

## АДАПТАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ЛЕКТИНОВ АЗОСПИРИЛЛ, СВЯЗАННЫЙ С ФУНКЦИОНИРОВАНИЕМ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

С. А. Аленькина, В. Е. Никитина

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии  
и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук

Поступила в редакцию 06.02.2018 г.

**Аннотация.** *Azospirillum brasilense* относятся к группе бактерий, обладающих способностью улучшать рост растений. Многие виды азоспириллы колонизируют ризосферу. Некоторые виды могут проникать в корневую систему хозяина и усиливать их благотворное влияние благодаря эндофитному образу жизни.

Механизмы положительного влияния бактериальных штаммов на растения разнообразны и достаточно мобильны в зависимости от конкретной агро-экологической обстановки. Азоспириллы могут принимать участие в смягчении многих видов абиотических стрессов. Несмотря на имеющиеся сведения о способности азоспириллы изменять активность антиоксидантных ферментов в растениях при различных абиотических стрессах, механизмы этого процесса изучены не полностью.

Поверхностные лектины штаммов *A. brasilense* Sp7 и Sp245 различаются по углеводной специфичности и по способу колонизации корней растений. Лектины стимулируют активность растительных ферментов и могут изменять содержание стрессовых метаболитов в растительных клетках, что свидетельствует о том, что они могут индуцировать процессы адаптации у корней проростков пшеницы.

Изучали влияние лектинов двух штаммов ассоциативных азотфиксирующих бактерий рода *Azospirillum* - *Azospirillum brasilense* Sp7 (эпифит) и *Azospirillum brasilense* Sp245 (эндофит) на активность ферментов антиоксидантного комплекса корней четырехдневных проростков пшеницы при кратковременном (2 ч) гипо- и гипертермическом воздействии. Показано, что оба лектина вызывали увеличение активности пероксидазы, супероксиддисмутазы и уменьшение активности каталазы при действии стрессовых факторов, но временная и концентрационная зависимости были различными. Вероятной причиной различной функциональной активности лектинов может быть различная углеводная специфичность, структурные различия белков.

Результаты настоящей работы свидетельствуют об участии лектинов азоспириллы 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:** ризобактерии, азотфиксация, азоспириллы, лектины, корни проростков пшеницы, антиоксидантные ферменты, абиотические стрессы

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, солюбилизации фосфатов, улучшению водного и минерального статуса, продукции ряда соединений, увеличива-

ющих мембранную активность и пролиферацию тканей корневой системы, способности уменьшать влияние стрессоров на растение и осуществлять контроль многочисленных фитопатогенов [1-3]. К механизмам опосредованного растением биоконтрольного эффекта относится способность индуцировать у растений защитные реакции, направленные на повышение устойчивости [4]. Несмотря на активно ведущиеся в этой области

исследования, на данный момент вопрос о приоритетности какого-либо из перечисленных факторов, объясняющих благоприятное влияние инокуляции азотфиксирующими бактериями на рост и продуктивность растения, остается открытым.

Интерес к штаммам *A. brasilense* Sp7 и Sp245 обусловлен тем, что они относятся к наиболее изученному виду азоспирилл и отличаются стратегией поведения в процессе формирования симбиотических отношений [5, 6]. В частности, штамм *A. brasilense* Sp7 был обнаружен только на поверхности корня, в тоже время *A. brasilense* Sp245 - единственный штамм, принадлежность которого к эндофитам строго доказана. Как показали исследования, проведенные с использованием олигонуклеотидных зондов и сканирующей конфокальной лазерной микроскопии, бактерии штамма Sp245 способны к исключительно тесному взаимодействию с растением-хозяином: они заполняют корневые волоски и колонизируют проводящую систему корня пшеницы [7]. Эндофитные бактерии представляют особый интерес, поскольку они способны мутуалистически жить внутри растительных тканей, что позволяет им по сравнению с другими микроорганизмами в меньшей степени зависеть от внешних факторов среды и одновременно проявлять комплекс хозяйственно полезных свойств. При этом, однажды внедрившись в ткани растения, эндофиты могут способствовать формированию длительной защиты макроорганизма от стрессовых факторов окружающей среды [2].

Образование азотфиксирующих систем, подобно как и любых других биологических межклеточных взаимодействий, согласно современным представлениям, включает функционирование углеводсвязывающих белков – лектинов. Долгое время считалось, что в системе углевод-белкового взаимодействия при формировании азотфиксирующих ассоциаций и симбиозов роль узнающих молекул выполняют лектины растений [8]. Однако появление новых знаний относительно лектинов азотфиксирующих бактерий заставило внести коррективы в систему взглядов по лектин-углеводным взаимодействиям, реализуемым при возникновении азотфиксирующих ассоциаций с учетом роли бактериальных лектинов [9, 10].

