

ВПЛИВ ЛЕКТИНУ КАРТОПЛІ НА РОСТОВУ АКТИВНІСТЬ ДІАЗОТРОФІВ

Жеребор Т.А., Козар С.Ф., Усманова Т.О.

Інститут сільськогосподарської мікробіології УААН,
вул. Шевченка, 97, м. Чернігів, 14027, Україна

*Наведено результати досліджень впливу лектину картоплі на ростову активність бактерій родів *Azotobacter* і *Azospirillum*. Вивчено залежність росту мікроорганізмів від його вмісту в живильному середовищі в діапазоні концентрації 0,2–20 мкг/мл. Визначено оптимальну концентрацію лектину в середовищі для консорціуму *Azotobacter vinelandii* і *Azotobacter chroococcum* M-70/2 (1,0 мкг/мл) та *Azospirillum brasilense* 410 (1,5 мкг/мл), за якої зростають показники щільності популяції, питомої швидкості росту бактерій та зменшується час подвоєння біомаси мікроорганізмів.*

Ключові слова: лектин картоплі, *Azotobacter*, *Azospirillum*, щільність популяції, питома швидкість росту бактерій, час подвоєння біомаси мікроорганізмів.

Загальновідомо, що діазотрофи позитивно впливають на рослини, що пояснюється не лише азотофіксувальною активністю цих мікроорганізмів, але й їх здатністю синтезувати ростові речовини, зокрема вітаміни, гормони. У процесі взаємного хімічного розпізнавання рослин і мікроорганізмів важливою є взаємодія бактеріальних клітин з рослинними тканинами за участю різних молекулярних структур. Одними з таких структур є лектини рослин, які можуть відігравати вирішальне значення у формуванні популяції ґрунтових мікроорганізмів у прикореневій зоні рослин [1, 2, 3].

Лектини – це вуглеводзв'язувальні білки, які здатні сприймати і розшифровувати інформацію, що задіяна у ряді біологічних процесів [2, 3, 4]. Ці сполуки входять до структури тканин рослин і мікроорганізмів [2, 5, 6, 7]. Існує думка, що лектини слугують для мікроорганізмів сигналом, який змінює їх метаболізм у напрямі, сприятливому для росту й розвитку рослини [1, 3, 4]. Рослинні лектини є мітогенами [2], вони здатні збільшувати щільність популяції бактерій, що є важливим при застосуванні мікробних препаратів [8]. Встановлено, що ці сполуки позитивно впливають на розвиток ґрунтових мікроорганізмів [1, 2]. Одним із проявів

біологічної активності лектинів по відношенню до бактерій є їх вплив на ріст, метаболізм і фізіологічну активність бактеріальних клітин [6, 7]. Крім того, модуляторна дія цих речовин може виявлятися в активації окремих ферментів, у тому числі нітрогенази [8, 9].

Вільноіснуючі види ризосферних мікроорганізмів є чутливими до корневих виділень рослин, серед яких є й лектини [1]. За літературними даними [1, 5, 10, 11] відомо про позитивний вплив лектинів сої, гороху, пшениці на бактерії родів *Azotobacter* і *Azospirillum* за умови їх культивування в живильному середовищі.

Одним із малодосліджених лектинів є лектин картоплі, який належить до групи N-ацетил-D-глюкозамінспецифічних і характеризується рістактивуючою дією по відношенню до багатьох видів ґрунтових мікроорганізмів [1]. Він є стійкішим до дії високих температур порівняно з іншими лектинами і витримує нагрівання до +80 °С, стійкий до дії спирту й ацетону [4].

За рахунок адаптації мікроорганізмів у результаті їх культивування в живильному середовищі з лектином картоплі, можливе збільшення їх чутливості до цього лектину та, як наслідок, підвищення приживаності й фізіологічної активності діазотрофів у кореневій зоні рослин картоплі в результаті бактеризації.

