

УДК 581.192

## ЗМІНА ЕНДОГЕННОЇ ЛЕКТИНОВОЇ АКТИВНОСТІ РОСЛИН СОЇ ЗА ДІЇ ЕКЗОГЕННОГО ЛЕКТИНУ НА НАСІННЯ

О.В. КИРИЧЕНКО

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України  
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17  
e-mail: leki07@mail.ru*

Вивчено вплив передпосівної обробки насіння сої специфічним для рослини екзогенним лектином на зміну ендогенної лектинової активності в різних органах рослин. Встановлено, що рівень лектинової активності у вегетативних і генеративних органах сої змінюється в різні фази вегетації й залежить від діючої концентрації екзогенного лектину. Показано, що високу продуктивність насіння мають рослини з високими показниками лектинової активності генеративних органів.

*Ключові слова:* лектин, соя, лектинова активність, листки, корені, бутони, врожай.

Фітолектини — вуглеводзв'язувальні білки, виявлені в більшості таксонів вищих і нижчих рослин. У рослинному організмі лектини містяться в насінні, де їх кількість може досягати 10—15 % загального вмісту запасних білків, а також у тканинах вегетативних і генеративних органів рослин [2]. Щоб зрозуміти роль лектинів у процесі росту і розвитку рослин, важливо дослідити їх вміст та активність у різних органах протягом вегетаційного періоду. Встановлено різноманітність властивостей і вмісту лектинів у різних тканинах однієї рослини [11], у різних органах рослини протягом її індивідуального розвитку [11, 13, 21] та в рослинах різних сортів одного виду [4, 11], що свідчить про виконання цими білками певних функцій протягом онтогенезу і філогенезу рослин.

Через поширення та значний вміст лектинів у різних органах рослин потрібно визначити їх фізіологічну роль у рослинному організмі, втім числі й за екзогенної дії на рослини. Ми довели, що в разі екзогенного впливу специфічних лектинів на насіння сої та пшениці активується ріст, змінюються фізіолого-біохімічні показники розвитку рослин у різні фази онтогенезу, підвищується їх продуктивність [17]. Встановлено зміну ендогенної лектинової активності та зв'язок цього показника з вмістом зелених фотосинтетичних пігментів листків, а також азотфіксуювальною активністю мікроорганізмів ризосфери ярої пшениці протягом онтогенезу за дії аглютиніну пшеничних зародків на насіння [5].

Метою даної роботи було вивчення специфіки ендогенної лектинової активності в різних органах сої (листки, корені, бутони) та дослідження впливу екзогенного лектину сої за передпосівної обробки насіння на зміну ендогенної лектинової активності вегетативних і генеративних органів рослин.

## Методика

Об'єктами дослідження були рослини сої (*Glicine max* (L.) Merr.) сорту Мар'яна селекції Інституту фізіології рослин і генетики НАН України та лектин насіння сої («Лектинотест», Львів). Рослини вирощували у вегетаційних умовах за природних освітлення й температури на ґрунтовому субстраті (ґрунт : пісок = 3 : 1) із поживною сумішшю Гельригеля (0,25 норми мінерального азоту) [8]. Насіння сої за 1 год до висівання обробляли розчинами лектину сої концентраціями 500, 50 і 5 мкг/мл (дослідні варіанти) та водою (контрольний варіант). Для визначення лектинової активності в різних органах (листочках, коренях, бутонах) рослини відбирали у фази розвитку 4 справжніх листків (період початку активної азотфіксації) і бутонізації. Білки з гемаглютинувальною активністю виділяли модифікованим нами [9] методом осадження етанолом [22]. Свіжий рослинний матеріал (1 г) екстрагували підкисленою (рН 4,0–4,5) дистильованою водою у співвідношенні 1 : 8 протягом 4 год за 37 °С та 20 год за 0 °С. Екстракт центрифугували (5000 g, 20 хв), з охолодженої (4 °С) надосадової рідини етанолом (–2 °С, кінцева концентрація 76 %) осаджували білкову фракцію. Після центрифугування (5500 g, 20 хв) осад збирали, розчиняли його в 1 мл фізіологічного розчину і установлювали титр аглютинації еритроцитів крові людини групи 0(I). Вміст білка в зразках визначали за методикою Вітакер і Ейнер [26]. Величину, обернену до титру аглютинації, брали за фактичну лектинову активність (ФЛА), яку виражали в одиницях аглютинації (ОА) в 50 мкл розчину (АО/50 мкл). Питому лектинову активність (ПЛА), що як і титр аглютинації є відносним показником вмісту лектину в зразках [11], обчислювали як аглютинувальну активність 1 мг білка і виражали в одиницях аглютинації на 1 мг білка (ОА/мг). Вплив екзогенного лектину сої на ендогенну лектинову активність оцінювали за зміною показника ПЛА у відсотках відносно контролю.