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, нахо-

дящиеся на поверхности клетки [11]. 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 mM) и D-галактозе (20 mM). Лектин *A. brasilense* Sp245 проявлял сродство к собственному полисахариду – кислому D-рамнану и имел молекулярную массу 67 кДа [10, 12].

Было показано, что лектины азоспирилл являются полифункциональными молекулами. Они принимают участие в адгезии бактерий к корням растений [11], обладают способностью влиять на метаболизм растительной клетки - стимулировать прорастание семян [13], проявлять по отношению к растительной клетке митогенную и ферментомодифицирующую активности [3, 14-16], изменять содержание стрессовых метаболитов в растительной клетке [17].

Экстремальные температуры являются одним из важнейших факторов внешней среды, воздействующих на растения, поэтому изучение механизмов толерантности и адаптации высших растений имеет большое научное и практическое значение. Поскольку у растений отсутствуют поведенческие механизмы защиты от действия неблагоприятных факторов, основные адаптивные изменения происходят в первую очередь на биохимическом уровне [18]. К настоящему времени выявлена группа неспецифических реакций на воздействие неблагоприятных факторов, к которым относят, прежде всего, изменение проницаемости клеточных мембран, внутриклеточного pH, а также накопление защитных веществ, в частности, стрессовых белков, липидов, растворимых углеводов [19]. При этом показано, что одним из самых ранних эффектов является окислительный стресс, обусловленный накоплением активных форм кислорода (АФК). Для защиты от него в растениях существует антиоксидантная система, состоящая из ферментов - супероксиддисмутазы, каталазы, некоторых пероксидаз [20, 21].

Супероксиддисмутазы (СОД) катализируют реакцию восстановления супероксидрадикала до пероксида водорода. Этот уникальный фермент присутствует у всех живых организмов, но только в растительных клетках имеются все три изоформы фермента [22]. Каталаза и пероксидаза являются одними из наиболее важных антиоксидант-

ных ферментов, способных детоксицировать перекись водорода. Они присутствуют в различных компартаментах растительных клеток [23, 24].

Несмотря на имеющиеся сведения о том, что азоспириллы способны изменять активность антиоксидантных ферментов в растениях при различных абиотических стрессах [25], механизмы этого процесса изучены недостаточно.

Цель нашей работы состояла в выявлении способности лектинов азоспирилл двух штаммов - *A. brasilense* Sp7 и *A. brasilense* Sp245 оказывать регулирующее влияние на активность пероксидазы, каталазы и супероксиддисмутазы в корнях проростков пшеницы в условиях кратковременной гипо- и гипертермии.

### МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектом исследования служили два штамма азотфиксирующих ассоциативных бактерий рода *Azospirillum* – *A. brasilense* Sp7 полученный из Института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН (г. Москва) и *A. brasilense* Sp245 из коллекции микроорганизмов ИБФРМ РАН (<http://collection.ibppm.ru>).

Выделение лектинов с поверхности клеток бактерий проводили методом Эшдата [26]. Очистку изучаемых белков проводили гель-фильтрацией на колонке (30x2.2 см) с сефадексом G-75 (диаметр частиц 40-120 мкм). Выход белковых фракций фиксировали на приборе Uvicord S11 (LKB) при  $\lambda = 278$  нм. В качестве элюентов использовали 0.1 М  $\text{CH}_3\text{COOH}$  (рН 4.8), а также 0.05 М фосфатный буфер (рН 7.0), содержащий 0.15 М NaCl. Скорость потока – 1.5 мл/мин. Лектиновую активность определяли реакцией агглютинации, используя 2%-ную суспензию трипсинизированных кроличьих эритроцитов.

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°C. Для экспериментов были использованы четырехдневные проростки.

Для изучения влияния кратковременных температурных стрессов и засоления на активность ферментов корни в течение двух часов подвергали совместному воздействию лектинов (концентрация 5–40 мкг/мл) и температуры +5°C, +42°C. В качестве контроля выступали корни проростков, выращенные при 25°C.

Затем корни гомогенизировали в 0.15 М фосфатном буфере (рН 7.8). Гомогенат центрифугировали при 7000g 10 мин, надосадочную жидкость использовали для определения активности ферментов.

Количество белка определяли по методу Бредфорд [27].

