

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ ЛЕКТИНОВ СЕМЯН СОИ НА ФОРМИРОВАНИЕ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА

Н.Н. МЕЛЬНИКОВА,¹ Н.В. КОВАЛЬЧУК,² С.Я. КОЦЬ,¹ Л.И. МУСАТЕНКО²

¹Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины
03022 Киев, ул. Васильковская, 31/17

²Институт ботаники им. Н.Г. Холодного Национальной академии наук Украины
01601 Киев, ул. Терещенковская, 2

Исследовано влияние лектинов семян сои на формирование бобово-ризобиального симбиоза соя—*Bradyrhizobium japonicum* 6346 и его азотфиксирующую активность. Показано, что лектин семян бесклубеньковой линии сои (*Glycine max* (L.) Merr.) сорта Ли, как и коммерческий лектин сои, связывал N-ацетил-D-галактозамин, D-галактозу и лактозу, но не взаимодействовал с D-глюкозой, D-маннозой, N-ацетил-D-глюкозамином и L-фукозой. Лектин бесклубеньковой сои активнее связывал лактозу. Гемагглютинирующие белки отличались по влиянию на формирование клубеньков на главном и боковых корнях сои, а также на активность образования симбиоза растениями на наиболее ранних этапах развития бобово-ризобиальных симбиотических взаимоотношений. Уровень азотфиксирующей активности симбиотических систем зависел от вида лектина, используемого для обработки ризобий, и концентрации гемагглютинирующего белка.

Ключевые слова: *Glycine max* (L.) Merr., *Bradyrhizobium japonicum*, лектин семян сои, углеводная специфичность, бобово-ризобиальный симбиоз.

Лектины представляют собой группу белков, способных обратимо и с высокой степенью специфичности взаимодействовать с моносахаридами и олигосахаридными остатками, входящими в состав сложных соединений. Благодаря такому свойству лектины бобовых могут принимать участие в различных процессах жизненного цикла растений [4]. Одной из наиболее важных функций гемагглютинирующих белков бобовых является их участие в процессах формирования симбиотических азотфиксирующих систем. С помощью гемагглютининов происходит связывание клубеньковых бактерий [6], что способствует агрегации ризобий в ризосфере растений и в дальнейшем — образованию клубеньков, в которых восстанавливается атмосферный азот. Экзогенные лектины бобовых выделяются в окружающую среду при прорастании семян и корневой системой в процессе роста и развития растений [7, 10], они способны увеличивать адсорбционную активность и вирулентность специфических клубеньковых бактерий [9, 13], а также влиять на рост микросимбионтов и синтез экзогликанов этими микроорганизмами [2]. Гемагглютеины, выделенные из разных видов растений, характеризуются как сходными, так и значительно отличающимися углеводсвязывающими свойствами [3, 4, 5, 8]. Показано, что лектины, принадлежащие к одной группе по углеводной специфичности, отличаются между собой по сте-

пени связывания отдельных углеводов и полисахаридов клубеньковых бактерий, что, как предполагается, может определять биологическую активность гемагглютинирующих белков [3]. Лектины одного и того же вида растений также могут иметь сортовые различия по углеводной специфичности [3].

В связи с этим представляет интерес исследование лектинов одной углеводной специфичности, полученных из разных сортов бобовых одного или разных видов и отличающихся по степени взаимодействия с углеводами, в частности, особенностей их влияния на формирование и функционирование симбиотических азотфиксирующих систем.

Целью данной работы было изучение характера влияния N-ацетил-D-галактозамин/D-галактозоспецифичных лектинов семян сои разного происхождения на активность формирования бобово-ризобияльного симбиоза растениями сои и клубеньковыми бактериями *B. japonicum* 6346, а также азотфиксирующую активность симбиотических систем.

Методика

В работе использовали клубеньковые бактерии сои *Bradyrhizobium japonicum* 6346, полученные из коллекции Всероссийского НИИ сельскохозяйственной микробиологии (Санкт-Петербург, Россия), растения сои (*Glycine max* (L.) Merr.) сорта Марьяна (совместная селекция Института физиологии растений и генетики НАН Украины, Селекционно-генетического института, Института земледелия УААН) и бесклубеньковой изолинии сорта Ли, семена которой были любезно предоставлены Крымским отделением Института сельскохозяйственной микробиологии УААН, а также коммерческий лектин семян сои — КЛС («Лектинотест», Львов).

