

INFLUENCE OF CHITIN-GLUCAN COMPLEX AND CHITOSAN OLIGOSACCHARIDE ON THE ACTIVITY β -1,3-GLUCANASE AND CHITINASE OF WHEAT PLANTS

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

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

Keywords: wheat seedlings, β -1,3-glucanase, chitinase, isoenzymes, induction, chitin-glucan complex, chitosan oligosaccharide.

Abstract. In the protection of plants against fungal pathogen fundamental importance are specific substances - elicitors. Among them the best known are starchy substances, such as β -glucan, chitin, chitosan and their oligomeric derivatives. The elicitors are important in cell signal transduction, phytoalexins induction, and activation of defense genes, as well as associated with the pathogenesis PR-proteins. As part of the latest especially importance are hydrolytic enzymes - β -1,3-glucanases and chitinases, which can destroy the cell walls of fungi.

This work is devoted to the a weakly-studied aspect - the effect of chitin-glucan complex (CGC) cell wall (CW) of the fungus *Fusarium graminearum* and chitosan oligosaccharide (COS) on the induction and activation of β -1,3-glucanase and chitinase in wheat seedlings. It was established that these amino carbohydrate agents cause in the stem and root of the rise of glucanase and chitinase activity - the initial (2 and 4 hour) and later period – on the 16 hours. However, in the presence of HOS two-phase pattern of the enzymes activation has been more clearly defined. On the isoenzyme level CGC caused in rout de novo synthesis components β -1,3-glucanase with pI 3.3 and 7.8, and among the chitinases - isoforms with pI 3.1 and 3.5. In the presence of COS in both organs induced isozymes β -1,3-glucanase with pI 7.2 and 8.0. Among the stem chitinases are induced acidic isozymes (pI 3.1, 3.5).

The data show a particularity eliciting properties of CGC and COS in the inducing effect on isozymes of β -1,3-glucanase and chitinase wheat seedlings. Results may be used in biochemistry interactions of plants and phytopathogenic fungi.

ВЛИЯНИЕ ХИТИН-ГЛЮКАНОВОГО КОМПЛЕКСА И ХИТОЗАН ОЛИГОСАХАРИДА НА АКТИВАЦИЮ β -1,3-ГЛЮКАНАЗЫ И ХИТИНАЗЫ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ

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

РГП «Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина», г. Алматы

Ключевые слова: проростки пшеницы, β -1,3-глюканаза, хитиназа, изоферменты, индукция, хитин-глюкановый комплекс, хитозан олигосахарид.

Аннотация. В защите растения от грибного патогена принципиальную значимость имеют специфические вещества - элиситоры. Среди них наиболее известны углеводистые вещества, такие как β -глюкан, хитин, хитозан и их олигомерные производные. Элиситоры имеют важное значение в клеточной сигнальной трансдукции, индуцировании фитоалексинов и активации защитных генов, а также связанных с патогенезом PR-белков. В составе последних особую значимость имеют гидролитические ферменты - β -1,3-глюканазы и хитиназы, способные разрушать клеточные стенки грибов.

Данная работа посвящена слабоизученному аспекту - влиянию хитин-глюканового комплекса (ХГК) клеточных стенок (КС) гриба *Fusarium graminearum* и хитозан олигосахарид (ХОС) на индукцию и активацию β -1,3-глюканазы и хитиназы в проростках пшеницы. Установлено, что эти аминуглеводные агенты вызывают в стебле и корне подъем глюканазной и хитиназной активности - в начальный (2 и 4 час) и более поздний период - на 16 ч. Однако в присутствии ХОС 2-х фазный характер активизации ферментов был более четко выражен. На изоферментном уровне ХГК вызывал в корне синтез de novo компонентов β -1,3-глюканазы с рI 3.3 и 7.8, а в составе хитиназы - изоформ с рI 3.1 и 3.5. В присутствии ХОС в обоих органах индуцировались изоферменты β -1,3-глюканазы с рI 7.2 и 8.0. Среди хитиназ стебля происходила индукция кислых изоферментов (рI 3.1, 3.5).

Представленные данные свидетельствуют о специфичности элиситорных свойств ХГК и ХОС в индуцирующем эффекте на изоферменты β -1,3-глюканазы и хитиназы проростков пшеницы. Результаты могут быть использованы в биохимии взаимодействия растений и фитопатогенных грибов.

Введение. К настоящему времени накоплен большой фактический материал об индукции в растениях в ответ на инфицирование вирусами, бактериями и грибами синтеза многих новых белков, так называемых патогенез-связанных, или PR-белков. Эти белки классифицированы в 17 семейств в соответствии с их структурой и свойствами [1]. Особое внимание в связи с изучением механизмов защиты растений от фитопатогенов уделяется PR β -1,3-глюканазам (ЕС 3.2.1.39) и хитиназам (ЕС 3.2.1.14), способным разрушать клеточные стенки грибов [2].

