

## ВЛИЯНИЕ ЛЕКТИНОВ АЗОСПИРИЛЛ НА СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА В КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

С.А. Аленькина, К.А. Рощупкина, В.Е. Никитина

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Саратов, Россия, [alenkina\\_s@ibppm.ru](mailto:alenkina_s@ibppm.ru)

**Аннотация.** Показано, что лектины *Azospirillum brasilense* Sp7 и Sp245 с различной интенсивностью вызывали увеличение количества пролина в корнях четырехдневных проростков пшеницы при воздействии ZnSO<sub>4</sub>. Результаты настоящей работы свидетельствуют об участии лектинов азоспирилл в адаптационных изменениях в корнях проростков пшеницы, что способствует нормальному ходу метаболических процессов и обеспечивает регуляцию взаимодействия растений с азоспириллами при абиотических воздействиях.

**Ключевые слова:** ризосфера, азоспириллы, лектины, корни проростков пшеницы, пролин, абиотические стрессы

**DOI:** 10.31255/978-5-94797-319-8-64-67

Промышленные предприятия, автотранспорт, минеральные удобрения, пестициды и гербициды, используемые в сельском хозяйстве – все это источники поступления тяжелых металлов (ТМ) в окружающую среду.

Главной причиной изменений физиологических и биохимических процессов в растениях при действии ТМ является окислительный стресс, вызванный избыточным количеством АФК. Обезвреживание АФК в стрессовых условиях обеспечивается многоступенчатой системой защиты, в которой участвуют антиоксидантные ферменты [Стеценко и др., 2011]. Однако при окислительном стрессе ферменты могут быть инактивированы не только АФК, но и самими ТМ. В этом случае основную и более эффективную роль антиоксидантов выполняют низкомолекулярные метаболиты, одним из которых является пролин [Сазанова и др., 2012].

Эффективность мультифункционального действия пролина при стрессе определяется способностью организма быстро индуцировать системы аккумуляции пролина в ответ на действие стрессора, способностью интенсивно накапливать свободный пролин до значительных внутриклеточных концентраций и наличием эффективной системы регуляции уровня стресс-индуцированного пролина [Carvalho et al., 2013].

Ассоциативные азотфиксирующие бактерии рода *Azospirillum* – PGPR (plant growth-promoting rhizobacteria) микроорганизмы, стимулирующие рост растений за счет ряда положительных эффектов на растения: способности к азотфиксации, продукции фитогормонов, солубилизации фосфатов, улучшению водного и минерального статуса, продукции ряда соединений, увеличивающих мембранную активность и пролиферацию тканей корневой системы, способности уменьшать влияние стрессоров на растение и осуществлять контроль многочисленных фитопатогенов [Никитина и др., 1996]. Несмотря на активно ведущиеся в этой области исследования, на данный момент вопрос о приоритетности какого-либо из факторов, объясняющих благоприятное влияние инокуляции азотфиксирующими бактериями на рост и продуктивность растения, остается открытым.

Было показано, что инициация взаимодействия бактерий с корнями происходит по принципу лиганд-рецепторного взаимодействия. Установлено, что со стороны

азоспирилл в этом процессе, в числе других факторов, участвуют лектины, находящиеся на поверхности клетки [Никитина и др., 2005].

С поверхности двух штаммов ассоциативных азотфиксирующих бактерий – *A. brasilense* Sp7 и *A. brasilense* Sp245 были выделены лектины, являющиеся гликопротеинами с различными молекулярными массами и углеводной специфичностью. Лектин *A. brasilense* Sp7 имел молекулярную массу 36 кДа и проявлял специфичность к L-фукозе (1.87 мМ) и D-галактозе (20 мМ). Лектин *A. brasilense* Sp245 проявлял сродство к собственному полисахариду – кислому D-рамнану и имел молекулярную массу 67 кДа [Никитина и др., 2005; Шелудько и др., 2009].

Цель работы состояла в оценке способности лектина *A. brasilense* Sp7 и *A. brasilense* Sp245 оказывать регулирующее воздействие на содержание пролина в корнях проростков пшеницы при воздействии тяжелых металлов.

