

ӘОЖ 633.16:581.1/5:577.17

Ж. Пахратдинова, С.Ж. Атабаева, А.С. Нурмаханова, С.С. Кенжебаева,
Қ.Т. Мазыбаева, А.Б. Нурғожаева, Ж.Ж. Чунетова

Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан Республикасы, Алматы қ.

E-mail: zhazyra_555@mail.ru

**Бидай сорттарындағы (*Triticum aestivum* L.) хлорофилл құрамы және
липидтердің асқын тотығуы деңгейіне, пролинин жинақталуына,
мыс иондарымен тұздандудың бірлескен әсері**

Мыс иондарымен тұздың бірлескен әсеріне төзімді бидайдың Қазақстанская-3, Қазақстанская ранняя және сезімтал Шағала сорттарындағы хлорофилл мөлшері әртүрлі өсімдіктерде ауыр металдардың әсерінен біршама төмендеген. Мыс иондарымен тұздың бірлескен әсерінде бидай сорттарында хлорофилл синтезіне кері әсер етеді немесе пигменттер синтезіне қажетті элементтердің сіңірілуін төмендетеді. Бидайдың сезімтал сорттарында ЛАТ деңгейі төзімді сорттарға қарағанда жоғары болатындығы анықталған, сонымен қатар бидайдың төзімді сорттарында пролиннің жинақталуы жоғарлаған.

Түйін сөздер: бидай, мыс, тұзды стресс, төзімділік.

J. Pahratdinova, S.Y. Atabaeva, A.S. Nurmahanova, S.S. Kenjebayeva,

Q.T. Mazybaeva, A.B. Nurgozhayeva, Zh. J. Chunetova

**Effect of copper ions and salt on lipid peroxidation and chlorophyll content, proline content
in wheat (*Triticum aestivum* L.)**

Effect of of heavy metal ions (Cu) and salinity by chlorophyll content were significantly reduced in resistant varieties of wheat Kazakhstanskaya-3, Kazakhstanskaya rannaya and sensitive varieties Chagala. At joint action of the copper ions and salinity in different wheat cultivars decreases chlorophyll synthesis, in particular in the synthesis of the pigments reduces the absorption of the necessary elements. Sensitive wheat LPO level was higher compared to resistant varieties, resistant varieties also have the testimony of proline were increased.

Keywords: wheat, copper, salt stress, tolerance.

Ж. Пахратдинова, С.Ж. Атабаева, А.С. Нурмаханова, С.С. Кенжебаева,

Қ.Т. Мазыбаева, А.Б. Нурғожаева, Ж. Ж. Чунетова

**Совместное действие ионов меди и соли на уровень перекисного окисления липидов и
содержание хлорофилла, содержание пролина у сортов пшеницы (*Triticum aestivum* L.)**

При совместном действии ионов тяжелых металлов (Cu) и засоления показания по содержанию хлорофилла были значительно снижены у устойчивых сортов пшеницы Казахстанская-3, Казахстанская ранняя и чувствительного сорта Шагала. При совместном действии ионов меди и засоления у различных сортов пшеницы синтез хлорофилла уменьшается, в частности при синтезе пигментов уменьшается впитывание нужных элементов. У чувствительных сортов пшеницы уровень ПОЛ был выше по сравнению с устойчивыми сортами, также у устойчивых сортов показания пролина были повышены.

Ключевые слова: пшеница, медь, солевой стресс, устойчивость

Қазіргі кезде біз тіршілік етіп отырған ортаның көптеген аймақтарының топырақтары тұзды болып келеді және өндіріс қалдықтарымен ластануда. Қазақстандағы қалалар мен ірі өндіріс орталықтары атап айтсақ, автокөліктердің санының артуы, түрлі-түсті металл қорыту, жылу-энергетика және мұнай өндіру

орындары маңында топырақтың, судың, ауаның ауыр металдармен ластануы өзекті экологиялық мәселеге айналды. Соның ішінде өсімдіктердің ауыр металдар мен тұзды жағдайға адаптациясы өте өзекті мәселе болып отыр.