Для определения активности пероксидазы (ЕС 1.11.1.7) использовали микрометод [28]. Метод основан на окислении *o*-фенилендиамина (ОФД). Для этого в лунки плоскодонных планшетов для иммуноанализа («Nunc», США) добавляли по 50 мкл надосадочной жидкости, предварительно разбавленной фосфатным буфером (рН 5.6) в 20 раз, и по 25 мкл раствора ОФД в концентрации 0.5 мг/мл. Через 2 мин после внесения 25 мкл 0.43 мМ  $\text{H}_2\text{O}_2$  развитие окраски останавливали добавлением 50 мкл 4N  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Поглощение образцов (при 492 нм) измеряли на иммуноферментном анализаторе АИФ-Ц-О1С (ЗАО ИЛИП, Санкт-Петербург, Россия). Активность выражали в единицах поглощения на 1 г сырой массы корней. Для сравнительного анализа вариантов активность выражали в относительных единицах.

Определение активности каталазы (ЕС 1.11.1.6) проводили по методу Aebi (1984) [29]. Снижение количества  $\text{H}_2\text{O}_2$  измеряли при 240 нм, а активность рассчитывали как единицы (мкМ  $\text{H}_2\text{O}_2$ , разлагаемой в минуту) на г сырой массы корней (коэффициент экстинкции 39.4 мМ<sup>-1</sup> см<sup>-1</sup>). Для сравнительного анализа вариантов активность выражали в относительных единицах.

Активность супероксиддисмутазы (ЕС 1.15.1.11) определяли по ингибированию скорости восстановления нитросинего тетразолия (НСТ) в неэнзиматической системе феназинметасульфата и НАДН [30]. Оптическую плотность продукта окисления нитросинего тетразолия – формазана измеряли при 560 нм и использовали для расчета активности фермента. Результаты выражали в относительных единицах.

Статистическую обработку проводили с использованием критерия Стьюдента. На рисунках приведены средние арифметические значения по трем независимым опытам, проведенным в 5-кратной биологической повторности, и их стандартные ошибки. В статье обсуждаются величины, достоверные при  $P < 0.05$ .

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для исследования влияния лектинов *A. brasilense* Sp7 и Sp245 на продукцию активных форм кислорода были взяты три АФК-

генерирующих фермента – пероксидаза, каталаза и СОД корней проростков пшеницы. Для изучения воздействия лектинов на активность указанных ферментов в корнях проростков пшеницы в условиях гипо-, гипертермии время инкубирования лектинов с корнями было ограничено двумя часами. Для исследований были взяты четыре концентрации лектинов - 5, 10, 20, 40 мкг/мл. Выбор концентраций и времени был основан на ранее проведенных исследованиях и полученных результатах [3, 31].

В результате проведенных нами опытов было установлено, что в варианте комбинированного воздействия лектинов *A. brasilense* Sp7 и *A. brasilense* Sp245 с гипо- и гипертермией происходило увеличение активности пероксидазы в корнях проростков пшеницы. Как для гипо-, так и для гипертермического стресса картина была аналогичной. Активность фермента в случае с лектином *A. brasilense* Sp7 возрастала после 30-минутной экспозиции с корнями, затем постепенно сравнивалась с уровнем активности фермента при воздействии одним лектином. Повышение активности было отмечено для всех концентраций лектина этого штамма и имело пикообразный характер с максимумом для концентрации 20 мкг/мл. В случае с лектином *A. brasilense* Sp245 увеличение активности наблюдалось после 60-минутной экспозиции с корнями и происходило пропорционально росту концентрации лектина (рис. 1а).

Необходимо отметить, что в варианте с корнями проростков, подвергшихся гипо-, гипертермическому и в варианте с корнями, обработанными одними лектинами также происходило повышение активности пероксидазы, но в варианте с синергическим воздействием лектинов и стрессовых факторов уровень был выше (рис. 1а).

Рассмотрение антиоксидантной системы невозможно без оценки функционирования фермента детоксикации образовавшейся  $H_2O_2$  - каталазы. Изучение воздействия изучаемых лектинов на корни проростков пшеницы приводило к снижению активности каталазы. В тоже время в корнях проростков, подвергшихся гипо-, гипертермическому стрессу происходило повышение активности фермента. Совместное воздействие изучаемых лектинов и гипотермии на корни проростков пшеницы приводило к уменьшению активности фермента. Временная и концентрационная зависимости были идентичны варианту с обработкой одними лектинами, но в случае стрессового воздействия эффект лектинов был выше. В обо-

их случаях уже через 15 минут после воздействия лектинов на корни проростков растений происходило максимальное ингибирование активности фермента, которое продолжалось еще после 30 мин, затем происходило плавное снижение эффекта и к часу инкубации лектинов с корнями она достигала уровня воздействия одними лектинами. Для обоих лектинов при указанной экспозиции максимальный эффект был зафиксирован при концентрации 5 мкг/мл (рис. 1б).

В условиях гипертермии наблюдалась картина, аналогичная случаю с гипотермическим воздействием. Было отмечено уменьшение активности фермента с обоими лектинами с максимальными значениями при той же концентрации (рис. 1б).

