

УДК 582.736:579.841.31:577.112

ВЛИЯНИЕ БИНАРНЫХ КОМПОЗИЦИЙ ЛЕКТИНОВ СОИ И ГОРОХА НА ФОРМИРОВАНИЕ СОЕВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА

© 2015 г. Н. Н. Мельникова, С. Я. Коць

Институт физиологии растений и генетики

Национальной академии наук Украины

(Киев, Украина)

Исследовали влияние бинарных композиций лектинов семян сои и гороха на клубенькообразование, азотфиксирующую активность соево-ризобиального симбиоза и формирование вегетативной массы растений в условиях мелкоделяночного эксперимента. Клубеньковые бактерии *Bradyrhizobium japonicum* 634б инкубировали с моно- и бинарными композициями лектинов бобовых и выращивали в жидкой питательной среде. Показано, что активность образования клубеньков на корнях сои и их азотфиксирующая способность зависели от продолжительности культивирования ризобий с агглютинидами, концентрации этих белков и способа формирования бинарных композиций. Инокуляция сои бактериями *B. japonicum* 634б, которые обрабатывали лектинами одновременно, в большинстве случаев вызывала увеличение количества и массы корневых клубеньков. Совместное инкубирование лектинов в течение одного часа до внесения в суспензию ризобий не оказывало заметного стимулирующего влияния на развитие бобово-ризобиального симбиоза. Полученные результаты указывают на способность лектина гороха модулировать действие соевого агглютинина при формировании симбиотических азотфиксирующих систем.

Ключевые слова: *Glycine max*, *Bradyrhizobium japonicum*, лектин сои, лектин гороха, симбиоз, клубенькообразование, азотфиксация

Лектины (агглютинины) – это белки не-иммунного происхождения, которые способны обратимо и с высокой специфичностью связывать углеводы и углеводные детерминанты биополимеров. Лектины бобовых представляют собой одно из наиболее изученных семейств агглютинирующих белков. Они имеют похожую аминокислотную последовательность, но различаются по углеводсвязывающей специфичности (Ramos et al., 2000). Лектины бобовых могут выполнять разные функции на протяжении жизненного цикла растений (Kovalchuk et al., 2012). Однако наиболее важной их ролью считается участие в процессах, связанных с формированием симбиотических взаимоотношений между бобовыми растениями и клубеньковыми бактериями (Коць и др., 2007). Так, было показано, что лектин семян сои может повышать адсорбционный потенциал ризобиальных клеток к корню растения-хозяина, а также

улучшать конкурентоспособность и инфекционность симбиотических азотфиксаторов (Lodeiro et al., 2000). Кроме того, соевый агглютинин при инкубировании с гомологичными бактериями был способен стимулировать клубенькообразование и увеличивать азотфиксирующую активность соево-ризобиального симбиоза (Маліченко та ін., 2002).

Другой хорошо изученный агглютинин – лектин гороха – при внесении в суспензию клубеньковых бактерий способствовал росту микроорганизмов (Косенко, Мандровская, 1998), что является необходимым элементом в обеспечении достаточного количества микробных клеток вблизи восприимчивой к ризобиям зоны корня растения при формировании растительно-микробных взаимоотношений. Было показано, что агглютинин семян гороха может влиять на биосинтез поверхностных полисахаридов клубеньковых бактерий (Косенко, Мандровская, 1998), которые играют важную роль в установлении и развитии бобово-ризобиального симбиоза (Коць и др., 2007). Интересно, что инкубирование ризобий сои с гетерологич-

ным им лектином гороха вызывало увеличение вегетативной массы растений сои, инокулированной этими бактериями (Маліченко та ін., 2002), что указывает на возможность использования агглютинина гороха с целью повышения потенциала ризобияльной культуры и эффективности симбиотических азотфиксирующих систем сои.

На протяжении ряда лет активно исследуют влияние отдельных лектинов бобовых на нодуляционную активность клубеньковых бактерий, а также способность последних фиксировать азот атмосферы в симбиозе с бобовыми растениями (Halverson, Stacey, 1986; Маліченко та ін., 2002). В то же время бинарные композиции агглютинирующих белков могут иметь более выраженное стимулирующее действие на формирование растительно-микробных симбиотических взаимоотношений.