Метою нашої роботи було дослідити вплив лектину картоплі на ростову активність бактерій родів *Azotobacter* і *Azospirillum* для збільшення їх титру в рідкому живильному середовищі.

Матеріали й методи. У роботі використовували активні штами асоціативних азотофіксувальних бактерій: консорціум штамів *Azotobacter vinelandii* і *Azotobacter chroococcum* М-70/2, *Azotobacter vinelandii* М-Х, *Azotobacter chroococcum* М-70, *Azospirillum brasilense* 410 (з колекції Інституту сільськогосподарської мікробіології УААН), *Azotobacter vinelandii* В-6017 УКМ, *Azotobacter chroococcum* В-6003 УКМ (з колекції Інституту мікробіології і вірусології НАН України).

Досліджували комерційний лектин бульб картоплі (“Лектинотест”, Львів), який являє собою ліофільно висушений і обезсолений білий аморфний порошок, розчинний у воді й сольових розчинах [4].

Бактерії роду *Azotobacter* культивували при 27 °С у рідкому напівсинтетичному середовищі на основі горохового відвару [10] протягом 72 годин на підвісній мікробіологічній качалці.

A. brasilense 410 вирощували протягом 48 годин у рідкому напівсинтетичному середовищі наступного складу (г/л): кукурудзяний екстракт – 30, меляса – 30, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0,1, K_2HPO_4 – 0,25, K_2HPO_4 – 0,25, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,2, CaCO_3 – 0,3.

При вивченні впливу лектину картоплі на досліджувані мікроорганізми, у живильне середовище вносили лектин картоплі в діапазоні концентрацій 0,2–20 мкг/мл.

Питому швидкість росту, чисельність мікроорганізмів і час подвоєння біомаси визначали загальноприйнятими мікробіологічними методами [12, 13, 14].

Результати та їх обговорення. Виходячи з даних, наведених у літературі щодо стимулюючого впливу рослинних лектинів на фізіологічну активність мікроорганізмів, нами було досліджено ростову активність представників родів *Azotobacter* і *Azospirillum* за дії лектину картоплі.

В результаті культивування консорціуму штамів *A. vinelandii* і *A. chroococcum* M-70/2 (рис. 1) у середовищі, до складу якого входить лектин картоплі в концентрації 0,2 мкг/мл, щільність популяції мікроорганізмів збільшилась на 7%, а при використанні концентрації лектину 2 мкг/мл цей показник зріс на 66 %. У варіанті з вмістом лектину 20 мкг/мл спостерігали зменшення ростової активності консорціуму бактерій.

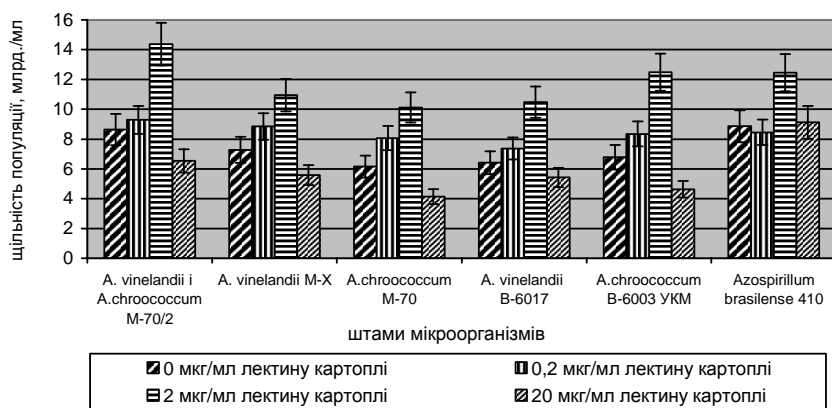


Рис. 1. Вплив лектину картоплі на ростову активність бактерій родів *Azotobacter* та *Azospirillum*

Показники значень ростової активності штаму *A. vinelandii* М-Х свідчать про те, що в результаті культивування мікроорганізмів у середовищі з вмістом лектину 0,2 і 2 мкг/мл, спостерігається зростання чисельності мікроорганізмів на 22 % і 51 % відповідно. При культивуванні штаму в середовищі з додаванням 20 мкг/мл лектину картоплі, спостерігається тенденція до зниження ростової активності мікроорганізмів.