Урожай сої визначали у фазу повної стиглості насіння.

Результати оброблено статистично за програмою Statgraphics Plus. У таблицях наведено середньоарифметичні значення та їх стандартні похибки.

## Результати та обговорення

Дослідженням розподілу лектинової активності в надземній частині й кореневій системі рослин у фазу розвитку 4 справжніх листків виявлено, що в листках вона значно вища, ніж у коренях (табл. 1). У варіантах передпосівної обробки насіння лектином сої показник лектинової активності листків і коренів рослин збільшувався. Максимальну лектинову активність листків сої, що перевищувала контрольний показник у 5,7 раза, визначено у рослин варіанта використання для передпосівної обробки насіння лектину концентрацією 500 мкг/мл. Ці рослини характеризувались також максимальною ПЛА коренів (у 1,4 раза більшою від контрольної). ПЛА листків сої у варіанті обробки насіння лектином концентрацією 50 мкг/мл перевищувала контрольне значення у 2,8 раза, тоді як ПЛА коренів змінювалось значно менше. У варіанті з обробкою лектином мінімальної концентрації (5 мкг/мл) ПЛА листків і коренів перевищували контрольні значення відповідно в 3,4 та 1,2 раза (див. табл. 1).

Отже, у фазу розвитку 4 справжніх листків ендогенна лектинова активність листків сої була істотно вищою, ніж коренів, що може підтвер-

ТАБЛИЦЯ 1. Вплив екзогенного лектину сої за передпосівної обробки насіння на ендогенну лектинову активність різних органів рослин у фазу розвитку 4 справжніх листків

Варіант	Фактична лектинова активність	Питома лектинова активність	
	ОА/50 мкл	ОА/мг білка	%
Листки			
Контроль (вода)	64	1053,5±0,5	100
Лектин, мкг/мл			
500	256	5967,5±8,0*	566
50	256	2954,4±1,0*	280
5	256	3582,9±2,9*	340
Корені			
Контроль (вода)	4	151,2±0,2	100
Лектин, мкг/мл			
500	8	216,9±1,4*	144
50	8	172,4±0,1*	114
5	8	180,8±0,1*	120

П р и м і т к а. Тут і в табл. 2, 3: \* — різниця порівняно з контролем вірогідна за  $P < 0,05$ .

джували активну участь лектинів у метаболічних процесах, які відбуваються в надземній частині рослини [1, 4, 15, 23, 24]. Відомо, що лектини беруть участь у структурній організації та функціонуванні фотосинтетичного апарату рослин [1, 8, 11, 16], гормональній регуляції росту і розвитку рослин унаслідок взаємодії з фітогормонами ауксинової й цитокінінової природи [10, 23], функціонуванні транспортної системи, перенесенні асимілятів по рослині [2, 4, 15, 20, 24]. Показано, що лектин вегетативних тканин сої, здатний до гідрофобної взаємодії з білками, бере участь у їх упакуванні й акумуляції у вакуолях клітин мезофілу листків [24]. Галактозоспецифічні лектини, до яких належить і лектин сої [2], у результаті взаємодії з гліколіпідами мембран зміцнюють структуру тилакоїдів хлоропластів, стабілізують мембранні структури листків [16]. Доведено, що лектини входять до складу хлорофіл-білкових комплексів, а саме — світлозбирального комплексу фотосистеми I, впливають на функціонування ферментів фотосинтетичної асиміляції вуглецю [1, 8, 11].