Целью настоящей работы было оценить клубенькообразование, азотфиксирующую активность соево-ризобияльного симбиоза и массу надземной части растений, инокулированных клубеньковыми бактериями *V. japonicum* 634б, которые инкубировали с бинарными препаратами лектинов семян сои и гороха.

МЕТОДИКА

В работе использовали клубеньковые бактерии сои *Bradyrhizobium japonicum* 634б из музейной коллекции микроорганизмов отдела симбиотической азотфиксации Института физиологии растений и генетики НАН Украины, растения сои *Glycine max* (L.) Merr. сорта Марьяна (совместная селекция Института физиологии растений и генетики НАН Украины и Селекционно-генетического института НААН Украины), а также коммерческие лектины семян сои (гомологичный) и гороха (гетерологичный) («Лектинотест», Львов).

Микроорганизмы выращивали на маннитно-дрожжевой агаризованной среде при 28°C до начала стационарной фазы роста. Микробную биомассу смывали физиологическим раствором, готовили суспензию, количество бактерий в которой составляло 10^8 кл/мл, и вносили лектины до конечной концентрации 2, 5 и 10 мкг/мл. Затем выдерживали один час при комнатной температуре. Концентрации лектинов были выбраны исходя из данных литературы (Halverson, Stacey, 1986; Косенко, Мандровская, 1998; Lodeiro et al., 2000), указывающих на то, что агглютинирующие белки в таких количествах при обработке ими ризобий проявляют стимулирующее действие на про-

цессы, связанные с клубенькообразованием. Лектины сои и гороха в соотношении 1:2 добавляли к суспензии микроорганизмов одновременно или после предварительного совместного инкубирования в течение часа. В ряде вариантов лектины использовали как монопрепараты. Контролем была бактериальная культура, в которую не вносили агглютинирующие белки. Жидкую маннитно-дрожжевую среду инокулировали подготовленной таким образом суспензией ризобий из расчета 2 мл суспензии на 25 мл среды. Клубеньковые бактерии выращивали до стационарной фазы роста. Инокуляцию семян сои проводили суспензиями микроорганизмов одинаковой оптической плотности (10^8 клеток/мл), находящихся в экспоненциальной или стационарной фазе роста. Оптическую плотность бактериальной культуры определяли на спектрофотометре BIORAD SmartSpecPlus (США) при длине волны 590 нм, а количество микробных клеток в ней устанавливали по калибровочной кривой.

Опыты проводили на экспериментальном участке Института физиологии растений и генетики НАН Украины (серая супесчаная почва) в условиях умеренного континентального климата в мае-июле 2010 и 2011 годов. Повторность опытов 3-4 кратная. Семена сои промывали стерильной водопроводной водой, за один час до посева инокулировали и высевали на однорядковых делянках с учетом рандомизации. Длина рядка была 1 м, а площадь питания растения составляла 45×7 см². Количество, массу и азотфиксирующую активность клубеньков, а также массу надземной части растений сои определяли в начале их цветения. Азотфиксирующую активность измеряли ацетиленовым методом (Hardy et al., 1968) на газовом хроматографе «Agilent GC system 6850» (США) с пламенно-ионизационным детектором. Разделение проводили на колонке (Supelco Porapak N) при температуре термостата 55°C и детектора 150°C. В качестве газа носителя использовали гелий (20 мл/мин). Объем анализируемой пробы составлял 1 см³. В зависимости от исследуемого показателя повторность определения была 6-14 кратная.

Экспериментальные данные обрабатывали статистически с помощью программы MS Excel. Достоверность различий исследуемых показателей оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента. В таблицах представлены средние арифметические данных, полученных в 2011 г. и их стандартные ошибки. Сходные закономерности наблюдались и в опыте 2010 года.