Гидролиз полисахаридов клеточных стенок (хитин-глюкановый комплекс) грибных патогенов, приводящий к образованию элиситор-активных фрагментов, является основной функцией β -1,3-глюканаз и хитиназ, способствуя индукции других защитных реакций. По своей природе большинство известных элиситоров относится к углеводам. В своем обзоре Shibuya N. и Minami E. [3] приводят сведения о доказанных элиситорных свойствах таких веществ, как β -глюкан, хитин, хитозан, их олигосахариды, а также олигогалактурониды.

Углеводистые элиситоры распознаются рецепторными сайтами на поверхности плазматической мембраны растения-хозяина и являются триггерами защитного ответа растения [4, 5]. Расщепляющее действие хитиназ на структуру хитиновых полимеров приводит к образованию хитозан-подобных веществ, накапливающихся особенно внутри гифов. Хитозан обладает высокой ингибиторной активностью в отношении прорастания уредоспор и роста гриба [6]. Олиго- и полимерный хитозан также эффективно индуцирует резистентность путем активации генов защитного ответа [7, 8]. Следует отметить, что элиситоры индуцируют фитоалексины в крайне низких концентрациях, составляющих 10^{-9} и даже 10^{-13} М [9].

Элиситоры имеют важное значение в клеточной сигнализации, индуцировании фитоалексинов, активации защитных генов и белков растения. Обычно это либо поверхностные, либо

выделяемые паразитом вещества, т. е. именно те соединения, которые первыми соприкасаются с поверхностью растения. Помимо упомянутых углеводов, ими могут быть гликопротеины, липополисахариды, липогликопротеиды и др. [10].

К настоящему времени наиболее изученными являются элиситоры аминсахаридной природы, такие как хитин, хитозан и разнообразные их производные - хитоолигосахариды. Проявление элиситорных свойств строго зависит от размера и структуры углевода, количества аминных групп, их расположения и т.д. [11]. Так, например, сравнили олигомеры GlcNAc от тетрамера до декамера, GlcN от пентамера до гептамера, а также N-ацетилированные хитозаны со степенью ацетилирования 1%, 15%, 35%, 60% и степенью полимеризации (СП) от 540 до 1100 по элиситорному эффекту на активность фенил-аммоний лиазы (ФАЛ), пероксидазы (ПО), отложение лигнина и некроз листьев пшеницы. Олигомеры GlcN не обладали элиситорным эффектом, тогда как GlcNAc олигомеры с СП > 7 индуцировали ПО, но не ФАЛ. Частично N-ацетилированные полимерные хитозаны активировали ПО и ФАЛ. Максимум действия проявлял хитозан со средней СП. Хитозаны, но не хитин олигомеры, вызывали отложение лигнина и некрозис. Данные указывают на разные механизмы индукции ферментов, участвующих в лигнификации и некрозисе [12].

Были исследованы различия между хитозаном массой 350 кДа и олигохитозаном (6 кДа) в ингибиторном действии на фитопатогенные грибы. Оба агента сильно тормозили прорастание спор и рост мицелия *Alternaria kikuchiana* и *Physalospora piricola*. Хотя олигохитозан имел лучшее ингибиторное действие на грибковую патогенность *in vitro*, хитозан был более эффективным в контроле болезни. Кроме того, при обработке олигохитозаном увеличивалась активность хитиназы, β -1,3-глюканазы и пероксидазы [13]. Эти результаты свидетельствуют о том, что хитозан и олигохитозан запускают разные механизмы для ингибирования патогенности и контроля болезни.

Данная работа посвящена малоизученному аспекту - действию хитин-глюканового комплекса клеточных стенок гриба *Fusarium graminearum* и хитозан олигосахарида на активацию β -1-3-глюканазы и хитиназы, а также их отдельных изоферментов в проростках пшеницы.

Материалы и методы. Объектами исследования служили 5-ти дневные проростки пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Шортандинская. Проростки обрабатывали различными концентрациями хитин-глюканового комплекса (ХГК) клеточных стенок (КС) гриба *F. graminearum*, полученного в лаборатории и хитозан олигосахарида (ХОС) с массой 5000 Да (Sigma, США) в течение 2-24 ч в стерильных условиях.

Препарат клеточных стенок гриба получали следующим образом. Мицелий после отделения от культурального фильтрата тщательно отмывали водой (7-8 раз), затем 0,1 М NaCl (2-3 раза) и 0,5 М NaCl (4-5 кратная промывка). Не разрушенный мицелий гомогенизировали в блендере с 200 мл 0,5М раствора NaCl и центрифугировали при 3000g. Надосадочную жидкость отбрасывали, осадок растворяли в следующей порции 0,5 М NaCl. Стадию очистки солями повторяли 5-7 раз. Полученный осадок КС отмывали от солей водой (5-7 кратная отмывка) и высушивали. Липофильные и другие полярные компоненты КС экстрагировали этиловым спиртом 24 ч при 22-25°C в соотношении 1/50. КС высушивали лиофильно и хранили при 4-8°C.

