

УДК 579.22.577.121.7:581.43:633.11:632.11:632.121.1

ВЛИЯНИЕ ОБРАБОТКИ КОРНЕЙ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ (*Triticum aestivum* L.) ЛЕКТИНАМИ *Azospirillum* НА УСТОЙЧИВОСТЬ К АБИОТИЧЕСКОМУ СТРЕССУ

© 2025 г. С. А. Аленкина^{1,*}, М. А. Купряшина¹¹Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН»
410049 Саратов, просп. Энтузиастов, 13

*E-mail: s.alenkina@yandex.ru

Известно, что ростостимулирующие ризобактерии рода *Azospirillum* оказывают влияние на устойчивость растений к абиотическому стрессу, однако механизмы, лежащие в основе этого процесса, остаются неясными. В работе исследовали влияние лектинов азоспирилл на засухоустойчивость пшеницы *Triticum aestivum*. Поверхностные лектины штаммов *A. brasilense* Sp7 и *A. baldaniorum* Sp245 способны присоединяться к специфическим углеводам и обеспечивать связывание бактерий с поверхностью корня растения. Они обладают полифункциональностью, а эффекты, вызываемые лектинами, носят дозозависимый характер. В корнях проростков пшеницы в условиях засушливого стресса лектины с различной интенсивностью повышали активность пероксидазы, супероксиддисмутазы и каталазы. Лектины уменьшали перекисное окисление липидов, но увеличивали содержание вторичных метаболитов, таких как общие фенолы и флавоноиды. В корнях стрессированных проростков лектины вызывали дозозависимое увеличение содержания общего белка и приводили к изменению электрофоретических спектров низкомолекулярных белков. Полученные результаты позволили сделать вывод, что использование лектинов может обеспечить доступное и простое решение повышения продуктивности сельскохозяйственных культур в условиях ограниченной доступности воды.

Ключевые слова: ризосфера, пшеница, PGPR-микроорганизмы, азоспириллы, лектины, корни растений, засуха, стрессовые метаболиты.

DOI: 10.31857/S0002188125020069, **EDN:** VBNEFF

ВВЕДЕНИЕ

Засуха является наиболее распространенным неблагоприятным фактором окружающей среды, который, ухудшая условия питания растений, приводит к замедлению развития, что приводит к значительному снижению продуктивности растений [1, 2]. Для развития органического сельского хозяйства актуальными являются исследования по поиску соединений, продуцируемых растениями, грибами и микроорганизмами, применимых для защиты растений от биотических и абиотических стрессов. Большинство почвенных микроорганизмов могут колонизировать растения, связываясь с ними и усиливая рост и урожайность. Эти микроорганизмы обычно называют ризобактериями, способствующими росту растений (PGPR). Среди PGPR-микроорганизмов хорошо известны и широко используются в сельском хозяйстве представители рода *Azospirillum*. Азоспириллы, фиксирующие азот, привлекли внимание благодаря росту в тесной связи с корнями различных злаковых, широкому географическому распространению и стимулированию роста и развития растений. Эти

бактерии приносят пользу растениям несколькими прямыми и косвенными способами. Положительные эффекты связаны с биологической фиксацией азота, выработкой растительных гормонов, таких как индол-3-уксусная кислота (ИУК), которые способствуют развитию корней и увеличивают поглощение воды и питательных веществ, выработкой соединений, повышающих мембранную активность и пролиферацию тканей корня, смягчением воздействия стрессов, и борьбой с многочисленными патогенами растений [3]. Механизмы биоконтроля включают способность бактерий стимулировать протекторные реакции растений, которые повышают устойчивость [4]. В последнее время гораздо больше внимания уделяется анализу роли PGPR в улучшении роста растений в условиях стресса [5, 6].

Неоспоримым фактом является участие лектинов, белковых молекул в формировании межклеточных биологических взаимодействий, в том числе N₂-фиксирующих систем. Долгое время считали, что молекулами узнавания при взаимодействии углеводов с белками при образовании N₂-фиксирующих ассоциаций и симбиозов выступают исключительно

растительные лектины [7, 8]. Однако новые данные о лектинах N_2 -фиксирующих бактерий позволили рассматривать бактериальные лектины как участников лиганд-рецепторного связывания на начальных этапах взаимодействия азоспирилл с корнями растений [9–11]. Лектины, представляющие собой многофункциональные гликопротеины, были выделены с поверхности бактерий *A. brasilense* Sp7 и *A. baldaniorum* Sp245 [10]. Такие эффекты этих лектинов, как стимуляция прорастания семян, митогенная и фермент-модифицирующая активность, а также способность изменять содержание стрессовых метаболитов в растительных клетках носили дозозависимый характер [12–15]. Многие эффекты, индуцированные лектинами, наблюдали при низких концентрациях. Вероятно, как и другие регуляторы роста, лектины могут оказывать дозозависимое влияние на устойчивость пшеницы в условиях засухи стресса.

В настоящей работе предположили, что лектины могут оказывать дозозависимое влияние на устойчивость пшеницы в условиях засухи стресса. Цель работы — исследование влияния лектинов *A. brasilense* Sp7 и *A. baldaniorum* Sp245 на активность антиоксидантных ферментов, интенсивность перекисного окисления липидов, содержание вторичных метаболитов, качественное и количественное содержание белка в корнях проростков пшеницы в условиях засухи. Полученные результаты позволят сделать вывод о том, что использование лектинов может обеспечить доступное и простое решение для повышения продуктивности сельскохозяйственных культур в условиях ограниченной доступности воды.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Микроорганизмы и условия культивирования. Лектины выделяли с поверхности клеток *A. brasilense* Sp7 (IBPPM 150) и *A. baldaniorum* Sp245 (IBPPM 219), полученных из коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН (<http://collection.ibppm.ru>). Выделение, очистку белков и определение активности лектинов проводили, как описано ранее [12].