ВЛИЯНИЕ БИНАРНЫХ КОМПОЗИЦИЙ ЛЕКТИНОВ

Таблица 1. Формирование и азотфиксирующая активность (АФА) клубеньков при инокуляции сои бактериями *V. japonicum* 634б, инкубированными с лектинами сои и гороха (стационарная фаза роста микробной культуры)

Вариант	Количество клубеньков, шт./растение	Масса клубеньков, мг/растение	АФА, мкмоль C ₂ H ₄ / (г клубеньков • час)
Спонтанная инокуляция	4,8 ± 0,9	40,60 ± 6,88	1,92 ± 0,25
Контроль	12,4 ± 1,2	42,50 ± 6,54	1,47 ± 0,19
ЛС2	15,6 ± 1,4	92,22 ± 10,92 ^a	1,54 ± 0,26
ЛС5	10,6 ± 1,3	42,18 ± 6,09	2,12 ± 0,16 ^a
ЛГ5	11,5 ± 0,6	73,10 ± 7,39 ^a	1,48 ± 0,19
ЛГ10	12,9 ± 1,9	50,61 ± 5,73	1,54 ± 0,12
ЛС2 + ЛГ5*	12,9 ± 1,3	53,82 ± 5,93 ^b	1,20 ± 0,06
ЛС2 + ЛГ5**	18,2 ± 1,2 ^a	104,27 ± 12,97 ^a	1,68 ± 0,15
ЛС5 + ЛГ10*	14,1 ± 1,7	40,64 ± 5,42	1,46 ± 0,21 ^b
ЛС5 + ЛГ10**	12,8 ± 1,5	44,69 ± 4,45	1,82 ± 0,16

Примечание. В таблицах и на рисунках: ЛС2, ЛС5 – лектин сои в концентрации 2 и 5 мкг/мл; ЛГ5, ЛГ10 – лектин гороха в концентрации 5 и 10 мкг/мл; * – лектины предварительно совместно инкубировали в течение часа; ** – лектины вносили в суспензию бактерий одновременно; а – достоверно при P ≤ 0,05 по сравнению с контролем; б – достоверно при p ≤ 0,05 по сравнению с соответствующим монопрепаратом лектина сои.

Таблица 2. Влияние бинарных препаратов лектинов сои и гороха на клубенькообразование бактериями *V. japonicum* 634б и азотфиксирующую активность (АФА) соево-ризобияльного симбиоза (экспоненциальная фаза роста микробной культуры)

Вариант	Количество клубеньков, шт./растение	АФА, мкмоль C ₂ H ₄ / (г клубеньков • час)
Спонтанная инокуляция	6,0 ± 0,6	4,41 ± 0,69
Контроль	11,1 ± 1,0	6,25 ± 1,16
ЛС5	12,5 ± 1,2	9,40 ± 1,06
ЛГ10	16,0 ± 1,8 ^a	8,06 ± 0,89
ЛС5 + ЛГ10*	14,9 ± 1,8	7,85 ± 0,88
ЛС5 + ЛГ10**	17,0 ± 2,8 ^a	9,62 ± 1,32

РЕЗУЛЬТАТЫ

Экспериментальные данные показали, что лектин семян сои при инкубировании с ним клубеньковых бактерий *V. japonicum* 634б способен положительно влиять на формирование и функционирование соево-ризобияльного симбиоза (табл. 1, 2). Лектин гороха в ряде случаев также улучшал клубенькообразование ризобиями сои (табл. 1, 2).

Следует отметить концентрационную зависимость действия агглютинирующих белков. Так, использование 2 мкг/мл лектина сои повышало нодуляционную активность симбиотических азотфиксирующих бактерий, что прояв-

лялось в увеличении количества клубеньков на корнях сои, хотя и недостоверном, а также их массы. Внесение в суспензию ризобий 5 мкг/мл соевого агглютинина не влияло на клубенькообразование, но вызывало увеличение азотфиксирующей активности клубенькового аппарата по сравнению с контрольным вариантом (табл. 1, 2). Лектин гороха не влиял на процесс восстановления атмосферного азота симбиотической системой соя – *V. japonicum* 634б (табл. 1, 2). При этом наблюдалось увеличение массы корневых клубеньков, образованных ризобиями сои, которые инкубировали с 5 мкг/мл агглютинина гороха (табл. 1).