Для получения ХГК к 0,5 г КС добавляли 20мл 0,05М ацетатного буфера pH 5.6, содержащего 50 мг целлюлазы (Sigma, США). Взвесь перемешивали и инкубировали 4 ч при 50-51°C. После инкубации взвесь центрифугировали 10 мин при 12000g. КС отделяли и повторяли ферментативный гидролиз в вышеописанных условиях. Супернатант отбирали и инактивировали целлюлазу кипячением на водяной бане при 100°C 7 мин. Смесь охлаждали, выпавший осадок фермента центрифугировали 10 мин при 12000g и отбрасывали. Объединенные фракции гидролизата КС концентрировали в вакуумном испарителе при 37-40°C и лиофильно высушивали.

Активность β -1,3-глюканазы определяли колориметрически по методу [14], а хитиназы - по методу [15]. Нативное изоэлектрофокусирование (ИЭФ) β -1,3-глюканазы и хитиназы проводили в пластинах 5% ПААГ толщиной 1 мм с помощью прибора Multiphor II (LKB, Швеция). В качестве амфолитов использовали Servalyt pH 3-10 (Serva, Германия). Окрашивание пластины ПААГ на хитиназную активность проводили по методу [16], а проявление зон активности β -1,3-глюканазы - по методу [17].

Результаты исследований

Хитин-глюкановый комплекс клеточных стенок *F. graminearum* с массой частиц 2-10 кДа получали ферментативным гидролизом и фракционированием гидролизата на ультрафильтрационной ячейке Amicon (Millipor, США). В работе исследовалось действие 2-х фракций: 20-10 и 10-4 глюкозных остатков. Контролем служили проростки, инкубируемые на дистиллированной воде.

В стеблях под действием 1-й и 2-й фракций ХГК максимальная глюканазная и хитиназная активность наблюдалась на более поздних сроках инкубации (8 и 16 ч). В отличие от стеблей, в корнях активация обоих ферментов происходила двумя выраженными пиками значений – в начальный (на 2 и 4 ч) и более поздний период - на 16 ч (рисунок 1).