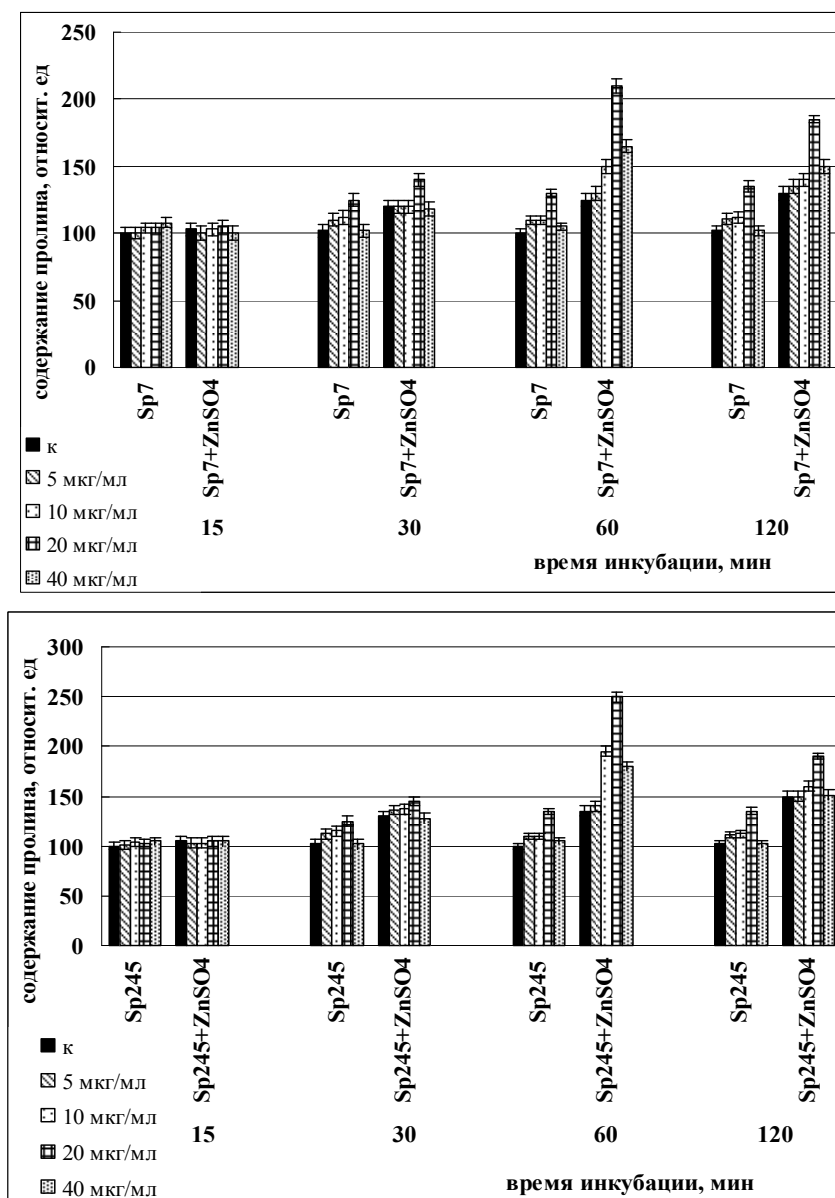


Рисунок. Влияние лектинов *Azospirillum brasilense* Sp7 и Sp245 на содержание пролина в корнях проростков пшеницы при воздействии ZnSO<sub>4</sub>. Результаты представлены как средние арифметические значения со стандартной ошибкой (n=3). Все различия достоверны (p<0.05).

Семена пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта «Саратовская 29» (ГНУ НИИ Сельского хозяйства Юго-Востока РСХА, Саратов, Россия) были поверхностно стерилизованы в 70% (v/v) этаноле 1 мин, отмыты стерильной водой. Для получения корней проростков семена были выращены в асептических условиях в чашках Петри на стерильной дистиллированной воде и инкубированы в темноте при 25 °С. Для экспериментов были использованы четырехдневные проростки.

Для изучения влияния стресса на активность ферментов корни в течение двух часов подвергали совместному воздействию лектинов (концентрация 5–40 мкг/мл) и ZnSO<sub>4</sub> (концентрация 10<sup>-3</sup> мМ). В качестве контроля выступали корни проростков, выращенные при 25 °С.

Корни гомогенизировали в 0,15 М фосфатном буфере (рН 7,8). Гомогенат центрифугировали при 7000g 10 мин, надосадочную жидкость использовали для определения пролина. Содержание свободного пролина определяли с помощью нингидринового реактива [Bates et al., 1973].

