге дейін айтуға болады. Протеолитикалық ферменттердің ингибиторларының өсімдіктерді зиянкестерден қорғау кезіндегі белсенді рөлін растайтын жұмыстар көбеюде.

Бірнеше жұмыстарда өсімдік ұлпасының біртұтастылығының бұзылысына жауап ретінде белоктардың индукциясы байқалған. Өсімдік ұлпасының бұзылысына деген жүйелік жауап өсімдіктерде ингибиторлардың синтезінің индукциясы кезінде көрінеді. Ингибиторлар әртүрлі және селективті болып келеді [3, 4].

Мысалы, сояның цистатинінің (*Glycine max* L.) үш түрлі формаларынан тек біреуі ғана (L1) конститутивті болды, ал қалған екеуі (N2 и R1) зақымдалмаған өсімдікте болмайды, тек жаракат болған жерде немесе метилжасмонатымен өңдеген кезде жауап ретінде экспрессияланды [5].

Жәндіктердің тиімді протеиназа ингибиторларын іздеу жұмыстары қазіргі таңда әртүрлі бағытта жүргізілуде. Протеазалардың зимогендері белсенді кезде босап шығатын көптеген пропептидтер ферменттердің жетілген формаларының жоғары тиімді ингибиторлары сияқты әсер ете алатындығы белгілі. Протеолитикалық ферменттердің ингибиторлары өсімдіктердің қорғанысында, тек жәндіктерден ғана емес, сонымен қатар басқа да зиянкестерден қорғауда маңызды рөл атқарады. Көптеген нематодтар өсімдіктерде паразиттік тіршілік етуіне әсерінен Қазақстанның ауыл шаруашылық өндірісіне айтарлықтай шығын келуде. Өсімдіктердегі ингибиторлардың қорғаныс әрекеті басқа да зиянкестерге таралуы мүмкін. Жәндіктермен және

басқа да зиянкестермен күресуде өсімдіктердің протеиназа ингибиторлары фитопатогенді микроорганизмдердің ферменттерінің белсенділіктерін тежеуге де қабілетті [6].

Сондықтан, ауыл шаруашылық биотехнологиясы мен өсімдіктерді қорғау саласындағы зерттеулердің дамуы үшін лектиндер мен протеиназа ингибиторларының жаңа көздерін алуға деген үлкен қажеттілік бар. Осыған байланысты, бұл жұмыстың мақсаты – үрмебұршақтың белоктық компоненттері бойынша сорт үлгілерін сипаттау, лектиндер мен протеиназа ингибиторларын алудың жаңа көздерін және олардың негізінде жаңа буын биопрепараттарын жасап шығару үшін анықтау.

### Зерттеу әдістері мен материалдар

Үрмебұршақтың сорт үлгілерінің белок пен лектин мөлшеріне биоскрининг және биотехнологиялық зерттеулер жүргізу үшін қазақстандық, ресейлік және шетелдік селекциясындағы дәнді-бұршақты дақылдардың (*Leguminosae тұқымдасы*) 12 сорт үлгілері қолданылды: «Актатти», «Бомба», «Бийчанка», «Журавушка», «Иголинская», «Иранская», «Камелия», «Ред Гойя», «Пинто», «Уфимская», «Фатима», «Юбилейная белая». Лектиндерді анықтау үшін келесідей сорттар қолданылды: «Юбилейная белая», «Уфимская», «Жемчужина», «Бийчанка», «Журавушка», «Актатти». Берілген сорт үлгілері Алматы облысының далалық аймақтарында өсірілді.

*Белок және амин қышқылдардың мөлшерін анықтау.* Протеин мөлшерін Кьельдаль әдісі бойынша жүргізеді (ГОСТ 10846-91) [7]. Дәндерде шикі протеиннің мөлшері және 0,2%-тік NaOH ерітіндісінде ерігіш протеиндердің жиынтық мөлшері анықталды.

Оптикалық тығыздықты көпканалды Benchmark Microplate Reader (“BioRad”, США) спектрофотометрде анықталды.

Әдіс катализаторлардың қатысында концентрленген күкірт қышқылы мен қыздыру барысында ұнтақтардың минерализациясына негізделген. Аммиактың бор қышқылымен химиялық реакциясы ортобор қышқылынан метабор қышқылының түзілуімен жүреді. Күкірт қышқылының өзі өте әлсіз және сутегі иондарының концентрациясына әсер көрсетпейді. Аммиакпен байланыспаған бос күкірт қышқылының мөлшерін орнатады, одан кейін сынама колбаға құйылған күкірт қышқылы мен бос күкірт қышқылын, қышқылдың аммиакпен байланысқан мөлшерін анықтайды. Нәтижені 0,0014 коэффициентіне көбейтеді күкірт қышқылының 1 мл децинормальды ерітіндісі 0,014 г азоты байланыстыратындығы белгілі. Соңғы нәтижесінде азоттың мөлшерін ұнтақ (граммда) түрінде алады. Талдауға алынған заттағы шикі протеиннің мөлшерін анықтау үшін азот мөлшерінің көрсеткішін 6,25-ке көбейтеді.

Альбумин-глобулиндік фракциясының мөлшерін де Кьельдаль әдісі бойынша анықталды, бұл фракцияны бөлін алғаннан кейін (Осборн) тұзды ерітіндісімен жақын инфрақызыл спектр аймағына кезектегі калибрлеумен анықтайды.

Крахмалдың мөлшері ГОСТ 10845-98 сай поляриметрикалық әдіспен анықталады. Макро және микро элементтердің мөлшері индуктивті плазмалық-атомды эмиссионды спектрометрия (ICPAES) әдісімен анықталады.

Белоктың амин қышқылдық құрамын бағалауды Скурихин И.М. әдісі бойынша ВЭЖХ Agilent 1200 амин қышқылды қанализаторында орындайды.