Микроорганизмы выращивали на маннито-дрожжевой агаризованной среде при 28 °С до начала стационарной фазы роста. В суспензию бактерий вносили лектины до конечной концентрации 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 молекул лектина на 1 микробную клетку и выдерживали в течение 20 ч. Предварительно подготовленные суспензии ризобий использовали для инокуляции 3-суточных проростков сои. Контролем служили растения, инфицированные суспензией клубеньковых бактерий (без внесения лектинов).

Лектин семян бесклубеньковой сои (ЛБС) выделяли из муки, обезжиренной в серном эфире согласно методу Сатсанги [18]. Как дополнительный этап получения очищенного ЛБС раствор гемагглютинина после диализа подкисляли до pH 4,6. Образовавшийся осадок выбрасывали. Кислотность надосадочной жидкости доводили до pH 6,5, лиофилизировали и использовали в дальнейших экспериментах. Электрофорез полученного препарата ЛБС проводили по Леммли [12] в 10 %-м полиакриламидном геле с использованием додецилсульфата натрия.

Активность и углеводную специфичность лектинов определяли общепринятыми методами в иммунологических планшетах [4] с помощью реакций гемагглютинации и подавления гемагглютинации, используя 2 %-ю суспензию эритроцитов кролика. При определении углеводной специфичности использовали 0,3 М растворы углеводов и 0,01 %-е растворы лектинов.

Семена сои стерилизовали в 15 %-м растворе H_2O_2 в течение 20 мин, промывали стерильной водопроводной водой и проращивали в течение

3 сут. Проростки высаживали после 1 ч инокуляции суспензией микроорганизмов из расчета 10^6 бактериальных клеток на проросток. Растения выращивали на песчаном субстрате с добавлением питательной среды Гельригеля со стартовой дозой азота (0,2 нормы) в сосудах Вагнера емкостью 11 кг. Сосуды предварительно стерилизовали 25 %-м раствором H_2O_2 . Эксперименты с растениями проводили в вегетационном домике Института физиологии растений и генетики НАН Украины в условиях естественного освещения, температуры и влажности воздуха. Влажность песка поддерживали на уровне 60 % его полной влагоемкости. Отбор растений осуществляли на 7-, 11-, 15-, 20-е сутки после инокуляции проростков и в фазу бутонизации растений (35–40-е сутки). При этом учитывали количество растений, сформировавших клубеньки, количество клубеньков на корнях, а также их азотфиксирующую активность, которую оценивали ацетиленовым методом [11] на хроматографе Chromatograf-504 («Mera Elwgo», Польша) с пламенно-ионизационным детектором. В качестве газа-носителя использовали азот.

Проведено два отдельных вегетационных опыта с пятикратной повторностью каждый. Полученные данные обработаны статистически.

Результаты и обсуждение

Ранее проведенные исследования показали, что белковый экстракт семян бесклубеньковой сои сорта Ли содержит белок, связывающий D-галактозу [5]. Поэтапным фракционированием N-ацетил-D-галактозамин/D-галактозоспецифичного лектина семян сои по методу Саттсанги, модифицированному нами, получен препарат лектина семян бесклубеньковой сои, при электрофоретическом разделении которого идентифицирована белковая полоса, соответствующая субъединице коммерческого лектина сои и лектина семян клубенькообразующей сои (мол. м. около 30 кД [8]). При исследовании гемагглютинирующей активности ЛБС и КЛС установлено, что эти белки связывают эритроциты кролика. Гемагглютинин семян бесклубеньковой сои, как и коммерческий лектин сои, взаимодействовал с D-галактозой, N-ацетил-D-галактозамин, лактозой (табл. 1). Однако ЛБС в отличие от коммерческого лектина активнее связывал лактозу (см. табл. 1). Результаты наших исследований по углеводной специфичности коммерческого лектина согласуются с полученными ранее [8] данными, которые показали, что лектин семян клубенькообразующей сои наиболее активно связывал N-ацетил-D-галактозамин. При этом аналогичный уровень

ТАБЛИЦА 1. Гемагглютинирующая активность лектина бесклубеньковой сои и коммерческого лектина сои (в условных баллах) при наличии некоторых углеводных лигандов

Лектин	Углевод							
	D-глюкоза	D-манноза	D-галактоза	маннит	L-арабиноза	лактоза	N-ацетил-D-глюкозамин	N-ацетил-D-галактозамин
КЛС	2	2	1	2	2	1	2	0
ЛБС	2	2	1	2	2	0	2	0

Примечание. Условные баллы: 0, 1 — реакция гемагглютинации ингибируется полностью (0) или частично (1); 2 — углевод концентрацией 0,3 М не ингибирует эту реакцию. Представлены результаты шести определений.