Стерилизация семян, получение корней проростков и предобработка корней препаратами лектинов при воздействии стресса. Семена пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Саратовская 29 (НИИСХ Юго-Востока, г. Саратов, Россия) подвергали поверхностной стерилизации в 70%-ном (об./об.) этаноле в течение 1 мин, затем пятикратно промывали стерильной водой. Семена проращивали в асептических условиях в чашках Петри на стерильной дистиллированной воде и инкубировали в темноте при температуре 25°C. Для экспериментов использовали корни 4-суточных проростков. Для изучения влияния лектинов и засухи на изученные показатели корни проростков выдерживали в течение 2 ч в растворе 5%-ной сахарозы или в растворах лектинов (концентрация 0.1–1.2 мМ) и 5%-ной сахарозы.

Определение активности антиоксидантных ферментов. Свежие корни (0.5 г) гомогенизировали отдельно в 4 мл 50 мМ натрий-фосфатного буфера (рН 7.0), содержащего 0.1 мМ ЭДТА- Na_2 , 1% (масса/об.) поливинилпирролидона и 0.05% (масса/об.) Тритона X-100 на ледяной бане. Гомогенат центрифугировали при 12 000 g в течение 15 мин при 4°C. Супернатант использовали для определения активности супероксиддисмутазы (СОД), пероксидазы (ПО) и каталазы (КАТ) в соответствии с методами, описанными в [16–18].

Определение содержания фенольных соединений и флавоноидов. Свежие корни экстрагировали в течение 20 мин 50%-ным метанолом. Экстракты фильтровали под вакуумом с использованием фильтровальной бумаги Whatman № 1 (Sigma-Aldrich, США). В экстрактах определяли общее количество растворимых фенольных соединений с помощью реактива Фолина–Дениса (оптическая плотность 725 нм) [19]. Содержание флавоноидов определяли по реакции с 1%-ным водным раствором хлорида алюминия (оптическая плотность 415 нм) [20]. Для сравнительного анализа вариантов содержание определяемых веществ выражали в % от контроля. За 100% принимали количество фенолов и флавоноидов, содержащихся в корнях контрольных растений.

Определение интенсивности перекисного окисления липидов. Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в корнях определяли путем измерения количества малонового диальдегида (МДА) с использованием тиобарбитуровой кислоты. Свежие корни проростков (1 г) гомогенизировали в 4.0 мл 10%-ной трихлоруксусной кислоты и центрифугировали при 5000 g 10 мин при 4°C. В супернатанте анализировали количество МДА по методу [21]. Для расчета содержания МДА использовали молярный коэффициент экстинкции $155 \text{ мМ}^{-1} \text{ см}^{-1}$. Содержание МДА выражали в мкмоль/г сырой массы. Для сравнительного анализа вариантов содержание МДА выражали в % от контроля. За 100% принимали количество МДА, содержащееся в клетках корней контрольных растений.

Содержание растворимых белков. Супернатант также использовали для определения количества белка в корнях по методу Bradford [22], используя бычий сывороточный альбумин в качестве стандарта.

Исследование электрофоретического спектра низкомолекулярных белков. Для выделения растворимых белков корни измельчали в охлажденной керамической ступке. Белки экстрагировали 50 мМ трис–HCl-буфером (рН 6.8), содержащим 0.3 М сахарозы, 8 мМ ЭДТА, 4 мМ дитиотреитола, 2 мМ фенилметилсульфонилфторида. Гомогенат центрифугировали при 6000 g и 4°C в течение 10 мин. Супернатант использовали для электрофореза в 13%-ном ПААГ, который проводили по методу Laemmli [23]. Содержание белков определяли по методу Bradford [22]. В качестве маркеров использовали набор стандартных

белков с молекулярными массами 14.4–66.2 кДа. Для количественной характеристики низкомолекулярных белков теплового шока (нмБТШ) использовали программу GelAnalyzer2010.

Статистическая обработка данных. Статистическую обработку данных проводили с использованием дисперсионного анализа (ANOVA) с помощью пакета программ AGROS для статистического анализа (верс. 2.09, Департамент статистического анализа РАСХН). Объем выборки: $n = 3$. Варианты, достоверно различающиеся по критерию Фишера (F -критерию) при уровне значимости $p \leq 0.05$, обозначены в таблицах разными буквами латинского алфавита (a, b, c, ...).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для подтверждения смягчающего эффекта лектинов *A. brasiliense* Sp7 и *A. baldaniorum* Sp245 на окислительную детоксикацию в растениях, подверженных засухе, была измерена активность 3-х ферментов корней проростков пшеницы: ПО, КАТ и СОД. Чтобы изучить влияние лектинов на активность корневых ферментов в условиях засухи, мы ограничили время инкубации корней с лектинами до 2 ч. Концентрации лектинов составляли 0.1–1.2 мМ и были выбраны на основании наших предыдущих опытов.