З рис. 1 видно, що щільність популяції бактерій *A. chroococcum* М-70 збільшується на 31 % при його культивуванні в середовищі з вмістом лектину картоплі 0,2 мкг/мл. При внесенні в середовище 2 мкг/мл, кількість мікроорганізмів збільшилась на 47 %.

У результаті вирощування за тих же умов *A. vinelandii* В-6017 УКМ, ми отримали наступні дані: у середовищі з вмістом лектину картоплі 0,2 мкг/мл простежується збільшення чисельності клітин на 15 %. У варіанті з вмістом лектину 2 мкг/мл ростова активність досліджуваного штаму зростає на 63 %, а при його збільшенні до 20 мкг/мл спостерігалась тенденція до зниження досліджуваного показника.

При культивуванні *A. chroococcum* В-6003 УКМ у середовищі з вмістом лектину картоплі 0,2 мкг/мл кількість бактерій збільшується на 23 %. При підвищенні концентрації лектину до 2 мкг/мл щільність популяції мікроорганізмів зростала на 84 %.

Дослідження впливу лектину картоплі на ростову активність *Azospirillum brasilense* 410 показали, що в результаті внесення в середовище 0,2 мкг/мл лектину не спостерігається його стимулювальної дії на ростову активність досліджуваного штаму. При додаванні 2 мкг/мл чисельність мікроорганізмів збільшується на 40,5 %, а при культивуванні у середовищі з 20 мкг/мл лектину кількість клітин збільшується на 3 %.

Отже, результати досліджень показали, що показники ростової активності досліджених штамів змінювалися залежно від концентрації лектину картоплі в живильному середовищі. Збільшення показників ростової активності бактерій родів *Azotobacter* і *Azospirillum* спостерігається при їх культивуванні в середовищі з вмістом лектину картоплі 0,2 і 2 мкг/мл. Однак за використання 2 мкг/мл лектину ці показники були вищими у всіх досліджених штамів порівняно з іншими варіантами.

Оскільки нами було показано позитивну дію на досліджені

мікроорганізми лектину картоплі, постало завдання визначити його оптимальну концентрацію в середовищі для підвищення ростової активності штамів *Azospirillum brasilense* 410 та *A. vinelandii* і *A. chroococcum* M-70/2. З цією метою використано наступний діапазон концентрацій: 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 мкг/мл. З наведених у табл. 1 даних видно, що лектин у всіх досліджених концентраціях стимулює ростову активність мікроорганізмів, однак, найінтенсивніший ріст *Azospirillum brasilense* 410 спостерігається при внесенні в середовище 1,5 та 2,5 мкг/мл, а у консорціуму штамів *A. vinelandii* і *A. chroococcum* M-70/2 – при додаванні 1,0, 2,0 та 3,0 мкг/мл лектину картоплі.

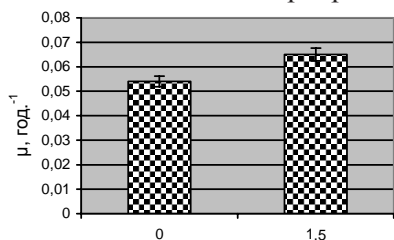
Таблиця 1. Вплив концентрації лектину картоплі в середовищі на розвиток *Azospirillum brasilense* 410 та консорціуму *A. vinelandii* й *A. chroococcum* M-70/2

