

УДК 579.22

ВЛИЯНИЕ ЛЕКТИНОВ АЗОСПИРИЛЛ НА АКТИВНОСТЬ АСКОРБАТПЕРОКСИДАЗЫ И СОДЕРЖАНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССАХ

© 2020 г. С. А. Аленькина¹, *, В. Е. Никитина¹

¹Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, 410049 Россия

*e-mail: alenkina_s@ibppm.ru

Поступила в редакцию 30.07.2019 г.

После доработки 10.10.2019 г.

Принята к публикации 01.11.2019 г.

Изучали влияние лектинов двух штаммов азоспирилл, *Azospirillum brasilense* Sp7 (эпифит) и *Azospirillum brasilense* Sp245 (эндофит), на активность аскорбатпероксидазы и содержание аскорбиновой кислоты в корнях этиолированных проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.) при смоделированных абиотических стрессах, включающих действие гипо- (+5°C), гипертермии (+42°C), засоления (1%-ным NaCl), засухи (5%-ной сахарозой) и тяжелых металлов (CoSO₄, ZnSO₄, Pb(CH₃COO)₂ и CuSO₄). Показано, что оба лектина вызывали увеличение активности аскорбатпероксидазы и содержания аскорбата в корнях проростков при действии стрессовых факторов. На основании полученных данных высказано предположение, что антиоксидантное действие лектинов азоспирилл при абиотических стрессах вызывало защитный эффект этих белков по отношению к корням проростков пшеницы.

Ключевые слова: ассоциативная азотфиксация, азоспириллы, лектины, корни проростков пшеницы, антиоксидантная система, аскорбатпероксидаза, аскорбиновая кислота, абиотические стрессы

DOI: 10.31857/S0555109920020026

Увеличение продуктивности сельскохозяйственных культур, эффективное и ограниченное использование удобрений и средств защиты растений, а также повышение их устойчивости и адаптации к неблагоприятным агроклиматическим условиям и антропогенным воздействиям являются актуальными вопросами современного сельского хозяйства. Решение этих задач привлекает внимание многих ученых, работающих в различных областях науки: растениеводстве, почвоведении, агрономии, агрохимии, экологии, микробиологии и других. Особенно важными и перспективными являются микробиологические подходы и приемы, которые основаны на использовании потенциала растений и почвенных микроорганизмов, а также биологических механизмов взаимодействия компонентов растительно-микробных систем.

Неблагоприятные климатические условия, создающие абиотические стрессы, относятся к основным ограничивающими факторами снижения продуктивности сельскохозяйственных культур, среди которых доминируют такие абиотические стрессы как засуха, низкая/высокая температура, засоление и воздействие тяжелых металлов. В последние несколько десятилетий большое внимание уделяется изучению роли микроорганизмов в

их облегчении для растений. Микробы с их потенциальными внутренними метаболическими и генетическими способностями уменьшают действие абиотических стрессов на растения [1, 2].

Так, показано, что ризобактерии, обладающие потенциалом стимулировать рост и развитие растений, так называемые PGPR, могут также нивелировать неблагоприятные эффекты абиотических стрессов на их рост [3, 4]. Была продемонстрирована роль нескольких обитателей ризосферы, принадлежащих к родам *Pseudomonas* [1], *Azotobacter* [2], *Azospirillum* [5], *Rhizobium* [1], *Bacillus* и *Enterobacter* [1], в стимуляции роста растений и смягчения множественных видов абиотических стрессов.

Ассоциативные бактерии рода *Azospirillum* занимают важное место среди микроорганизмов, обладающих потенциалом стимулировать рост и развитие растений. Растения получают непосредственную выгоду от способности микроорганизмов к азотфиксации, продукции фитогормонов, солиubilизации фосфатов, улучшению водного и минерального статуса, продукции ряда соединений, увеличивающих мембранную активность, пролиферацию тканей корневой системы, а также осуществляют контроль многочисленных фитопатогенов [6–8].

Азоспириллы колонизируют как поверхность корня, так и внутренние ткани. Штамм *A. brasilense* Sp245 был найден в ксилеме корня, а штамм *A. brasilense* Sp7 был обнаружен на его поверхности [9]. Эндوفитные бактерии представляют особый интерес, поскольку они способны мутуалистически жить внутри растительных тканей, что позволяет им в меньшей степени по сравнению с другими микроорганизмами зависеть от внешних факторов среды и одновременно проявлять комплекс хозяйственно полезных свойств. При этом однажды внедрившись в ткани растения, эндوفиты могут способствовать формированию длительной защиты макроорганизма от стрессовых факторов окружающей среды [10].

Среди высокомолекулярных и специфичных веществ, участвующих в межорганизменной коммуникации, важная роль принадлежит лектинам – (глико)протеинам, связывающим строго определенные углеводные группы на поверхности клетки-мишени. Роль растительных лектинов в колонизации бактериями растения-хозяина и перестройке метаболизма бактерии-симбионта характеризуется уже довольно большой доказательной базой [11]. Также показана адаптогенная активность растительных лектинов по отношению к растениям [12]. Бактериальные лектины являются участниками “молекулярного диалога”, важного для формирования симбиоза, хотя данных об их роли намного меньше [13, 14].