Совместное воздействие лектинов и моделируемой засухи привело к максимальному увеличению активности ПО в корнях проростков пшеницы после 30 мин инкубации. В случае лектина *A. brasiliense* Sp7 наибольшее увеличение отмечено при концентрации лектина 0.6 мМ. Для лектина эндофитного штамма максимальное действие на этот фермент наблюдали при концентрации 0.1 мМ (табл. 1).

Анализ активности КАТ показал, что она существенно возрастала по сравнению с контролем только после воздействия лектинов на корни в течение 1 ч. В этот период лектин *A. baldaniorum* Sp245 был более активен, чем лектин *A. brasiliense* Sp7, и активация достигала максимума при 0.3 мМ эпифитного лектина и 0.1 мМ эндофитного лектина. Активность СОД увеличивалась через 1 ч инкубации при всех концентрациях обоих лектинов. Лектин *A. brasiliense* Sp7 был наиболее эффективен при концентрации 0.6 мМ, лектин *A. baldaniorum* Sp245 – в концентрации 0.3 мМ. Эти результаты показали, что использование лектинов регулировало состояние антиоксидантной защиты в растениях, подвергшихся засухе.

Установлено, что в корнях проростков пшеницы при совместном воздействии лектинов и исследованного стресса происходило снижение количества МДА. При сочетании с лектином *A. brasiliense* Sp7

Таблица 1. Влияние лектинов *A. brasiliense* Sp7 и *A. baldaniorum* Sp245 на активность ПО, КАТ и СОД в корнях проростков пшеницы при воздействии смоделированной засухи

Лектин, мМ	Время инкубации, мин							
	15		30		60		120	
	Пероксидаза, %							
	Sp7	Sp245	Sp7	Sp245	Sp7	Sp245	Sp7	Sp245
Контроль	105a	105a	115a	115a	121a	121a	125a	125a
	0.1	110a	150a	157a	205a	130b	170b	130a
	0.3	120b	125b	185b	190b	132b	152b	135b
	0.6	125b	115b	192d	177d	145c	145c	140b
	1.2	119b	110b	177c	117c	140c	135c	130a
Контроль	Каталаза, %							
	Sp7	Sp245	Sp7	Sp245	Sp7	Sp245	Sp7	Sp245
	115a	115a	125a	125a	130a	130a	135a	135a
	0.1	130a	154a	136c	165c	170c	140b	145b
	0.3	140a	144a	155c	145c	160c	155c	145b
	0.6	124a	130a	130b	135b	136b	140b	136a
	1.2	118a	120a	125a	128a	130a	135a	130a
	СОД, %							
	Sp7	Sp245	Sp7	Sp245	Sp7	Sp245	Sp7	Sp245
	Контроль	125a	125a	140a	140a	152a	152a	155a
0.1	128a	133a	142a	142a	155a	180a	150a	162a
0.3	135a	152a	153a	164a	172b	195b	166b	170b
0.6	140a	135a	165b	145b	180c	165c	174a	164a
1.2	123b	123b	140b	140b	150a	150a	157a	155a

Примечания. 1. Результаты представлены как средние арифметические \pm стандартная ошибка. Разными буквами обозначены достоверно отличающиеся величины ($p < 0.05$). То же в табл. 2, 3. 2. За 100% принята активность ферментов в корнях.

и моделируемой засухи наибольшее снижение наблюдали после 15 мин инкубации с корнями и концентрации лектина 0.6 мМ. Для лектина эндофитного штамма максимальное влияние на изученный признак наблюдали при концентрации 0.1 мМ после 15-минутной инкубации (рис. 1).

В условиях, имитирующих засуху, наибольшее содержание общих фенольных соединений увеличивалось в корнях проростков после 30-минутной инкубации с 0.6 мМ лектина *A. brasilense* Sp7. Для лектина эндофитного штамма максимальное влияние на изученный признак отмечено при концентрации 0.3 мМ после 30-минутной инкубации (рис. 2).

Имитация засухи привела к повышению содержания флавоноидов в корнях проростков с максимумом после 1 ч стресса (1.2 мг/г сырой массы). Совместное воздействие лектинов *A. brasilense* Sp7

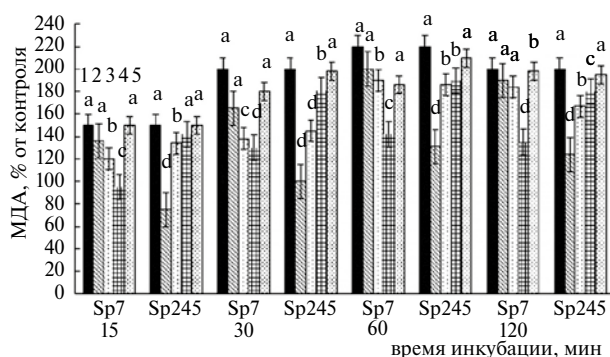


Рис. 1. Влияние лектинов *A. brasilense* Sp7 и *A. baldaniorum* Sp245 на содержание МДА в корнях проростков пшеницы при засухе: 1 — контроль, без лектинов, 2 — 0.1 мМ, 3 — 0.3 мМ, 4 — 0.6 мМ, 5 — 1.2 мМ. Результаты представлены как средние арифметические \pm стандартная ошибка. Разными буквами обозначены достоверно отличающиеся величины ($p < 0.05$). То же на рис. 2–3.