взаимодействия гемагглютинина с галактозой и лактозой наблюдался при использовании большего количества этих сахаров. Кроме отмеченных в табл. 1 углеводов (D-глюкоза, D-манноза, маннит, N-ацетил-D-глюкозамин, L-арабиноза) оба гемагглютинина не взаимодействовали также с L-фукозой, мальтозой, дульцитом и D-ксилозой.

Экспериментальные данные, подтвердившие некоторые различия углеводсвязывающих свойств ЛБС и КЛС (см. табл. 1), а также данные других авторов [3] позволили предположить, что исследуемые нами гемагглютинины могут несколько отличаться по характеру их действия на процессы, протекающие при формировании и функционировании симбиотических азотфиксирующих систем. Согласно полученным результатам исследований, в случае предварительного инкубирования бактерий в растворах лектинов общее количество клубеньков в фазу бутонизации растений оставалось близким к контрольному варианту, хотя некоторые недостоверные изменения по количеству (в пределах ошибки) и степени развития клубеньков (размеру) все же имели место. Литературные данные подтверждают способность коммерческого лектина сои как стимулировать образование растительно-микробных симбиотических взаимоотношений, так и не проявлять такого эффекта [9, 13], что, очевидно, может быть связано с условиями проведения эксперимента (титр культуры микроорганизмов, концентрация лектина, продолжительность инкубирования и т.д.).

Следует отметить, что в ряде вариантов с использованием ЛБС наблюдалось достоверное изменение количества клубеньков (табл. 2, 3), сформировавшихся на главном и боковых корнях. Такой эффект может определяться вызванными лектином изменениями в составе биологически активных и рецепторных молекул ризобиальных клеток. Показано, что лектины бобовых стимулируют синтез полисахаридов [2], которые играют существенную роль в формировании бобово-ризобиального симбиоза [16], а также влияют на структуру экзогликанового комплекса клубеньковых бактерий [2, 14]. Бобовые растения способны регулировать образование клубеньков на корнях [17]. При этом количество ризобий в ризоплане, длительность их контакта с поверхностью корня и другие факторы влияют на активность системы бобовых, регулирующей клубенькообразование. Возможно, изменения в синтезе или структуре определенных биологически активных соединений, продуцируемых мик-

ТАБЛИЦА 2. Формирование клубеньков на главном и боковых корнях сои и их азотфиксирующая активность под влиянием лектина бесклубеньковой сои и коммерческого лектина сои при их концентрации 10^5 и 10^6 молекул на 1 бактериальную клетку (вегетационные опыты, 2003 г.)

Вариант	Удельная азотфиксирующая активность, нмоль $C_2H_4/(мг \text{ клубеньков} \cdot ч)$	Количество клубеньков, шт.	
		Главный корень	Боковые корни
Контроль	$25,58 \pm 1,76$	$9,0 \pm 1,3$	$36,2 \pm 2,5$
ЛБС (10^5)	$22,35 \pm 2,05$	$10,3 \pm 1,1$	$28,8 \pm 2,0^*$
ЛБС (10^6)	$11,02 \pm 1,39^*$	$8,2 \pm 1,0$	$31,7 \pm 2,3$
КЛС (10^5)	$17,49 \pm 2,74^*$	$10,0 \pm 1,1$	$37,2 \pm 2,6$
КЛС (10^6)	$14,98 \pm 1,48^*$	$7,4 \pm 1,3$	$36,9 \pm 2,4$

*Здесь и в табл. 3 разница между опытными вариантами и соответствующим контролем достоверна при $p < 0,05$.