Передпосівна обробка насіння сої специфічним для рослини лектином вірогідно посилює синтез ендогенного пулу лектинів у рослині, у результаті чого підвищується ендогенна лектинова активність як у листках, так і в коренях рослин дослідних варіантів. Доказом цього можуть бути отримані нами дані, які підтвердили активацію синтезу РНК і підвищення лектинової активності листків пшениці за дії аглютиніну пшеничних зародків на насіння [6]. Кількість лектинів у злаках збільшується внаслідок їх синтезу de novo [12].

У фазу бутонізації сої (табл. 2) розподіл ендогенної лектинової активності в різних органах рослин змінювався, однак зберігалась закономірність, встановлена у фазу розвитку 4 справжніх листків: лектинова активність листків була вищою за активність коренів. Для цієї фази розвитку порівняно з попередньою було характерним зниження ПЛА листків і підвищення ПЛА коренів. Так, у контрольному варіанті показники

ИЗМЕНЕНИЕ ЭНДОГЕННОЙ ЛЕКТИНОВОЙ АКТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ СОИ

ТАБЛИЦЯ 2. Зміна лектинової активності різних органів рослин сої у фазу бутонізації за дії екзогенного лектину сої на насіння

Варіант	Фактична лектинова активність	Питома лектинова активність	
	ОА/50 мкл	ОА/мг білка	%
Листки			
Контроль (вода)	64	684,6±2,1	100
Лектин, мкг/мл			
500	128	1896,2±8,1*	277
50	64	775,8±2,7*	113
5	32	618,4±1,7*	90
Бутони			
Контроль (вода)	4	88,9±0,6	100
Лектин, мкг/мл			
500	32	417,1±3,9*	470
50	4	81,2±0,2*	91
5	32	615,9±10,3*	693
Корені			
Контроль (вода)	8	256,2±3,6	100
Лектин, мкг/мл			
500	16	915,1±15,1*	357
50	4	190,9±5,3*	75
5	8	233,6±1,0*	91

ПЛА листків сої в 1,5 раза зменшувались, у коренях — в 1,7 раза збільшувались.

Для рослин дослідних варіантів (обробка насіння лектином сої концентраціями 500, 50 і 5 мкг/мл) також відмічено зниження ПЛА листків відповідно в 3,1; 3,8 та 5,8 раза порівняно з попередньою фазою розвитку рослин. ПЛА коренів при цьому зростала в 4,2 раза у рослин варіанта обробки насіння лектином концентрацією 500 мкг/мл і змінювалась неістотно (в 1,1—1,3 раза) за концентрації лектину 50 і 5 мкг/мл. У рослин, насіння яких обробляли лектином концентраціями 50 і 5 мкг/мл, ПЛА коренів знижувалась порівняно з контролем і лише за дії лектину максимальної концентрації — збільшувалась у 3,6 раза (див. табл. 2).

У варіантах з обробкою насіння сої лектином ЛА листків була максимальною за концентрації лектину 500 мкг/мл, аналогічно, як і в попередній фазі розвитку рослин (див. табл. 1). ПЛА листків цього варіанта істотно перевищувала як показники ПЛА інших дослідних варіантів, так і контрольні значення.