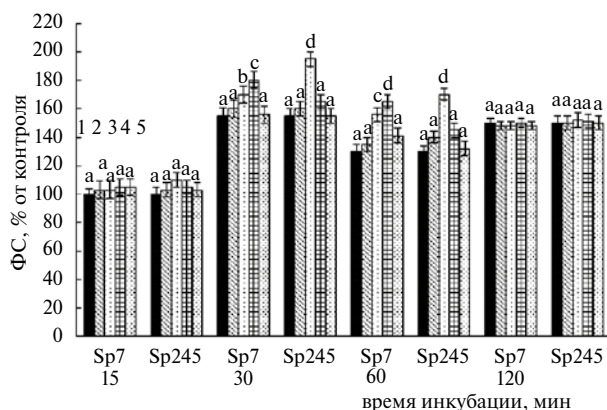


Рис. 2. Влияние лектинов *A. brasilense* Sp7 и *A. baldaniorum* Sp245 на содержание ФС в корнях проростков пшеницы при засухе: 1 — контроль, без лектинов, 2 — 0.1 мМ, 3 — 0.3 мМ, 4 — 0.6 мМ, 5 — 1.2 мМ.

и *A. baldaniorum* Sp245 с этим стресс-фактором привело к максимальному увеличению количества флавоноидов по сравнению с контрольными вариантами после 60 мин инкубации с корнями проростков. Для лектина *A. brasilense* Sp7 увеличение составило 45% (концентрация лектина 0.3 мМ), для лектина *A. baldaniorum* Sp245 — 60% (концентрация лектина 0.1 мМ) по сравнению с контролем (рис. 3).

Еще одним важным показателем защиты растений от стресса является восстановление содержания общего белка. Снижение общего содержания белка при стрессе может быть связано с угнетением синтеза белка и его деградацией. Стресс засухи привел к максимальному снижению содержания белка в корнях после обработки в течение 1 ч. Применение 0.3 мМ лектина *A. brasilense* Sp7 и 0.1 мМ лектина *A. baldaniorum* Sp245 значительно обратило вспять вызванное стрессом снижение и увеличило содержание белка на 23% и 30% соответственно по сравнению с растениями, не обработанными лектинами. В обоих случаях содержание белка в корнях также увеличивалось при более низких и более высоких концентрациях лектина (0.1 и 0.6 мМ соответственно), но в меньшей степени, чем в предыдущем случае. Однако использование лектинов в концентрации 1.2 мМ не привело к существенному изменению содержания белка в корнях по сравнению с растениями, не обработанными лектинами, в условиях засушливого стресса (табл. 2).

Образование низкомолекулярных белков теплового шока (нмБТШ) в ответ на различные абиотические факторы позволяет рассматривать их как молекулярные маркеры стрессового состояния. Электрофореграмма белков в корнях, подвергшихся стрессу засухой, показала уменьшение количества всех низкомолекулярных белков, присутствующих в спектре, по сравнению с чистыми корнями. При анализе белковых треков, соответствующих опытному вариантам, отмечено утолщение зон, что свидетельствовало

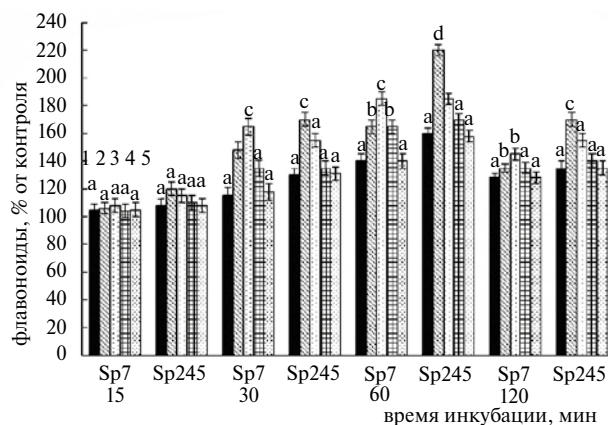


Рис. 3. Влияние лектинов *A. brasilense* Sp7 и *A. baldaniorum* Sp245 на содержание флавоноидов в корнях проростков пшеницы при засухе: 1 — контроль, без лектинов, 2 — 0.1 мМ, 3 — 0.3 мМ, 4 — 0.6 мМ, 5 — 1.2 мМ.

Таблица 2. Влияние лектинов *A. brasilense* Sp7 и *A. baldaniorum* Sp245 на содержание общего растворимого белка в корнях проростков пшеницы при воздействии смоделированной засухи

Лектин, мМ	Растворимые белки, %							
	Время инкубации, мин							
	15		30		60		120	
	Sp7	Sp245	Sp7	Sp245	Sp7	Sp245	Sp7	Sp245
Контроль	96 ± 2a	96 ± 2a	85 ± 3a	85 ± 3a	60 ± 2a	60 ± 2a	87 ± 2a	87 ± 2a
0.1	97 ± 2a	98 ± 2a	86 ± 3a	98 ± 2a	71 ± 3c	90 ± 2a	89 ± 3a	90 ± 2a
0.3	98 ± 3a	97 ± 3a	88 ± 4a	88 ± 3a	83 ± 4d	85 ± 3a	91 ± 4a	87 ± 3a
0.6	97 ± 3a	97 ± 3a	87 ± 2a	87 ± 3a	75 ± 2c	80 ± 3a	89 ± 3a	87 ± 3a
1.2	96 ± 2a	96 ± 2a	86 ± 3a	86 ± 2a	62 ± 3a	60 ± 2a	87 ± 2a	86 ± 2a

