

УДК 581.1

**ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ ЛЕКТИНОВ В ПРОРОСТКАХ ПШЕНИЦЫ
ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ И ДЕЙСТВИИ ДИТЕРПЕНОВОГО ГЛИКОЗИДА**
Шаймуллина Г.Х., Хусаннова Р.Р., Грошева Е.А., Невмержицкая Ю.Ю., Тимофеева О.А.

ФГОАУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», ул. Кремлевская, 18,
г. Казань, 420008, Россия, E-mail: gulnazshajmullina@yandex.ru

Triticum aestivum L., лектины, очистка, патоген, стевиозид

Введение

Ежегодные потери урожая сельскохозяйственных культур, вызванные развитием грибных заболеваний, требуют эффективных, экологически чистых путей решения проблемы защиты растений. Относительно высокое содержание лектинов в растительных тканях, способность реагировать с гликоконъюгатами на поверхности патогенов, наряду с ограничивающим рост микроорганизмов влиянием свободных лектиновых белков указывают на их защитную роль в растениях. Несомненно, большая роль в координации процессов жизнедеятельности клетки в неблагоприятных условиях принадлежит веществам гормонального типа. Показано, что стевиол, являющийся прекурсором гибберелловой кислоты, проявляет антибактериальные и рострегулирующие свойства [1]. Регуляторы роста стимулируют клеточный иммунитет и активизируют защитные силы самого растения, оказывая воздействие не на конкретную болезнь или вредителя, а на организм в целом. На этих основаниях, данное исследование направлено на выявление молекулярных ответов растительных клеток при патогенезе и возможный протекторный вклад стевиозидов в ответ на инфицирование патогенов.

Материалы и методы

Объектом исследования служили проростки яровой пшеницы (*Triticum aestivum L.*) сорта Омская 33. В качестве инфекционного агента использовали *Fusarium (F.) oxysporum* Schlechtend.:Fr. Семена перед посевом стерилизовали в 70% этаноле, выращивали в кюветках на водопроводной воде и в растворе стевиозидов в концентрации 10^{-8} М. Концентрация исследуемого соединения была подобрана в предварительных экспериментах. Инфицированию подвергали 7-суточные проростки, для чего их выдерживали в течение суспензии конидий с исходным титром $(1-3) \cdot 10^4$ КОЕ/см³ и затем отбирали первую пробу для определения активности растворимых и связанных с клеточной стенкой лектинов. Последующие образцы отбирали через каждые 24 ч (на протяжении 4 сут.). Общий возраст проростков составил 11 сут.

Растворимые лектины экстрагировали 0,05н HCl, лектины клеточной стенки – 0,05% раствором тритона X-100 по методу, описанному в ранее опубликованной работе [2]. Для определения количества белка использовали метод Bradford [3]. Активность лектинов определяли в планшетах для иммунологических исследований по их способности агглютинировать трипсинизированные эритроциты I группы крови. Лектиновую активность рассчитывали по минимальному количеству белка, вызывающему агглютинацию эритроцитов (мкг белка/мл)-1. Результаты обрабатывали статистически, их считали достоверными при уровне погрешности $\leq 5\%$ по критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Как видно из рисунка 1, изменения активности растворимых лектинов при действии фитопатогена *Fusarium spp.* носили фазный характер: первый пик увеличения активности мы наблюдали через 24 ч после инфицирования, второй - через 72 ч. Такое повышение активности лектинов может свидетельствовать о вовлечении растворимых лектинов в ответную реакцию растений на инфицирование. Увеличение активности растворимых лектинов может быть обусловлено как их синтезом de novo, так и изменением конформации существующих молекул.