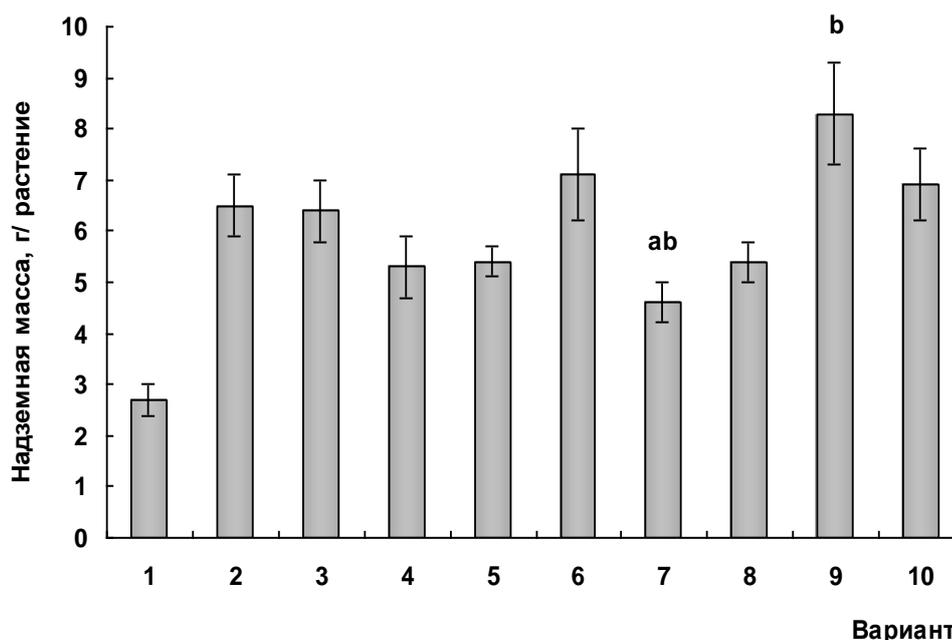


Рис. 1. Эффективность формирования надземной части сои при ее инокуляции клубеньковыми бактериями, инкубированными с лектинами сои и гороха (стационарная фаза роста микробной культуры). 1 – спонтанная инокуляция; 2 – контроль; 3 – ЛС2; 4 – ЛС5; 5 – ЛГ5; 6 – ЛГ10; 7 – ЛС2 + ЛГ5*; 8 – ЛС2 + ЛГ5**; 9 – ЛС5 + ЛГ10*; 10 – ЛС5 + ЛГ10**.

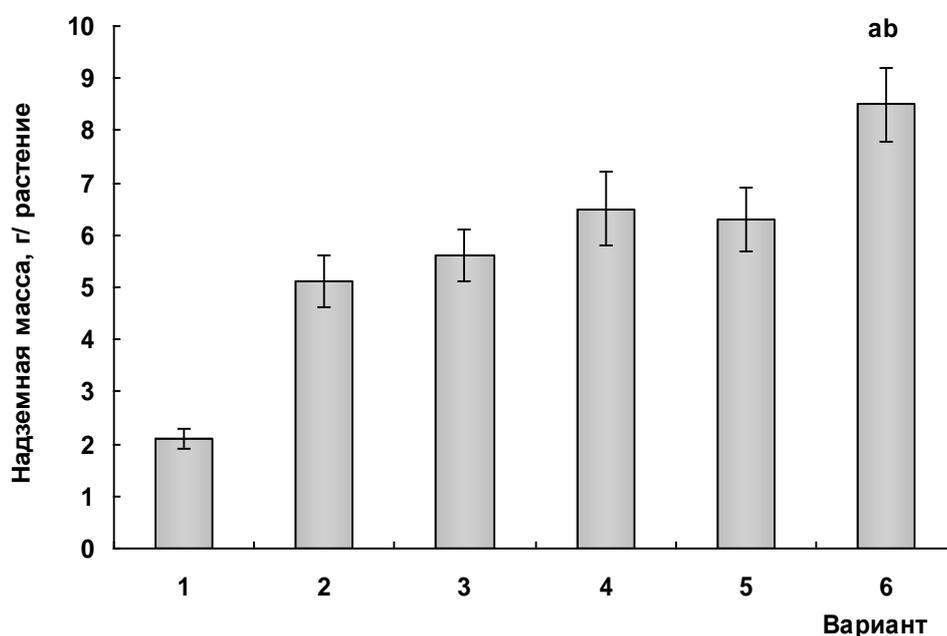


Рис. 2. Эффективность формирования надземной части сои при ее инокуляции клубеньковыми бактериями, инкубированными с лектинами сои и гороха (экспоненциальная фаза роста микробной культуры). 1 – спонтанная инокуляция; 2 – контроль; 3 – ЛС5; 4 – ЛГ10; 5 – ЛС5 + ЛГ10*; 6 – ЛС5 + ЛГ10**.

