

**О.В. Ястребова, Л.П. Маліновська, К.С. Коробкова**

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,  
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ МСП, Д03680, Україна*

## **ВПЛИВ АГЛЮТИНІНУ ЗАРОДКІВ ПШЕНИЦІ НА АХОЛЕПЛАЗМУ – ЗБУДНИКА ФІТОМІКОПЛАЗМОЗУ**

*Внесення аглютиніну зародку пшениці (АЗП) до середовища культивування збудника блідо-зеленої карликовості пшениці *Acholeplasma laidlawii* var. *granulum* шт. 118 спричиняє плейотропну відповідь ахолеплазми: відбувається активація ростових процесів, збільшення загальної кількості білка порівняно з контролем, зменшення гемаглютинуючої активності, що призводить до зменшення адгезивних властивостей патогену.*

*Ключові слова: *Acholeplasma laidlawii* var. *granulum* шт. 118, аглютинін зародку пшениці, молекулярний сигнал.*

**Acholeplasma laidlawii* – моліквіт, широко розповсюджений у довкіллі, який виявляється у ґрунті, компості, стічних водах, клітинних культурах, тканинах людини, тварин і рослин [3,4]. Фітопатогенний представник цих моліквітів – *A. laidlawii* var. *granulum* шт. 118 – є збудником мікоплазмозів пшениці, який при ураженні посівів здатний спричиняти епіфітотійні хвороби і призводити до зниження врожаю [3, 4, 8].*

*Серед відомих біологічно активних речовин пшениці визначну роль відіграє аглютинін зародків пшениці (АЗП). АЗП – лектин, здатний виступати як сигнальна молекула рослин. Він сприяє росту і розвитку пшениці, одночасно змінюючи метаболізм бактерій-симбіонтів як фактор комунікації в рослинно-мікробних симбіозах [1,6]. Разом із тим існують відомості про збільшення рівня лектину в рослинах *Triticum vulgare* L. при абіогенних стресах під впливом посухи, осмотичного і теплового шоку, що свідчить про участь АЗП в неспецифічних захисних реакціях рослин під дією несприятливих факторів [2,9]. Зважаючи на те, що фітопатогенні молекули здатні не тільки спричиняти епіфітотійні ураження пшениці, а й також протягом тривалого часу персистувати в цих рослинах, метою нашої роботи було вивчити вплив АЗП на збудника блідо-зеленої карликовості пшениці *A. laidlawii* var. *granulum* шт. 118.*

**Матеріали і методи.** **A. laidlawii* var. *granulum* шт. 118, одержаний із Національної колекції мікроорганізмів України, культивували на рідкому штучному середовищі СМ ІМВ-72 [7] протягом 5 діб при температурі 32 °С. Для інокуляції використовували трьохдобову культуру ахолеплазми. Густина посівного матеріалу становила  $5 \cdot 10^5$  клітин/мл середовища. Лектин пшениці (АЗП, “Лектинотест”, Львів, Україна, в концентрації 0,5 мг/мл і 2,0 мг/мл в молярному вигляді  $1,4 \cdot 10^{-8}$  і  $5,6 \cdot 10^{-8}$  М, відповідно) вносили в середовище одразу ж після внесення інокуляту та через 20 годин. В контрольний варіант лектин не вносили. Інтенсивність росту оцінювали шляхом виміру оптичної густини вирощеної культури на МКМФ-1 при довжині хвилі 570 нм; перше вимірювання робили через 24 год після внесення лектину. Культуральну рідину центрифугували при 7000 об/хв, клітинну масу висушували при 103–105 °С. Концентрацію білка визначали за методом Бредфорда [10]. Реакцію гемаглютинації виконували за методом Луцик та співав. [5]. Проведено три серії дослідів при двократній повторності кожного варіанта. Статистичну обробку результатів проводили використовуючи *t*-критерій Стьюдента, рівень вірогідності становив 95 %. Графічні результати проводили використовуючи комп’ютерну програму – прикладний пакет *Microsoft Excel 2000*.*

**Результати та їх обговорення.** *Проведені дослідження виявили, що клітинна відповідь моліквута на вплив АЗП включає ряд окремих ефектів. Показано, що при концентрації лектину зародку пшениці 0,5 мг/мл і 2,0 мг/мл та одночасному внесенні лектину та інокуляту при вирощуванні фітоплазми відбувається активація ростових процесів порівняно з ростом ахолеплазми в контрольних умовах культивування (рис. 1: а, б). Так на початку стадії стаціонарного росту (48 год) вага клітинної біомаси складала 0,7421–0,7425 г, а під впливом лектину (в концентрації 2 мг/мл) ця величина при еквівалентній кількості інокуляту збільшувалась на 10–15 %. Отримані результати узгоджуються з даними Антонюк та співав. [1,6], які показали, що лектин пшениці, зв’язуючись з клітинами *Azospirillum brasilense*, стимулює основні ростові процеси в останніх.*