При гипотермии для всех изучаемых концентраций обоих лектинов было отмечено увеличение активности СОД после часа инкубации с корнями проростков. Наибольший эффект был отмечен для лектина *A. brasilense* Sp7 при концентрации - 20 мкг/мл и для *A. brasilense* Sp245 - при 10 мкг/мл (рис. 1в).

При гипертермии наблюдалась аналогичная картина, т.е. происходило активирование ферментативной активности после часа инкубирования лектинов с корнями. Для лектина *A. brasilense* Sp7 наибольший эффект был отмечен при концентрации - 10 мкг/мл и для *A. brasilense* Sp245 - при 5 мкг/мл (рис. 1в).

Необходимо отметить, что как в варианте обработки одними лектинами, так и при совместном воздействии лектинов и стрессов наблюдалась идентичная концентрационная зависимость, но повышение активности фермента в случае обработки только лектинами происходило позже, а именно после 2 ч инкубации с корнями проростков.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Важную роль в формировании иммунитета у растений играют такие ферменты, как каталаза, пероксидаза и супероксиддисмутаза, которые в целом составляют антиоксидантную систему растений. Адаптивные реакции растительного организма в ответ на любое отклонение от экологической нормы связаны с изменением активности ферментов, в том числе антиоксидантных. Продукция активных форм кислорода и изменение активности антиоксидантных ферментов является результатом быстрых сигнальных реакций и могут быть важными участниками в процессе пере-



дачи сигнала различного вида стрессов. По времени они располагаются между самыми ранними процессами, такими как стимуляция ионных потоков через плазмалемму, и более поздними изменениями в экспрессии генов [30, 39].

Гипертермия отрицательно влияет на метаболизм растений. При нагревании нарушается четвертичная структура сложных белковых комплексов [40]. Низкая температура также негативно влияет на метаболизм, существенно снижая продуктивность [41].

Для изучения влияния лектинов на активность антиоксидантных ферментов корней проростков пшеницы при гипо-, гипертермическом воздействии были выбраны: уникальный и ключевой фермент – супероксиддисмутаза, катализирующая реакцию восстановления супероксида радикала до пероксида водорода а также, два разлагающих пероксид водорода фермента - пероксидаза и каталаза. Проведенные исследования показали, что лектины обоих штаммов оказывали модифицирующее влияние на ферменты уже в первые