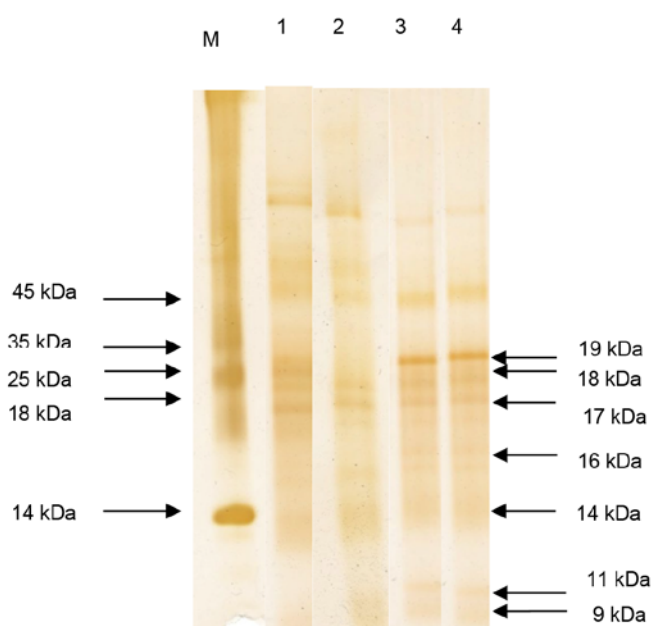
Примечание. За 100% принято количество растворимого белка в корнях.

об увеличении концентрации белка после обработки корней лектинами *A. brasilense* Sp7 и *A. baldaniorum* Sp245. На электрофореграмме видно утолщение 3-х белковых зон в образце, что соответствовало 60-минутной инкубации с лектином *A. brasilense* Sp7 в концентрации 0.3 мМ и 60-минутной инкубации с лектином *A. baldaniorum* Sp245 в концентрации 0.1 мМ. Следует отметить, что в этом случае существенных количественных различий между штаммами не было выявлено (табл. 3, рис. 4).

Пшеница является основной зерновой культурой в мире. Однако стресс от засухи приводит к серьезному снижению урожайности пшеницы в различных регионах выращивания пшеницы по всему миру. Дефицит воды на критической стадии роста пшеницы приводит к значительным потерям урожая пшеницы. Стресс засухи влияет на все аспекты роста пшеницы — от прорастания до зрелости.

Азоспириллы способны синтезировать лектины — гликопротеины, обладающие способностью высокоспецифично связывать углеводные остатки на поверхности растительной клетки. Лектины *A. brasilense* Sp7 и *A. baldaniorum* Sp245 были выделены с поверхности штаммов, отличающихся условиями существования бактерий — в ризосфере и внутри корня. Лектины способствуют росту растений, способны модифицировать активность ферментов, а также могут изменять содержание стрессовых метаболитов в клетках растений, что указывает на их способность индуцировать адаптационные процессы в корнях проростков пшеницы [12–15].

Стресс засухи приводит к значительным изменениям в биохимии пшеницы. Стресс засухи приводит к повышенному накоплению активных форм кислорода (АФК) в растениях [24]. Повышение продукции и накопления АФК влияет на различные клеточные механизмы, такие как деградация белков, ингибирование ферментов, окислительное повреждение ДНК и РНК и перекисное окисление мембранных липидов, которые вызывают гибель клетки [25, 26].

**Рис. 4.** Влияние лектинов *A. brasilense* Sp7 и *A. baldaniorum* Sp245 на электрофоретический спектр низкомолекулярных белков в корнях проростков, происходящем под влиянием засухи. М — молекулярные маркеры, 1 — контроль корни, 2 — корни + засуха, 3 — корни + засуха + лектин *A. brasilense* Sp7 0.3 мМ, 60 мин, 4 — корни + засуха + лектин *A. baldaniorum* Sp245 0.1 мМ, 60 мин.

Антиоксидантные ферменты помогают избежать окислительного стресса и поддерживать нормальную клеточную функцию [27, 28]. Нами показано, что лектины значительно изменили уровень активности антиоксидантных ферментов в подвергшихся стрессу корнях в течение нескольких минут после стресса. Отмечено увеличение активности ПО, СОД и КАТ. Наши данные подтвердили результаты работы [29], в которой показали, что азоспириллы способны повышать активность ПО и СОД в растениях при различных абиотических стрессах. Повышение

Таблица 3. Влияние лектинов *A. brasiliense* Sp7 и *A. baldaniorum* Sp245 на электрофоретический спектр низкомолекулярных белков в корнях проростков при воздействии смоделированной засухи.