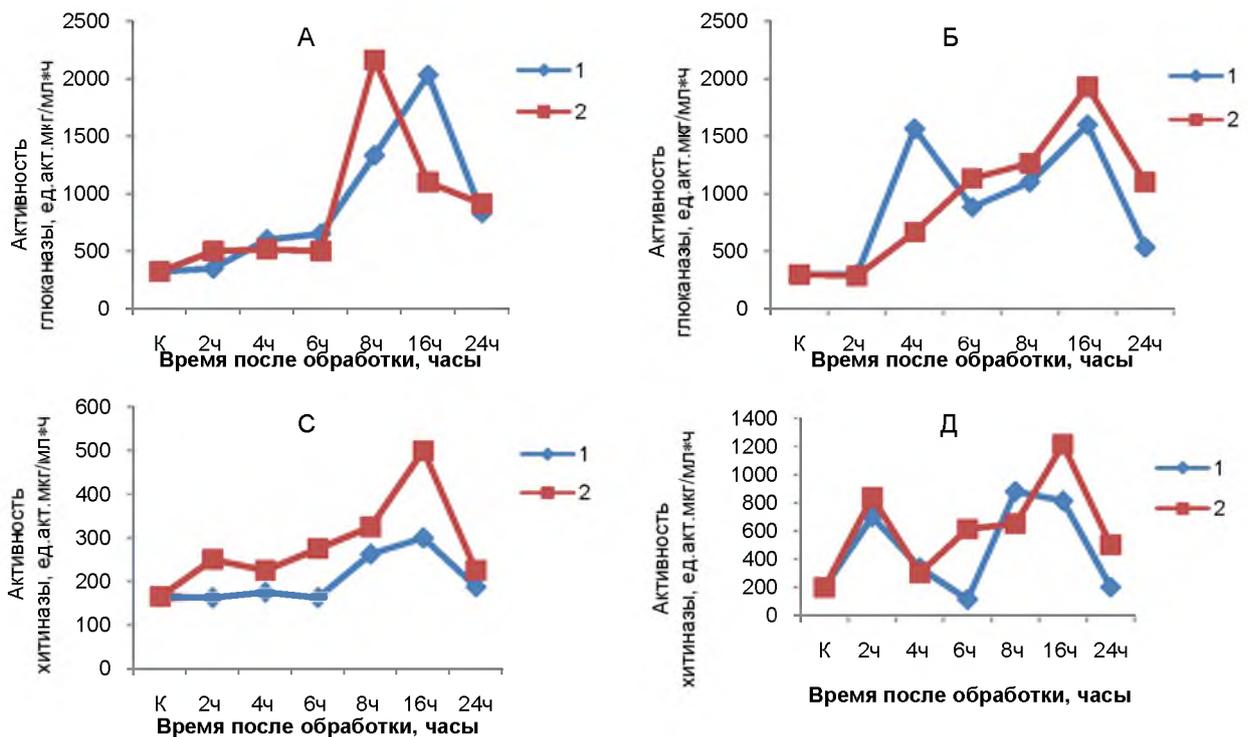


Рисунок 1 – Влияние ХГК КС *F. graminearum* на активность β -1,3-глюканазы и хитиназы проростков пшеницы:

А и С – стебель, Б и Д – корень;

1 – 20-10 глюкозных остатков, 2 – 10-4 глюкозных остатков

Картина влияния ХГК на изоферментном уровне представлена на рисунке 2. Видно, что с увеличением продолжительности действия этого агента возрастал синтез β -1,3-глюканазы в стеблях и корнях. При этом можно отметить, что в корне после 2 ч обработки происходил синтез *de novo* изофермента с *pI* 3.3, а после 16 ч - компонента с *pI* 7.8 (рисунок 2А). Кроме того, в обоих органах происходила активация изоформ с *pI* 5.2, 5.4 и 6.3. В ИЭФ спектре хитиназы (рисунок 2Б) наблюдалась индукция кислых изоформ с *pI* 3.1 и 3.5 как в корне, так и стебле, а также активация компонентов с *pI* 4.3 и 7.8 в корне.

Исследовано действие хитозан олигосахаридов на индукцию β -1,3-глюканазы и хитиназы в проростках пшеницы. ХОС повышал глюканазную активность в стебле и корне в ранний (2-4 ч) период инкубации. Второй пик активности отмечен позже - на 16 ч инкубации (рисунок 3 А,Б). В концентрации 1 мг/мл воздействие ХОС было больше на 20%, чем при концентрации 0,1 мг/мл. Увеличение активности хитиназы (свыше 3-х крат) в стебле происходило после 2 ч обработки олигосахаридом. В корне также наблюдалось 2-х фазная индукция фермента - после 2 и, особенно, 16 ч инкубации с 1 мг/мл ХОС (рисунок 3С, Д).

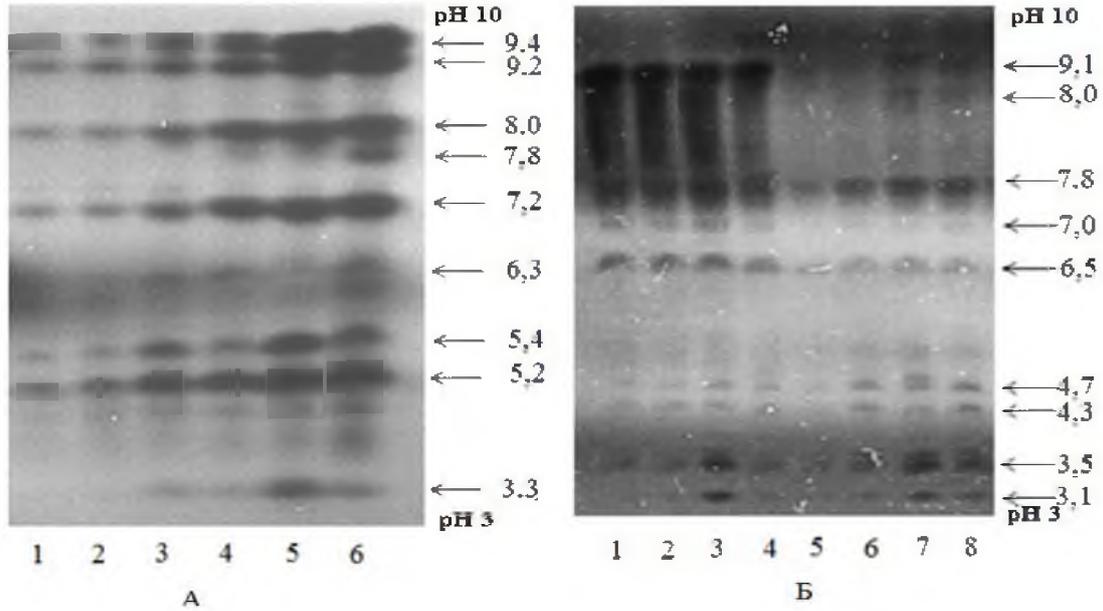


Рисунок 2 – Влияние ХГК КС *F. graminearum* на ИЭФ-спектр β -1,3-глюканазы (А) и хитиназы (Б) проростков пшеницы: А: 1 – исходный стебель; 2 – фракция 2, 2 ч; 3 – фракция 2, 8 ч; 4 – исходный корень; 5 – фракция 2, 6 ч; 6 – фракция 2, 16 ч; Б: 1 – исходный стебель; 2 – фракция 2, 2 ч; 3 – фракция 1, 16 ч; 4 – фракция 2, 16 ч; 5 – исходный корень; 6 – фракция 2, 2 ч; 7 – фракция 1, 8 ч; 8 – фракция 2, 16 ч