ВЛИЯНИЕ ЛЕКТИНОВ СЕМЯН СОИ

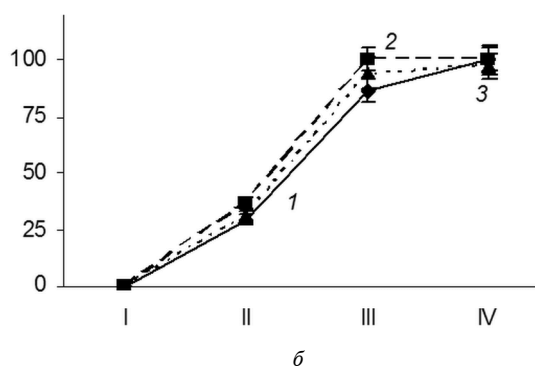
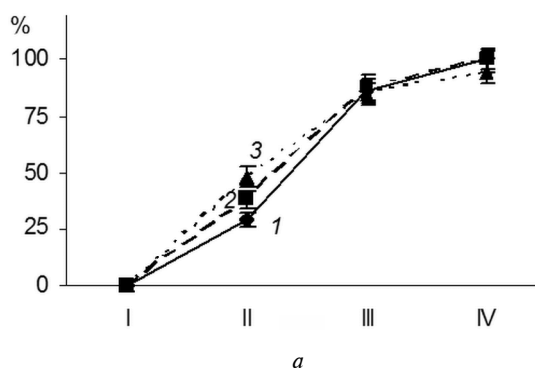
ТАБЛИЦА 3. Формирование клубеньков на главном и боковых корнях сои и их азотфиксирующая активность под влиянием лектина бесклубеньковой сои и коммерческого лектина сои при их концентрации 10^7 молекул на 1 бактериальную клетку (вегетационные опыты, 2004 г.)

Вариант	Удельная азотфиксирующая активность, нмоль C_2H_4 /(мг клубеньков · ч)	Количество клубеньков, шт.	
		Главный корень	Боковые корни
Контроль	$4,85 \pm 0,48$	$9,4 \pm 0,8$	$24,8 \pm 2,1$
КЛС	$5,00 \pm 0,22$	$10,5 \pm 0,7$	$23,1 \pm 1,7$
ЛБС	$3,38 \pm 0,30^*$	$12,8 \pm 0,9^*$	$27,9 \pm 2,1$

Примечание. Здесь и на рисунке представлены средние арифметические и стандартные ошибки двух отдельных опытов с пятикратной повторностью, в каждом из которых оценено по 20–35 растений на вариант. Средние арифметические и стандартные ошибки при определении нитрогеназной активности получены из 12 биологических повторностей.

робной клеткой, могут быть одним из условий, влияющих на характер функционирования этой системы и обуславливающих распределение клубеньков на корнях, показанное в наших опытах (см. табл. 2, 3). Следует отметить, что КЛС при концентрации 10^5 и 10^6 молекул на 1 бактериальную клетку вызывал формирование клубеньков на главном и боковых корнях в количестве

соответственно 1:3,7 и 1:5,0, тогда как ЛБС — 1:2,8 и 1:4,0. Согласно экспериментальным данным, оба лектина оказывали также положительный кратковременный эффект на процесс клубенькообразования у сои, связанный с отзывчивостью растений на инокуляцию (рисунок). Динамика количества растений, сформировавших клубеньки, была сходной как в случае обработки бактерий ЛБС, так и при использовании коммерческого лектина. При этом лектины в количестве 10^6 молекул на 1 бактериальную клетку не вызывали существенного увеличения количества растений, образовавших симбиоз с *V. jarrowii* 6346 на протяжении первых 11 сут после инокуляции, по сравнению с контролем. Инкубирование ризобий с КЛС при концентрации 10^5 молекул на 1 бактериальную клетку приво-



Количество растений сои (%), сформировавших клубеньки при инокуляции бактериями *V. jarrowii* 6346, инкубированными в растворах лектина на концентрации 10^5 (а) и 10^6 (б) молекул на 1 бактериальную клетку:

1 — контроль; 2 — лектин из семян бесклубеньковой сои; 3 — коммерческий лектин сои; I–IV — соответственно 7-, 11-, 15-, 20-е сутки после инокуляции проростков

дило к более выраженному по сравнению с ЛБС усилению нодуляции у сои в этот период (см. рисунок). В отличие от коммерческого лектина, добавление ЛБС в бактериальную суспензию в количестве 10^6 молекул на 1 клетку способствовало более активному инфицированию сои. Уже к 15-м суткам после инокуляции все растения в этом варианте имели клубеньки на корнях. При использовании 10^5 и 10^6 молекул КЛС на 1 бактериальную клетку количество растений, сформировавших клубеньки, было близким к максимальному значению (100 %) только на 20-е сутки после инокуляции (см. рисунок).