Молекулярная масса белков, (кДа)	% от контроля															
	Время инкубации, мин															
	15				30				60				120			
	Лектин <i>A. brasiliense</i> Sp7 (mM)															
	к	0.1	0.3	0.6	к	0.1	0.3	0.6	к	0.1	0.3	0.6	к	0.1	0.3	0.6
19	10a	50cd	90d	59c	27a	67d	90d	80d	25a	65d	96d	85d	15a	60d	87d	75b
18	60a	71c	75cd	52c	74a	80d	87c	76b	71a	75cd	85c	78cd	65a	77d	80c	74b
17	65a	73c	89d	79c	80a	84b	90cd	85c	75a	78a	95cd	80c	70a	73a	81cd	75b
16	70a	72a	78c	73a	76a	78a	84c	80b	76a	78a	86c	80b	74a	75a	80c	75a
14	80a	81a	85b	79a	90a	89a	92b	85a	89a	90a	94c	85b	85a	88a	90b	83a
11	75a	78a	85c	70a	87a	88a	89b	85a	85a	89b	95c	80b	80a	85b	90c	84a
9	60a	65b	88d	63a	75a	80b	90cd	76a	70a	75a	94d	80c	65a	70a	90d	65a
Лектин <i>A. baldaniorum</i> 245 (mM)																
19	10a	92d	60cd	55c	25a	95d	82d	62c	25a	96d	84d	67c	27a	92d	80d	67c
18	60a	77d	73b	65b	68a	85d	81d	77c	71a	87d	80cd	78b	74a	87c	81cd	60bc
17	65a	89d	79c	75c	72a	92d	85cd	73a	75a	95d	82cd	79b	80a	91a	84b	70c
16	70a	78c	74bc	73a	74a	83c	77b	76a	76a	87cd	80b	78a	76a	81b	84c	78a
14	80a	87d	79a	74b	85a	88b	83a	79a	89a	95cd	90a	87a	90a	89a	89a	85a
11	75a	85dc	74a	78a	82a	91c	84a	85b	85a	96c	89b	83a	87a	89a	88a	85a
9	60a	88d	65b	60a	67a	90cd	85d	72cd	70a	94d	80c	76b	75a	92cd	85c	81b

Примечание. За 100% принято количество белка в корнях.

активности КАТ могло быть связано с действием салициловой кислоты, синтез которой индуцируется лектинами азоспирилл [12].

Наиболее ранние изменения в ответ на неблагоприятные внешние факторы происходят на уровне наружной мембраны растительной клетки – плазмалеммы. Одной из быстрых и неспецифических реакций клеточных мембран, вызванных любым стрессом, является усиление перекисного окисления мембранных липидов, что является основной причиной повреждения и гибели растений. Количество МДА, продукта ПОЛ, является индикатором окислительного повреждения клеточных мембран. Предварительная обработка лектинами снижала окислительный стресс в растениях в условиях засухи, о чем свидетельствовал более низкий уровень содержания МДА.

Фенольные соединения являются незаменимыми компонентами клеток высших растений и выполняют в них различные функции. Они участвуют в окислительно-восстановительных процессах (компоненты электрон-транспортных цепей дыхания и фотосинтеза), иммунных реакциях, они используются как резервный энергетический материал, регулируют рост и развитие растений и защищают клетки от стресса. Обладая высокой реакционной способностью, эти вторичные метаболитические соединения могут инактивировать свободные радикалы, тем самым защищая клетки от АФК. Имеются данные, указывающие на увеличение содержания фенолов в стрессированных тканях растений [30]. Фенольные кислоты и флавоноиды являются наиболее распространенными. Фенольные соединения в пшенице встречаются как в свободной, так и в связанной форме в различных концентрациях. Оценка содержания фенолов в корнях проростков пшеницы, обработанных лектинами, показала, что они способны значительно повышать содержание фенольных соединений в корнях в начальный период моделирования стресса.

Окислительное повреждение белков включает модификацию аминокислот, расщепление пептидной цепи, агрегацию сшитых продуктов реакции и т.п., при этом окисление некоторых аминокислотных остатков приводит к образованию оксогрупп, повышающих восприимчивость белков к протеолизу [31]. Под воздействием неблагоприятных факторов, в том числе засухи, угнетается синтез белка, усиливается его деградация и в целом нарушается белковый обмен, о чем свидетельствует снижение содержания общего растворимого белка [32]. Действительно, в нашем исследовании стресс несколько снизил содержание общего растворимого белка в корнях проростков пшеницы. Низкие концентрации лектинов значительно повышали уровень растворимого белка в корнях по сравнению с корнями, не обработанными лектинами, в условиях стресса. Этот результат свидетельствовал о том, что лектины, проявляя

защитное действие, способствовали нормализации белкового обмена в условиях засухи.

Одним из важнейших классов стрессовых белков для растительных организмов являются белки теплового шока [33]. Среди белков семейства нмБТШ выделяют стресс-индуцированные и конституциональные. Образование нмБТШ коррелирует с развитием устойчивости к абиотическим факторам. Основными функциями нмБТШ являются сохранение структуры и предотвращение агрегации белков, восстановление структуры и функциональной активности денатурированных белков, удаление нефункциональных потенциально опасных полипептидов, участие в транслокации белков через мембраны митохондрий, хлоропластов и эндоплазматическая сеть [34]. Образование нмБТШ в ответ на различные абиотические факторы позволяет рассматривать их как молекулярные маркеры стрессового состояния [35]. При изучении влияния лектинов на нмБТШ корней проростков не было отмечено существенных количественных различий между штаммами. Но лектин эндофитного штамма оказался более эффективным, поскольку вызывал эффект быстрее и в меньших концентрациях.