Ранее было показано присутствие на поверхности клеток азоспирилл лектинов, вовлеченных в бактериальную адгезию к корням. С поверхности двух штаммов ассоциативных азотфиксирующих бактерий, *A. brasilense* Sp7 и *A. brasilense* Sp245, отличающихся по способу колонизации растений, были изолированы лектины, представляющие собой гликопротеины 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 [15, 16].

Накопившиеся обширные экспериментальные данные о лектинах азоспирилл свидетельствуют об их полифункциональности. Так, лектины способны не только обратимо и специфически связываться с клетками-мишенями, но и быть биологически активными веществами, способными в низких концентрациях вызывать клеточные ответы. Этот факт нашел подтверждение в предыдущих исследованиях по изучению влияния лектинов азоспирилл на прорастание семян [17], митогенную и ферментомодифицирующую активность и изменение содержания стрессовых метаболитов в растительной клетке [8, 18–20]. Последнее свидетельствует о способности лектинов выступать в ка-

честве индукторов адаптационных процессов корней проростков пшеницы [15].

В растении под действием одного или нескольких стресс-факторов, происходит индукция защитного ответа, который позволяет ему выживать и адаптироваться к изменившимся внешним условиям.

Аскорбиновая кислота (аскорбат) является одним из наиболее стабильных низкомолекулярных антиоксидантов растительных клеток [21]. Аскорбат задействован в функционировании не только неферментативной и ферментативной составляющих антиоксидантной системы, но и в клеточной сигнализации [22]. В то же время связь между содержанием аскорбата и устойчивостью растений к стрессорам далеко неоднозначна. Так, показано, что растения, сверхэкспрессирующие дегидроаскорбатредуктазу, были более устойчивы к озону, хлориду натрия и ПЭГ [21, 23]. В то же время растения с повышенным редокс-статусом аскорбата в замыкающих клетках отличались большей устьичной проводимостью и меньшей засухоустойчивостью [21].

Аскорбатпероксидаза (КФ 1.11.1.11) является важным компонентом ферментативной антиоксидантной системы растений. Функция этого фермента заключается в обезвреживании пероксида водорода. Аскорбатпероксидаза высокоаффинна к аскорбату и локализована как в хлоропластах, так и в цитоплазме, митохондриях, пероксисомах и апопласте [24]. Имеются сведения об участии этого фермента в адаптивных реакциях растений на абиотические стрессоры [23].

Цель работы – сравнительное изучение роли лектинов *A. brasilense* эпифитного Sp7 и эндوفитного штаммов Sp245 в изменении активности аскорбатпероксидазы и содержания аскорбата в корнях проростков пшеницы при смоделированных абиотических стрессах.

МЕТОДИКА

Микроорганизмы и условия культивирования. Объектом исследования служили два штамма азотфиксирующих ассоциативных бактерий рода *Azospirillum*, *A. brasilense* Sp7, полученного из коллекции Института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН (Россия) и *A. brasilense* Sp245 из коллекции микроорганизмов ИБФРМ РАН (Россия, <http://collection.ibppm.ru>).

Получение препаратов лектинов. Выделение лектинов с поверхности клеток бактерий осуществляли по методу [25]. Очистку белков проводили гель-фильтрацией на колонке (30 × 2.2 см) с сефадексом G-75 (диаметр частиц 40–120 мкм). Выход белковых фракций фиксировали на приборе Uvicord S11 (“ЛКВ”, Швеция) при $\lambda = 278$ нм. В качестве элюентов использовали 0.1 М CH_3COOH (рН 4.8), а также 0.05 М фосфатный буфер (рН 7.0),

содержавший 0.15 М NaCl. Скорость потока – 1.5 мл/мин. Лектиновую активность определяли реакцией агглютинации, используя 2%-ную суспензию трипсинизированных кроличьих эритроцитов.

Определение концентрации белка. Количество белка определяли по методу Бредфорд [26].

Стерилизация семян, получение корней проростков и предобработка корней препаратами лектинов при воздействии стрессовых факторов. Семена пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта “Саратовская 29” (ГНУ НИИ Сельского хозяйства Юго-Востока РСХА, Россия) были поверхностно стерилизованы в 70%-ном (v/v) этаноле в течение 1 мин и отмыты стерильной водой. Для получения корней проростков семена выращивали в асептических условиях в чашках Петри на стерильной дистиллированной воде и инкубировали в темноте при 25°C. Для экспериментов были использованы четырехдневные проростки.

Для изучения влияния стресса на изучаемые параметры корни в течение 2 ч подвергали совместному воздействию 1%-ной NaCl и 5%-ной сахарозе при 5 и 42°C (5–40 мкг/мл лектинов и (1 мМ) тяжелых металлов (CoSO₄, ZnSO₄, Pb(CH₃COO)₂ и CuSO₄) [27]. В качестве контроля использовали корни проростков, выращенные при 25°C. Затем корни гомогенизировали в 0.15 М фосфатном буфере, pH 7.8. Гомогенат центрифугировали при 7000 г в течение 10 мин, надосадочную жидкость использовали для определения активности аскорбатпероксидазы и аскорбиновой кислоты.