Установлено, что, например, изменения в структуре липополисахаридов ризобий, происходящие под воздействием биологически активных веществ семян растений, влияют не только на нодуляционные процессы, но и на способность клубеньков восстанавливать атмосферный азот [15]. В условиях экспериментов нами показано (см. табл. 2, 3), что удельная азотфиксирующая активность симбиотических систем, сформированных *B. japonicum* 634б, которые инкубировали с лектином семян бесклубеньковой сои при концентрации 10^6 и 10^7 молекул на 1 клетку, была достоверно ниже показателей контрольного варианта и имела тенденцию к снижению, когда количество молекул лектина в суспензии достигало 10^8 на 1 бактериальную клетку. Низкая азотфиксирующая активность симбиоза по сравнению с контролем наблюдалась при использовании 10^5 и 10^6 молекул коммерческого лектина на 1 бактериальную клетку (см. табл. 2). Следует отметить, что в отличие от коммерческого лектина при обработке ризобий лектином бесклубеньковой сои в количестве 10^6 молекул на 1 клетку ингибирующее действие гемагглютинирующего белка было более выраженным (см. табл. 2). Очевидно, способность ЛБС к более интенсивному взаимодействию с лактозой или другие возможные различия, например по степени связывания олигосахаридов, являются важным фактором, лежащим в основе наблюдаемого эффекторного действия ЛБС по отношению к формированию и, в большей степени, к функционированию симбиотических азотфиксирующих систем. Можно допустить, что некоторые отличия лектинов одной группы специфичности относительно активности их связывания с определенными углеводами могут быть одной из составляющих механизма, обуславливающего комплементарность партнеров бобово-ризобиального симбиоза на уровне сорт — штамм, показанные в ряде экспериментов [1].

Таким образом, лектин семян бесклубеньковой линии сои сорта Ли, как и коммерческий лектин сои, взаимодействовал с N-ацетил-D-галактозамином, D-галактозой и лактозой. ЛБС активнее связывал лактозу по сравнению с КЛС. Гемагглютинирующие белки отличались по влиянию на формирование клубеньков на главном и боковых корнях сои, а также на активность образования симбиоза растениями на наиболее ранних этапах развития бобово-ризобиальных симбиотических взаимоотношений. ЛБС вызывал снижение показателей удельной азотфиксирующей активности симбиоза в фазу бутонизации растений при его концентрации, превышающей 10^6 молекул на 1 бактериальную клетку, тогда как КЛС приводил к формированию клубеньков с низким уровнем восстановления атмосферного азота только при его концентрациях 10^5 и 10^6 молекул на 1 бактериальную клетку.

1. Даценко В.К., Лагута С.К., Старченков Е.П. и др. Эффективность бобово-ризобиального симбиоза различных сортов сои и штаммов *Bradyrhizobium japonicum* // Физиология и биохимия культ. растений. — 1997. — 29, № 4. — С. 299—303.

2. Косенко Л.В., Мандровская Н.М. Влияние лектина гороха на рост микросимбионтов гороха и биосинтез ими экзогликанов // Микробиология. — 1998. — **67**. — С. 626—630.
3. Косенко Л.В. Сравнительная характеристика углеводсвязывающих свойств лектинов из семян бобовых растений // Физиология растений. — 2002. — **49**. — С. 718—724.
4. Луцук М.Д., Панасюк Е.Н., Луцук А.Д. Лектины. — Львов: Вища шк., 1981. — 156 с.
5. Мельникова Н.М., Маменко П.М., Коць С.Я. Дві гемаглютинуючі фракції білків насіння безбुльбочкової сої з різною вуглеводною специфічністю // Доп. НАН України. — 2004. — № 11. — С. 167—172.
6. Dazzo F.B., Truchet G.L. Interaction of lectins and their saccharide receptors in the *Rhizobium-legume* symbiosis // J. Membrane Biol. — 1983. — **73**. — P. 1—16.
7. Fountain D.W., Foard D.E., Repogle W.D., Yang W.K. Lectin release by soybean seeds // Science. — 1977. — **197**. — P. 1185—1187.
8. Gade W., Jack M.A., Dahl J.B. et al. The isolation and characterization of a root lectin from soybean (*Glycine max* (L.), cultivar Chippewa) // J. Biol. Chem. — 1981. — **256**. — P. 12905—12910.
9. Halverson L.J., Stacey G. Effect of lectin on nodulation by wild-type *Bradyrhizobium japonicum* and nodulation-defective mutant // Appl. Environ. Microbiol. — 1986. — **51**. — P. 753—760.
10. Halverson L.J., Stacey G. Host recognition in the *Rhizobium*-soybean symbiosis // Plant Physiol. — 1985. — **77**. — P. 621—625.
11. Hardy R.W.F., Holsten R.D., Jackson E.K., Burns R.C. The acetylene-ethylene assay for N₂ fixation: laboratory and field evaluation // Ibid. — 1968. — **43**. — P. 1185—1207.
12. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. — 1970. — **227**. — P. 680—685.
13. Lodeiro A.R., Lopez-Garcia S.L., Vazquez T.E.E., Favelukes G. Stimulation of adhesiveness, infectivity, and competitiveness for nodulation of *Bradyrhizobium japonicum* by its pretreatment with soybean seed lectin // FEMS Microbiol. Lett. — 2000. — **188**. — P. 177—184.
14. 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. — **12**. — P. 289—296.
15. Noel K.D., Box J.M., Bonne V.J. 2-O-Methylation of fucosyl residues of a rhizobial lipopolysaccharide is increased in response to host exudate and is eliminated in a symbiotically defective mutant // Appl. Environ. Microbiol. — 2004. — **70**. — P. 1537—1544.
16. Pellock B.J., Hai-Ping Cheng, Walker G.C. Alfalfa root nodule invasion efficiency is dependent on *Sinorhizobium meliloti* polysaccharides // J. Bacteriol. — 2000. — **182**. — P. 4310—4318.
17. Pierce M., Bauer W.D. A rapid regulatory response governing nodulation in soybean // Plant Physiol. — 1983. — **73**, N 2. — P. 286—290.
18. Sattsangi P.D. Sattsangi S. Aceton precipitation — an improved procedure for the isolation of soybean agglutinin // Preparative Biochem. — 1984/1985. — **14**. — P. 471—483.

