

УДК 74.265

ПОИСК ХИТИНСПЕЦИФИЧНЫХ ПЕРОКСИДАЗ В РАСТЕНИЯХ

**Ермаханов М.Н., Сабденова У.О., Асылбекова Г.Т., Куандыкова Э.Т.,
Еримбетова А.А., Парманова Ж.Т., Шынтаева А.Р.**

*Южно-казахстанский государственный университет им. М. Ауэзова, Шымкент,
e-mail: myrza1964@mail.ru;*

Международный гуманитарно-технический университет, Шымкент,

Пероксидазная активность белковой фракции у картофеля повышалась до 6 раз, а у тыквы – более чем в 3 раза во фракции, не связывающейся с хитином. Ко второй группе мы отнесли виды, у которых происходит связывание пероксидазы с хитином.

Ключевые слова: пероксидаза, хитин, изофермент, растения

A SEARCH OF HITINSPETSIFITION PEROXIDASE IS IN PLANTS

**Ermahanov M.N., Sabdenova U.O., Assilbekova G.T., Kuandikova E.T., Erimbetova A.A.,
Parmanova Z.T., Shyntaeva A.R.**

*South-Kazakhstan State University M. Auezov, Shymkent, e-mail: myrza1964@mail.ru;
International Humanitarian-Technical University, Shymkent*

Peroxidase activity in potato protein fraction increased to 6 times, while the pumpkin – more than 3 times in the fraction does not bind to chitin. The second group was carried species in which the binding of peroxidase with chitin.

Keywords: peroxidase, hitin, isoenzyme, plants

Пероксидаза – широко распространенный в живых организмах фермент. Будучи по своей природе полифункциональным, этот белок участвует во многих процессах жизнедеятельности растений, таких как рост, морфогенез, защита от стрессов [1]. Известно, что пероксидазная активность может многократно повышаться в инфицированных фитопатогенами растениях [2-3]. При чем, наиболее существенно повышается активность связанных с клеточной стенкой форм этого фермента [4], где он может эффективно включаться в синтез полифенольных соединений и лигнина [4 -6]. В связи с этим, некоторые исследователи считают, что пероксидазы являясь наиболее эффективным протекторным белком, включают механизм наиболее ранних ответных реакций растения на стрессы [7, 8]. Гистохимические исследования показали, что пероксидазная активность при грибном патогенезе наблюдается в области папилл, которые формируются в месте проникновения патогена [8], что подводит к мысли о наличии на поверхности клеточных стенок гриба векторов способных привлекать к себе пероксидазы. Ранее, была показана способность анионных пероксидаз пшеницы связываться с хитином [8], что предполагает наличие таких свойств у пероксидаз и из других видов растений. Однако нам не известно, как будут реагировать пероксидазы выделенные из них с помощью хитина. В связи, с этим работы по изучению способности пероксидаз из различных видов

растений связываться с хитином представляют значительный интерес.

Материалы и методы исследования

Объектом для исследований служили проростки и листья пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.), овса посевного (*Avena sativa* L.), хрена деревенского (*Armoracia rusticana* Gaertn., Mey. et Schreb), капусты белокочанной (*Brassica oleraceae* L. var. capitata L.), гороха посевного (*Pisum sativum* L.), арахиса культурного (*Arachis hypogaea* L.), картофеля (*Solanum tuberosum* L.), петунии садовой (*Petunia hybrida* Vilm.), табака крылатого (*Nicotiana alata* Link et Otto).

Хитин размалывали на зерновой мельнице и суспензировали в 2М HCl при комнатной температуре, через 2 часа промывали водой. Суспензию хитина заливали 1н NaOH, нагревали на водяной бане до 96 °C в течение 2-3 часов при 5-6 сменах раствора. После этого сорбент промывали водой до нейтрального значения pH. Хроматографическую колонку (2x6) заполняли суспензией хитина и уравнивали 0,01М фосфатным буфером pH 6,0 (ФБ). Подготовку растительного материала проводили по предложенному ранее нами методу [8].

Результаты исследования и их обсуждение

Нами белковых экстрактах различных видов растений определен изоферментный состав пероксидазы, ее активность и способность связываться с хитином. В таблице приведены результаты этой работы. На основе полученных данных испытанные виды растений были разделены на 2 группы. К первой группе были отнесены виды, активность фермента у которых многократ-

но повышается при контакте с хитином. Однако, изоформы пероксидазы этой группы растений были не способны к сорбции хитина или на это у них были способны только некоторые минорные изоферменты.