Известно, что в ответ на воздействие различных стрессорных факторов, и в частности тяжелых металлов, в растениях происходит накопление свободного пролина. В результате проведенных нами опытов было установлено, что в варианте комбинированного воздействия лектинов *A. brasilense* Sp7 и *A. brasilense* Sp245 с ZnSO<sub>4</sub> происходило увеличение количества пролина в корнях проростков пшеницы. Количество пролина в случае с лектином *A. brasilense* Sp7 возрастало после 30-минутной экспозиции с корнями, затем происходило дальнейшее повышение с максимумом при 60 мин, а затем уровень пролина постепенно падал. Максимальное повышение содержания пролина было отмечено для концентрации лектина этого штамма 20 мкг/мл. В контрольном варианте уровень пролина составлял 2 ммоль/г сырой массы.

В случае с лектином *A. brasilense* Sp245 наблюдалась аналогичная с лектином *A. brasilense* Sp7 картина – максимальное увеличение активности наблюдалось также после 60-минутной экспозиции с корнями и при концентрации лектина – 20 мкг/мл, но уровень эффекта был выше.

Вероятной причиной различной функциональной активности лектинов может быть различная углеводная специфичность, структурные различия белков. Полученные в нашей работе результаты свидетельствуют о более широком, чем считалось ранее, спектре влияния лектинов азоспирилл на метаболизм растения-хозяина и в сочетании с уже имеющимися сведениями позволят внести коррективы в представления о механизмах взаимодействия бактерий с растениями при формировании ассоциации.

#### Литература

Никитина В.Е., Аленькина С.А., Пономарева Е.Г., Савенкова Н.Н. Изучение роли лектинов клеточной поверхности азоспирилл во взаимодействии с корнями пшеницы // Микробиология. – 1996. – Т. 65, № 2. – С. 165–170.

Никитина В.Е., Пономарева Е.Г., Аленькина С.А. Лектины клеточной поверхности азоспирилл и их роль в ассоциативных взаимоотношениях с растениями // Молекулярные основы взаимоотношений ассоциативных микроорганизмов с растениями / Под ред. В.В. Игнатова. – М.: Наука, 2005. – С. 70–97.

Сазанова К.А., Башмаков Д.И., Лукаткин А.С. Генерация супероксидного анион-радикала в листьях растений при хроническом действии тяжелых металлов // Труды КарНЦ РАН. Серия: Экспериментальная биология. – 2012. – № 2. – С. 119–124.

Стеценко Л.А., Шевякова Н.И., Ракитин В.Ю., Кузнецов Вл.В. Пролин защищает растения *Atropa belladonna* от токсического действия солей никеля // Физиология растений. – 2011. – Т. 58, № 2. – С. 275–282.

Шелудько А.В., Пономарева Е.Г., Варшаломидзе О.Э., Ветчинкина Е.И., Кацы Е.И., Никитина В.Е. Гемагглютинирующая активность и подвижность бактерий *Azospirillum brasilense* в присутствии разных источников азота // Микробиология. – 2009. – Т. 78, № 6. – С. 749–756.

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.

Carvalho K., Campos M.K., Domingues D.S., Pereira L.F., Vieira L.G. The accumulation of endogenous proline induces changes in gene expression of several antioxidant enzymes in leaves of transgenic *Swingle citrumelo* // Mol. Biol. Rep. – 2013. – V. 40. – P. 3269–3279.

## EFFECT OF *AZOSPIRILLUM* LECTINS ON PROLINE CONTENT IN WHEAT SEEDLING ROOTS EXPOSED TO HEAVY METALS

S.A. Alen'kina, K.A. Roshchupkina, V.E. Nikitina

Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia, [alenkina\\_s@ibppm.ru](mailto:alenkina_s@ibppm.ru)

**Abstract.** Lectins isolated from *Azospirillum brasilense* Sp7 and Sp245 increased, with different intensities, the content of proline in ZnSO<sub>4</sub>-exposed roots of 4-day-old seedlings of wheat. The results indicate that the *Azospirillum* lectins play a part in adaptational changes in wheat seedling roots, promoting the normal course of metabolism and ensuring the regulation of the plant-*Azospirillum* interaction under abiotic effects.

**Keywords:** Rhizosphere, *Azospirillum*, lectins, wheat seedling roots, proline, abiotic stresses