Определение активности аскорбатпероксидазы. Активность аскорбатпероксидазы определяли по снижению поглощения аскорбата при 290 нм модифицированным методом [28]. Активность фермента рассчитывали с использованием коэффициента экстинкции восстановленного аскорбата (2.8 мМ⁻¹ · см⁻¹) и выражали в мкМ аскорбата/мин · г сырой массы корней.

Определение содержания аскорбата. Для количественного определения восстановленного аскорбата к 200 мкл нейтрализованного экстракта приливали 100 мкл дистиллированной воды. Затем добавляли 200 мкл 10%-ной ТХУ, 200 мкл 44%-ной фосфорной кислоты, 200 мкл 4%-ного 2,2'-дипиридила и 100 мкл 3%-ного раствора FeCl₃. Контрольная проба вместо экстракта содержала разбавленный K–Na фосфатный буфер, pH 7.4, и была обработана так же, как и опытные. Все пробы инкубировали в течение 60 мин и затем измеряли их поглощение при 524 нм на спектрофотометре. Концентрацию аскорбата определяли, используя молярный коэффициент поглощения $\epsilon = 8.7 \text{ мМ}^{-1} \text{ см}^{-1}$ [29].

Статистическая обработка результатов. Опыты проводили в трехкратной биологической повторности и каждый воспроизводили независимо 3 раза. На рисунках и в таблице приведены средние величины и их стандартные отклонения ($M \pm \sigma$).

Достоверность различий между вариантами оценивали с использованием t-критерия Стьюдента. Обсуждаются различия, достоверные при $P \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для изучения воздействия лектинов на активность аскорбатпероксидазы и содержание аскорбата в корнях проростков пшеницы в условиях абиотических стрессов время инкубации лектинов с корнями было ограничено 2 ч. Выбор концентраций лектинов, составляющие от 5 до 40 мкг/мл, и времени инкубации был основан на ранее полученных результатах.

Результаты показали, что при воздействии всех видов изучаемых стрессовых факторов происходило повышение активности аскорбатпероксидазы. При гипо-, гипертермическом воздействии и засолении активность фермента для обоих лектинов эпифитного Sp7 и эндофитного Sp245 штаммов максимально возрастала после 60 мин инкубации с корнями. При этом различными были эффективные концентрации лектинов. Во всех случаях для лектина *A. brasilense* Sp7 максимум был отмечен при концентрации 20 мкг/мл, а для *A. brasilense* Sp245 при 10 мкг/мл (табл. 1).

Комбинированное воздействие лектинов и CoSO₄, ZnSO₄, Pb(CH₃COO)₂, CuSO₄ также приводило к повышению ферментативной активности в корнях проростков. Для обоих лектинов максимальный эффект по отношению к активности фермента был отмечен после 30 мин инкубации с Pb(CH₃COO)₂ при концентрации лектина эпифитного штамма – 10 мкг/мл (170%) и эндофитного штамма – 5 мкг/мл (230%). При инкубации с другими солями активность фермента в присутствии обоих лектинов достигала максимального значения после 1 ч. Так, в присутствии CoSO₄ и ZnSO₄ оно наблюдалось при концентрации лектинов – 20 мкг/мл, а CuSO₄ – 10 мкг/мл (табл. 1).

В случае комбинированного воздействия лектина *A. brasilense* Sp7 и смоделированной засухи наибольшее повышение активности фермента было отмечено уже после 15 мин инкубации с корнями и концентрации лектина 20 мкг/мл. Для лектина эндофитного штамма максимальное повышение ферментативной активности было отмечено также после 15 мин инкубации при его концентрации 5 мкг/мл (табл. 1).

Проведенные исследования показали, что изучаемые лектины индуцировали повышение активности аскорбатпероксидазы в корнях проростков при всех видах изучаемых стрессов и полученные данные хорошо коррелировали с результатами определения содержания аскорбиновой кислоты.

При гипо-, гипертермии и засолении воздействие лектинов *A. brasilense* Sp7 и *A. brasilense* Sp245 приводило к одинаковому результату. Количество аскорбата максимально возрастало после

Таблица 1. Влияние лектинов *A. brasilense* Sp7 и Sp245 на активность аскорбатпероксидазы в корнях проростков пшеницы при абиотических стрессах. Контроль – корни (100%)