Как было показано (табл. 1, 2), активность формирования соево-ризобияльного симбиоза и его функционирование не зависели от длительности выращивания клубеньковых бактерий, обработанных лектином.

Надземная масса сои незначительно уменьшалась в варианте, где бактерии *V. japonicum* 6346 инкубировали с агглютинином сои в концентрации 5 мкг/мл и выращива-

ли до стационарной фазы развития микробной культуры (рис. 1).

В случае лектина гороха продолжительность периода культивирования ризобий сои, инкубированных с этим белком, была важным фактором, влияющим на образование клубеньков микросимбионтом (табл. 1, 2). Так, бактерии в экспоненциальной фазе роста формировали большее количество клубеньков по сравнению с контролем (табл. 2). В то же время лектин гороха (10 мкг/мл) не влиял на клубенькообразование ризобиями *V. japonicum* 634б, находящимися в стационарной фазе роста (табл. 1). Следует отметить, что независимо от длительности выращивания микроорганизмов, агглютинин гороха способствовал развитию надземной части растений (рис. 1, 2).

Бинарные композиции лектинов сои и гороха в ряде случаев также улучшали формирование и функционирование симбиотической системы соя – *V. japonicum* 634б (табл. 1, 2, рис. 1, 2).

При этом было показано, что лектин гороха может модулировать действие лектина семян сои в отношении клубенькообразования, азотфиксирующей активности соево-ризобиального симбиоза (табл. 1, 2) и массы надземной части растений (рис. 1, 2). Модулирующий эффект этого белка зависел от способа формирования бинарных композиций агглютининов и длительности культивирования ризобий, инкубированных с ними.

Одновременное внесение лектинов сои и гороха в бактериальную суспензию в целом оказывало положительное влияние на развитие симбиотических взаимоотношений между растениями сои и *V. japonicum* 634б (табл. 1, 2). Показатели, описывающие клубенькообразование и азотфиксирующую активность симбиоза, были либо равны таковым в контроле и вариантах с лектином сои, либо в ряде случаев превышали их. В то же время предварительное совместное выдерживание лектинов в течение часа с последующим добавлением такой бинарной композиции к ризобиальной культуре привело в некоторых вариантах к уменьшению массы и азотфиксирующей активности, сформированных на корнях сои клубеньков по сравнению с использованием отдельных лектинов (табл. 1, 2).

Следует отметить, что бинарные композиции, состоящие из 2 мкг/мл лектина сои и 5 мкг/мл лектина гороха, независимо от способа их формирования, вызывали уменьшение мас-

сы надземной части растений сои в симбиозе с ризобиями (рис. 1). Соединение в одном препарате лектинов сои в количестве 5 мкг/мл и гороха – 10 мкг/мл, наоборот, улучшало формирование надземной части растений по сравнению с вариантом, где использовали для обработки микроорганизмов только лектин сои (рис. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

Было установлено, что лектин сои, в случае инкубирования с бактериями *V. japonicum* 634б в течение 20 ч улучшает клубенькообразование, повышает азотфиксирующую активность соево-ризобиального симбиоза, а также вызывает увеличение массы надземной части макросимбионта. В то же время лектин гороха был способен стимулировать только вегетативное развитие растений сои (Маліченко та ін., 2002). В наших опытах (табл. 1) соевый агглютинин при инкубировании с ним *V. japonicum* 634б и последующим выращиванием бактерий до стационарной фазы роста также способствовал формированию клубеньков и положительно влиял на процесс симбиотической азотфиксации. Однако в некоторых случаях наблюдалось уменьшение массы надземной части растений сои (рис. 1), что может быть обусловлено продолжительностью культивирования клубеньковых бактерий с лектином и количеством используемого агглютинирующего белка. Следует отметить, что концентрационная зависимость действия агглютинина семян сои при формировании бобово-ризобиального симбиоза (табл. 1, рис. 1) подтверждается результатами, представленными в других работах (Lodeiro et al., 2000; Мельникова и др., 2009). Показанное же в настоящем исследовании разнонаправленное действие лектинов, зависимое от длительности культивирования ризобий, можно объяснить разностью качественного и количественного состава биологически активных веществ, синтезируемых микроорганизмами под влиянием агглютининов в разные периоды роста микробной культуры.