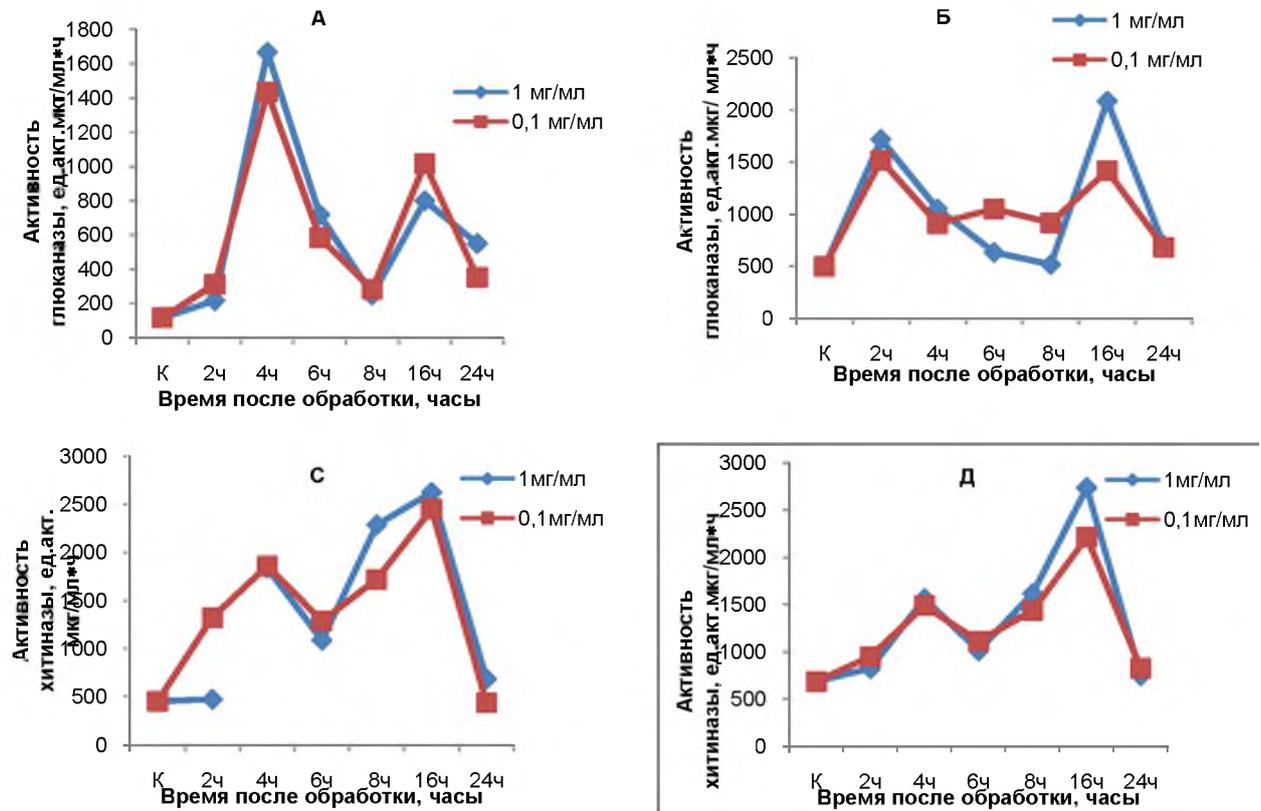


Рисунок 3 – Влияние ХОС на активность β -1,3-глюканазы и хитиназы проростков пшеницы: А, С – стебель; Б, Д – корень

На рисунке 4 А,Б представлены результаты ИЭФ β -1,3-глюканазы стеблей и корней пшеницы. Видно, что под действием ХОС усиливались изоферменты с pI 5.2 и 5.4 в обоих органах, а также щелочной компонент с 9.1 в стебле. Особо следует отметить индукцию в обоих органах синтеза de novo 2-х изоформ с pI 7.2 и 8.0. В составе хитиназы стебля происходила индукция и активация кислых изоферментов (pI 3.1, 3.5).