#### *Протеиназа ингибиторларының белсенділігін бағалау*

Протеиназа ингибиторларының белсенділігін белгілі әдістер бойынша анықтайды [8]. Әдіс ферменттер (трипсин, химотрипсин) әсерінен белоктық субстраттың ыдырау өнімдерін 280 нм көлеміндегі оптикалық тығыздықты спектрофотометриялық өлшеуге негізделген. Белсенді емес кешендерге трипсин немесе химотрипсин байланыстыратын ингибиторлардық өсу экстинцияның азаюымен жүреді. Келесі реактивтер қолданылған: 0,001 н HCl-ға трипсин немесе химотрипсин; стандарты трис-HCl 0,02 М CaCl<sub>2</sub>-буфер (pH-7,7), хромогенді субстрат негізінде бензоил-аргинин-пара-нитроанилид (БАПА, “Serva”), мұзды сіркеқышқылының 30%-дық ерітіндісі. Барлық ерітінділерді тоназытқышта сақтау екі аптадан аспаған. Зерттелін жатқан заттарды түн ішінде тоназытқышта 1:4000 қатынаста дистилденген сумен экстрагирлеген; алынған экстрактіні 30 минут 7000 g центрифугалайды. Трипсин және химотрипсин белсенділігін анықтауды алынған тұнба сұйықтықта 25<sup>0</sup> С-та жүргізеді, барлық реактивтер мен тұнба сұйықтықты термостатта

шамамен бір сағат бойы қыздырады. Тұнба сұйықтықтың (0,01-0,2 мл) әртүрлі көлемдеріне 1,5 мл стандартты буфер және 0,05 мл трипсин немесе химотрипсин ерітіндісін құяды. 5 мин өткенде 1 мл БАПА қосады. 10 минуттан кейін реакцияны 0,5 мл СНЗСООН ерітіндісін қосып тоқтатады. Бақылауда экстракті орнына сол көлемде буфер қосылады. Оптикалық тығыздықты 280 нм көп каналды Benchmark Microplate Reader (“BioRad”, США) спектрофотометрде анықталды. Трипсин ингибиторларының белсенділігін (мг/г) 1 формула бойынша есептейді:

$$ТИА = \frac{СТР \times (\Delta E_{TP} - \Delta E_{OП}) \times V_{TP} \times K_{ЭКСТР} \times K_{PАЗВ}}{V_{ИНГ} \times \Delta E_{TP}}$$

Мұндағы, ТИА-трипсин ингибиторларының белсенділігі, белоктың бір./мг; СТР – трипсин концентрациясы, мг; V<sub>TP</sub> – трипсин ерітіндісінің көлемі, мл; V<sub>ИНГ</sub> – ИТ ерітіндісінің көлемі, мл; K<sub>ЭКСТР</sub> – экстрагент мөлшерінің материал салмағына қатынасы; K<sub>PАЗВ</sub> – ИТ ерітіндісін сұйылту; ΔE<sub>OП</sub> – тәжірибе сынамасының экстинкциясы; ΔE<sub>TP</sub> – трипсин ерітіндісінің экстинкциясы. Трипсин ингибиторларының белсенділігінің бірлігіне олардың бір трипсин белсендігін басатын мөлшерін алған. Тәжірибелі 3 реттік биологиялық қайталаулар арқылы жүргізеді. Химотрипсин ингибиторлардың белсенділігін анықтау осыған ұқсас. Трипсин (химотрипсин) ингибиторларының мөлшерін мг-да, белсенділігін жоғалтқан трипсинді (химотрипсин) 1 г ұнтақта көрсетеді.

Лектин белсенділігін бағалау қоян және егеуқұйрықтардың қанына лектиннің гемагглютинация реакциясын қою арқылы жүргізілді. Жануарлардан алынған қан 1000 g жылдамдықпен 10 минут центрифугада айналдырылады. Плазма мен қанның ядролы ақтүйіршіктерін (лейкоциттерді) бөлін алып, рН 7,4 болатын буферлі ерітіндімен (СИ - среда инкубации) 2 рет шаяды. Шаю үшін эритроцит тұнбасына 1:1 қатынаста буферлі ерітінді қосып, центрифугада 1000 g жылдамдықпен 10 минут айналдырылады. Бөлінін алынған клеткалар, яғни эритроциттер 0-4°C температурада тұнба ретінде сақталады. Эритроциттерді 0,9% NaCl ерітіндісімен 1:25 қатынаста, яғни 25 есе араластырып сұйылтылып, эритроцит суспензиясы немесе сұйылтылған қан дайындалып, 37°C термостатқа 10 мин қойылады. Эритроциттерді 0,9 М натрий хлорының ерітіндісі мен бірнеше рет шаю арқылы бөліп алынады.

Лектин экстрактісін алу үшін тұқымдарды үгітіп 3 сағат 0,9 М натрий хлорының ерітіндісінде ұстап кейін 20 минут 4000 айн/мин центрифугалаудан өткізеді. Гемагглютинация реакциясын жүргізу үшін U-тәріздес ұяшықтары бар арнайы планшет қолданылады. Планшеттің әрбір лункасына 0,05 мл буферлік ерітінді, 0,05 мл 2%-тік шайылған эритроциттердің суспензиясы, 0,05 мл лектин экстрактісі қосылып, 25°C-қа 2 сағат қалдырады. Буферлік ерітіндінің құрамында 1 л суда 8,0 г натрий хлориді, 0,2 г калий хлориді және 1,0 г екі еселенген натрий фосфаты бар. Ерітіндінің рН-ын 0,1 н HCl көмегімен 7,4-ке жеткізеді. Лектин титрі эритроциттердің агглютинациясы жүретін ерітіндідегі оның максималды араластырылуы немесе минималды концентрациясымен сипатталады. Лектин белсенділігі кері шамамен белгіленеді [мг/мл]<sup>-1</sup> және агглютинация байқалатын белоктың минимальды концентрациясымен анықталынады [9]. Лектин белсенділігін лектин титрі бойынша визуалды бағалайды [10]. Визуалдық бағалау 5 балдық жүйе бойынша жүргізіледі: 3 балл – жылдам байқалатын агглютинация: эритроциттер жұқа қабат түзіп, ұяшықтың түбіне біркелкі жайылады; 2 балл – орташа агглютинация: эритроциттер ұяшықтың түбінде диаметрі 2 мм болатын сақиналар түзеді; 1 балл – әлсіз агглютинация: эритроциттер ұяшықтың түбінде 2 мм-ден аз арақашықтыққа жайылады, сақина немесе диск түзеді. 0,5 балл – минимальды агглютинация: ұяшықтың түбіне тұнған эритроциттердің жинақталу ортасында әлсіз қуыс байқалады. 0 балл – агглютинация жоқ. Эритроциттер ұяшықтың түбіне жиналады. Агглютинацияны бағалау үшін реакция бақыланған барлық ұяшықтардың жалпы саны есептеледі: Осылайша, сегіз ұяшықтың максималды белсенділігі 5 x 3,0 = 15 құрайды.