У фазу бутонізації сої порівняно з попередньою фазою розвитку рослин зафіксовано значне підвищення лектинової активності в коренях та її зниження в листках (див. табл. 2), що може свідчити про збільшення участі аглютинувальних білків у перенесенні фотоасимілятів з надземної частини рослин у корінь [2, 15, 18—20, 24]. Відомо, що з плазматичною мембраною клітин сої міцно зв'язаний лектин, який бере активну участь у транспортуванні сахарози [18, 19]. Наявність білків із лектиною

активністю у флоемних тканинах (флоемні лектини) [15, 18, 25] і ксилемному соку [4] рослин свідчить про їх участь у розвитку й функціонуванні провідної системи рослин і передачі сигналів між органами із залученням до дальнього транспорту по рослині не тільки сполук вуглеводної природи — первинних продуктів фотосинтезу, а й гормонів, білків, мРНК — рiстрегулювальних та інформаційних молекул [14, 15, 18–20, 25].

Одним із пояснень зниження ендогенної ЛА листків сої у фазу бутонізації може бути її перерозподіл у надземній частині рослини, пов'язаний із закладанням і формуванням генеративних органів (бутонів, квіток) [7].

Ми встановили (див. табл. 2) наявність лектинової активності в бутонах рослин усіх варіантів дослідження. ПЛА бутонів була значно нижчою за ЛА листків сої: для рослин контрольного варіанта в 7,7 раза порівняно з ПЛА листків та в 2,9 раза — порівняно з ПЛА коренів. Високу ЛА бутонів зафіксовано у варіантах обробки насіння лектином концентраціями 500 і 5 мкг/мл, причому за обробки 5 мкг/мл ЛА бутонів і листків знаходилась на одному рівні, а за концентрації лектину 500 мкг/мл ПЛА бутонів була нижчою в 4,6 раза, ніж листків і в 2,2 раза, ніж коренів. У варіанті з обробкою насіння лектином концентрацією 5 мкг/мл ПЛА бутонів у 2,6 раза перевищувала ПЛА коренів. У рослин цього варіанта в разі зниження ПЛА листків і коренів істотно (в 6,9 раза) зростала ПЛА генеративних органів.

Наявність ЛА бутонів сої та зниження ЛА листків може свідчити про її перерозподіл між різними органами надземної частини рослин у фазу бутонізації та участь лектинів у формуванні генеративних органів. Високу лектинову активність мали рослини варіантів з обробкою насіння лектином концентраціями 500 і 5 мкг/мл.

Отже, наведені результати вивчення ендогенної ЛА листків, коренів та бутонів рослин сої за дії екзогенного лектину і без нього на різних етапах вегетації (фаза розвитку 4 справжніх листків, фаза бутонізації) підтверджують істотні зміни лектинової активності різних органів протягом онтогенезу і можливу поліфункціональність лектину в рослинному організмі.

Максимальну продуктивність сої отримано у варіанті з передпосівною обробкою насіння лектином концентрацією 500 мкг/мл (табл. 3). Рослини цього варіанта формували на 14 % більше насінин, ніж у контролі, і мали на 42 % більшу насінневу продуктивність. У варіанті з передпосівною обробкою насіння лектином мінімальної концентрації (5 мкг/мл) отримано на 13 % більше насінин із рослини, ніж у контролі, але їх маса була лише на 15 % більша за контрольний показник і на 23 %

ТАБЛИЦЯ 3. Вплив передпосівної обробки насіння сої лектином на формування насінневої продуктивності рослин

Варіант	Кількість насінин на рослину		Маса насінин із рослини	
	штук	%	г	%
Контроль (вода)	12,9±0,6	100	2,02±0,07	100
Лектин, мкг/мл				
500	14,7±1,1	114	2,86±0,54*	142
50	10,7±0,1	83	1,52±0,02	75
5	14,6±1,0	113	2,32±0,15*	115

менша за максимальну продуктивність у варіанті з обробкою насіння лектином концентрацією 500 мкг/мл.

Порівняльним аналізом дії екзогенного лектину сої на ендогенну ЛА рослин протягом вегетації з продуктивністю насіння сої виявлено, що найвищу ЛА генеративних органів мали рослини варіантів з обробкою насіння лектином концентраціями 500 і 5 мкг/мл (див. табл. 2); ці рослини формували також однакову кількість насінин (14,7 і 14,6 штук на рослину) (див. табл. 3). Стабільно висока ЛА надземної частини (листки, бутони) і кореневої системи рослин сої за дії максимальної концентрації екзогенного лектину порівняно з іншими варіантами може свідчити про активну участь лектину в транспортних системах (перенесення фотоасимілятів із листків у корені та мінеральних елементів із коренів у листки) між надземною частиною й коренем. Це забезпечує оптимальний розвиток рослин, інтенсивне формування генеративних органів і як наслідок — максимальну продуктивність.

