3. Ercal N., Gurer-Orhan H., Aykin-Burns N. Toxic metals and oxidative stress part I : Mechanisms involved in metal induced oxidative damage. *Current Topics in Medicinal Chemistry.* 2001. Vol. 1. P. 529–539.
4. Lushchak V.I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicology.* 2011. Vol. 1. P. 13–30.
5. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants / Valavanidis Athanasios, Vlahogianni Thomais, Dassenakis Manos, Scoullos Michael. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2006. Vol. 64. P. 178–189.

УДК 581.1

ВПЛИВ НЕСТАЧІ ВОЛОГИ НА ЛЕКТИНОВУ АКТИВНІСТЬ У РОСЛИНАХ ЛЮЦЕРНИ ЗА ІНОКУЛЯЦІЇ *SINORHIZOBIUM MELILOTI* ТА ОБРОБКИ ЛЕКТИНОМ

Михалків Л.М., Мокрицький К.А.

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України
E-mail: mykhalm@ukr.net

Лектини – важлива група білків, здатних зворотно і вибірково зв’язувати вуглеводи та вуглеводні ліганди біополімерів. Білки, що проявляють лектинову активність, містяться у різних органах рослин, їх кількість і локалізація можуть змінюватися у широких межах, а активність залежить від впливу біотичних й абіотичних чинників довкілля.

Одна із важливих функцій лектинів – участь у реакції рослинного організму на дію різноманітних стресів та змін довкілля [4], при цьому показано позитивний вплив екзогенних лектинів на рослини за стресових умов [1]. Лектини розглядають також як компонент молекулярно-хімічної взаємодії, що лежить в основі формування симбіотичних структур, вони беруть активну участь у низці фізіологічних процесів, що супроводжують взаємодію макро- і мікросимбіонтів [5].

Зважаючи на те, що становлення симбіотичних

взаємовідносин рослин і мікроорганізмів суттєво залежить від умов довкілля, а лектини є одним із важливих факторів ефективного симбіозу та значимим компонентом неспецифічної реакції рослин на дію стресу, важливим є дослідження ефекту цих білків щодо бобових рослин за несприятливих умов.

Метою нашої роботи було з'ясувати особливості змін лектинової активності у рослинах люцерни за дії недостатнього водозабезпечення та при застосуванні екзогенного лектину. У вегетаційних дослідах рослини люцерни сорту Надєжда вирощували в 4-кілограмових посудинах (по 10 рослин) на промитому річковому піску за природних освітлення, температури та вологості повітря. Вологість субстрату (60 чи 30 % ПВ) підтримували шляхом контрольованого поливу. Джерелом мінерального живлення була суміш Гельрігеля, що містила 0,25 норми азоту. У дослідних варіантах насіння обробляли розчином (100 мкг/мл) комерційного лектину насіння сої (Львів, «Лектинотест») упродовж 20 год, у контрольних варіантах використовували воду. Передпосівну інокуляцію насіння проводили бульбочковими бактеріями *Sinorhizobium meliloti* штаму 441 із музейної Колекції штамів симбіотичних та асоціативних азотфіксуючих мікроорганізмів Інституту фізіології рослин і генетики НАН України. Тривалість інокуляції насіння – 1 год.

Визначення лектинової активності проводили за допомогою реакції гемаглютинації в імунологічних планшетах із U–подібними лунками. Для виділення фітогемаглютинінів (лектинів) із рослин використовували метод елюювання етанолом, дещо модифікувавши його [2]. Після інкубації зразків із розчином еритроцитів крові людини І групи протягом 2 год при кімнатній температурі визначали активність лектинів, при цьому використовували формулу:

АЛ *(од./мг білка)* = титр / концентрація білка *(мг/мл)* × об´єм проби *(мл)*.

За одиницю активності лектинів (АЛ) приймали мінімальну кількість лектинів, яка викликає аглютинацію еритроцитів. Титр

досліджуваних лектиноподібних речовин визначали максимальним розведенням розчину, при якому спостерігалася аглютинація. Вміст білка у зразках визначали за Бредфордом.

Виявлено, що у 5-добових проростках люцерни на фоні впливу посухи показник АЛ вищий на 35–39 %, ніж за оптимального водозабезпечення, а застосування екзогенного лектину сприяє його зниженню за обох рівнів вологості субстрату. Відзначені закономірності, але більш виражені, спостерігали із розвитком люцерни і наростанням посухи, у 11-добових рослинах.

З появою третього трійчастого листка визначення лектинової активності проводили у різних органах люцерни. У листках рослин контрольних варіантів (без застосування лектину) показник АЛ суттєво не відрізнявся за різних рівнів вологості, водночас на фоні використанні лектину за посухи він був підвищений у 4 рази порівняно до оптимального водозабезпечення. Використання лектину сприяло зниженню АЛ у листках на фоні 60 % ПВ на 51 % і підвищенню цього показника на фоні недостатнього водозабезпечення на 98 %. У стеблах на фоні посухи відзначено зниження АЛ як у контролі, так і за обробки лектином. Використання останнього спричинило зниження АЛ на 31 % на фоні нестачі вологи, але зростання на 66 % – за оптимального водозабезпечення. Слід зазначити, що використана нами методика не дозволила виявити лектинову активність у коренях рослин, – ні у період появи першого справжнього листка, ні при утворенні третього трійчастого листка.

Згідно літературних даних, інфікування патогенами чи зовнішні чинники абіотичної природи можуть спричиняти посилення експресії генів, відповідальних за синтез лектинів, підвищення вмісту цих білків у тканинах рослин та зміни їхніх властивостей [3]. Водночас показано, що особливості змін даного показника визначаються стійкістю рослин. Отримані нами результати свідчать, що підвищений рівень лектинової активності, як правило, спостерігався за умов, більш сприятливих

для формування і функціонування симбіотичних систем люцерни з *S. meliloti*, – за оптимальної вологості та обробки насіння лектином. У раніше проведених нами експериментах із вивчення лектинової активності у рослинах люцерни, інокульованої різними штамами *S. meliloti*, також було показано залежність даного показника від процесів нодуляції та азотфіксації [2]. Слід також зазначити, що різноспрямованість ефектів, що мала місце для різних органів люцерни, свідчить про органоспецифічну залежність між рівнем лектинової активності та дією таких чинників як екзогенний лектин чи рівень водозабезпечення.

Список літератури

1. Веселовська Л.І., Коць С.Я. Вплив різних способів звстосування лектину на симбіотичні системи соя–*Bradyrhizobium japonicum*, сформовані в умовах оптимального та недостатнього водозабезпечення. *Физиология растений и генетика.* 2014. Т. 46, № 5. С. 437–448.
2. Михалків Л.М. Лектинова активність у різних органах люцерни при формуванні симбіозу із *Sinorhizobium meliloti* за різного водозабезпечення. *Сільськогосподарська мікробіологія*. Міжвідомчий тематичний науковий збірник. Чернігів, 2013. Вип. 17. С. 21–30.
3. *Bezrukova M., Kildibekova A., Shakirova F.* WGA reduces the level of oxidative stress in wheat seedlings under salinity. *Plant Growth Regulation*. 2008. Vol. 54, No 3. P. 195−201.
4. Lanoo N., Van Damme E.J.M. Lectin domains at the frontiers of plant defense. *Frontiers in Plant Science*. August 2014. Vol. 5. Article 397. DOI: https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00397.
5. Melnykova N. M., Mykhalkiv L. M., Mamenko P. M., Kots S. Ya. The areas of application for plant lectins. *Biopolymers and Cell*. 2013. Vol. 29, No 5. P. 357–366.