Тұзды жағдай шөлді және шөлейтті аймақтарда көбіне байқалады. XX ғасырдың екінші

жартысынан бастап көптеген өнеркәсіптердің дамуына байланысты қоршаған ортаның тұзбен және ауыр металдармен ластануы арта түсті. Zn, Ni, Cu және Fe және т.б. ауыр металдар өсімдіктердің өсуіне төмен концентрацияда қажет, ал кадмий, сынап сияқты ауыр металдар барлық организмдерге улы әсер етеді. Өсімдіктерде ауыр металдармен қатты ластанған топырақта өсуге қарсы тұрақтылық механизмдер қалыптасқан. Осыған қарамастан, тұзды жағдай мен ауыр металдардың бірлескен әсеріне өсімдіктердің жауабы толық зерттелмеген [1].

Көптеген микроэлементтердің тірі организмге әсерін қарастырсақ. Микроэлементтердің жоғары биологиялық белсенділігі маңызды болып табылады, яғни олардың өте төмен мөлшерінің өзі күшті әсер етеді. Микроэлементтердің физиологиялық процестерге күшті әсері, олардың организмдегі биологиялық белсенді органикалық заттармен – гормондармен, витаминдермен тығыз, күшті байланысады [2,3].

Saigam қызметкерлерімен өсімдіктердің тамыры мен жер үсті мүшелеріндегі Zn, Cu, Cd аккумуляциясы туралы ақпарат ұсынған [4].

Қолайсыз факторлардың әсерінен өсімдік организмінде болатын маңызды процестердің бұзулуымен қатар ауыр металдар өсімдіктерде тотығу стресін тудырады. Бос радикалдар протеиндерді, аминқышқылдарды және нуклеин қышқылдарын тікелей бұзуы мүмкін және липидтердің асқын тотығуын тудырады (ПОЛ) [5,6].

Ауыр металдардың өсімдіктерге улы әсері толық зерттелгенімен, олардың қорғаныс реакциялары жайлы мәліметтер аз. Әсіресе, осы процестерде бос пролиннің рөлі аз зерттелген. Бос пролин және белок молекуласы құрамындағы пролин өсімдік клеткасы үшін негізгі компонент. Өсімдіктердегі пролиннің биологиялық рөлі туралы алғашқы еңбек Е.А. Бритиковқа тиесілі [7]. Бос пролиннің стресс әсерінен көп мөлшерде жинақталу себебі, оның метаболизмі тежеледі немесе түзілуі артады, белоктардың синтезі тежелуіне байланысты аз жұмсалады, немесе белоктардың гидролизі әсерінен болуы ықтимал [8].

Зерттеу материалдары мен әдістері

Ең алдымен арпаның 7 түрлі сортын алып, $KMnO_4$ әлсіз ерітіндісімен 10 минут өңдейді. Өңделген бидай дәндерін 7-ші күні келесі варианттар бойынша төмендегі ерітінділерге отырғызамыз: бақылау; $NaCl$ 50 мМ + $CuSO_4$ 0,15 мМ.

Пигменттердің мөлшерін сандық әдіспен анықтау

Хлорофилл мен каротиноидтар жапырақтағы фотосинтездік аппараттың негізгі компоненттері болып табылады. Жапырақтағы пигменттердің мөлшері организмнің тіршілік әрекетіне және генетикалық табиғатына тәуелді болады. Сондықтан, оны өсімдіктің жас ерекшелігіне, онтогонездік және генетикалық ерекшеліктерді сипаттайтын физиологиялық көрсеткіш ретінде қарастыруға болады. Пигменттердің мөлшері өсімдіктің өніп-өскен жеріне де байланысты болады.

Ацетон сүзіндісін алу. 85% Ацетон ерітіндісін аламыз, ол үшін 100% ацетоннан 85 мл алып, оған 15 мл дист H_2O қосамыз. Арпа өсімдігінің жапырақтарынан 0,1г аламыз. Содан кейін оның үстіне 5 мл ацетон құя отырып фарфор келісінде еземіз, яғни экстракциялаймыз. Алынған сүзіндіні фильтр қағазы арқылы воронкадан 25 мл колбаларға сүземіз де, оны 10 мл-ге жіткіземіз. Алынған экстрактың құрамындағы пигменттердің концентрациясын спектрофотометрмен анықтаймыз.

Пигменттердің концентрациясын төмендегі теңдеулермен есептейді:

85% ацетон ерітіндісі үшін (Реббелен бойынша):

$$C_{xл.a} = 10,3 D 663 - 0,918 D 644$$

$$C_{xл.b} = 19,7 D 644 - 3,87 D 663$$

$$C_{xл.a} + xл.b = 6,4 D 663 - 18,8 D 644$$

$$C_{кар} = 4,75 D 452,5 - 0,226$$

$$C_{xл.a} + xл.b$$

Мұндағы, $C_{xл.a}$, $C_{xл.b}$, $C_{xл.a} + xл.b$, $C_{кар}$ – сәйкесінше хлорофилла, b , мен олардың жалпы мөлшері және каротиноид концентрациялары, мг/л; D - толқын ұзындықтарға сәйкес тәжірибелік оптикалық тығыздықтары Шлык әдісі бойынша жүргізілді [9].