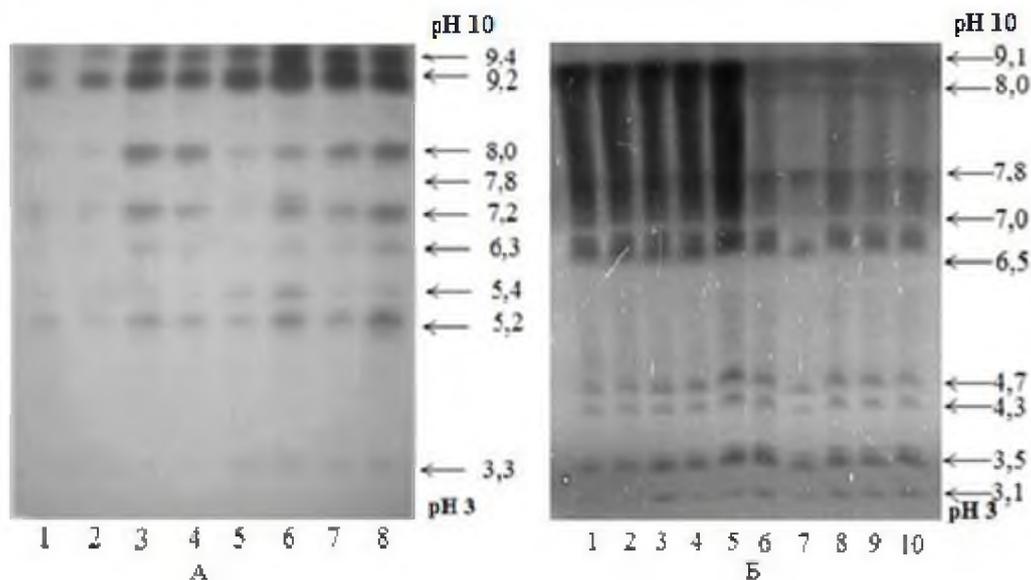


Рисунок 4 – Влияние ХОС на ИЭФ-спектр β -1,3-глюканазы (А) и хитиназы (Б) проростков пшеницы.
 А: 1 – исходный стебель; 2 – 2 ч; 3 – 4 ч; 4 – 16 ч; 5 – исходный корень; 6 – 2 ч; 7 – 4 ч; 8 – 16 ч;
 Б: 1 – исходный стебель; 2 – 0,1 мг/мл ХОС, 2 ч; 3 – 0,1 мг/мл, 4 ч; 4 – 1 мг/мл, 8 ч; 5 – 1 мг/мл, 16 ч;
 6 – исходный корень; 7 – 1 мг/мл, 2 ч; 8 – 1 мг/мл, 4 ч; 9 – 1 мг/мл, 8 ч; 10 – 1 мг/мл, 16 ч

В отличие от хитин-глюканового комплекса и хитозан олигосахарида другие испытанные нами углеводистые полимеры, входящие в состав клеточных стенок – ламинарин, хитин (в коллоидной форме), целлюлоза и ее водорастворимые производные, не оказывали существенного действия на β -1,3-глюканазу и хитиназу проростков пшеницы.

Обсуждение результатов. Исследовано влияние хитин-глюканового комплекса клеточных стенок *F. graminearum* и хитозанолигосахарида массой 5 кДа на активность β -1,3-глюканазы и хитиназы проростков пшеницы. При воздействии ХГК в стеблях максимум глюканазной и хитиназной активности наблюдался на поздних сроках инкубации (8-16 ч). В корнях активация обоих ферментов происходила 2-мя пиками значений – в начальный (2 и 4 ч) и поздний (16 ч) периоды. Похожим элиситорным эффектом на проростки пшеницы обладал олигосахарид хитозана. Однако в присутствии этого агента 2-х фазный характер активизации ферментов был более четко выраженным.

На изоферментном уровне ХГК КС вызывал в корне синтез de novo компонентов β -1,3-глюканазы с pI 3.3 и 7.8, а в составе хитиназы - изоформ с pI 3.1 и 3.5. В присутствии ХОС в обоих органах индуцировались 2 изофермента β -1,3-глюканазы с pI 7.2 и 8.0. Среди хитиназ стебля, как и в случае с ХГК, происходила индукция кислых изоферментов (pI 3.1, 3.5).

Таким образом, гидролизат клеточных стенок гриба *F. graminearum* и хитоолигосахарид обладают индуцирующим действием на пшеничные проростки, вызывая в них появление и усиление синтеза ряда изоферментов хитиназ и глюканаз. В отличие от ХГК и ХОС, другие испытанные полимеры ламинарин, хитин, целлюлоза, а также водорастворимые фрагменты целлюлозы, не оказывали существенного влияния на активность и состав глюканазы и хитиназы проростков пшеницы.

Представленные данные свидетельствуют об особенностях в специфичности элиситорных свойств компонентов хитин-глюканового комплекса и хитозан олигосахаридов среднего размера в индуцирующем эффекте на изоферменты β -1,3-глюканазы и хитиназы проростков пшеницы.

Полученные результаты подтверждают важность структуры и размерности соединений в проявлении элиситорных свойств.