Концентрация лектина, мкг/мл	Время воздействия, мин							
	15		30		60		120	
	Sp7	Sp245	Sp7	Sp245	Sp7	Sp245	Sp7	Sp245
5°C								
5	98 ± 2	96 ± 2	95 ± 3	130 ± 3	94 ± 3	130 ± 3	100 ± 3	130 ± 3
10	96 ± 3	98 ± 4	120 ± 4	165 ± 2	160 ± 4	250 ± 2	105 ± 4	150 ± 2
20	100 ± 3	98 ± 3	140 ± 2	180 ± 4	200 ± 2	180 ± 4	145 ± 2	110 ± 4
40	101 ± 2	100 ± 2	105 ± 3	101 ± 3	120 ± 3	101 ± 3	102 ± 3	101 ± 3
42°C								
5	95 ± 2	95 ± 2	94 ± 3	100 ± 3	94 ± 3	80 ± 3	94 ± 3	95 ± 3
10	100 ± 3	96 ± 4	105 ± 4	175 ± 2	100 ± 4	230 ± 2	100 ± 4	130 ± 2
20	102 ± 3	94 ± 3	150 ± 2	120 ± 4	180 ± 2	100 ± 4	115 ± 2	110 ± 4
40	91 ± 2	101 ± 2	97 ± 3	101 ± 3	95 ± 3	101 ± 3	95 ± 3	101 ± 3
1% NaCl								
5	102 ± 3	95 ± 3	100 ± 2	115 ± 3	110 ± 2	115 ± 3	110 ± 2	115 ± 3
10	96 ± 2	101 ± 2	105 ± 3	155 ± 4	140 ± 3	300 ± 4	110 ± 3	190 ± 4
20	101 ± 4	100 ± 4	125 ± 4	110 ± 4	270 ± 4	120 ± 4	170 ± 4	120 ± 4
40	100 ± 3	98 ± 2	105 ± 3	102 ± 3	120 ± 3	110 ± 3	120 ± 3	103 ± 3
5% сахараза								
5	102 ± 3	350 ± 3	96 ± 3	250 ± 3	100 ± 2	105 ± 3	101 ± 4	100 ± 3
10	180 ± 2	185 ± 2	150 ± 2	165 ± 2	105 ± 3	98 ± 4	97 ± 4	100 ± 3
20	310 ± 4	130 ± 4	210 ± 4	120 ± 4	98 ± 4	100 ± 4	102 ± 3	95 ± 2
40	120 ± 3	98 ± 2	120 ± 3	102 ± 2	100 ± 3	100 ± 3	100 ± 2	96 ± 3
CoSO ₄								
5	101 ± 3	98 ± 3	105 ± 2	110 ± 3	110 ± 2	115 ± 3	95 ± 2	100 ± 3
10	96 ± 2	101 ± 2	110 ± 3	130 ± 4	140 ± 3	160 ± 4	105 ± 3	100 ± 4
20	100 ± 4	102 ± 4	135 ± 4	170 ± 4	170 ± 4	220 ± 4	110 ± 4	120 ± 4
40	100 ± 3	98 ± 2	105 ± 3	105 ± 3	120 ± 3	110 ± 3	102 ± 3	100 ± 3
ZnSO ₄								
5	98 ± 2	98 ± 2	100 ± 3	95 ± 3	94 ± 3	80 ± 3	100 ± 3	96 ± 3
10	100 ± 3	100 ± 4	102 ± 4	114 ± 2	120 ± 4	115 ± 2	105 ± 4	100 ± 4
20	94 ± 3	98 ± 3	136 ± 2	170 ± 4	200 ± 2	210 ± 4	105 ± 3	120 ± 2
40	100 ± 2	100 ± 2	100 ± 3	103 ± 3	95 ± 3	101 ± 3	98 ± 2	98 ± 3
Pb(CH ₃ COO) ₂								
5	120 ± 3	130 ± 3	130 ± 3	400 ± 3	105 ± 3	115 ± 3	100 ± 4	100 ± 3
10	160 ± 2	110 ± 2	350 ± 4	150 ± 4	140 ± 2	155 ± 2	100 ± 4	100 ± 3
20	130 ± 4	100 ± 4	185 ± 3	110 ± 2	105 ± 4	100 ± 4	104 ± 3	95 ± 2
40	100 ± 3	98 ± 2	98 ± 2	103 ± 3	100 ± 3	98 ± 2	106 ± 2	96 ± 3
CuSO ₄								
5	102 ± 3	95 ± 3	105 ± 2	106 ± 3	110 ± 2	115 ± 3	102 ± 2	100 ± 3
10	96 ± 2	101 ± 2	130 ± 3	160 ± 4	180 ± 3	200 ± 4	120 ± 3	135 ± 4
20	101 ± 4	100 ± 4	110 ± 4	115 ± 4	170 ± 4	120 ± 4	110 ± 4	105 ± 4
40	100 ± 3	98 ± 2	100 ± 3	105 ± 3	120 ± 3	110 ± 3	100 ± 3	100 ± 3

60 мин инкубации с корнями. Однако эффективные концентрации лектинов оказались различными. Так, для лектина штамма Sp7 максимум был отмечен при концентрации 20 мкг/мл, а для Sp245 – 10 мкг/мл (рис. 1 и 2).

При комбинированном воздействии лектинов с солями тяжелых металлов также отмечалась тенденция к повышению содержания аскорбиновой

кислоты в корнях проростков. Для обоих изучаемых лектинов при воздействии CoSO₄, ZnSO₄ и CuSO₄ наблюдалось наибольшее повышение после 1 ч инкубации с корнями и концентрации лектина 20 мкг/мл для CoSO₄ и ZnSO₄, 10 мкг/мл – для CuSO₄.