Липидтердің асқын тотығу деңгейін 2-тиобарбитур қышқылы қатысында анықтау

Липидтердің асқын тотығын анықтау 2-тиобарбитур қышқылы реакциясы нәтижесінде түзілетін малон диальдегидінің санын анықтау әдісіне негізделген [10]. Малон диальдегидінің мөлшері шикі ылғал массаның мкмоль/г тең. Арпа өсімдігінің сабақ бөлігінен 1г алып, салқындатылған 4 мл Трис- HCl буферімен (рН-7,6) еземіз де капрон фильтр арқылы фильтрейміз. Филтратты 20 минут 8000 айн/мин центрифугалайды. Центрифугаттан 2 мл гомогенат құйып алып, 0,5 мл дистильденген су және 2,5 мл 0,5% 2-тиобарбитур қышқылын 20% YXC (ГХУ) араластырып құямыз. Үлгіні 30 минут су мон-

шасында инкубациялайды және салқындатады. Содан соң 20 минут 7000 айн/мин центрифугалайды. Центрифугатты таза пробиркаларға құйып алып, 532 нм толқын ұзындығында спектрофотометрде өлшейді.

Малон диальдегиді мөлшерін келесі формула бойынша есептеледі:

$$C = OP \cdot V \cdot \gamma / \varepsilon$$

Мұндағы, ОП – оптикалық тығыздық

V – кювета сыйымдылығы

γ – сұйылту

ε – экстинкция коэффициенті 0,155 мкМ/см².

Пролинді сандық анықтау әдісі

Пролинді сандық анықтау үшін L.Bates et all [11] әдісі қолданылды. Пролиннің мөлшері қышқыл нингидрин реактиві көмегімен анықталды. 300-700 мг өсімдіктің жер үсті массасын пробиркаға салып, үстіне 5-15 мл қайнап тұрған дистилденген су құяды. Пробиркаларды су моншасында 30 мин қайнатады, содан кейін пробиркаларды суытады. Бақылау үлгісі бар пробиркаларға 1 мл дистилденген су, 1 мл нингидрин реактивін, 1 мл мұзды сірке қышқылын қосады да, су моншасында инкубациялайды. Тәжірибеде 1 мл дистилденген судың орнына 1 мл өсімдік экстрактын, 1 мл мұзды сірке қышқылын қосады. Барлық пробиркаларды су моншасында 1 сағат қайнатады. Оптикалық тығыздығын 522 нм толқын ұзындығында спектрофотометрде анықтайды. Пролин концентрациясын алдын ала жасалған калибр сызығы бойынша анықтайды. Содан кейін үлгілердегі пролин мөлшерін мына формула бойынша анықтайды: $A = n \cdot V / P$, онда A- пролин мөлшері, n- калибр сызығының көрсеткіші, V- сұйылту көлемі (мл), P-өсімдік массасы.

Зерттеу және оларды талқылау

Өсімдіктердің қорғаныс механизмдері әр түрлі болады. Өсімдіктегі трансмембранды тасымалдау жүйесі, транспорт және метаболитті активсіз аймақтардағы аккумуляция маңызды роль атқарады. Дегенмен, тұзды жағдайдағы ауыр металдар әсеріне өсімдіктердің жауап реакциясы зерттелгенімен, өсімдіктердің тұзды жағдайдағы қорғаныс жүйесінің қызметі анықталмаған [12,13]. Тұзды және мыс иондарының жеке және бірлескен әсері жағдайындағы бидай сорттарының жапыра-

ғындағы хлорофилл *a* мөлшері біраз төмендеген (1-сурет). Осы стрестің әсерінен Қазақстанская ранняя, Қазақстанская-3 және Шағала сорттарында хлорофилл *a* мөлшері 22, 28 және 45%-ға кемігенін байқауға болады.

Зерттеу нәтижесі бойынша мыс және тұздың бірлескен әсерінде хлорофилл *a* мөлшері бойынша сорттарды мынадай қатарда орналастыруға болады: Қазақстанская-3 (79%) > Қазақстанская ранняя (66%) = Шағала (66%).