Источник финансирования исследований. Министерство образования и науки Республики Казахстан.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] 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.
- [2] Sharma V. Pathogenesis related defence functions of plant chitinases and β -1,3-glucanases // *Vegetos*. 2013. Vol. 26. P. 205-218.
- [3] Shibuya N., Minami E. Oligosaccharide signalling for defence responses in plant // *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 2001. Vol. 59. P. 223-233.
- [4] Okada M., Matsumara M., Ito Y., Shibuya N. High-affinity binding proteins for N-acetylchitoooligosaccharide elicitor in the plasma membranes from wheat, barley, and carrot cells: conserved presence and correlation with the responsiveness to the elicitor // *Plant Cell Physiol.* 2002. Vol. 43(5). P. 505-512.
- [5] Hanae K., Yoko N., Naoko I-M., Chiharu A-T., Naoshi D., Koji T., Eiichi M., Naoto Sh., Plant cells recognize chitin fragments for defense signaling through a plasma membrane receptor // *PNAS*. 2006. Vol. 103 (29). P. 11086-11091.
- [6] Xu J.G., Zhao X.M., Han X.W., Du Y.G. Antifungal activity of oligochitosan against *Phytophthora capsici* and other plant pathogenic fungi in vitro // *Pesticide Biochem. Physiol.* 2007. Vol. 87. P. 220-228.
- [7] Ning W., Chen F., Mao B.Z., Li Q., Lui Zh.X., Guo Z.J., He Z.H. N-acetylchitoooligosaccharides elicit rice defence responses including hypersensitive response-like cell death, oxidative burst and defence gene expression // *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 2004. Vol. 64. P. 263-271.
- [8] Amboraber B-E., Bonmort J., Fleurat-Lessard P., Roblin G., Early events induced by chitosan on plant cells // *J. Exp. Bot.* 2008. Vol. 59(9). P. 2317-2324.
- [9] Mishra A.K., Sharma K., Misra R.S. Elicitor recognition, signal transduction and induced resistance in plants // *J. Plant Interact.* 2012. Vol. 7(2). P. 95-120.
- [10] Дьяков Ю.Т. Грибные элиситоры // *Мат. VII Всерос. микологич. школы-конф. с междунар. участием «Биотические связи грибов: мосты между царствами»*. Изд-во МГУ, 2015. – С. 18-38.
- [11] No H.K., Park N.Y., Lee S.H., Meyers S.P. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights // *Int. J. Food Microbiol.* 2002. Vol. 74(1-2). P. 65-72.
- [12] Vander P., Varum K., Domard A., Gueddari N-E., Moerschbacher B. Comparison of the ability of partially N-acetylated chitosans and chitoooligosaccharides to elicit resistance reactions in wheat leaves // *Plant Physiol.* 1998. Vol. 118. P. 1353-1359.
- [13] Meng X., Yang L., Kennedy J., Tian S. Effects of chitosan and oligochitosan on growth of two fungal pathogens and physiological properties in pear fruit // *Carbohydrate Polymers*. 2010. Vol. 81. P. 70-75.
- [14] Nichols E.J., Beckman J.M., Hadwiger L.A. Glycosidic enzyme activity in pea tissue and pea-*Fusarium solani* interactions // *Plant Physiol.* 1980. Vol. 66. P. 199-204.
- [15] Fink W., Liefland M., Mendgen K. Chitinases and β -1,3-glucanases in the apoplastic compartment of oat leaves (*Avena sativa* L.) // *Plant Physiol.* 1988. Vol. 88. P. 270-275.
- [16] Trudel J., Asselin A. Detection of chitinase activity after polyacrylamide gel electrophoresis // *Anal. Biochem.* 1989. Vol. 178. P. 362-366.
- [17] Shen Q. Pan, Xiang S.Ye, Kuc J. A technique for detection of chitinase, β -1,3-glucanases, and protein patterns after a single separation using polyacrylamide gel electrophoresis or isoelectrofocusing // *Phytopathology*. 1991. Vol. 9(9). P. 970-974.