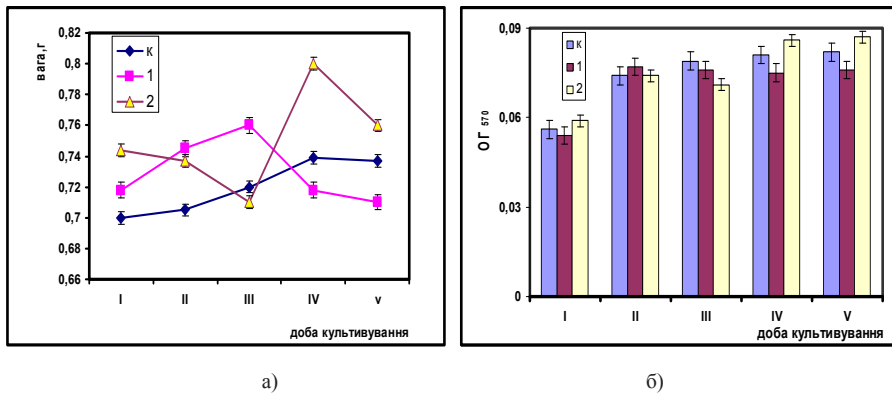


Рис. 1. Вплив АЗП на ріст культури *A. laidlawii* var. *granulum* шт. 118 при одночасному внесенні інокуляту і лектину: а) вага, б) оптична густина.

Примітка: к – контроль, 1 – концентрація АЗП 0,5 мкг/мл, 2 – 2,0 мкг/мл.

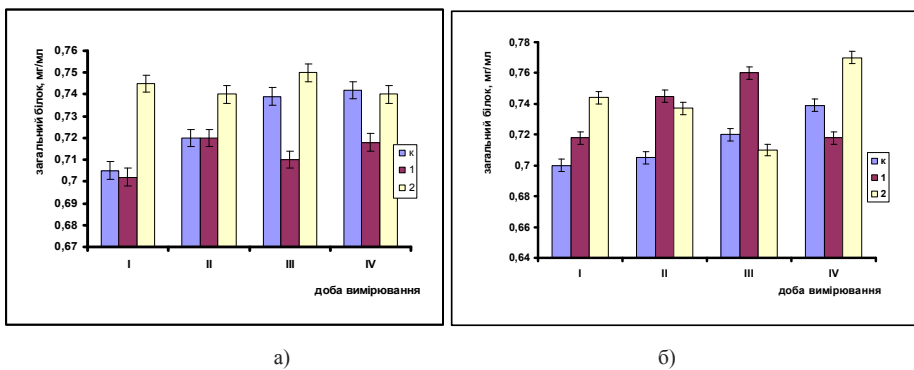


Рис. 2. Вплив АЗП на ріст культури *A. laidlawii* var. *granulum* шт. 118:

а) при одночасному внесенні інокуляту і лектину; б) при внесенні лектину через 20 год.

Примітка: к – контроль, 1 – концентрація АЗП 0,5 мкг/мл, 2 – 2,0 мкг/мл.

Проте, якщо АЗП в концентрації 0,5 мкг/мл і 1,0 мкг/мл додавати у фазі логарифмічного росту культури ахолеплазми (24 год культивування) спостерігається протилежний ефект: не тільки не відбувається активація ростових процесів, а навпаки – накопичення біомаси пригнічується.

Встановлено, що, незалежно від концентрації і часу внесення АЗП, спостерігається незначне збільшення кількості загального білка на 4–7% порівняно з контролем, що хоч і незначно переважає величину стандартної похибки, але є постійною величиною (рис. 2, а; б).

Згідно з даними літератури, до клітинних відповідей бактерії на вплив АЗП належить і зміна деяких поверхневих властивостей мікробної клітини [1, 6]. Результати реакції гемаглютинації показали, що в усіх дослідних зразках відбувається гальмування реакції РГА порівняно з контролем у межах титрів: 1:32-1:64. Можливо, під впливом АЗП відбувається зменшення адгезивних властивостей ахолеплазми. Втрата патогенними молекутами здатності до адгезії на ураженій клітині призводить, як правило, до повної втрати вірулентності. Як наслідок відбувається унеможливлення тісної взаємодії патогену з клітиною-мішенню, що є обов'язковою умовою для початку розвитку хвороби [3, 4].