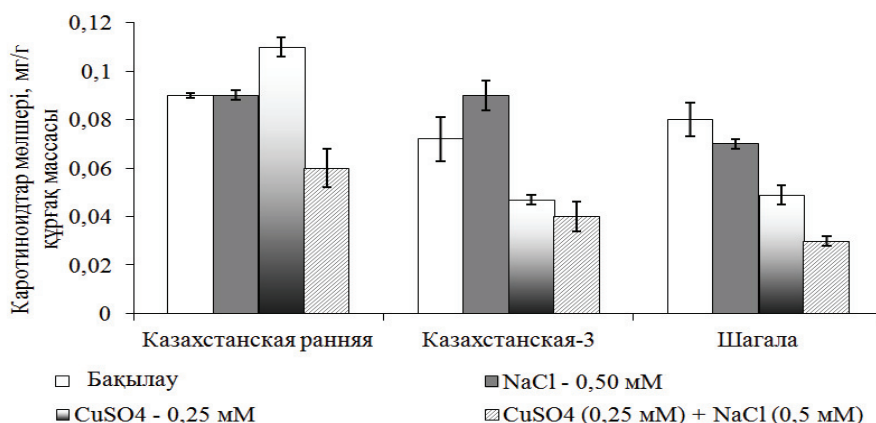
Келесі зерттеу нәтижесі бойынша мыс пен тұздың бірлескен әсерінде хлорофилл *b* мөлшері мынадай ретте өзгергенін көреміз: Қазақстанская ранняя (77%) > Қазақстанская-3 (73%) > Шағала (55%). Осы стрестік жағдайға хлорофилл *b* мөлшері төзімсіз сорттарында төмен деңгейде болғандығын байқауға болады (2 сурет).

Зерттеу барысында мыс пен тұздың бірлескен әсерінде *a+b* хлорофилл мөлшері Шағала сортында 44% төмендеген, ал Қазақстанская ранняя және Қазақстанская-3 сорттарында 24 и 28% төмендегенін байқаймыз (3-сурет).

Хлорофилл мөлшері әр түрлі өсімдіктерде ауыр металдардың әсерінен төмендеген. Яғни, ауыр металдар – хлорофилл синтезіне кері әсер етеді немесе пигменттер синтезіне қажетті элементтердің сіңірілуін төмендетеді.

Тұзды және мыс иондарының бірлескен әсері жағдайындағы бидай сорттарының жапырағындағы каротиноидтар мөлшері бойынша келесідей ретпен орналастыруға болады: Қазақстанская ранняя (66%) > Қазақстанская-3 (58%) > Шағала (45%) (4-сурет).

Каротиноидтардың фотосинтезге қатынасудан басқа да қызметтері бар. Біріншіден, каротиноидтар хлорофилдерді өз-өзінен тотығуынан сақтайды, екіншіден, қосымша пигменттер ретінде жарықты сіңіруге қатысады. Каротиноидтардың мөлшерінің артуы металл иондарын залалсыздандыруға бағытталған қорғаныс қызметімен түсіндіріледі. Каротиноид бойынша тұздану мен мыс иондарының бірлескен әсерінде төмендегендігі анықталған. Осылайша, зерттелген бидай сорттарында тұздану мен мыс иондарының бірлескен әсерінен фотосинтетикалық пигменттер төмендеген. Төзімді сорттарда көп жағдайда берілген стрессорлар әсерінен фотосинтетикалық пигменттердің мөлшерінің төмендеуі берілген сорттардың өсу параметрлері бойынша тұрақтылық деңгейімен өзара байланысты немесе корреляцияланған.