Отже, у процесі розвитку рослин сої ендогенна ЛА різних органів змінюється, що свідчить про динамічність цього показника протягом вегетації рослин. Екзогенний специфічний лектин у разі передпосівної обробки насіння забезпечує збільшення ендогенної ЛА. Рослини з високими показниками ендогенної лектинової активності генеративних органів характеризуються високою насінневою продуктивністю.

1. Алексидзе Г.Я., Литвинов А.И., Вискребенцева Э.И. Модель организации на мембране тилакоидов комплекса ферментов цикла Кальвина с участием лектина фотосистемы I // Физиология растений. — 2002. — 49, № 1. — С. 155—159.
2. Антонюк В.О. Лектины та їх сировинні джерела. — Львів: ПП «Кварт», 2005. — 554 с.
3. Гродзинский А.М., Гродзинский Д.М. Краткий справочник по физиологии растений. — Киев: Наук. думка, 1971. — 388 с.
4. Даскалюк Ю.О., Артеміє В.Г., Кириченко О.В. Лектиновая активність білків пасоки *Vitis vinifera* L. // Укр. ботан. журн. — 2002. — 59, № 4. — С. 460—464.
5. Кириченко О.В. Вплив передпосівної обробки насіння пшениці аглютиніном пшеничних зародків на вміст хлорофілу і лектинову активність у листках та азотфіксувальну здатність ризосферних мікроорганізмів // Укр. біохім. журн. — 2008. — 80, № 1. — С. 107—113.
6. Кириченко О.В., Тищенко О.М. Вплив екзогенного специфічного лектину на ендогенну лектинову активність пшениці // Там само. — 2005. — 77, № 4. — С. 133—137.
7. Ковалева Л.В., Комарова Э.Н., Вискребенцева Э.И. Спорофитно-гаметофитные взаимодействия в системе пыльца—пестик // Физиология растений. — 1999. — 46, № 1. — С. 98—101.
8. Комарова Э.Н., Вискребенцева Э.И., Трунова Т.И. Активность лектиноподобных белков клеточных стенок и внешних мембран органелл и их связь с эндогенными лигандами в проростках озимой пшеницы при холодовой адаптации // Там же. — 2003. — 50, № 4. — С. 511—516.
9. Маличенко С.М., Назаренко Н.И., Кириченко Е.В., Заец В.Н. Выделение лектинов из семян и корней люпина (*Lupinus luteus* L.) и изучение некоторых их свойств // Физиология и биохимия культ. растений. — 1994. — 26, № 3. — С. 252—256.
10. Шакирова Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. — Уфа: Гилем, 2001. — 160 с.
11. Ямалеева А.А. Лектины растений и их биологическая роль. — Уфа: РИЦ Башк. ун-та, 2001. — 202 с.
12. Cammue B.P.A., Broekaert W.F., Kellens J.T.C. et al. Stress-induced accumulation of wheat germ agglutinin and abscisic acid in roots of wheat seedlings // Plant Physiol. — 1989. — 91, N 6. — P. 1432—1435.
13. Cammue B.P.A., Stinissen H.M., Peumans W.J. Lectin in vegetative tissues of adult barley plants grown under field condition // Ibid. — 1985. — 78, N 3. — P. 384—387.
14. Giavalisco P., Kapitza K., Kolasa A. et al. Towards the proteome of *Brassica napus* phloem sap // Proteomics. — 2006. — 6. — P. 896—909.
15. Gomez G., Torres H., Pallas V. Identification of translocatable RNA-binding phloem proteins from melon, potential components of the long-distance RNA transport system // Plant J. — 2005. — 41. — P. 107—116.