Наиболее максимальное воздействие лектинов по отношению к данному антиоксиданта бы-

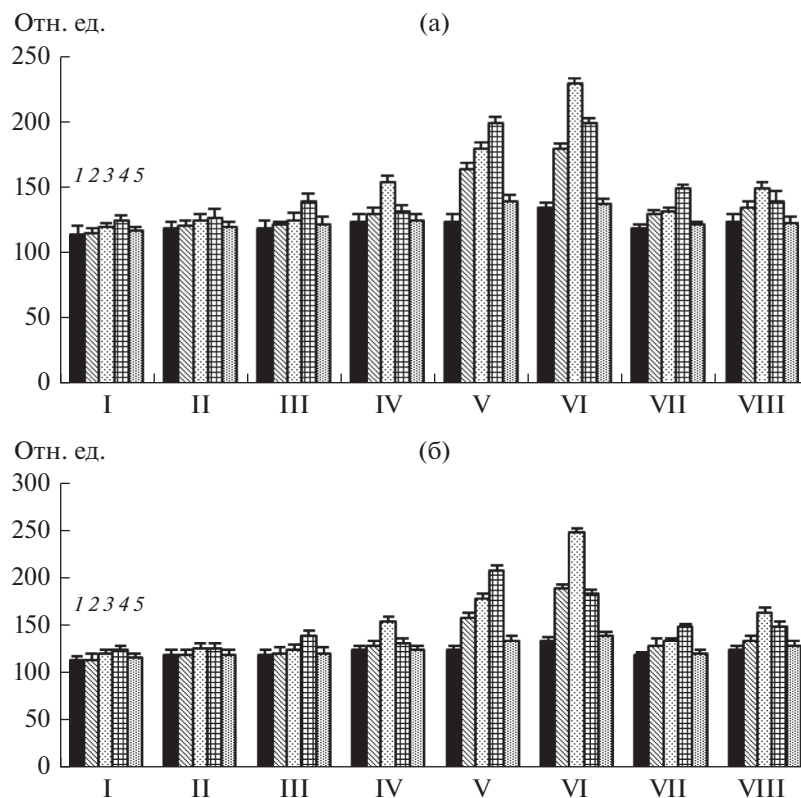


Рис. 1. Влияние лектинов *Azospirillum brasilense* Sp7 (I, III, V, VII) и Sp245 (II, IV, VI, VIII) на содержание, аскорбата в корнях проростков пшеницы при гипо- (а) и гипертермическом воздействии (б). I – контроль, корни (100%); 2 – 5 мкг/мл, 3 – 10 мкг/мл, 4 – 20 мкг/мл, 5 – 40 мкг/мл. I, II – время инкубации 15 мин, III, IV, – 30 мин; V, VI, – 60 мин; VII, VIII – 120 мин.

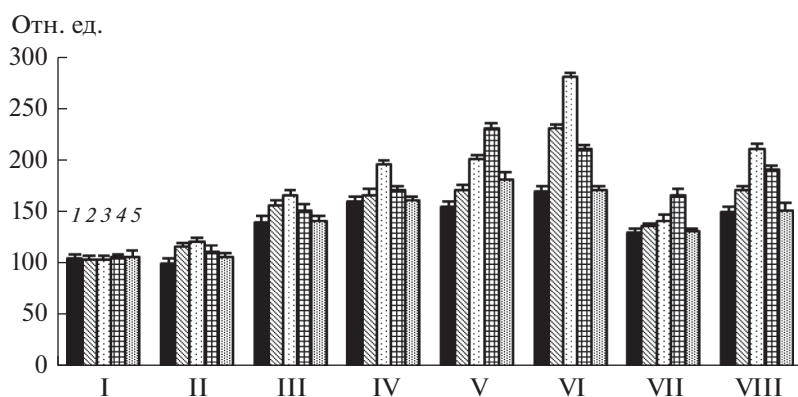


Рис. 2. Влияние лектинов *Azospirillum brasilense* Sp7 (I, III, V, VII) и Sp245 (II, IV, VI, VIII) на содержание, аскорбата в корнях проростков пшеницы при воздействии 1%-ного NaCl: I – контроль, корни (100%); 2 – 5, 3 – 10, 4 – 20, 5 – 40 мкг/мл. I, II – время инкубации 15 мин, III, IV, – 30 мин; V, VI, – 60 мин; VII, VIII – 120 мин.

ло отмечено в присутствии $Pb(CH_3COO)_2$. Для лектина *A. brasilense* Sp7 максимум достигался после 30 мин инкубации при его концентрации 10 мкг/мл. При этом количество аскорбата возрастало на 150%. Лектин *A. brasilense* Sp245 повышал количество аскорбата после 30 мин инкубации при самой низкой изучаемой его концентрации 5 мкг/мл. При этом величина прироста аскорбата намного превышали значение, кото-

рое наблюдалось в присутствии другого лектина, и составляло 210% (рис. 3).

Комбинированное воздействие лектинов и смоделированной засухи приводило к максимальной повышению содержания аскорбата в корнях проростков пшеницы уже через 15 мин инкубации. В случае с лектином *A. brasilense* Sp7 наибольшее повышение было отмечено при концентрации лектина 20 мкг/мл. Для лектина эндофитного