Отже, при ураженні пшениці фітопатогенним молекутом *A. laidlawii* var. *granulum* шт. 118 відбувається взаємодія між клітиною мікроорганізму і АЗП. Ми вважаємо, що після того, як глікополімери молекута безпосередньо контактують із лектином зародків пшениці, сигнал розповсюджується всередину клітини, що призводить до підсилення метаболізму, експресії нових білків, збільшення біомаси мікроорганізму. З іншого боку, під впливом АЗП відбувається гальмування реакції РГА, що, вірогідно, є проявом неспецифічного захисту рослин від вторгнення патогену, це сприяє переходу останнього в латентну інфекцію і тривалій персистенції в рослинах пшениці.

*Е.В. Ястребова, Л.П. Малиновская, Е.С. Коробкова*

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАНУ, Киев*

## **ВЛИЯНИЕ АГГЛЮТИНИНА ЗАРОДЫШЕЙ ПШЕНИЦЫ НА АХОЛЕПЛАЗМУ – ВОЗБУДИТЕЛЯ ФИТОМИКОПЛАЗМОЗА**

Резюме

Внесение агглютинина зародышей пшеницы (АЗП) в среду культивирования возбудителя бледно-зеленой карликовости пшеницы *Acholeplasma laidlawii* var. *granulum* шт. 118 вызывает плейотропный ответ ахолеплазмы: происходит активация ростовых процессов, увеличение общего количества белка сравнительно с контролем, уменьшение гемагглютинирующей активности, что приводит к уменьшению адгезивных свойств патогена.

Ключевые слова: *Acholeplasma laidlawii* var. *granulum* шт. 118, агглютинин зародышей пшеницы, молекулярный сигнал.

*O.V. Yastrebova, L.P. Malinovska, K.S. Korobkova*

*Zabolotny Institute of Microbiology and Virology,  
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv*

## **THE EFFECT OF WHEAT GERM AGGLUTININ ON ACHOLEPLASMA – THE AGENT OF PHYTOMYCOPLASMOSIS**

S u m m a r y

Introduction of wheat germ agglutinin (WGA) to cultural medium of pale green dwarf agent of wheat *Acholeplasma laidlawii* var. *granulum* str. 118 gives rise to pleiotropic responses of acholeplasma: activation of growth process, an increase of common protein in comparison with control, a decrease of hemagglutinating activity which results in a decrease of the adhesion properties of pathogen.

The paper is presented in Ukrainian.

Key words: *Acholeplasma laidlawii* var. *granulum* str.118, wheat germ agglutinin, molecular signal.

The author's address: *O.V. Yastrebova*, Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv; 154 Zabolotny St., Kyiv, MSP, D03680, Ukraine.

1. Антонюк Л.П. Растительные лектины как факторы коммуникации в симбиозах // Молекулярные основы взаимодействия ассоциативных микроорганизмов с растениями. – Москва: Наука, 2005. – С. 118 - 159.
2. Антонюк Л.П., Евсеева Н.В. Лектин пшеницы как фактор растительно-микробной коммуникации и белок стрессового ответа // Микробиология. – 2006. – 75, № 4. – С. 1 - 6.
3. Борхсениус С.Н., Чернова О.А., Чернов В.М., Вонский В.М. Микоплазмы. – Санкт-Петербург: Наука, 2002. – 320 с.
4. Власов Ю.И., Геворкян З.Г. Микоплазменные болезни сельскохозяйственных растений. – Ереван: Изд-во АН Арм. ССР, 1981. – 125 с.
5. Луцук М.Д., Панасюк Е.Н., Луцук А.Д. Лектины. – Львов: Вища школа, 1981. – 156 с.
6. Садовникова Ю.Н., Беспалова Л.А., Антонюк Л.П. Агглютинин зародышей пшеницы является фактором роста для бактерий *Azospirillum brasilense* // Докл. Академии наук. – 2003. – 389, № 4. – С. 1 - 4.
7. Скрипаль И.Г., Малиновская Л.П. Среда СМ ИМВ-72 для выделения и культивирования фитопатогенных микоплазм // Микробиол. журн. – 1984. – 46, № 2. – С. 71–75.
8. Онищенко А.М., Козар Ф.Ю., Красва Г.В. Микоплазмоподібні тіла у клітинах судинних пучків пшениці, ураженої блідо-зеленою карликовістю // Мікроб. журн. – 1973. – 35, №4. – С. 500 - 502.
9. Antonyuk L.P., Evseeva N.V. Wheat lectin as a factor in plant-microbial communication and stress response protein // Microbiology. – 2006. – 75, N 4. – P. 470 – 475.
10. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. – 1976. – 71, N 2. – P. 248 – 254.

Отримано 28.09.2009