REFERENCES

- [1] 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.
- [2] Sharma V. *Vegetos*. 2013. Vol. 26. P. 205-218.
- [3] Shibuya N., Minami E. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 2001. Vol. 59. P. 223-233.
- [4] Okada M., Matsumara M., Ito Y., Shibuya N. *Plant Cell Physiol.* 2002. Vol. 43(5). P. 505-512.
- [5] Hanae K., Yoko N., Naoko I-M., Chiharu A-T., Naoshi D., Koji T., Eiichi M., Naoto Sh., *PNAS*. 2006. Vol. 103 (29). P. 11086-11091.
- [6] Xu J.G., Zhao X.M., Han X.W., Du Y.G. *Pesticide Biochem. Physiol.* 2007. Vol. 87. P. 220-228.
- [7] Ning W., Chen F., Mao B.Z., Li Q., Lui Zh.X., Guo Z.J., He Z.H. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 2004. Vol. 64. P. 263-271.
- [8] Amboraber B-E., Bonmort J., Fleurat-Lessard P., Roblin G., *J. Exp. Bot.* 2008. Vol. 59 (9). P. 2317-2324.
- [9] Mishra A.K., Sharma K., Misra R.S. *J. Plant Interact.* 2012. Vol. 7 (2). P. 95-120.
- [10] Dyakov Y.T. *Mat. VII Vseros. micologich. shkoly – conf. s mezhdunar. uchastiem «Bioticheskie svyazi gribov: mosty mezhdunar. tsarstvami»*. Izd. MGU, 2015. S. 18-38.
- [11] No H.K., Park N.Y., Lee S.H., Meyers S.P. *Int. J. Food Microbiol.* 2002. Vol. 74(1-2). P. 65-72.
- [12] Vander P., Varum K., Domard A., Gueddari N-E., Moerschbacher B. *Plant Physiol.* 1998. Vol. 118. P. 1353-1359.
- [13] Meng X., Yang L., Kennedy J., Tian S. *Carbohydrate Polymers*. 2010. Vol. 81. P. 70-75.
- [14] Nichols E.J., Beckman J.M., Hadwiger L.A. *Plant Physiol.* 1980. Vol. 66. P. 199-204.
- [15] Fink W., Liefland M., Mendgen K. *Plant Physiol.* 1988. Vol. 88. P. 270-275.
- [16] Trudel J., Asselin A. *Anal. Biochem.* 1989. Vol. 178. P. 362-366.
- [17] Shen Q. Pan, Xiang S.Ye, Kuc J. *Phytopathology*. 1991. Vol. 9(9). P. 970-974.

**ХИТИН-ГЛЮКАНДЫ КЕШЕНІ МЕН ХИТОЗАН ОЛИГОСАХАРИДТІҢ
БИДАЙ ӨСКІНДЕРІНДЕГІ β -1,3-ГЛЮКАНАЗА ЖӘНЕ
ХИТИНАЗА БЕЛСЕНДІЛІГІНЕ ӘСЕРІ**

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

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

Түйін сөздер: бидай өскіндері, β -1,3-глюканаза, хитиназа, изоферменттер, индукция, хитин-глюкан кешені, хитозанолигосахарид

Аннотация. Элиситорлар – өсімдіктерді саңырауқұлақ патогенінен қорғауда маңызды қызмет атқаратын арнайы заттар. Олардың арасында көбірек танылғаны β -глюкан, хитин, хитозан және олардың олигомерлі туындылары сияқты көмірсулы заттар. Элиситорлар жасушаның сигналдық трансдукциясында, фитоалексиндерді индуцирлеуде және қорғаныс гендерінің, сондай-ақ патогенездерімен байланысты PR – ақуыздарының белсенділігін арттыруда маңызды рөл атқарады. Соңғысының құрамында саңырауқұлақтардың жасуша қабығын бұзуга қабілетті β -1,3-глюканаза және хитиназа гидролитикалық ферменттері ерекше орын алады.

Бұл жұмыс аз зерттелген аспектілер – *Fusarium graminearum* саңырауқұлағының жасушалық қабығының (ЖҚ) хитин – глюкан кешенінің (ХГК) және хитозан олигосахаридтің (ХОС) бидай өскініндегі β -1,3-глюканаза және хитиназа ферменттерінің индукциясы және белсенділігіне арналған. Осы аминокөмірсулы агенттер сабақ пен тамырдағы глюканаза және хитиназа белсенділігін – бастапқы (2 және 4 сағат) және соңғы кезеңінде – 16 сағатта жоғарылататыны анықталды. Алайда ХОС әсер еткенде ферменттердің 2 фазалық белсенділігі біршама анық байқалған. Изоферментті деңгейде ХГК тамырда β -1,3-глюканазаның рІ 3.3 және 7,8 компоненттерінің, ал хитиназа құрамының – рІ 3.1 және 3.5 изоформаларының de novo синтезін тудырды. ХОС қатысында аталған мүшелерде β -1,3-глюканазаның рІ 7.2 және 8.0 изоферменттері индуцирленді. Сабақта хитиназаның қышқылдық изоферменттерінің (рІ 3.1, 3.5) индукциясы жүрді.

Келтірілген мәліметтер ХГК мен ХОС бидай өскініндегі β -1,3-глюканаза және хитиназа изоферменттеріне индуцирлік әсер етіп, ерекше элиситорлық қасиет көрсететіні дәлелдеді. Нәтижелер өсімдіктер мен фитиопатогенді саңырауқұлақтардың өзара қарым-қатынасы энзимологиясында пайдаланылуы мүмкін.

Поступила 04.05.2016 г.