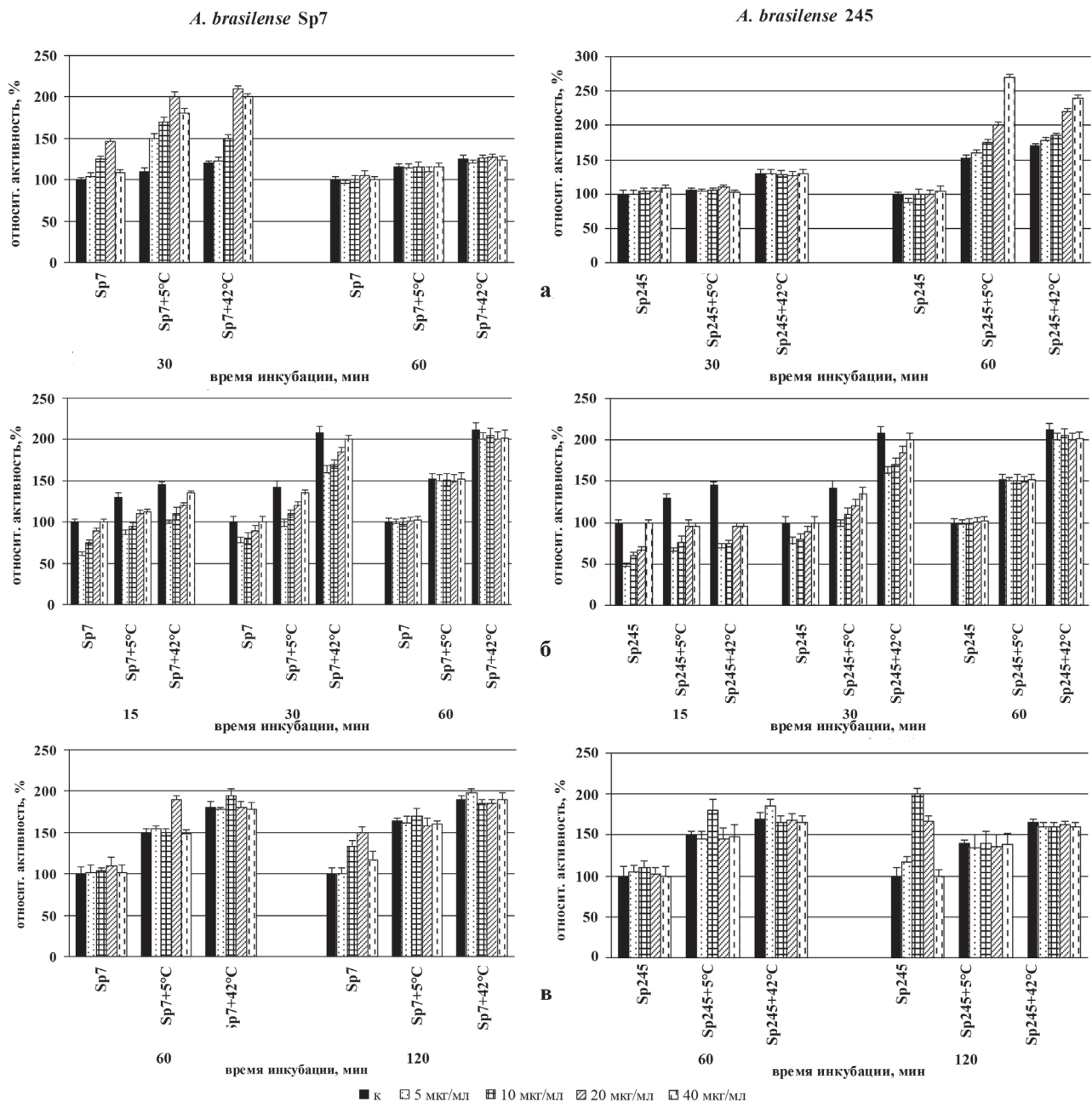


Рис. 1. Влияние лектинов *Azospirillum brasilense* Sp7 и Sp245 на активность пероксидазы(а), каталазы(б) и СОД(с) корней проростков пшеницы. Результаты представлены как средние арифметические значения со стандартной ошибкой (n=3). Все различия достоверны (p<0.05).

минуты стрессующего воздействия. Причем лектины усиливали активирующее влияние температурного стресса на активность пероксидазы и СОД в корнях проростков. В тоже время под воздействием лектинов происходило падение активности каталазы на фоне повышения активности этого фермента при стрессах.

Полученные результаты продемонстрировали различия регулирующей активности лектинов *A. brasilense* Sp7 и Sp245 в отношении ферментов, что согласуется с ранее полученными результатами [3, 13-15, 31]. Эффект для лектина *A. brasilense* Sp245 во всех вариантах проявлялся в большей степени, чем для лектина Sp7.

Вероятной причиной различной функциональной активности лектинов может быть различная углеводная специфичность, структурные различия белков [10, 12], и как следствие, различное взаимодействие с поверхностью растительной клетки, что является определяющим фактором для включения последующих этапов.

Представленные данные подтверждают результаты других авторов, которые отмечают способность азоспирилл повышать активность пероксидазы и СОД в растениях при различных абиотических стрессах [25, 42]. Одной из возможных причин повышения активности пероксидазы, СОД и угнетения каталазной активности может быть влияние салициловой кислоты, индукцию синтеза которой вызывают лектины азоспирилл [17].