Лектиндерді бөлін алу және тазалаудың бейімделген технологиясы бұршақты дақылдарға, соның ішінде үрмебұршақтарға қолданылды. Экстрагирлену кезеңінде экстрагент - 0,9 М хлорлы натрий көлемін көбейту керек. Бес реттік элюирлеу кезінде үрмебұршақ ұнтағынан алынған суспензия өте қою болады және ісіну жүретіндіктен, біркелкі араластыру және толық ажырату мақсатында 1:10 қатынасы ұсынылады. Элюирлеу уақытын 3 сағатқа дейін көбейту ұсынылады.

Белокты тұндыруды келесі режим бойынша жүргізу тиімді: центрифугалау температурасы 3-4°C аспауы керек, центрифугалау жылдамдығы 4000g 20 минут. Операцияны 2 рет қайталау керек. Супернатантты нейтрализ дегеннен кейін тұнба 4000g 20 минут центрифугалағаннан кейін

кептіріледі. Белок толығымен түсу үшін белокты 70% аммоний сульфаты тұзын араластырады. Тазартылмаған белокты фильтрге жинақтайды және дистилденген судың он реттік (көлемі бойынша) мөлшерінде ерітеді. Лектинді буферлі қоспамен теңестірілген Sefodex G-50 колонкасында тазартады. Адсорбцияланған лектинді 0,1 М глюкоза ерітіндісімен 0,1 М ацетаты буферде элюирлейді. Лектиндерді сапалы тазарту барысында екі сатылы диализ жүргізіледі. 1 саты - 24 сағат 4°C температурада 0,1М ацетаты буферге қарсы (рН-6.8); 2 саты - 24 сағат 4°C температурада дистилденген суға қарсы. Алынған лектиндердің полипептидтік құрамы мен көмірсу құрамы тексеріледі. Лектиннің полипептидтік құрамы редуцирлеуші агенттің (меркаптоэтанол) қатысуымен SDS-электрофорез әдісімен зерттеледі. Лектин бір гомогенді белок емес, гетерогенді белоктық комплекс түрінде болады. Олар әртүрлі электрофоретикалық жылжымалығымен 11 компонентке бөлінеді. Лектин препаратында негізінен молекулалық массасы 45-65 кДа құрайтын ауыр белок фракциясы басым болады. Үрмебұршақ лектинінің көмірсу құрамы келесі: мальтоза, глюкозамин, галактоза, арабиноза, глюкоурон, рамноза, фруктоза, сахароза, рибоза, ксилоза, глюкоза, рафиноза қантарынан тұратындығын хроматографиялық зерттеулер көрсетті.

Барлық зерттеулер 3 рет қайталанып жасалған. Зерттеулер барысында алынған нәтижелер статистикалық талданған және де суреттерде стандартты орта арифметикалық қателері көрсетілген.

### Нәтижелері мен талдаулар

Үрмебұршақ ағзада жақсы қорытылатын, аминқышқылдық құрамы толық өсімдік белогының жоғары мөлшерімен ерекшеленеді. Әртүрлі авторлардың мәліметтері бойынша бұл дақылдың дәндерінде орташа есеппен протеиннің 20-30%-ы жинақталуы мүмкін, соның өзінде үрмебұршақтың дәндерінің белоктарының мөлшері мен сапасы генотип үшін маңызды болып келеді [11, 12].

Қазақстандық, ресейлік және шетелдік селекцияның үрмебұршақтарының сорт үлгілеріне жасалған салыстырмалы талдау олардың белок мөлшері бойынша ерекшеленетінін және жылдарға байланыстылығын көрсетті. Зерттелген үлгілердегі белок мөлшері 2015 жылғы өнім бойынша 23,2%-дан 30,8%-ға дейін, ал 2016 жылғы 22,8% -дан 30,9%-ға дейін ауытқыды. Зерттелінген жылдарда максималды белок мөлшері «Иранская» (30,8% және 30,1%) және «Журавушка» (30,7% және 30,9%) сорт үлгілерінде болды. Минималды белок мөлшері «Ред Гойя» (23,2% және 22,8%) мен «Фатима» (23,4% және 21,9%) сорт үлгілерінде болды. Қазақстандық «Актатти» мен «Ассоль» сорт үлгілері аралық орынды алды (1 кесте).

Кесте 1 – Үрмебұршақ тұқымдарындағы ақуыз үлесі (абсолютті құрғақ затқа, %)