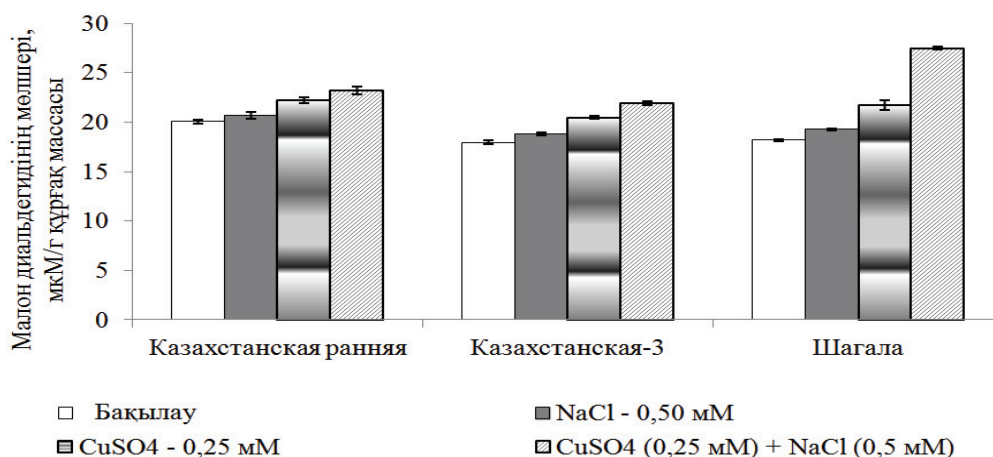


4-сурет – Бидай жапырағындағы каротиноидтар мөлшеріне мыс иондары мен тұздандудың бірлескен әсері

Зерттеу жұмысы барысында хлорофилл мөлшерін анықтаумен қатар липидтердің асқын тотығу (ЛАТ) деңгейіде анықталды. Мыс пен тұздандудың бірлескен әсерінде липидтердің асқын тотығуының деңгейі бакылаумен салыстырғанда Шағала сортында 57%, Казхстанская-3 сортында 22%, Казхстанская ранняя сортында 16% жоғарылаған (5-сурет).

Яғни, тұзды жағдайдың және мыс иондарының бірлескен әсерінен малондиальдегидінің мөлшері осы стрессорлардың жеке әсерімен

салыстырғанда қатты жоғарылады. Төзімсіз Шағала сортында ЛАТ деңгейі бакылаумен салыстырғанда 57%-ға жоғарылады, ал төзімді Казхстанская-3 сортында-22%-ға, ал Казхстанская ранняя сортында 16% жоғарылады. Алынған нәтижелер осы сорттардың мыс мен тұзды жағдайдың өсу параметрлеріне әсерін зерттегенде алынған нәтижелермен сәйкес келеді. Сезімтал сорттарда ЛАТ деңгейі төзімді сорттарға қарағанда жоғары болатындығы байқалып отыр.



5-сурет – Бидай жапырағындағы липидтердің асқын тотығу деңгейіне мыс иондары мен тұздандудың (NaCl) бірлескен әсері

Сонымен қатар, тұзды жағдайдың және мыс иондарының бірлескен әсерінде бидай сорттарындағы пролин мөлшеріде зерттелді. Зерттеу жүргізу барысында бидай сорттарындағы пролин мөлшері төзімді сорттарында Казхстанская -3 707%, Казхстанская ранняя 516% және ал сезімтал сорты Шағалада 491%

жоғары деңгейді көрсетіп отыр, тұзды және мыс иондарының бірлескен әсері жағдайындағы бидай сорттарындағы пролин мөлшері бойынша келесідегі ретпен орналастыруға болады: Казхстанская-3 (707%) > Казхстанская ранняя (516%) > Шағала (491%). Зерттеу нәтижесі бойынша бидайдың төзімді сорта-

рында пролин мөлшері жоғарғы деңгейді болатындығы байқалды.

Қорыта келе, хлорофилл мөлшері әр түрлі өсімдіктерде ауыр металдардың әсерінен төмендеген. Яғни, ауыр металдар – хлорофилл синтезіне кері әсер етеді немесе пигменттер

синтезіне қажетті элементтердің сіңірілуін төмендетеді. Сезімтал сорттарда ЛАТ деңгейі төзімді сорттарға қарағанда жоғары болатындығы және сонымен қатар бидайдың төзімді сорттарында пролин мөлшері жоғарғы деңгейді екендігі зерттеу барысында анықталды.