Активность пероксидазы
из различных видов растений
при хроматографии белковых
экстрактов на хитине (ед./мг белка)

Вид растения	Пероксидазная активность		
	Грубый экстракт	Промыв	Солевой элюент
Арахис культурный	8,25	0,13	6,14
Горох посевной	38,1	29,0	361,8
Капуста белокочанная	2,10	2,76	12,54
Картофель	1,90	6,78	1,62
Табак душистый	3,65	0,64	2,9
Петуния садовая	1,72	0,71	10,38
Табак махорка	23,5	90,0	137,4
Тыква	3,1	10,1	
Огурец посевной	9,8	17,8	13,5
Лук репчатый	7,1	18,9	184,1
Пшеница мягкая	104,5	42,9	110,4
Овес посевной	35,7	30,9	111,8
Хрен деревенский	70,4	191,8	20,4

Так, пероксидазная активность белковой фракции у картофеля повышалась до 6 раз, а у тыквы – более чем в 3 раза во фракции, не связывающейся с хитином (табл.). Ко второй группе мы отнесли виды, у которых происходит связывание пероксидазы с хитином.

Традиционно считается, что активация пероксидазы в растении представляется системной ответной реакцией, которая предполагает многоступенчатый перенос информации внутрь растительной клетки и сопряжен с определенными временными рамками [7]. Изменения их активности в значительной степени связано с появлением в растении элиситоров грибной или растительной природы [9]. Однако ранние ответные реакции могут быть не только вследствие таких реакций. Например, пероксидазы могут активироваться в течение более короткого времени. Причем, часто эта ранняя активация наблюдается в области клеточных стенок растения, соприкасающихся с патогеном [6].

Нами выявлено, что пероксидазные изоферменты по разному реагируют на хитин. У некоторых испытанных видов фермент активируется во фракции, не связывающейся с этим биополимером. Следует обратить внимание также и на то, что сорбции на хитин у некоторых видов подвергаются анионные пероксидазы, а у других катионные. Следовательно, взаимодействие растительных пероксидаз с хитином не носит классический ионообменный характер. Так как, в этом случае, на хитин должны были сорбироваться только анионные или только катионные изоформы вне зависимости от вида. Тогда, в белковой структуре некоторых изопероксидаз должны существовать определенные сайты взаимодействующие с хитином. Таким образом, для выяснения природы взаимодействия пероксидаз с хитином следует изучать генетическую и углеводную гетерогенность пероксидаз. С другой стороны, изменения активности пероксидазы в хроматографических фракциях при контакте с изучаемым биополимером, возможно, связаны со структурными особенностями молекулы. Эти особенности могут быть связаны с одной стороны с конструктивными изменениями в молекуле пероксидазы, при контакте с хитином, а с другой не исключено, что хитин может афинно сорбировать на своей поверхности репрессоры пероксидазной активности присутствующие в грубом белковом экстракте.

Таким образом, на основе полученных результатов можно с большой уверенностью утверждать о возможности активации пероксидаз при контакте с хитином. Следовательно, полученные нами данные раскрывают некоторые тонкие физиологические механизмы, включающиеся в развитие ранних ответных реакций растения на появление хитина и вероятно, могут объяснить иммуностимулирующие свойства биопрепаратов содержащих хитин.

Список литературы

1. Fieldes M.A., Gerhardt K.E. // *Plant Science*. – 1998. – V. 132. – P. 89–99.
2. Kerby K., Sommerville S. // *Physiol. Mol. Plant Pathol.* – 1989. – V. 35. – P. 329–337.
3. Caruso C., Chilosi G., Caporale C., Leonardi L. et al. // *Plant Science*. – 1999. – V. 140. – P. 87–97.
4. Ярулина Л.Г., Максимов И.В., Ямалеев А.М. // *Микология и фитопатология*. – 1997. – Т. 31. Вып. 6. – С. 65–69.
5. Kolattukudy P.E., Rogers L.M., Li D., Hwang C.S., Flaishman M.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1995. – V. 92. – P. 4080–4087.
6. Kazan K., Goulter K.C., Way H.M., Manners J.M. // *Plant Science*. – 1998. – V. 136. – P. 207–217.
7. Едрева А.М. // *Физиология растений*. – 1991. – Т. 38. Вып. 4. – С. 788–800.
8. Максимов И.В., Хайруллин Р.М., Ямалеев А.М., Ямалева А.А. // *Вопросы биотехнологии / Под ред. Р.Р. Ахметова*. – Уфа: Изд-во БашГУ, 1995. – С. 120–127.
9. Озерецковская О.Л., Ильинская Л.И., Васюкова Н.И. // *Физиология растений*. – 1994. Т. 41. – № 4. – С. 626–633.