16. *Hincha D.K., Bakaltcheva I., Schmitt J.M.* Galactose-specific lectins protect isolated thylakoids against freeze-thaw damage // *Plant Physiol.* — 1993. — **103**, N 1. — P. 59–63.
17. *Kyrychenko O.V.* Practice of soybean and wheat lectins use for the plant growing // *Problems of biogeochemistry and geochemical ecology.* — 2008. — **1**, N 5. — P. 99–105.
18. *Ohno Y., Naganuma T., Ogawa T., Muramoto K.* Effect of lectins on transport of food factors in caco-2 cell monolayers // *J. Agr. Food Chem.* — 2006. — **54**. — P. 548–553.
19. *Overvoorde P.J., Grimes H.D.* Topographical analysis of the plasma membrane-associated sucrose binding protein from soybean // *J. Biol. Chem.* — 1994. — **269**, N 21. — P. 15154–15161.
20. *Owens R.A., Blackburn M., Ding B.* Possible involvement of the phloem lectin in long-distance viroid movement // *Mol. Plant-Micr. Int.* — 2001. — **14**, N 7. — P. 905–909.
21. *Raikhel N.V., Mishkind M.L., Palevitz B.A.* Characterization of a wheat germ agglutinin-like lectin from adult wheat plants // *Planta.* — 1984. — **164**, N 1. — P. 55–61.
22. *Rigas N., Osgood E.* Purification and properties of the PHA of *Paseolus vulgaris* // *J. Biol. Chem.* — 1955. — **212**, N 2. — P. 607–615.
23. *Rudiger H.* Structure and function of plant lectins // *Glycosciences. Status and perspectives / Eds H.-J. Gabius, S. Gabius.* — London; Glasgow; Weiheim; New York; Tokyo; Melbourne; Madras: Chapman, Hall ITPC, 1997. — P. 415–438.
24. *Spilatro S.R., Cochran G.R., Walker R.E.* Characterization of new lectin of soybean vegetative tissues // *Plant Physiol.* — 1996. — **110**, N 3. — P. 825–834.
25. *Van Damme E.J.M., Zhang W., Peumans W.J.* Induction of cytoplasmic mannose-binding jacalin-related lectins is a common phenomenon in cereals treated with jasmonate methyl ester // *Com. Appl. Biol. Sci.* — 2004. — **69**, N 1. — P. 23–32.
26. *Whitaker J.R., Einar G.* An absolute method for protein determination based on difference in absorbance at 235 and 280 nm // *Anal. Biochem.* — 1980. — **109**, N 1. — P. 156–159.

Отримано 08.06.2010

#### ИЗМЕНЕНИЕ ЭНДОГЕННОЙ ЛЕКТИНОВОЙ АКТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ СОИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЭКЗОГЕННОГО ЛЕКТИНА НА СЕМЕНА

*Е.В. Кириченко*

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

Изучено влияние предпосевной обработки семян сои специфичным для растения экзогенным лектином на изменение эндогенной лектиновой активности в разных органах растений. Установлено, что уровень лектиновой активности в вегетативных и генеративных органах сои изменяется в разные фазы вегетации и зависит от действующей концентрации экзогенного лектина. Показано, что высокую продуктивность семян имеют растения с высокими показателями лектиновой активности генеративных органов.

#### CHANGES IN ENDOGENOUS LECTIN ACTIVITY OF SOYBEAN PLANTS UNDER SEEDS TREATMENT WITH EXOGENOUS LECTIN

*O.V. Kyrychenko*

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

The influence of presowing soybean seeds treatment with plant specific lectin on alteration of endogenous lectin activity in different plant organs was studied. It was established that level of lectin activity in vegetative and generative plant organs had varied during different vegetation phases and depended on affected concentration of exogenous lectin. It was shown that high indices of lectin activity in generative organs have possessed with increased seed productivity.

*Key words:* lectin, soybean, lectin activity, leaves, roots, buds, harvest.