Штами	Вміст лектину картоплі в живильному середовищі, мкг/ мл	Щільність популяції мікроорганізмів, млрд кл./мл
<i>Azospirillum brasilense</i> 410	0	9,53 ± 1,97
	1,0	10,12 ± 1,93
	1,5	15,73 ± 2,25
	2,0	13,83 ± 1,77
	2,5	16,30 ± 2,57
	3,0	10,90 ± 1,61
<i>A. vinelandii</i> і <i>A. chroococcum</i> M-70/2	0	10,33 ± 0,88
	1,0	16,79 ± 1,08
	1,5	13,67 ± 1,45
	2,0	17,0 ± 2,65
	2,5	16,0 ± 2,70
	3,0	17,33 ± 1,76

Оскільки, за використання вказаних концентрацій лектину картоплі, різниця в титрі бактерій не істотна, на нашу думку, є доцільним у подальшій роботі використовувати лектин у концентрації 1,5 мкг/мл при вирощуванні *Azospirillum brasilense* 410 та 1,0 мкг/мл – для консорціуму штамів *A. vinelandii* і *A. chroococcum* M-70/2.

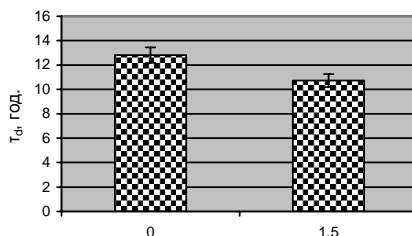
Вплив лектину картоплі на питому швидкість росту (μ) і час подвоєння біомаси (τ_d) досліджуваних штамів бактерій ми вивчали, додаючи його в живильні середовища у визначеній оптимальній

концентрації. Було встановлено, що за наявності в середовищі лектину (1,5 мкг/мл), питома швидкість росту *Azospirillum brasilense* 410 збільшувалась на 20 % відносно контролю (рис. 2), час подвоєння біомаси мікроорганізмів зменшувався на 16 % (рис. 3).



вміст у середовищі лектину картоплі, мкг/мл

Рис. 2. Залежність питомої швидкості росту *Azospirillum brasilense* 410 від вмісту в середовищі лектину картоплі



вміст у середовищі лектину картоплі, мкг/мл

Рис. 3. Залежність часу подвоєння біомаси *Azospirillum brasilense* 410 від вмісту в середовищі лектину картоплі

В результаті культивування консорціуму штамів *A. vinelandii* і *A. chroococcum* М-70/2 в живильному середовищі з вмістом лектину 1 мкг/мл, питома швидкість росту бактерій збільшилась на 11,4 % по відношенню до контролю (рис. 4), а час подвоєння біомаси зменшився на 9,2 % (рис. 5).

Аналогічна закономірність простежується й для інших досліджуваних штамів (табл. 2). Вивчення впливу лектину картоплі на ростову активність мікроорганізмів показало, що питома швидкість росту, яка характеризується накопиченням біомаси в експоненціальній фазі росту мікроорганізмів, збільшується у *A. vinelandii* М-Х і *A. chroococcum* М-70 – на 12,5 % та 8,0 % відповідно, показники питомої швидкості росту *A. vinelandii* В-6017 УКМ і *A. chroococcum* В-6003 УКМ зросли на 5 % і 4,25 %, відповідно.

Час подвоєння біомаси (t_d), в результаті культивування мікроорганізмів у середовищі, що містить 2 мкг/мл лектину картоплі, зменшується у всіх штамів, про що свідчать дані, наведені в табл. 2: час подвоєння біомаси *A. vinelandii* М-Х зменшується на 12,06 %, *A. chroococcum* М-70 – на 5,4 %. У варіантах з *A. vinelandii* В-6017 УКМ і *A. chroococcum* В-6003 УКМ цей показник зменшується на 5,06 % і 4,01 %, відповідно.