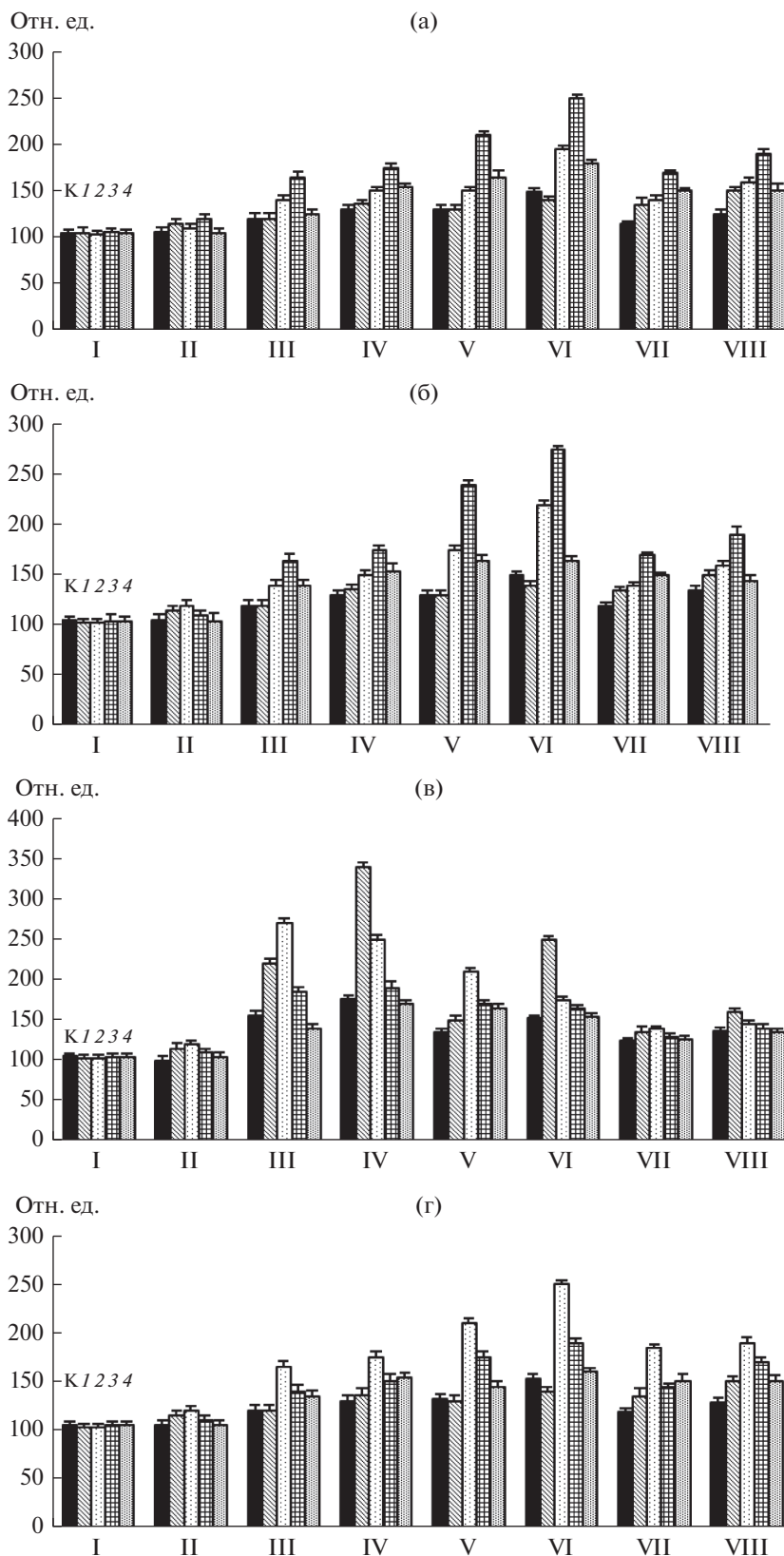


Рис. 3. Влияние лектинов *Azospirillum brasilense* Sp7 (I, III, V, VII) и Sp245 (II, IV, VI, VIII) на содержание аскорбата в корнях проростков пшеницы при воздействии ZnSO₄ (а), CoSO₄ (б), Pb(CH₃COO)₂ (в), CuSO₄ (г). К – контроль, корни (100%): 1 – 5, 2 – 10, 3 – 20, 4 – 40 мкг/мл. I, II – время инкубации 15 мин, III, IV, – 30 мин; V, VI, – 60 мин; VII, VIII – 120 мин.

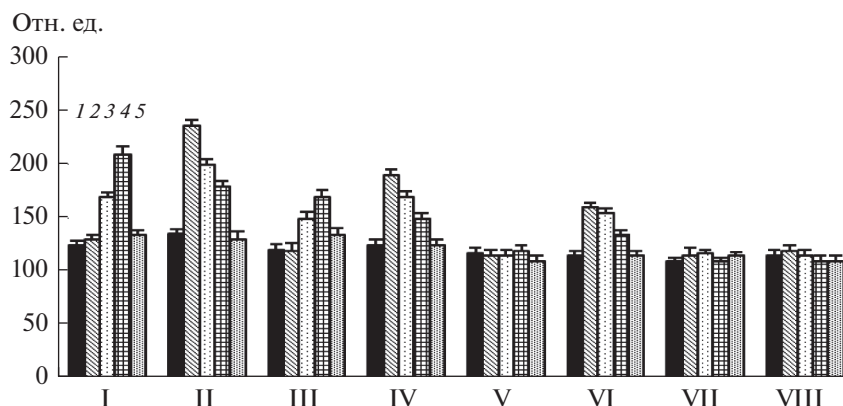


Рис. 4. Влияние лектинов *Azospirillum brasilense* Sp7 (I, III, V, VII) и Sp245 (II, IV, VI, VIII) на содержание аскорбата в корнях проростков пшеницы при инкубировании на 5%-ной сахарозе: 1 – контроль, корни (100%); 2 – 5, 3 – 10, 4 – 20, 5 – 40 мкг/мл. I, II – время инкубации 15 мин, III, IV, – 30 мин; V, VI, – 60 мин; VII, VIII – 120 мин.