Во всех изученных вариантах лектины проявляли разный уровень активности, что, вероятно, обуславливало различные адаптационные возможности. Лектин *A. baldaniorum* Sp245 оказался более эффективным, поскольку максимальный эффект достигался раньше по времени и при более низкой концентрации по сравнению с лектином *A. brasilense* Sp7. Это можно объяснить различиями в структуре и углеводной специфичности этих белков. А это, в свою очередь, приводит к различиям во взаимодействии с поверхностью растительных клеток, что имеет решающее значение для последующих стадий [10, 12, 36]. Регуляция роста растений лектинами сложна, о чем свидетельствуют различия в концентрациях. Эти различия можно объяснить влиянием изученного стрессового фактора на связывание лектинов с рецепторами, расположенными на корнях. Обнаруженные концентрационные зависимости очень важны и полезны для понимания адаптационных процессов, происходящих в растениях под влиянием лектинов как регуляторов роста растений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, показано, что применение лектинов может изменять систему антиоксидантной защиты растений в условиях ограниченности воды. Установлено дозозависимое влияние лектинов на активность антиоксидантных ферментов, перекисное окисление липидов, содержание фенолов, содержание общего растворимого белка и низкомолекулярных белков в корнях пшеницы. Разработка недорогих и экологически чистых технологий, таких как применение лектинов, имеет решающее значение в контексте повышения урожайности, и наши результаты дают новое представление о потенциале

лектинов в растениеводстве. Настоящие результаты дополняют предыдущие выводы о том, что лектины азоспирилл могут участвовать в адаптации к стрессу и вызывать индукцию защитных механизмов растений. Таким образом, защитное действие лектинов в растениях носит разнонаправленный (многофункциональный) характер.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Takahashi F., Kuromori T., Urano K., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. Drought stress responses and resistance in plants: from cellular responses to long-distance intercellular communication // *Front. Plant Sci.* 2020. V. 11. P. 556972.
2. Oguz M.C., Aycan M., Oguz E., Poyraz I., Yildiz M. Drought stress tolerance in plants: interplay of molecular, biochemical and physiological responses in important development stages // *Physiologia.* 2022. V. 2. P. 180–197.
3. Puente M.L., Gualpa G.L., Lopez G.A., Molina R.M., Carletti S.M., Cassán F.D. The benefits of foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* in soybean are explained by an auxin signaling model // *Symbiosis.* 2018. V. 76. P. 41–49.
4. Bhattacharyya P.N., Jha D.K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2012. V. 28. P. 1327–1350.
5. Cassan F., Diaz-Zorita M. *Azospirillum* sp. in current agriculture: From the laboratory to the field // *Soil Biol. Biochem.* 2016. V. 103. P. 117–130.
6. Lana M., Dartora J., Marini D., Hann J. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize // *Rev. Ceres Viçosa.* 2012. V. 59. P. 399–405.
7. Laus M.C., Logman T.J., Lamers G.E., Van Brussel A.N., Carlson R.W., Kijne J.W. A novel polar surface polysaccharide from *Rhizobium leguminosarum* binds host plant lectin // *Mol. Microbiol.* 2006. V. 59(6). P. 61704–61713.
8. Антонюк Л.П., Евсеева Н.В. Лектин пшеницы как фактор растительно-микробной коммуникации и белок стрессового ответа // *Микробиология.* 2006. Т. 75. № 4. С. 544–549.
9. Castellanos T., Ascencio F., Bashan Y. Cell-surface lectins of *Azospirillum* spp. // *Curr. Microbiol.* 1998. V. 36. P. 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. М.: Наука, 2005. С. 70–97.
11. Alen'kina S.A., Payusova O.A., Nikitina V.E. Effect of *Azospirillum* lectins on the activities of wheat-root hydrolytic enzymes // *Plant and Soil.* 2006. V. 283. P. 147–151.
12. Alen'kina S.A., Bogatyrev V.A., Matora L.Yu., Sokolova M.K., Chernysheva M.P., Trutneva K.A., Nikitina V.E. Signal effects of the lectin from the associative nitrogen-fixing bacterium *Azospirillum brasilense* Sp7 in bacterial-plant root interactions // *Plant and Soil.* 2014. V. 381. P. 337–349.
13. Alen'kina S.A., Romanov N.I., Nikitina V.E. Regulation by *Azospirillum* lectins of the activity of antioxidant enzymes in wheat seedling roots under short-term stresses // *Brazil. J. Bot.* 2018. V. 41. P. 579–587.
14. Аленькина С.А., Никитина В.Е. Влияние лектинов азоспирилл на активность аскорбатпероксидазы и содержание аскорбиновой кислоты в корнях проростков пшеницы при абиотических стрессах // *Прикл. биохим. и микробиол.* 2020. Т. 56. № 2. С. 174–181.
15. Аленькина С.А., Никитина В.Е. Стимулирующий эффект лектинов ассоциативных бактерий рода *Azospirillum* на всхожесть и морфометрические характеристики проростков яровой пшеницы при смоделированных абиотических стрессах // *Физиология растений.* 2021. Т. 68. № 2. С. 1–7.
16. Хайруллин Р.М., Яруллина Л.Г., Трошина Н.Б., Ахметова И.Э. Активация хитоолигосахаридами окисления орто-фенилендиамина проростками пшеницы в присутствии щавелевой кислоты // *Биохимия.* 2001. Т. 66. № 3. С. 354–358.
17. Aebi H. Catalase *in vitro* // *Methods in Enzymology* / Ed. Packer L. San Diego: Academic Press, 1984. V. 105. P. 121–126.
18. Alscher R.G., Erturk N., Heath L.S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress plants // *J. Exp. Bot.* 2002. V. 53. P. 1331–1341.
19. Makkar H.P.S., Siddhuraju P., Becker K. Trypsin inhibitor // *Plant Secondary Metabolites.* N.J.: Humana Press, Totowa, 2007. V. 393. P. 1–122.
20. Marinova D., Ribarova F., Atanassova M. Total phenolics and total flavonoids in bulgarian fruits and vegetables // *J. Univ. Chem. Technol. Metall.* 2005. V. 40. P. 255–260.
21. Wu H., Wu X., Li Z., Duan L., Zhang M. Physiological evaluation of drought stress tolerance and recovery in cauliflower (*Brassica leracea* L.) seedlings treated with methyl jasmonate and coronatine // *J. Plant Growth Regul.* 2012. V. 31. P. 113–123.
22. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem.* 1976. V. 72. P. 248–254.
23. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage // *Nature.* 1970. V. 227(5259). P. 680–685.
24. Ashraf M. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers // *Biotechnol. Adv.* 2009. V. 27. P. 84–93.
25. Ishikawa T., Takahara K., Hirabayashi T., Matsumura H., Fujisawa S., Terauchi R., Kawai-Yamada M. Metabolome analysis of response to oxidative stress in rice suspension cells overexpressing cell death suppressor Bax inhibitor-1 // *Plant Cell Physiol.* 2010. V. 51(1). P. 9–20.
26. Huseynova I.M. Photosynthetic characteristics and enzymatic antioxidant capacity of leaves from wheat cultivars exposed to drought // *Biochim. Biophys. Acta (BBA)—Bioenerg.* 2012. V. 1817(8). P. 1516–1523.
27. Guidi L., Tattini M. Antioxidant defenses in plants: a dated topic of current interest // *Antioxidants.* 2021. V. 10(6). P. 855.