Получено 10.03.2009

ВПЛИВ ЛЕКТИНІВ НАСІННЯ СОЇ НА ФОРМУВАННЯ Й ФУНКЦІОНУВАННЯ БОБОВО-РИЗОБІАЛЬНОГО СИМБІОЗУ

Н.М. Мельникова,¹ Н.В. Ковальчук,² С.Я. Коць,¹ Л.І. Мусатенко²

¹Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України, Київ

²Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного Національної академії наук України, Київ

Досліджено вплив лектинів насіння сої на формування бобово-ризобіального симбіозу соя — *Bradyrhizobium japonicum* 6346 та його азотфіксувальну активність. Показано, що лектин насіння безбुльбочкової лінії сої (*Glycine max* (L.) Merr.) сорту Лі, як і комерційний лектин сої, зв'язував N-ацетил-D-галактозамін, D-галактозу і лактозу, але не взаємодіяв з D-глюкозою, D-манозою, N-ацетил-D-глюкозаміном і L-фукозою. Лектин безбुльбочкової сої активніше зв'язував лактозу. Гемаглютинуючі білки різнилися за впливом на формування бульбочок на головному і бічних коренях сої, а також на активність утворення симбіозу рослинами на найраніших етапах розвитку бобово-ризобіальних симбіотичних взаємовідносин. Рівень азотфіксувальної активності симбіотичних систем залежав від виду лектину, який використовували для обробки ризобій, та концентрації гемаглютинуючого білка.

INFLUENCE OF SOYBEAN SEEDS LECTINS ON THE LEGUME-RHIZOBIUM
SYMBIOSIS FORMATION AND FUNCTIONING

N.M. Melnykova,¹ N.V. Kovalchuk,² S.Ya. Kots,¹ L.I. Musatenko²

¹Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylykivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

²M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine
2 Tereshchenkivska St., Kyiv, 01601, Ukraine

The influence of soybean seeds lectins on the formation of soybean — *Bradyrhizobium japonicum* 634b symbiosis and its nitrogen fixation activity have been studied. It was shown that the lectin of non-nodulating soybean seeds (*Glycine max* (L.) Merr.) of cultivar 'Lee' and commercial soybean lectin had bound N-acetyl-*D*-galactosamine, *D*-galactose and *D*-lactose whereas both haemagglutinins had not interacted with *D*-glucose, *D*-mannose, N-acetyl-*D*-glucosamine and *L*-fucose. The lectin of non-nodulating soybean seeds had bound more actively to lactose as compared to commercial lectin. The haemagglutinating proteins had some differences as related to the influence on nodule formation on primary and lateral soybean roots and the symbiosis formation activity by leguminous plants during early stages of legume-rhizobia symbiotic interactions development. It was shown that the nitrogen fixation activity of symbiotic systems had depended on lectin used for treatment of rhizobia and concentrations of the haemagglutinins.

Key words: *Glycine max* (L.) Merr., *Bradyrhizobium japonicum*, lectin of soybean seeds, carbohydrate specificity, legume-rhizobia symbiosis.