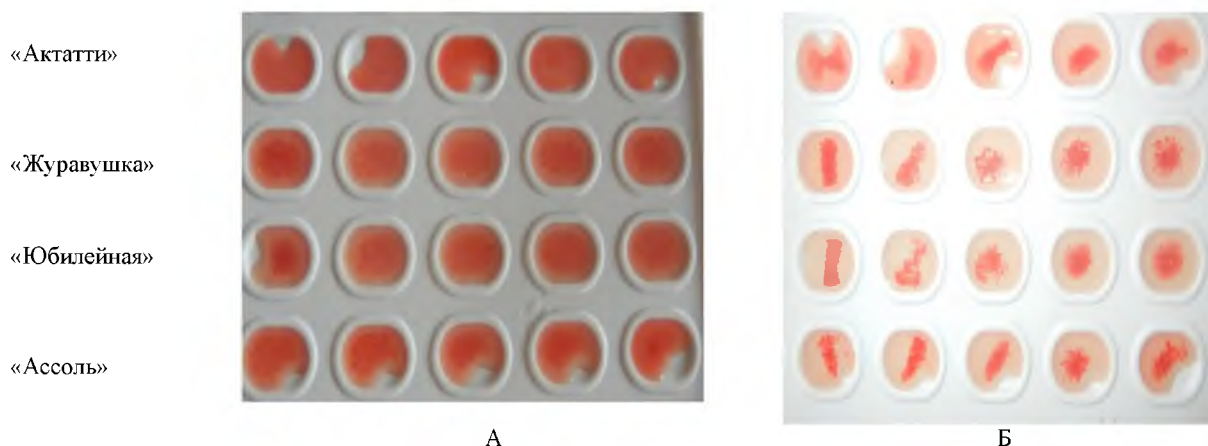
№	Сорт үлгілері	Ақуыз үлесі, %			
		Жалпы, %		альбумин-глобулин фракциясының үлесі, %	
		2015 жыл	2016 жыл	2015 жыл	2016 жыл
Қазақстан сорттары					
1	«Актатти»	29,9±0,27	28,8±0,14	76,2±0,87	75,3±0,75
2	Ассоль	28,7±0,50	27,7±0,40	76,6±0,83	75,8±0,94
Ресей сорттары					
3	Бийчанка	25,6±0,32	26,1±0,23	80,5±0,97	79,7±0,84
4	Жемчужина	25,6±0,39	25,9±0,34	78,5±0,79	77,9±0,54
5	Журавушка	30,7±0,49	30,9±0,41	73,6±0,80	72,7±0,94
6	Уфимская	28,2±0,45	27,8±0,52	78,7±0,92	77,8±0,87
7	Фатима	23,4±0,40	21,9±0,12	77,3±0,94	76,9±0,44
8	Юбилейная белая	28,2±0,58	29,5±0,58	76,7±0,86	75,6±0,66
Шег ел сорттары					
9	Иранская	30,8±0,50	30,1±0,61	77,2±0,89	76,8±0,85
АҚШ сорттары					
10	Камелия	26,6±0,36	25,8±0,43	77,8±0,81	76,9±0,78
11	Пинто	26,4±0,30	25,9±0,71	79,8±0,85	78,7±0,85
12	Ред Гойя	23,2±0,37	22,8±0,24	82,3±0,94	82,7±0,71

Зерттелінген жылдар бойынша белок мөлшері дәйекті айырмашылықтар көрсетпеді.

Бұршақ тұқымдастардың белоктары негізінен аминқышқылдық құрамы біршама толық болып келетін альбуминдер мен глобулиндерден тұрады. Бұршақ дақылдарының белоктарының суда және нейтральды тұзды ерітінділерде біршама оңай ерігіштігі оның қорытылу процесінде маңызды болып табылады. Соған орай, өте жоғары биологиялық және тағамдық құндылыққа ие. Бірізділік экстракциясы әдісі бойынша барлық зерттелген үрмебұршақ үлгілерінің дәндеріндегі альбумин-глобулинді фракция басым 76,2-82,3% болды. Альбуминдер мен глобулиндердің максималды мөлшері зерттелінген жылдарда ресейлік «Бийчанка» (80,5% және 79,7%), және шетелдік селекция «Ред Гойя» (82,3% және 82,7%) сорт үлгілері арасынан анықталды. Ал, аталмыш белоктар бойынша олармен салыстырғанда аз мөлшерлер мына сорт үлгілері: «Актатти» (76,2% және 75,3%), «Журавушка» (73,6% және 72,7%) және «Ассоль» (76,6% және 75,8%) үшін тән болды.

Энергиялық қоры бай дәндерді өндіретін өсімдіктер, әдетте біраз мөлшерде антикоректік заттарын да жинақтайтыны белгілі. Мысалы, лектиндер, протеиназа ингибиторлары және т.б. Ол көптеген дәнді бұршақ дақылдары үшін, оның ішінде үрмебұршақ үшін тән. Осыған орай, зерттеудің келесі кезеңі үрмебұршақтың сорт үлгілерінен лектиндік белсенділігін анықтауға арналды. Геммаглютинация реакциясының қарқындылығы реакцияның жағдайларына тәуелді, сондықтан да эритроциттердің шығуы мен оларды өңдеу процедураларын ескеру қажет. Эксперименттердің бірінші сериясында тышқандар мен қояндардың қанымен геммаглютинация реакцияларын қою арқылы лектиндердің белсенділігін визуалды бағалау жүргізілді.

Нәтижелерді визуалды түрде баллдық жүйеде бағалау жылдам әрі объективті және геммаглютинация реакциясының қарқындылығын жеткілікті түрде дәл анықтауға мүмкіндік берді. Біздің эксперименттерде алдымен көр тышқан мен қоянның эритроциттерінің агглютинация қарқындылығы қатар зерттелінді. Барлық зерттеліп жатқан үлгілерде көр тышқандардың эритроциттерімен салыстырғанда қояндардың эритроциттеріндегі агглютинация реакциясы 1,5-2 есеге баяу өтті, ал қарқындылық 5 баллдан аспады. Ал, көр тышқандардың эритроциттерін қолданғандағы агглютиндеуші белсенділік барлық сорт үлгілерде жеткілікті түрде жоғары болды және ол генотипке тәуелді болды, 10-нан 13 баллға дейін ауытқуда болды (1 сурет).