В отличие от полученных ранее результатов (Маліченко та ін., 2002), в условиях наших экспериментов лектин гороха, который является гетерологичным для *V. japonicum* 634б, в отдельных случаях улучшал формирование не только надземной части растений (рис. 1, 2), но и клубеньков (табл. 1, 2). Как известно, в основе эффекторного действия лектинов бобовых лежит способность этих белков взаимодейство-

вать с клубеньковыми бактериями (Коць и др., 2007). При этом, вероятно, посредством активизации каскада реакций, запускающих метаболические процессы в клетках микроорганизмов, лектины могут влиять на биосинтез ризобиями внеклеточных полисахаридов (Mody, Modi, 1987; Косенко, Мандровская, 1998), модуляционную и азотфиксирующую активность клубеньковых бактерий (Halverson, Stacey, 1986; Mody, Modi, 1987), адгезивные свойства микроорганизмов (Lodeiro et al., 2000). Литературные данные указывают на то, что лектины семян сои и гороха в разной степени взаимодействуют с поверхностными углеводными детерминантами клеток *V. japonicum* 634б (Коць и др., 2007). Таким образом, степень сродства лектина сои к клубеньковым бактериям *V. japonicum* 634б, значительно превышающая аналогичный показатель для лектина гороха (Коць и др., 2007), позволяет объяснить отмеченный нами более выраженный стимулирующий эффект соевого агглютинина на формирование и азотфиксирующую активность симбиотической системы, созданной при участии растений сои (табл. 1, 2).

Бобово-ризобиальный симбиоз является одним из основных источников биологического азота. Поэтому разработка способов повышения его эффективности остается приоритетным направлением в современной науке. С целью улучшения симбиотических свойств клубеньковых бактерий и повышения потенциала соево-ризобиального симбиоза нами были использованы бинарные композиции лектинов сои (гомологичный) и гороха (гетерологичный), которые вносили в суспензию *V. japonicum* 634б одновременно или после предварительного инкубирования. В целом одновременное внесение агглютинирующих белков в суспензию ризобий оказывало положительное влияние на клубенькообразование, азотфиксацию и формирование надземной части растений, инокулированных этими микроорганизмами. Даже когда исследуемые показатели достоверно не превышали таковые в контроле, они были достаточно высоки. Следует отметить, что в ряде случаев наблюдалась тенденция к увеличению или достоверное увеличение количества клубеньков на корнях сои, их азотфиксирующей активности и массы растений по сравнению с вариантами, где бактерии выращивали в присутствии только лектина семян сои. Это позволяет говорить о способности агглютинирующего белка из семян гороха модулировать действие соевого агглютинина при формировании и функцио-

нировании соево-ризобиального симбиоза. Известно, что лектин сои относится к группе лектинов, специфичных к галактозе и N-ацетилгалактозамину (Gade et al., 1981), тогда как агглютинин из семян гороха проявляет высокое сродство к глюкозе, маннозе и их производным (Van Wauwe et al., 1975). Одновременно связывая соответствующие моносахаридные остатки углеводных детерминант, расположенных на поверхности клеток *V. japonicum* 634б, лектины сои и гороха могут влиять на изменения в метаболизме микроорганизмов, которые были вызваны каждым из агглютининов в отдельности.