28. Horváth E., Pál M., Szalai G., Páldi E., Janda T. Exogenous 4-hydroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short term drought and freezing stress on wheat plants // Biol. Plantarum. 2007. V. 51(3). P. 480–487.
29. Arzanesh M.H., Alikhani H.A., Khavazi K., Rahimian H.A., Miransari M. In vitro growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings, inoculated with *Azospirillum* sp., under drought stress // Inter. J. Bot. 2009. V. 5. P. 244–249.
30. Darkó É., Fodor J., Dulai S., Ambrus H., Szenzenstein A., Király Z., Barnabás B. Improved cold and drought tolerance of doubled haploid maize plants selected for resistance to prooxidant tert-butyl hydroperoxide // J. Agron. Crop Sci. 2011. V. 197(6). P. 454–465.
31. Georgiadou E.C., Ntouriou T., Goulas V., Manganaris G.A., Kalaitzis P., Fotopoulos V. Temporal analysis reveals a key role for VTE5 in vitamin E biosynthesis in olive fruit during on-tree development // Front. Plant Sci. 2015. V. 6. P. 871.
32. Ahmad Z., Waraich E.A., Akhtar S., Anjum S., Ahmad T., Mahboob W., Rizwan M. Physiological responses of wheat to drought stress and its mitigation approaches // Acta Physiol. Plantarum. 2018. V. 40(4). P. 80.
33. Kotak S., Larkindale J., Lee U., von Koskull-Doring P., Vierling E., Scharf K.D. Complexity of the heat stress response in plants // Curr. Opin. Plant Biol. 2007. V. 10. P. 310–316.
34. Kosmala Ar., Bocian Al., Rapicz M., Jurczyk B., Zwierzykowski Zb. Identification of leaf proteins differentially accumulated during cold acclimation between *Festuca pratensis* plants with distinct level of frost tolerance // J. Exp. Bot. 2009. V. 60. P. 3595–3609.
35. Cheng G., Basha E., Wysocki V.H., Vierling E. Insights into small heat shock protein substrate structure during chaperone action derived from hydrogen/deuterium exchange and mass spectrometry // J. Biol. Chem. 2008. V. 283. P. 26634–26642.
36. Шелудько А.В., Пономарева Е.Г., Варшоломидзе 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.

Influence of Treatment of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Seedling Roots with *Azospirillum* Lectins on Resistance to Abiotic Stress

S. A. Alen'kina^{a,#}, M. A. Kupryashina^a

^a*Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, prospekt Entuziastov 13, Saratov 410049, Russia
E-mail: s.alenkina@yandex.ru*

It is known that growth-stimulating rhizobacteria of the genus *Azospirillum* have an effect on plant resistance to abiotic stress, but the mechanisms underlying this process remain unclear. The effect of azospirillum lectins on the drought resistance of wheat *Triticum aestivum* was investigated. The surface lectins of the strains *A. brasilense* Sp7 and *A. baldaniorum* Sp245 are able to attach to specific carbohydrates and ensure the binding of bacteria to the surface of the plant root. They are multifunctional, and the effects caused by lectins are dose-dependent. In the roots of wheat seedlings under conditions of arid stress, lectins increased the activity of peroxidase, superoxide dismutase and catalase with varying intensity. Lectins reduced lipid peroxidation, but increased the content of secondary metabolites such as common phenols and flavonoids. In the roots of stressed seedlings, lectins caused a dose-dependent increase in the total protein content and led to a change in the electrophoretic spectra of low-molecular-weight proteins. The results obtained led to the conclusion that the use of lectins can provide an affordable and simple solution to increase crop productivity in conditions of limited water availability.

Keywords: rhizosphere, wheat, PGPR microorganisms, azospirils, lectins, plant roots, drought, stress metabolites.