штамма максимальный эффект в отношении данных антиоксидантов был отмечен при концентрации 5 мкг/мл (рис. 4). В естественных условиях растения подвергаются действию постоянно меняющихся экологических факторов, активно реагируя на их отклонения от оптимума. Известно, что процесс адаптации растений к неблагоприятным условиям внешней среды происходит при активном участии антиоксидантной системы, контролирующей в клетках уровень активных форм кислорода (АФК) [22, 30]. Эффективность функционирования антиоксидантной системы обусловлена уровнями низкомолекулярных компонентов и активностью антиоксидантных ферментов.

Аскорбатпероксидаза принимает участие в регуляции метаболизма в ходе онтогенеза и имеет особое значение для растений в обеспечении быстрой приспособляемости к постоянно меняющимся условиям внешней среды. Функционирование аскорбатпероксидазы необходимо для детоксикации перекиси водорода в условиях окислительного стресса. В антиоксидантной защите значительная роль принадлежит и низкомолекулярным соединениям, в частности аскорбиновой кислоте, которая может нейтрализовать пероксид водорода непосредственно в реакции, катализируемой аскорбатпероксидазой, а также участвовать в обезвреживании радикальных АФК [29, 31].

В результате проведенных исследований показано, что лектины *A. brasilense* Sp7 и Sp245 оказывали существенное влияние на активность аскорбатпероксидазы и содержание аскорбата в начальный период влияния на растения при смоделированных абиотических стрессах. При этом динамика изменения активности фермента и содержания аскорбата имела аналогичную тенденцию. Повышение активности аскорбатпероксидазы во всех случаях происходило на фоне повышения содержания аскорбата и могло быть связано с активным использованием этого антиоксиданта в качестве субстрата в реакции, катализируемой этим ферментом.

В целом можно полагать, что лектины азоспирилл могут оказывать влияние на аскорбатзависимую составляющую антиоксидантной системы, задействованной в адаптивных реакциях проростков пшеницы на гипо, гипертермию, обезвоживание, засуху и воздействие тяжелыми металлами. Можно предположить, что при этом участие лектинов в адаптации растений к стрессу, вызванному тяжелыми металлами и засухой, более существенно.

Следует отметить, что во всех случаях лектины *A. brasilense* Sp7 и *A. brasilense* Sp245 обладали различной степенью активности, что согласуется с ранее полученными результатами [8, 19, 20, 32–34]. Причина различий в функциональной активности лектинов может быть объяснена различной углеводной специфичностью, структурными различиями белков, и как следствие, различным взаимодействием с поверхностью растительной клетки, что является определяющим фактором для включения последующих этапов.

Концентрационные различия, при которых лектины проявляли эффекты, вероятно, связаны с влиянием изучаемых неблагоприятных факторов на процесс связывания лектинов с рецепторами на корнях. Концентрационные зависимости могут способствовать возникновению высокой физиологической гетерогенности даже при небольших естественных вариациях концентрации. В связи с этим изучение концентрационных зависимостей достаточно актуально для понимания процессов, происходящих при адаптации растений к условиям окружающей среды, а также и при практическом использовании таких регуляторов роста, как лектины.