Принимая во внимание способность лектинов регулировать работу ферментативных белков (Aoyama et al., 2001), можно предположить, что совместное инкубирование исследуемых нами агглютининов до внесения в суспензию клубеньковых бактерий приведет к изменению активности белков и, соответственно, направленности их влияния на развитие симбиоза. Такой эффект в нашем случае может быть обусловлен белок-углеводным взаимодействием между агглютинами. Известно, что лектин сои является гликопротеином с углеводной частью, состоящей из остатков маннозы (Lis, Sharon, 1978), а лектин гороха способен связывать маннозу (Van Wauwe et al., 1975). В ходе наших экспериментов было выявлено, что стимулирующий потенциал лектинов сои и гороха при их совместном инкубировании в течение часа уменьшался в большинстве вариантов, а именно наблюдалось снижение, хотя и незначительное, активности клубенькообразования, азотфиксации (табл. 1, 2) и массы надземной части сои (рис. 1, 2).

Таким образом, полученные нами данные показали, что лектины семян сои и гороха в бинарных композициях не оказывали ярко выраженного аддитивного влияния на формирование и функционирование соево-ризобиального симбиоза. Однако, отмеченное в опытах усиление положительного действия агглютининов в случае их комбинирования, указывает на возможность использования бинарных композиций лектинов для улучшения клубенькообразования и азотфиксации, которые обуславливают активность формирования вегетативной массы макросимбионта и эффективность симбиотических бобово-ризобиальных систем. При этом следует учитывать концентрационную зависимость действия лектинов и длительность культивирования клубеньковых бактерий с этими белками. Способность лектинов растений мо-

дулировать действие друг друга, показанная в настоящей работе, может также играть важную роль в поддержании целостности и устойчивости биоценозов, влияя на процессы взаимодействия макро- и микроорганизмов.

ЛИТЕРАТУРА

- Косенко Л.В., Мандровская Н.М. Влияние лектина гороха на рост микросимбионтов гороха и биосинтез ими экзогликанов // *Микробиология*. – 1998. – Т. 67, № 6. – С. 626-630.
- Коць С.Я., Береговенко С.К., Кириченко Е.В., Мельникова Н.Н. Особенности взаимодействия растенной и азотфиксирующих микроорганизмов. – Киев: Наук. думка, 2007. – 315 с.
- Мельникова Н.Н., Ковальчук Н.В., Коць С.Я., Мусатенко Л.И. Влияние лектинов семян сои на формирование и функционирование бобоворизобияльного симбиоза // *Физиология и биохимия культ. растений*. – 2009. – Т. 41, № 5. – С. 439-446.
- Маліченко С.М., Даценко В.К., Маменко П.М., Коць С.Я. Участь лектинів специфічних і неспецифічних до бульбочкових бактерій бобових рослин у формуванні азотфіксуючого симбіозу // *Наук. зап. Терноп. націон. пед. ун-ту. Сер. Біологія*. – 2002. – Т. 3, № 18. – С. 49-57.
- Aoyama H.I., Cavagis A.D., Taga E.M., Ferreira C.V. Endogenous lectin as a possible regulator of the hydrolysis of physiological substrates by soybean seed acid phosphatase // *Phytochemistry*. – 2001. – V. 58, № 2. – P.221-225.
- Gade W., Jack M.A., Dahl J.B., Schmidt E.L., Wold F. The isolation and characterization of a root lectin from soybean (*Glycine max* (L.), cultivar Chippewa) // *J. Biol. Chem.* – 1981. – V. 256, № 24. – P. 12905-12910.
- Halverson L.J., Stacey G. Effect of lectin on nodulation by wild-type *Bradyrhizobium japonicum* and a nodulation-defective mutant // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1986. – V. 51, № 4. – P.753-760.
- Hardy R.W.F., Holsten R.D., Jackson E.K., Burns R.C. The acetylene – ethylene assay for N₂ fixation: laboratory and field evaluation // *Plant Physiol.* – 1968. – V. 43, № 8. – P.1185-1207.
- Kovalchuk N.V., Melnykova N.M., Musatenko L.I. Role of phytolectins in the life cycle of plants // *Bio-polym. Cell.* – 2012. – V. 28, № 3. – P. 171-180.
- Lis H., Sharon N. Soybean agglutinin – a plant glycoprotein. Structure of the carbohydrate unit // *J. Biol. Chem.* – 1978. – V. 253, № 10. – P. 3468-3476.
- Lodeiro A.R., Lopez-Garcia S.L., Vazquez T.E.E., Favell G. Stimulation of adhesiveness, infectivity, and competitiveness for nodulation of *Bradyrhizobium japonicum* by its pretreatment with soybean seed lectin // *FEMS Microbiol. Lett.* – 2000. – V. 188. – P. 177-184.
- Mody B., Modi V. Peanut agglutinin induced alterations in capsular and extracellular polysaccharide synthesis and *ex-planta* nitrogenase activity of cowpea rhizobia // *J. Biosci.* – 1987. – V. 12. – P. 289-296.
- Ramos M.V., Grangeiro T.B., Cavada B.S., Shepherd I., Oliveira de Melo Lopes R., Sampaio A.H. Carbohydrate/ glycan-binding specificity of legume lectins in respect to their proposed biological functions // *Braz. Arch. Biol. Technol.* – 2000. – V. 43, № 4. – P. 1-11.
- Van Wauwe J.P., Loontjens F.G., De Bruyne C.K. Carbohydrate binding specificity of the lectin from the pea (*Pisum sativum*) // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1975. – V. 379. – P. 456-461.