Сурет 1 – Үрмебұршақ сорт үлгілерінің геммаглютинация реакциясы:  
А – Реакция басталуы, Б – Реакция 30 минуттан кейін

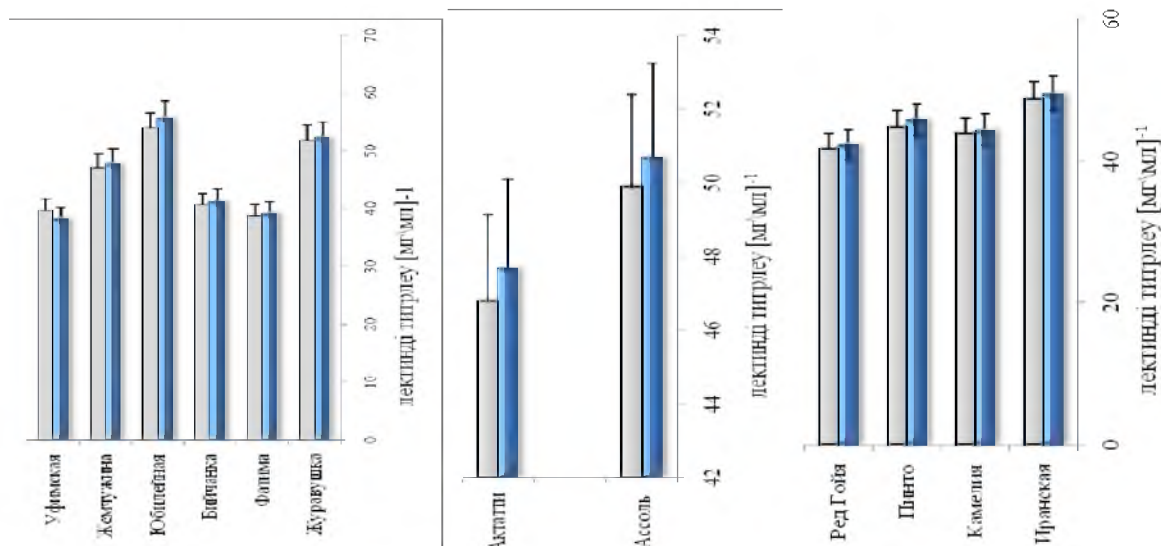
1 суретте зерттелінген төрт үрмебұршақтың сорт үлгілерінің геммаглютинация реакциясы көрсетілген. Мұнда «Юбилейная белая» мен «Журавушка» сорттарының агглютиндеуші белсенділігі 13 баллдан, «Жемчужинка» – 12 баллды, «Уфимская» мен «Бийчанка» 10 баллды құрады. «Журавушка» сорт үлгісінде басқа сорт үлгілерімен салыстырғанда геммаглютинация реакциясы 2-3 минутқа ерте басталды. Ол сол сорт үлгісінде лектиндердің жоғары белсенділігін алдын ала растауға мүмкіндік береді (2 кесте).

Геммаглютиндеуші белсенділіктің ары қарайғы зерттеулерін тек тышқан қанында лектиндердің титрін өлшеу жолымен жүргізілді. Жүргізілген эксперименттер нәтижесінде барлық зерттелген үлгілерде жеткілікті түрде лектиндердің жоғары титрі бар болды. Ол 38,3 – 55,8 [мг/мл]<sup>1</sup> құрады және шығу орнына байланысты болмады.

Кесте 2 – Үрмебұршақтың әр түрлі сорт үлгілеріндегі эритроциттердің шығу тегіне тәуелді агглютининдеуші белсенділіктің қарқындылығы

№	Сорт үлгілері	Агглютинацияның басталған уақыты, (мин)		Агглютинирлеуші белсенділіктің интенсивтілігі (балл)	
		Қоян эритроциттері	Егеуқұйрық эритроциттері	Қоян эритроциттері	Егеуқұйрық эритроциттері
1	Юбилейная белая	15	7	5	13
2	Уфимская	19	9	3	10
3	Жемчужина	18	11	3	8
4	Бийчанка	17	10	2	10
5	Журавушка	14	6	4	13
6	Актатти	15	6	3	11
7	Ассоль	14	7	3	12
8	Иранская	13	6	5	13
9	Камелия	20	8	4	10
10	Пинто	19	9	3	9
11	Ред Гойя	17	9	3	7
12	Фатима	17	9	2	8

Ресейлік селекцияның сорт үлгілеріндегі лектиндік белсенділіктің ауытқу деңгейі қазақстандық және шетелдік үлгілермен салыстырғанда жоғары болды.



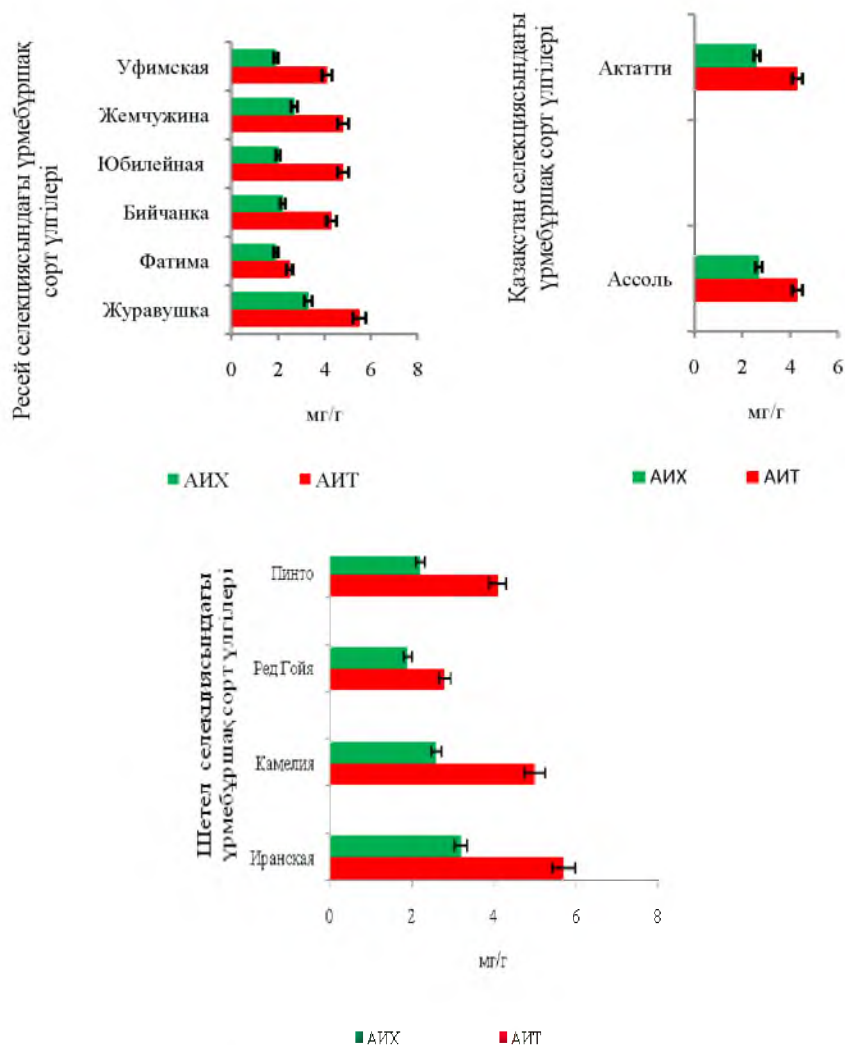
Сурет 2 – 2015-2016 жылдары алынған үрмебұршақ дәндеріндегі лектиннің геммагглютиндеуші белсенділігі: А-Ресей сорты, Б-Қазақстан сорты, В-шетел сорты