Полученные в работе результаты демонстрируют более широкий, чем считалось ранее, спектр влияния лектинов азоспирилл на метаболизм растения-хозяина и в сочетании с уже имеющимися знаниями (сведениями) позволяют сформировать целостную картину взаимодействия бактерий с растениями на молекулярном уровне.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Sorty A.M., Meena K.K., Choudhary K., Bitla U.M., Minhas P.S., Krishnani K.K. // Appl. Biochem. Biotechnol. 2016. V. 180. № 5. P. 872–882.
- Sahoo R.K., Ansari M.W., Pradhan M., Dangar T.K., Mohanty S., Tuteja N. // Plant Signal Behav. 2014. V. 9. e29377.
- Arzanesh M.H., Alikhani H.A., Khavazi K., Rahimi-an H.A., Miransari M. // Int. J. Bot. 2009. V. 5. № 3. P. 244–249.
- Pereyra M.A., Zalazar C.A., Barassia C.A. // Plant Physiol. Biochem. 2006. V. 44. № 11–12. P. 873–879.
- Omar M.N.A., Osman M.E.H., Kasim W.A., Abd El-Daim I.A. // Tasks Veg. Sci. 2009. V. 44. P. 133–147.
- Baldani J.I., Baldani V.L.D. // An. Acad. Bras. Cienc. 2005. V. 77. № 3. P. 549–579.
- Bashan Y., Holguin G., de-Bashan L.E. // Can. J. Microbiol. 2004. V. 50. P. 521–577.
- Alen'kina S.A., Payusova O.A., Nikitina V.E. // Plant Soil. 2006. V. 283. № 1–2. P. 147–151.
- Schlöter M., Wiehe W., Assmus B., Steindl H., Becke H., Hoflich G., Hartmann A. // Appl. Environ. Microbiol. 1997. V. 63. № 5. P. 2038–2046.
- Assmus B., Hutzler P., Kirchoff G., Amann R., Lawrence J.R., Hartmann A. // Appl. Environ. Microbiol. 1995. V. 61. № 3. P. 1013–1019.
- Антонюк Л.П., Евсеева Н.В. // Микробиология. 2006. Т. 75. № 4. С. 544–549.
- Шакирова Ф.М., Безрукова М.В. // Журн. общей биологии. 2007. Т. 68. № 2. С. 98–114.
- Никитина В.Е., Аленькина С.А., Пономарева Е.Г., Савенкова Н.Н. // Микробиология. 1996. Т. 65. № 2. С. 165–170.
- Castellanos T., Ascencio F., Bashan Y. // Curr. Microbiol. 1998. V. 36. № 4. P. 241–244.
- Никитина В.Е., Пономарева Е.Г., Аленькина С.А. Молекулярные основы взаимоотношений ассоциативных микроорганизмов с растениями / Ред. В.В. Игнатова. М.: Наука, 2005. С. 70–97.
- Шелудько А.В., Пономарева Е.Г., Варшаломидзе О.Э., Ветчинкина Е.И., Кацы Е.И., Никитина В.Е. // Микробиология. 2009. Т. 78. № 6. С. 749–756.
- Никитина В.Е., Богомолова Н.В., Пономарева Е.Г., Соколов О.И. // Известия РАН. Серия биологическая. 2004. Т. 31. № 4. С. 431–435.
- Чернышева М.П., Аленькина С.А., Никитина В.Е., Игнатов В.В. // Прикл. биохимия и микробиология. 2005. Т. 41. № 4. С. 444–448.
- Аленькина С.А., Никитина В.Е. // Микробиология. 2015. Т. 84. № 5. С. 553–560.
- Alen'kina S.A., Nikitina V.E. // J. Plant Regul. 2017. V. 36. № 2. P. 522–527.
- Chen Z., Gallie D. // Plant Physiol. 2005. V. 138. № 3. 1673–1689.
- Foyer Ch. H and Noctor G. // Plant Physiology. 2011. V. 155. № 1. P. 2–18.
- Eltayeb S., Staal J.B., Kennes J., Lamberts H.G.P., de Bie R.A. // BMC Musculoskeletal Disord. 2007. V. 8. P. 68–73.
- Foyer C.H., Noctor G. // Plant Cell Environ. 2015. V. 38. № 2. P. 239–239.
- Echdat Y., Ofek I., Yachow-Yan Y., Sharon N., Mirelman D. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1978. V. 85. № 4. P. 1551–1559.
- Bradford M.M. // Anal. Biochem. 1976. V. 72. № 1–2. P. 248–254.
- Грузнова К.А. // Агрехимия. 2016. № 10. С. 89–93.
- Nakano Y., Asada K. // Plant Cell Physiol. 1981. V. 22. № 5. P. 867–880.
- Bartoli C.G., Yu., Gómez F., Fernández L., McIntosh L., Foyer C.H. // J. Exp. Bot. 2006. V. 57. № 8. P. 1621–1631.
- Маевская С.Н., Николаева М.К. // Физиология растений. 2013. Т. 60. № 3. С. 351–359.
- Ranieri A., Castagna A., Soldatini G.F. // J. Plant Physiol. 2000. V. 156. № 2. P. 266–271.
- Аленькина С.А., Матора Л.Ю., Никитина В.Е. // Микробиология. 2010. Т. 79. № 6. С. 856–858.
- Alen'kina S.A., Bogatyrev V.A., Matora L. Yu., Sokolova M.K., Chernysheva M.P., Trutneva K.A., Nikitina V.E. // Plant Soil. 2014. V. 381. № 3. P. 337–349.
- Alen'kina S.A., Romanov N.I., Nikitina V.E. // Braz. J. Bot. 2018. V. 41. № 3. P. 579–587.

Effect of Azospirillum Lectins on Ascorbate Peroxidase Activity and Ascorbic Acid Content in Wheat Seedling Roots Exposed to Abiotic Stresses

S. A. Alen'kina^{a,*} and V. E. Nikitina^a

^aInstitute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Saratov, 410049 Russia

*e-mail: alenkina_s@ibppm.ru

Received July 30, 2019; revised October 10, 2019; accepted 1 November, 2019

We examined the effect of the lectins from two *Azospirillum* strains (the epiphyte *A. brasilense* Sp7 and the endophyte *A. brasilense* Sp245) on ascorbate peroxidase activity and ascorbic acid content in roots of etiolated wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings under simulated abiotic stresses – hypothermic (5°C) and hyperthermic (42°C) stress, salinity (1% NaCl), drought stress (5% sucrose), and heavy metal toxicity (CoSO₄, ZnSO₄, Pb(CH₃COO)₂, CuSO₄). Both lectins increased ascorbate peroxidase activity and ascorbate content in stressed seedling roots. On the basis of the obtained data, we propose that the antioxidant action of the *Azospirillum* lectins underlies the protective effect of these proteins toward wheat seedling roots subjected to abiotic stresses.

Keywords: associative nitrogen fixation, azospirillum, lectins, wheat roots, antioxidant system, ascorbate peroxidase, ascorbic acid, abiotic stresses