Әдебиеттер

- 1 Баят Ф., Ширан Б., Беляев Д.В. и др. Повышенная устойчивость к засолению растений картофеля, трансформированных геном вакуолярного Na⁺/H⁺-антипортера ячменя HvNHX2 // Физиология растений. – 2010. – Т. 57. – С. 744-755.
- 2 Школьник М.Я. Значение микроэлементов в жизни растений и в земледелии. - АН СССР, 1950. – С. 43-44.
- 3 Квеситадзе Г.И., Хатисашвили Г.А., Садунишвали Т.А., Евстигнеева З.Г. Метаболизм антропогенных токсикантов в высших растениях. – М.: Наука, 2005. –С. 197.
- 4 Sairam R.K., Tyagy A. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants // Current Science. – 2004. – Vol. 86, N 3. – P. 407-421.
- 5 Smirnov N. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation // New Phytol. – 1993. – Vol.125. – P. 27-58.
- 6 Hendry G.A.F., Baker A.J., Ewart C.F. Cadmium tolerance and toxicity, oxygen radical processes and molecular damage in cadmium-tolerant and cadmium sensitive clones of *Holcus lanatus* L. // Acta Bot. Neerl. – 1992. – Vol. 41. – P. 271-281.
- 7 Бритиков Е.А. Биологическая роль пролина. – М.: Наука, 1975. – 88 с.
- 8 Титов А.Ф., Лайдинен Г.Ф., Казнина Н.М. Влияние ионов меди на рост и морфофизиологические показатели растений ячменя и овса // Физиология и биохимия культурных растений. – 2001. – Т 33, №5. – С.387-392.
- 9 Шлык А.А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев. В кн. Биохимические методы в физиологии растений/под ред. О.А. Павлиновой. – М.: Наука, 1971. – С.154-170
- 10 Мерзляк М.Н., Погосян С.И., Юфарова С.Г. Использование 2-тиобарбитуровой кислоты в исследованиях ПОЛ в тканях растений// Науч. Докл.Высш. школы биол. науки. – 1978. – №9. – С.86-94.
- 11 Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies // Plant and Soil, 1973. – V.39. – P.205-207.
- 12 Helal M., Baibagyshew E., Saber. S. Uptake of Cd and Ni by spinach, *Spinacea oleracea* (L.) from polluted soil under field conditions as affected by salt water irrigation // Agronomie. – P. 443-448.
- 13 Otte M.L., Bestebroer S.L., Van der Linden J.M., Rozema J., Broekman R.A. A survey of zinc, copper and cadmium concentrations in salt marsh plants along the Dutch coast // Environ Pollut. – Vol. 72. – P. 175-189.

References

1. F. Bayat , B. Sheeran , DV Belyaev etc. Increased resistance to salinity of potato plants transformed with the gene of the vacuolar Na⁺ / H⁺ - antiporter barley HvNHX2 // Plant Physiol. - 2010 . - Т. 57. - S. 744-755 .
2. Schoolboy MJ Significance of trace elements in plant life and agriculture . - USSR Academy of Sciences , 1950.-С. 43-44 .
3. Kvesitadze GI Khatishashvili GA Sadunishvali TA Evstigneeva ZG Anthropogenic toxicants metabolism in higher plants . - Moscow: Nauka, 2005 .-С. 197.
4. Sairam RK, Tyagy A. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants // Current Science. - 2004 . - Vol. 86 , N 3 . - P. 407-421.
5. Smirnov N. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation // New Phytol. - 1993 . - Vol.125. - P. 27-58.
6. Hendry G.A.F., Baker A.J., Ewart C.F. Cadmium tolerance and toxicity, oxygen radical processes and molecular damage in cadmium-tolerant and cadmium sensitive clones of *Holcus lanatus* L. // Acta Bot. Neerl. - 1992 . - Vol. 41 . - P. 271-281.
7. Britikov EA The biological role of proline. - М.: Nauka. - 1975. - 88с .
8. Titov AF, Laidinen GF Kaznina NM Influence of copper ions on growth and morphological and physiological indicators of barley and oats // Physiology and biochemistry of cultivated plants. - 2001 . - Т 33 , № 5 . - S.387 -392 .
9. Shlyk AA Determination of chlorophylls and carotenoids in extracts of green leaves . In the book. Biochemical Methods in Plant Physiology / ed. OA Pavlinova - Nauka , 1971. - p.154 -170
10. Merzlyak MN, SI Pogosyan , Yufarova SG Ispolzivanie 2- thiobarbituric acid in studies of lipid peroxidation in the tissues of plants // Sci. Dokl.Vyssh . school biol. nauki. -1978 . - № 9.S.86 -94 .
11. Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies // Plant and Soil, 1973.-V.39-P.205- 207.
12. Helal M., Baibagyshew E., Saber. S. Uptake of Cd and Ni by spinach, *Spinacea oleracea* (L.) from polluted soil under field conditions as affected by salt water irrigation // Agronomie. - P. 443-448 .
13. Otte ML, Bestebroer SL, Van der Linden JM, Rozema J., Broekman RA A survey of zinc, copper and cadmium concentrations in salt marsh plants along the Dutch coast // Environ Pollut. - Vol. 72 . - P. 175-189.