Ресейлік үлгілер үшін осы белгі бойынша максималды айырмашылық 17,5 мг/мл құрады, ал қазақстандық және шетелдік үлгілер үшін 3,0 мг/мл мен 7,2 мг/мл. Біршама жоғары белсенділікке үрмебұршақтың үш сорт үлгілері ие болды: «Юбилейная белая», «Журавушка» және «Ассоль». Олардың белсенділіктері (2 суретке) сәйкес 55,8, 52,4 мен 50,7 [мг/мл]<sup>-1</sup> құрады. Лектиндердің біршама төмен белсенділігін «Фатима» - 39,2 [мг/мл]<sup>-1</sup> мен «Уфимская» – 38,3 [мг/мл]<sup>-1</sup> үлгілері көрсетті. Жүргізілген талдаулар үрмебұршақтың зерттелген генотиптері әртүрлі лектиндік белсенділікке ие екендігін көрсетті. Ресейлік сорт үлгілерінен ішінен ең перспективтілері «Юбилейная белая» мен «Журавушка» болды, қазақстандық сорт үлгілері ішінен - «Ассоль», шетелдік сорт үлгілері ішінен - «Иранская». Белоктың мөлшері мен лектиндердің белсенділіктері арасында корреляциялық тәуелділік анықталмады. Корреляция коэффициенті  $r = -0,25$ -тен  $r = 0,63$ -ге дейін ауытқыды.

Біздің эксперименттерде сонымен қатар үрмебұршақтың әртүрлі сорт үлгілеріндегі лектин белсендігімен қатар зерттелінетін химотрипсин мен трипсиннің ингибиторларының белсенділіктері анықталынды. Трипсиннің ингибиторларының белсенділігі (АИТ) химотрипсиндікіне (АИХ)

караганда шамамен 2-2,2 есеге жоғары болды.

Ресейлік селекция сорттарында АИТ 2,5 мг/г-5,5 мг/г ауытқыды, АИХ 1,9 мг/г- 3,3 мг/г (сурет 3). Қазақстандық сорттар үшін химотрипсин мен трипсиннің ингибиторларының белсенділіктері сорттар арасында аз мөлшерде өзгеріске ұшырағаны анықталынды.



Сурет 3 – Үрмебұршақ сорт үлгілерінің дәндеріндегі трипсин ингибиторының (АИТ) химотрипсин (АИХ) белсенділігінің мөлшері: А-Ресей сорты, Б-Қазақстан сорты, В-шетел сорты.

Шетелдік селекция сорттары сонымен қатар химотрипсин мен трипсиннің ингибиторларының әртүрлі белсенділіктерін көрсетті, ол 2,8 мг/г-5,7 мг/г және 1,9 мг/г - 3,2 мг/г шамасында ауытқыды. Зерттелген сорт үлгілерінен АИТ мен АИХ мөлшері максималды болған «Иранская», «Журавушка» және «Ассоль» бөлінін шықты. «Журавушка» үшін 5,5 мг/г мен 3,3 мг/г, «Иранская» үшін – 5,7 мг/г мен 3,2 мг/г, «Ассоль» үшін - 4,3 мг/г мен 2,7 мг/г құрады. Сонымен қатар, бұл сорт үлгілері белоктың жоғары мөлшерімен ерекшеленгенін айтып кеткен жөн. Жүргізілген статистикалық талдаулар белок мөлшерінің деңгейі мен трипсиндердің ингибиторларының белсенділіктері арасындағы корреляциялық байланысты анықтай алмады. Корреляция коэффициенті  $r=0,01$ -нан  $r = -0,60$ -қа дейін ауытқыды. Сонымен қатар лектиндер белсенділіктері мен протеиназа ингибиторларының арасында айтарлықтай байланыс байқалмады. Корреляция коэффициенті  $-0,2$ -ден  $0,4$ -ке дейін ауытқыды [13- 17].

Өсімдіктердің протеиназа ингибиторлары жәндіктердің ас қорыту жолында болатын сериндік және цистеиндік протеиназалардың белсенділігін жеткілікті тежеуге қабілетті және олардың тіршілігін, биомассасын, дамуын төмендетеді [18]. Зерттеулер барысында колорад қоңызы немесе



оның дернәсілдерімен қызанақ пен картоптың жерүсті мүшелерінің зақымдалулары өсімдікте трипсин мен химотрипсин ингибиторларының мөлшерінің жылдам ұлғаюы болатынын көрсетті [19].

Практикалық тұрғыда барлық дәнді бұршақ өсімдіктердің құрамына қоректік емес компоненттер кіреді. Ал олардың мөлшері қоршаған ортаның жағдайларына тәуелді болып келеді. Үрмебұршақта токсинді заттардың мөлшері генотипке, өсіру орындарының жағдайларына байланысты үлкен ауытқу диапазонына ие деген де мәліметтер әдебиттерде көп кездеседі.

2015-2016 жылдары Қазақстандық, ресейлік және шетелдік селекция үрмебұршақтарының 12 сорт үлгілерінің лектиндерінің белсенділігін зерттеуде үлгілер арасындағы белгінің мәндерінің 37,3 мен 55,8 мг/мл арасында болды және үлгілер арасындағы максималды айырмашылықтар 17,5 мг/мл мәнін құрады және басқа да зерттеушілердің мәліметтерімен [20, 21] сәйкес болып отыр.