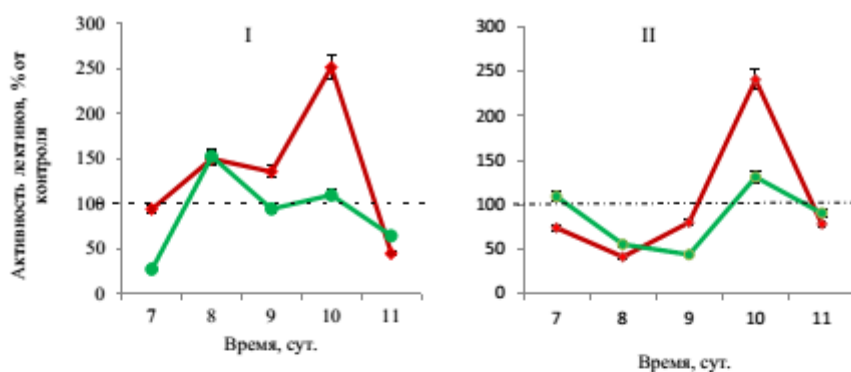


Рисунок 1 - Активность растворимых (I) и связанных с клеточной стенкой (II) лектинов яровой пшеницы сорта Омская 33:

◆ - контроль + *Fusarium oxysporum*, ■ - стевизиод + *Fusarium oxysporum*

Figure 1 - Activity of soluble lectins and cell wall lectins spring wheat varieties Omsk 33:

◆ - control + *Fusarium oxysporum*, ■ - stevioside + *Fusarium oxysporum*

Один из механизмов действия веществ гормональной природы может осуществляться через изменение активности и содержания фитоагглютининов. Так было показано влияние гибберелловой кислоты на экспрессию гена, кодирующего лектин БКС30 массой 30 кДа [4]. В связи с этим мы решили предварительно обработать проростки пшеницы раствором дитерпенового гликозида стевизиода (10⁻⁸ М), агликоном которого является гиббереллиноподобный дитерпеноид стевиол. Стевиозид уменьшил ответную реакцию растворимых лектинов на грибную инфекцию. В этом варианте мы наблюдали повышение активности растворимых лектинов только через 1 сут. после воздействия фитопатогенного гриба.

Инфицирование *Fusarium spp.* вызывало подавление активности лектинов клеточной стенки в течение первых двух сут. после инкубации растений в суспензии спор гриба, а затем на третьи сут. происходило значительное увеличение активности этой группы белков. Через 96 ч уровень активности лектинов клеточной стенки вновь был ниже по сравнению с контрольными растениями. Можно предположить, что более поздние изменения активности лектинов отражают симптомы болезни, т.е. коррелируют с восприимчивостью растений.

Предобработка растений стевизиодом уменьшала ответную реакцию лектинов клеточной стенки на инфицирование в течение всего эксперимента, возвращая активность этой группы белков к уровню контрольных растений через 96 ч после заражения грибным фитопатогеном.

Заключение

На основании результатов исследования динамики активности лектинов в проростках яровой пшеницы Омская 33 при действии инфицирования и проращивания в растворе стевизиода можно утверждать о важной роли этих белков в формировании адаптивных реакций к патогенезу и о протекторном действии стевизиода. В то же время, природные и синтетические регуляторы роста, сочетающие в себе ростстимулирующую и антистрессовую активность, могут быть использованы в растениеводстве, для борьбы с фитопатогенами.

Литература

1. Oliveira B.H., Stiirmer J.C., Filho J. D. S.[et al.] Plant growth regulation activity of steviol and derivatives // *Phytochemistry* – 2008. - V.69. - P. 1528-1533.

2. Тимофеева О.А., Невмержицкая Ю.Ю., Московкина М.А. Активность и состав лектинов клеточной стенки пшеницы при действии низких температур и ингибиторов кальциевой сигнальной системы// *Физиология растений*. 2010. Т. 57, № 2. С. 209-216.

3. 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.

4. Oda A., Sakuta C., Masuda S. et al. Possible involvement of leaf gibberellins in the clock-controlled expression of XSP30, a gene encoding a xylem sap lectin, in cucumber roots1 //Plant Physiol. - 2003. - V. 133. - P. 1779-1790.

**DYNAMICS OF LECTIN ACTIVITY IN WHEAT SEEDLINGS DURING INFECTION
AND DITERPENE GLYCOSIDE ACTION**

Shaymullina G.H., Khusainova R.R., Grosheva E.A., Nevmerzhitskaya Y.Y., Timofeeva O.A.

Triticum aestivum L., lectins, purification, pathogen, stevioside

Dynamics of lectins in sprouts of a spring-sown field activity in the conditions of infection and preprocessing by a diterpen glycoside the stevioside is investigated. Reduction of activity of soluble and connected with a cellular wall lectins in the preliminary processed in the stevioside plants testifies to manifestation of its protective properties.