С учетом ранее полученных данных, результаты настоящей работы свидетельствуют о том, что лектины азоспирилл могут участвовать в адаптации и вызывать индукцию защитных механизмов растений, что в сочетании с ростстимулирующим эффектом бактерий, способствует формированию устойчивости и повышению продуктивности растений.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Baldani J.I., Baldani V.L.D. // An Acad. Bras. Cienc. 2005. Vol. 77, pp. 549-579.
2. Bashan Y., Holguin G., de-Bashan L.E. // Can. J. Microbiol. 2004. Vol. 50, pp. 521-577.
3. Alen'kina S.A., Payusova O.A., Nikitina V.E. // Plant and Soil 2006. Vol. 283, pp. 147-151.
4. Bhattacharyya P.N., Jha D.K. // World J. Microbiol. Biotechnol. 2012. Vol. 28, pp. 1327-1350.
5. Ramos I., Esteban E, Lucena J.J., Gárate A // Plant Sci. 2002. Vol. 162, pp. 761-767.
6. Xie C.H., Yokota A. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2005. Vol. 55, pp. 1435-1438.
7. Schloter M., Wiehe W., Assmus B., Steindl H, Becke H., Hoftich G., Hartmann A. // Appl. Environ. Microbiol. 1997. Vol. 63, pp. 2038-2046.
8. Антолюк Л.П., Евсеева Н.В. // Микробиология. 2006. Т. 75. № 4. С. 544-549.
9. Castellanos T., Ascencio F., Bashan Y. // Curr. Microbiol. 1998. Vol. 36, pp. 241-244.
10. 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. – Москва, Наука, 2005. С. 70-97.
11. Никитина В.Е., Аленькина С.А., Пономарева Е.Г., Савенкова Н.Н. // Микробиология. 1996. Т. 65. № 2. С. 165-170.
12. Шелудько А.В., Пономарева Е.Г., Варшоломидзе О.Э., Ветчинкина Е.И., Кацы Е.И., Никитина В.Е. // Микробиология. 2009. Т. 78. № 6. С. 749-756.
13. Никитина В.Е., Богомолова Н.В., Пономарева Е.Г., Соколов О.И. // Известия РАН. Серия биологическая. 2004. Т. 31. № 4. С. 431-435.
14. Чернышева М.П., Аленькина С.А., Никитина В.Е., Игнатов В.В. // Прикл. биохимия и микробиология. 2005. Т. 41. № 4. С. 444-448.
15. Аленькина С.А., Никитина В.Е. // Микробиология. 2015. Т. 84. №5. С. 553-560.
16. Alen'kina S.A., Nikitina V.E. // J. Plant Regulation. 2017. Vol. 36, pp. 522-527.
17. Alen'kina S.A., Bogatyrev V.A., Matora L.Yu., Sokolova M.K., Chernysheva M.P., Trutneva K.A., Nikitina V.E. // Plant and Soil. 2014. Vol. 381, pp. 337-349.
18. Тарчевский И.А. Метаболизм растений при стрессе. Казань, Фэн, 2001, 448 с.
19. Hasanuzzaman M., Nahar K., Alam Md.M., Roychowdhury R., Fujita M. // Int. J. Mol. Sci. 2013. Vol. 14, pp. 9643-9684.
20. Almeselmani M., Deshmukh P.S.; Sairam R.K.; Kushwaha S.R.; Singh T.P. // Plant Sci. 2006. Vol. 171, pp. 382-388.
21. Devraj V.R. // Aust. J. Crop. Sci. 2008. Vol. 2, pp. 40-48.
22. Foyer C.H., Noctor G. // Plant Cell and Environment. 2015. Vol. 38, pp. 239-239.
23. Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V. // Ann. Botan. 2003. Vol. 91, pp. 179-194.
24. Mittova V., Tal M., Volokita M., Guy M. // Plant Cell and Environ. 2003. Vol. 26, P. 845-856.

25. Arzanesh M.H., Alikhani H.A., Khavazi K., Rahimian H.A., Miransari M. // *Int. J. Bot.* 2009. Vol. 5, pp. 244-249.
26. Echdat Y., Tal M., Volokita M., Guy M. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1978. Vol. 85, pp. 1551-1559.
27. Bradford M.M. // *Anal. Biochem.* 1976. Vol. 72, pp. 248-254.
28. Хайруллин Р.М., Ярулина Л.Г., Трошина Н.Б., Ахметова И.Э. // *Биохимия.* 2001. Т. 66. № 3. С. 354-358.
29. Aebi H. *Methods in Enzymology.* Academic Press. San Diego, 1984, pp. 121-126.
30. Alscher R.G., Erturk N., Heath L.S. // *J. Exp. Bot.* 2002. Vol. 53, pp. 1331-1341.
31. Аленькина С.А., Матора Л.Ю., Никитина В.Е. // *Микробиология.* 2010. Т. 79. № 6. С. 856-858.
32. Ali M.B., Hahn E.J., Paek K. // *Plant Physiol. Biochem.* 2005. Vol. 43, pp. 213-223.
33. Gill S.S., Tuteja N. // *Plant Physiol. Biochem.* 2010. Vol. 48, pp. 909-930.
34. Scandalios J.G. // *Braz. J. Med. And Biol. Res.* 2005. Vol. 38, pp. 995-1014.
35. Larcher W. *Physiological plant ecology. Ecophysiology and stress physiology of functional groups.* Berlin. Springer, 2003. 568 p.
36. Orcutt D.M., Nilsen E.T. *The Physiology of Plants Under Stress: soil and biotic factors.* Canada. John Wiley and Sons, 2000, 683 p.
37. Schmitt Fr-J., Renger G., Friedrich T., Kreslavski V.D., Zharmukhamedov S.K., Los D.A., Kuznetsov V.V., Allakhverdiev S.I. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2014. Vol. 1837, pp. 835-848.
38. Ahmad P., Jaleel C.A., Salem M.A., Nabi G., Sharma S. // *Crit. Rev. Biotechnol.* 2010. Т. 30. С. 161-175.
39. Минибаева Ф.В., Гордон Л.Х. // *Физиология растений.* 2003. Т. 50. № 3. С. 459-464.
40. Timperio A.M., Egidio M.G., Zolla L // *Journal of Proteomics.* 2008. Vol. 71, pp. 391-411.
41. Жесткова И.М., Ампилогова Я.Н., Шевырева Т.А., Трофимова М.С. // *Физиология растений.* 2009. Т. 56. № 5. С. 704-719.
42. Baniaghil N., Arzanesh M.H., Ghorbanli M., Shahbazi M. // *J. Appl. Environ. Biol. Sci.* 2013. Vol. 3, pp. 17-27.

*Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук*  
Аленькина С. А., канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии  
e-mail: alenkina\_s@ibppm.ru

*Никитина В. Е., доктор биол/ наук, зав. лабораторией микробиологии*  
e-mail: nikitina\_v@ibppm.ru

*Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms Russian Academy of Sciences*  
Alen'kina S. A., PhD., Senior Research Scientist of Laboratory of Microbiology  
e-mail: alenkina\_s@ibppm.ru

*Nikitina V. E., doctor of biology, head Laboratory of Microbiology*  
e-mail: nikitina\_v@ibppm.ru

## ADAPTATION POTENTIAL OF *AZOSPIRYLLUM* LECTINS, WHICH IS LINKED TO THE FUNCTIONING OF THE SYSTEM OF ANTIOXIDANT DEFENSE OF PLANTS

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

*Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms RAS*

**Abstract.** *Azospirillum brasilense*, which has the potential to stimulate plant growth, belongs to plant-growth-promoting bacteria. Many species of azospirilla colonize the rhizosphere, the portion of soil attached to the root surface. Some species can also enter the host root system and enhance their beneficial effects with an endophytic lifestyle. Depending on the specific agroecological situation, the positive effect of *Azospirillum* on plants may be due to different mechanisms. *Azospirillum* can assist in mitigation of many kinds of abiotic stress. Although they can affect antioxidant enzyme activity in abiotically stressed plants, the underlying mechanisms are not fully understood.

The surface lectins of *A. brasilense* strains Sp7 and Sp245 differ in carbohydrate specificity and in the mode of plant root colonization. They promote plant growth and enzyme activity, and they also can alter the plant cell content of stress metabolites, which attests that they can induce adaptation processes in wheat seedling roots.

We examined the effect of the lectins from two *Azospirillum* strains - *A. brasilense* Sp7 (epiphytic strain) and *A. brasilense* Sp245 (endophytic strain) - on the activities of antioxidant enzymes in roots of 4-day-old seedlings of wheat under short-term (2 h) hypothermic and hyperthermic stresses. Under all stresses, both lectins increased peroxidase and superoxide dismutase activities and decreased catalase activity, but the periods of effect and the concentrations involved were different.

Together with our earlier data, our present results indicate that the *Azospirillum* lectins are involved in adaptational changes in wheat seedling roots and that this involvement promotes the normal course of metabolism and ensures regulation of the plant - *Azospirillum* interaction under abiotic stresses.

**Keywords:** rhizobacteria, nitrogen fixation, *Azospirillum*, lectins, wheat seedling roots, antioxidant enzymes, abiotic stresses