Біздің эксперименттерде трипсин мен химотрипсин ингибиторларының белсенділіктерінің өзгергіштігі зерттелген сорт үлгілерінде тұрақтылықтың әртүрлі деңгейінің болуы мүмкін екендігі көрсетілді. Мысалы, «Журавушка» сорт үлгілері бактериозға тұрақты және протеиназа ингибиторларының біршама жоғары белсенділігімен ерекшеленді. Ары қарай жүргізілетін зерттеулер протеиназа ингибиторларының белсенділіктерінің өзара байланысы мен үрмебұршақ коллекциясынан сұрыпталған сорт үлгілеріндегі өсімдіктердің қорғаныс механизмдерін қалыптастыруда қатысатын Қазақстанда кең таралған патогенді микроорганизмдерге деген тұрақтылығын зерттеуге бағытталады [22-23]. Мұндай зерттеулер қазіргі таңда аса маңызды болып келетін бидай, арпа, бөрібұршақ және т.б. сияқты дәнді және жемдік дақылдарға жүргізілуде.

Қорытындылай келе, зерттеулер нәтижелері үрмебұршақтың әртүрлі сорт үлгілерінің кең полиморфизмін олардағы белок мөлшері, лектиндер мен протеиназа ингибиторларының белсенділіктері бойынша анықтауға мүмкіндік берді. Биоскрининг барысында анықталған белоктық компоненттердің жоғары белсенділігі бар үлгілер үрмебұршақ формаларының ауруларына тұрақты жоғары өнімдерді алу үшін бастапқы құнды материал бола алады. Сонымен қатар олардың негізінде ауыл шаруашылығы үшін арналған биопрепараттар алуға болады.

## REFERENCES

- [1] 1. *Vasconcelos I. M. & Oliveira J. T. A.*, Antinutritional properties of plant lectins // *Toxicon.*, 2004. V. 44(4), P. 385-403.
- [2] DOI:10.1016/j.toxicon.2004.05.005
- [3] 2. *Maria Ligia R. Macedo, Caio F. R. Oliveira and Carolina T. Oliveira* Insecticidal Activity of Plant Lectins and Potential Application in Crop Protection // *Molecules* 2015, 20, 2014-2033. DOI:10.3390/molecules20022014
- [4] 3. *Vasjukova N.I. & Ozeretskoykaya O.L.*, Jasmonate-dependent protective signaling in plant tissues // *Plant Physiology*. V.56 2009, # 5. P. 643-653. (In Russian)
- [5] 4. *Litvinenko N.A., Adamovskaya V.G. Molodchenkova O.O., and Motsnyi I.I.* Genetic resistance to fusarium wheat and its relation to the activity of trypsin inhibitor in grain // *Cytology and Genetics*. 2002. V. 36, № 2. pp 30-34. (In Russian)
- [6] 5. *Zhao, Y.; Botella, M.A.; Subramanian, L.; Niu, X.; Nielsen, S.S.; Bressan, R.A. and Hasegawa, P.M.* Two wound inducible soybean cysteine proteinase inhibitors have greater insect digestive proteinase inhibitory activities than a constitutive homolog // *Plant Physiology*. 1996. V. 111. №. 4. P. 1299-1306.
- [7] *Moura, Daniel S. and Ryan, Clarence A.* Wound-inducible proteinase inhibitors in pepper. Differential regulation upon wounding, systemin, and methyl jasmonate. // *Plant Physiology*. 2001. V. 126. P. 289-298
- [8] *Kolotilov V.V.* Beans. Evaluation of samples for protein content and other economically valuable traits // *Catalogue of VIR world collection.* / Ed. V.V. Kolotilov, V.V. Podvezko, T.V. Buravtseva, and A.S. Kolotilova. L., 1989. Vol. 495. 24 p. (In Russian)
- [9] *Gatehouse A.M.R., Boulter D.* Assessment of the antimetabolic effects of trypsin inhibitors from cowpea (*Vigna unguiculata*) and other legumes on development of the bruchid beetle *Callosobruchus maculatus* // *J. Sci. Food Agric.* 1983. V. 34, № 2. P. 345-350. DOI: 10.1002/jsfa.2740340405
- [10] *Agafonova O.V., Zhmud E.V. Krogulevich R.E. and Chernikov T.S.* The content of flavonoids, protein and activity of trypsin inhibitors in the leaves of *Trifolium pannonicum* Jacq. grown in Novosibirsk // *Plant Resources*. 2002. V.38 in. 1. P. 86-92. (In Russian)
- [11] *Mohar Singh* (2013) *Genetic and Genomic Resources of Grain Legume Improvement*. Elsevier, Netherlands eBook ISBN: 9780123984944
- [12] *Renate K.A.* Proteinase activities in the midgut of Western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera*) // *Journal of Invertebrate Pathology*. 2009. № 3. P. 169-174. DOI: 10.1016/j.jip.2009.01.003.
- [13] *Mosolov V.V., Grigorieva L.I. and Valueva T.A.* Proteinase inhibitors from plants as multifunctional proteins // *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2001. V. 37, № 6. P. 643-650. (In Russian)