Поступила в редакцію
22.04.2015 г.

EFFECT OF BINARY MIXTURES COMPOSED OF SOYBEAN AND PEA LECTINS ON THE ESTABLISHMENT OF THE SOYBEAN-RHIZOBIUM SYMBIOSIS

N. M. Melnykova, S. Ya. Kots

*Institute of Plant Physiology and Genetics
of National Academy of Sciences of Ukraine
(Kyiv, Ukraine)
e-mail: mnn_knu@ukr.net*

The effect of binary mixtures composed of soybean and pea lectins on nodulation, nitrogen fixation of the soybean-Rhizobium symbiosis and shoot development in small plot experiments was studied. Bacteria *B.japonicum* 634b were incubated with mono- and binary lectin mixtures and grown in liquid culture medium. It was shown that the formation of root nodules in soybean and nitrogen fixing activity of nodules depended on the duration of rhizobium growth in liquid medium supplemented with both lectins, concentration of these proteins and method of preparation of binary mixtures. In

most cases the inoculation of soybean with *B. japonicum* 634b simultaneously treated with both legume lectins increased nodule number and nodule weight. The incubation of lectins together for one hour before adding to rhizobia suspension did not have a significant stimulating effect on the development of the legume-Rhizobium symbiosis. These results suggest that pea lectin may modulate the effect of soybean agglutinin on the establishment of nitrogen fixing symbiotic systems.

Key words: *Glycine max*, *Bradyrhizobium japonicum*, soybean lectin, pea lectin, symbiosis, nodulation, nitrogen fixation

ВПЛИВ БІНАРНИХ КОМПОЗИЦІЙ ЛЕКТИНІВ СОЇ ТА ГОРОХУ НА ФОРМУВАННЯ СОЄВО-РИЗОБІАЛЬНОГО СИМБІОЗУ

Н. М. Мельникова, С. Я. Коць

*Інститут фізіології рослин і генетики
Національної академії наук України
(Київ, Україна)
e-mail: mnn_knu@ukr.net*

Досліджували вплив бінарних композицій лектинів насіння сої і гороху на бульбочкоутворення, азотфіксуючу активність соєво-ризобіального симбіозу та формування вегетативної маси рослин в умовах дрібноділянкового досліджу. Бульбочкові бактерії сої *B. japonicum* 634b інкубували з моно- та бінарними композиціями лектинів бобових і вирощували на рідкому поживному середовищі. Показано, що активність утворення бульбочок на коренях сої та їх азотфіксуюча здатність залежали від тривалості культивування ризобій з аглютинінами, концентрації цих білків та способу формування бінарних композицій. Інокуляція сої бактеріями *B. japonicum* 634b, які обробляли лектинами одночасно, у більшості випадків викликала збільшення кількості і маси кореневих бульбочок. Інкубування лектинів разом протягом однієї години до внесення у суспензію ризобій не мало помітного стимулюючого впливу на розвиток бобово-ризобіального симбіозу. Отримані результати вказують на здатність лектину гороху модулювати дію соєвого аглютиніну на формування симбіотичних азотфіксуючих систем.

Ключові слова: *Glycine max*, *Bradyrhizobium japonicum*, лектин сої, лектин гороху, симбіоз, бульбочкоутворення, азотфіксація