## REFERENCES

1. Baldani J.I., Baldani V.L.D., An Acad. Bras. Cienc., 2005, Vol. 77, pp. 549- 579.
2. Bashan Y., Holguin G., de-Bashan L.E., Can. J. Microbiol., 2004, Vol. 50, pp. 521-577.
3. Alen'kina S.A., Payusova O.A., Nikitina V.E., Plant and Soil, 2006, Vol. 283, pp. 147-151.
4. Bhattacharyya P.N., Jha D.K., World J. Microbiol. Biotechnol., 2012, Vol. 28, pp. 1327-1350.
5. Ramos I., Esteban E., Lucena J.J., Gárate A., Plant Sci., 2002, Vol. 162, pp. 761-767.
6. Xie C.H., Yokota A., Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 2005, Vol. 55, pp. 1435-1438.
7. Schloter M., Wiehe W., Assmus B., Steindl H., Becke H., Hoftich G., Hartmann A., Appl. Environ. Microbiol., 1997, Vol. 63, pp. 2038-2046.
8. Antonyuk L.P., Evseeva N.V., Mikrobiologiya, 2006, Vol. 75, No 4, pp. 544-549.
9. Castellanos T., Ascencio F., Bashan Y., Curr. Microbiol., 1998, Vol. 36, pp. 241-244.
10. Nikitina V.E., Ponomareva E.G., Alen'kina S.A. Molekulyarnye osnovy vzaimootnoshenii assotsiativnykh mikroorganizmov s rasteniyami. Moskva, Nauka, 2005, 262 p.
11. Nikitina V.E., Alen'kina S.A., Ponomareva E.G., Savenkova N.N., Mikrobiologiya, 1996, Vol. 65, No. 2, pp. 165-170.
12. Shelud'ko A.V., Ponomareva E.G., Varshalomidze O.E., Vetchinkina E.I., Katsy E.I., Nikitina V.E., Mikrobiologiya, 2009, Vol. 78, No. 6, pp. 749-756.
13. Nikitina V.E., Bogomolova N.V., Ponomareva E.G., Sokolov O.I., Izvestiya RAN. Seriya biologicheskaya, 2004, Vol. 31, No. 4, pp. 431-435.
14. Chernysheva M.P., Alen'kina S.A., Nikitina V.E., Ignatov V.V., Prikl. biokhimiya i mikrobiologiya, 2005, Vol. 41, No. 4, pp. 444-448.
15. Alen'kina S.A., Nikitina V.E., Mikrobiologiya, 2015, Vol. 84, No. 5, pp. 553-560.
16. Alen'kina S.A., Nikitina V.E., J. Plant Regulation., 2017, Vol. 36, pp. 522-527.
17. Alen'kina S.A., Bogatyrev V.A., Matora L.Yu., Sokolova M.K., Chernysheva M.P., Trutneva K.A., Nikitina V.E., Plant and Soil., 2014, Vol. 381, pp. 337-349.
18. Tarchevskii I.A. Metabolizm rastenii pri stresse. Kazan', Fen, 2001, 448 p.
19. Hasanuzzaman M., Nahar K., Alam Md.M., Roychowdhury R., Fujita M., Int. J. Mol. Sci., 2013, Vol. 14, pp. 9643-9684.
20. Almeselmani M., Deshmukh P.S.; Sairam R.K.; Kushwaha S.R.; Singh T.P., Plant Sci., 2006, Vol. 171, pp. 382-388.
21. Devraj V.R., Aust. J. Crop. Sci., 2008, Vol. 2, pp. 40-48.
22. Foyer C.H., Noctor G., Plant Cell and Environment., 2015, Vol. 38, pp. 239-239.
23. Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V., Ann. Botan., 2003, Vol. 91, pp. 179-194.
24. Mittova V., Tal M., Volokita M., Guy M., Plant Cell and Environ., 2003, Vol. 26, P. 845-856.
25. Arzanesh M.H., Alikhani H.A., Khavazi K., Rahimian H.A., Miransari M., Int. J. Bot., 2009, Vol. 5, pp. 244-249.
26. Echdat Y., Tal M., Volokita M., Guy M., Biochem. Biophys. Res. Commun., 1978, Vol. 85, pp. 1551-1559.
27. Bradford M.M., Anal. Biochem., 1976, Vol. 72, pp. 248-254.
28. Khairullin R.M., Yarullina L.G., Troshina N.B., Akhmetova I.E., Biokhimiya, 2001, Vol. 66, No. 3, pp. 354-358.
29. Aebi H. Methods in Enzymology. Academic Press. San Diego, 1984, 121-126.
30. Alscher R.G., Erturk N., Heath L.S., J. Exp. Bot., 2002, Vol. 53, pp. 1331-1341.
31. Alen'kina S.A., Matora L.Yu., Nikitina V.E., Mikrobiologiya, 2010. Vol. 79. No. 6. pp. 856-858.
32. Ali M.B., Hahn E.J., Paek K., Plant Physiol. Biochem., 2005, Vol. 43, pp. 213-223.
33. Gill S.S., Tuteja N., Plant Physiol. Biochem., 2010, Vol. 48, pp. 909-930.
34. Scandalios J.G., Braz. J. Med. And Biol.



Res., 2005, Vol. 38, pp. 995-1014.

35. Larcher W. Physiological plant ecology. Ecophysiology and stress physiology of functional groups. Berlin. Springer, 2003. 568 p.

36. Orcutt D.M., Nilsen E.T. The Physiology of Plants Under Stress: soil and biotic factors. Canada. John Wiley and Sons, 2000, 683 p.

37. Schmitt Fr-J., Renger G., Friedrich T., Kreslavski V.D., Zharmukhamedov S.K., Los D.A., Kuznetsov V.V., Allakhverdiev S.I., Biochim. Biophys. Acta., 2014, Vol. 1837, P. 835-848.

38. Ahmad P., Jaleel C.A., Salem M.A., Nabi G., Sharma S., Crit. Rev. Biotechnol., 2010, T. 30. C. 161-175.

39. Minibaeva F.V., Gordon J.I.X., Fiziologiya rastenii, 2003, Vol. 50. No. 3. pp. 459-464.

40. Timperio A.M., Egidi M.G., Zolla L., Journal of Proteomics, 2008, Vol. 71, pp. 391-411.

41. Zhestkova I.M., Ampilogova Ya.N., Shevyreva T.A., Trofimova M.S., Fiziologiya rastenii, 2009, Vol. 56, No. 5, pp. 704-719.

42. Baniaghil N., Arzanesh M.H., Ghorbanli M., Shahbazi M., J. Appl. Environ. Biol. Sci., 2013, Vol. 3, pp. 17-27.