- [14] *Limongelli G.* Variation of seed storage proteins in landraces of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) from Basilicata, Southern Italy // *Euphytica*, 2000. V. 92, № 3. P. 393-399. DOI: 10.1007/BF00037124
- [15] *Wang H.F.* Genetic diversity and relationship of global faba bean (*Vicia faba* L.) germplasm revealed by ISSR markers // *Theor. Appl. Gen.* 2012. V. 124. No. 5. P. 789-97. DOI:10.1007/s00122-011-1750-1
- [16] *Powell K. S.* Antimetabolic effects of plant lectins towards nymphal stages of the planthoppers Tarophagous proserpina and Nilaparvata lugens. *Entomol. Exp. Appl.*, 2001. V.99(1), P.71-77.
- [17] *Couty A., Down R. E., Gatehouse A. M. R., Kaiser L., Pham-Delegue M.H. & Poppy G. M.* Effects of artificial diet containing GNA and GNA-expressing potatoes on the development of the aphid parasitoid, *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Aphidiidae). *J. Insect Physiol.*, 2001. V.47(12), P.1357-1366.
- [18] DOI:10.1016/j.phytochem.2008.09.012
- [19] *Shahidi-Noghabi S., Van Damme E. J. M. & Smagghe G.* Carbohydrate-binding activity of the type-2 ribosome-inactivating protein SNA-I from elderberry (*Sambucus nigra*) is a determining factor for its insecticidal activity. *Phytochemistry*. 2008. V.69(17). P. 2972-2978. DOI: 10.1016/j.phytochem.2008.09.012
- [20] *Ceci L.R., Volpicella M., Rahbe Y., Gallerani R., Beekwilder J., Jongma M.A.* Selection by phage display of a variant mustard trypsin inhibitor toxic against aphids // *Plant J.* 2003. № 33(3). P. 557-566.
- [21] *Mosolov V.V., Grigorieva L.I., and Valueva T.A.* Participation of proteolytic enzymes and their inhibitors in plant protection: review // *Applied Biochemistry and Microbiology*. V.37 2001, №2. P.131-140. (In Russian)
- [22] *Reynoso-Camacho, R., Ramos-Gomez, M. and Loarca-Pina, G.* Bioactive components in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) // *Advances in Agricultural and Food Biotechnology*, 2006. P. 217- 236.
- [23] *Valueva T.A. & Mosolov V.V.* The role of inhibitors of proteolytic enzymes in the plant defense against pathogenic microorganisms // *Biochemistry*. 2004. V. 69. № 11. P. 1600-1606. (In Russian)
- [24] *Qi PF, Johnston A, et al.* Effect of salicylic acid on Fusarium graminearum, the major causal agent of fusarium head blight in wheat // *Fungal Biol.* 116(3):413-26. DOI:10.1016/j.funbio.2012.01.001.
- [25] *A.H. Zian, I.S. El-Demardash, et al.* Studies the Resistance of Lupine for Fusarium oxysporum F. sp Lupini Through Molecular Genetic Technique // *World Applied Sciences Journal* 26 (8): 1064-1069, 2013 DOI: 10.5829/idosi.wasj.2013.26.08.13538

**Б.А. Жумабаева, Э.Д. Джангалина, З.Г. Айташева, Л.П. Лебедева, Ж.Т. Зұлпұхар, М.Туысқанова**

Өл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық университет, Алматы, Қазақстан

#### **АЛМАТЫ ОБЛЫСЫ ЖАҒДАЙЫНДАҒЫ ҮРМЕБҰРШАҚ ДӘНДЕРІНІҢ БЕЛОҚТЫҚ КОМПОНЕНТТЕРІНІҢ БЕЛСЕНДІЛІГІН АНЫҚТАУ**

**Аннотация.** Қазақстан, Ресей және шетелдік селекцияның кәдімгі үрмебұршақтардың (*Phaseolus vulgaris* L.) сорт үлгілеріне белоктар мөлшері, лектиндер белсенділіктері және протеиназа ингибиторлары бойынша салыстырмалы зерттеулер 2015-2016 жылдары жүргізілді. Барлық зерттелген қазақстан, ресей және шетел ел сорт үлгілерінде белоктың жоғары мөлшері болды және лектиндік белсенділігі бойынша да ерекшеленді. Лектиндік белсенділік сорт үлгілерінің генотипі мен шығу тегінің ерекшеліктеріне байланысты болды, алайда екі жылдағы климаттық жағдайлар зерттеулер нәтижелеріне әсер етпеді. Лектиндердің белсенділігі сорт үлгілерінің шығу тегі мен генотиптік ерекшелігіне байланысты, сонымен қатар зерттеулер жүргізілген әр жылдағы климаттық жағдайлар мен ерекшеліктер әсер етпеді. Екі жылда алынған мәліметтерде дәйекті өзгерістер тағайындалынбады. Екі жылда алынған қорытындылар арасында елеулі айырмашылықтар байқалмаған.

Лектин белсенділігі жоғары сорт үлгілері ресейлік («Юбилейная белая», «Журавушка»), қазақстандық («Ассоль») және шетелдік («Иранская») селекциясы ие. Химотрипсинге қарағанда трипсин ингибиторының белсенділігі жоғары, сонымен қатар трипсиндер мен химотрипсиндер ингибиторларының белсенділігін тікелей лектиндер белсенділігімен өзара байланыстырады. Барлық зерттелген сорт үлгілері белоктың жоғары мөлшері (23,2%-30,8%) мен бойынша ерекшеленді. Ал, ол генотип пен шығу тегінің ерекшеліктеріне байланысты болды. Үрмебұршақтың 12 сорт үлгілерінің лектиндерінің белсенділіктерін зерттеу барысында берілген көрсеткіштің кең ауытқу диапазоны белгіленді. Белгінің соңғы мәндерінде 38,3 мен 55,8 мг/мл кезінде үлгілер арасындағы максималды айырмашылықтар 17,5 мг/мл жетті. Біршама жоғары лектиндік белсенділікке ресейлік («Юбилейная белая», «Журавушка») 2 үлгі және бір қазақстандық («Ассоль») және шетелдік («Иранская») селекцияның үлгілері ие болды. Трипсиннің ингибиторларының белсенділігі химотрипсинге қарағанда шамамен екі есеге жоғары болды. Трипсиндер мен химотрипсиндердің ингибиторларының біршама жоғары белсенділіктері лектиндердің өте жоғары белсенділікті үлгілерімен сәйкестігі анықталынған. Белоктық компоненттердің белсенділіктерін зерттеу негізінде белоктық мөлшері көп, лектиндердің мен протеиназалар ингибиторларының белсенділіктері жоғары перспективті үлгілері бөлініп алынды. Олар үрмебұршақтан белоктық компоненттерді алудың потенциалды көзі ретінде олардың әсерін әртүрлі клеткалық модельдерде зерттеу, оларды бөліп алудың биотехнологиялық тәсілдерін жасау және оларды ары қарай ауыл шаруашылығында қолдану үшін зерттелінген.

**Тірек сөздер:** *Phaseolus vulgaris* L.- үрмебұршақ, - белок, - лектиндер - протеиназа ингибиторлары – өсімдіктерді қорғау.