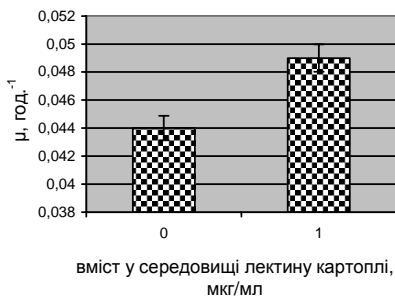


Рис. 4. Залежність питомої швидкості росту *A. vinelandii* і *A. chroococcum* M-70/2 від вмісту в середовищі лектину картоплі

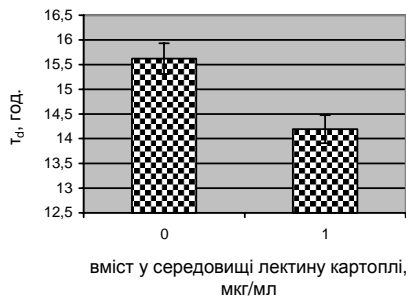


Рис. 5. Залежність часу подвоєння біомаси *A. vinelandii* і *A. chroococcum* M-70/2 від вмісту в середовищі лектину картоплі

Таблиця 2. Вплив лектину картоплі на питому швидкість росту (μ) і час подвоєння біомаси (τ_d) бактерій роду *Azotobacter*

Штам	μ , год. ⁻¹		τ_d , год.	
	без лектину картоплі	з лектином картоплі	без лектину картоплі	з лектином картоплі
<i>A. vinelandii</i> М-Х	0,040 ± 0,006	0,045 ± 0,008	17,40 ± 3,50	15,30 ± 3,01
<i>A. chroococcum</i> М-70	0,037 ± 0,005	0,040 ± 0,007	18,51 ± 2,89	17,51 ± 2,47
<i>A. vinelandii</i> В-6017 УКМ	0,040 ± 0,004	0,042 ± 0,008	17,20 ± 3,15	16,33 ± 3,08
<i>A. chroococcum</i> В-6003 УКМ	0,047 ± 0,009	0,049 ± 0,008	14,72 ± 2,90	14,13 ± 2,51

Отже, наведені дані свідчать про позитивний вплив низьких концентрацій лектину картоплі на ростову активність бактерій родів *Azotobacter* і *Azospirillum* у живильному середовищі. Визначено його оптимальні концентрації для *Azospirillum brasilense* 410 – 1,5 мкг/мл (щільність популяції збільшується на 65 %), для консорціуму штамів *A. vinelandii* і *A. chroococcum* М-70/2 – 1,0 мкг/мл (щільність популяції підвищується на 63 %). Встановлено, що за дії лектину збільшується коефіцієнт питомої швидкості росту до-

сліджуваних штамів від 5 до 20 % та зменшується час подвоєння біомаси мікроорганізмів від 4 до 16 %.

1. Кириченко Е.В., Титова Л.В. Влияние растительных лектинов на рост культур почвенных микроорганизмов //Агроекол. журн. – 2005, № 4. – С. 52–56.

2. Игнатов И.И. Углеводузнающие белки – лектины //Соросовский образовательный журн. – 1997. – № 2. – С. 14–20.

3. Кириченко Е.В., Маличенко С.М. Влияние лектинов бобовых растений на проявление симбиотических свойств клубеньковыми бактериями в бобово-ризобияльном симбиозе //Физиол. раст. – 2000. – Т. 47, № 2. – С. 211–225.

4. Антонюк В.О. Лектини та їх сировинні джерела. – Львів: ПП “Кварт”, 2005. – 554 с.

5. Антонюк Л.П., Фомина О.Р., Игнатов В.В. Влияние лектина пшеницы на метаболизм *Azospirillum brasilense*: индукция биосинтеза белка //Микробиология. – 1997. – Т. 66, № 2. – С. 172–178.

6. Косенко Л.В., Ангелова В.Н., Антипчук А.Ф. Вплив лектину гороху на ріст *Rhizobium leguminosarum* //Микробиол. журн. – 1993. – Т. 55, № 1. – С. 65–69.

7. Косенко Л.В., Мандровская Н.М. Влияние лектина гороха на рост микросимбионтов гороха и биосинтез ими экзогликанов //Микробиология. – 1998. – 67, № 5. – С. 626–631.

8. Біологічний азот /Патики В.П., Коць С.Я., Волкогон В.В. та ін. /За ред. Патики В.П. – К.: Світ, 2003 – 424 с.

9. Маліченко С.М., Даценко В.К., Масенко П.М., Коць С.Я. Участь лектинів, специфічних і неспецифічних до дії бульбочкових бактерій бобових рослин, у формуванні й функціонуванні азотфіксуючого симбіозу //Фізіологія живлення рослин та симбіотична азотфіксація. – 2006. – С. 49–56.

10. Молекулярные основы взаимоотношений ассоциативных микроорганизмов с растениями /Под ред. В.В. Игнатова. – М.: Наука, 2005. – 262 с.

11. Кириченко Е.В., Титова Л.В., Омельчук С.В. Влияние лектинов бобовых растений разной специфичности на развитие проростков сельскохозяйственных культур //Физиол. и биохим. культурн. раст. – 2004. – Т. 36, № 5. – С. 390–398.

12. Хотянович А.В. Методы культивирования азотфиксирующих бактерий, способы получения и применения препаратов на их основе (методические рекомендации). – Л., 1991. – 60 с.

13. Сэги Й. Методы почвенной микробиологии /Пер. с венг. И.Ф. Куренного; Под ред. Г.С. Муромцева. – М.: Колос, 1983. – 296 с.

14. Пирог Т.П. Загальна мікробіологія. – К.: НУХТ, 2004. – 471 с.
15. Теппер Е.З, Шильникові В.К., Переверзева Г.И. Практикум по мікробіології. – М.: Агропромиздат, 1993. – 174 с.
16. Перт С. Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. – М.: Мир, 1978. – 331 с.

ВЛИЯНИЕ ЛЕКТИНА КАРТОФЕЛЯ НА РОСТОВУЮ АКТИВНОСТЬ ДИАЗОТРОФОВ

Жеребор Т.А., Козар С.Ф., Усманова Т.О.

Институт сельскохозяйственной микробиологии УААН, г. Чернигов

*Приведены результаты исследований влияния лектина картофеля на ростовую активность бактерий рода *Azotobacter* и *Azospirillum*. Изучено зависимость роста микроорганизмов от его содержания в питательной среде в диапазоне концентраций 0,2–20 мкг/мл. Определено оптимальную концентрацию лектина в среде для консорциума *Azotobacter vinelandii* и *Azotobacter chroococcum* M-70/2 (1,0 мкг/мл) и *Azospirillum brasilense* 410 (1,5 мкг/мл), при которой увеличиваются показатели плотности популяции, удельной скорости роста бактерий и уменьшается время удвоения биомассы микроорганизмов.*

Ключевые слова: лектин картофеля, *Azotobacter*, *Azospirillum*, плотность популяции, удельная скорость роста бактерий, время удвоения биомассы микроорганизмов.

THE EFFECT OF POTATO LECTIN ONTO DIAZOTROF GROWTH ACTIVITY

Zherebor T.A., Kozar S.F., Usmanova T.O.

Institute of Agricultural Microbiology, UAAS, Chernihiv

*It are presented the results of the research of potato lectin effect onto the growth activity of bacteria *Azotobacter* and *Azospirillum* genera. Dependence of growth of microorganisms on its content in the nutrient medium containing of it at the level of 0,2–20 mcg/ml was studied. It have been established the optimal potato lectin concentration for *Azotobacter vinelandii* and *Azotobacter chroococcum* M-70/2 (1,0 mcg/ml) and *Azospirillum brasilense* 410 (1,5 mcg/ml), when the bacteria population density, specific growth rate are increased, biomass doubling time is decreased.*

Key words: potato lectin, *Azotobacter*, *Azospirillum*, population density specific growth rate of bacteria, biomass doubling time of microorganisms.