УДК 579.835: 577.111

# ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ *AZOSPIRILLUM ZEAE* И *AZOSPIRILLUM FORMOSENSE*

**О. А. Потапова, Е. Н. Сигида, С. А. Коннова**

Потапова Оксана Александровна, студентка кафедры биохимии и биофизики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: oxpo@mail.ru

Сигида Елена Николаевна, научный сотрудник лаборатории биохимии, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов), кандидат биологических наук. E-mail: si_elena@mail.ru

Коннова Светлана Анатольевна, заведующий кафедрой биохимии и биофизики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского; ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов), профессор, доктор биологических наук. E-mail: konnova@ yandex.ru

Выделены и охарактеризованы липополисахариды (ЛПС) клеток *Azospirillum zeae* и *A. formosense*. Показано преобладание в составе ЛПС S-форм молекул и наличие О-связанных 3-гидрокситетрадекановой, гекса- и октадеценовой ЖК и N – связанной 3-гидроксигексадекановой ЖК в составе их липидов А. Проведена оценка гетерогенности ЛПС в ДСН-ПААГ ЭФ.
**Ключевые слова:** *Azospirillum*, липополисахарид.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-335-336

Азоспириллы являются ризосферными свободноживущими диазобактериями (PGPR – plant growth-promoting rhizobacteria), вступающими в ассоциативный симбиоз с различными растениями [1]. Липополисахариды, гликополимеры внешней мембраны клеточной стенки бактерий непосредственно вовлечены в образование растительно-микробных ассоциаций [2]. На данный момент классифицировано 18 видов азоспирилл, среди них мало исследованы *A. zeae* и *A. formosense* как нет сведений и о структуре ЛПС этих бактерий, чему и посвящено настоящее исследование.

## Материалы и методы

Бактерии *A. zeae* (IBPPM 550) и *A. formosense* (IBPPM 579) были предоставлены коллекцией ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН. Условия культивирования микроорганизмов и освобождения от капсулы представлены ранее [2]. ЛПС выделяли из сухих бактериальных клеток экстракцией горячим 45%-ным раствором фенола. Примеси белков осаждали 40%-ным ТХУ при pH 2,7.

Содержание углеводов, 2-кето-3-дезоксиоктоновой кислоты (КДО), фосфора, определяли колориметрическими методами, описанными в работе [2].

Электрофорез (ЭФ) проводили в 15%-ном ДСН-ПААГ, окрашивали нитратом серебра.

Состав и соотношение жирных кислот (ЖК) липида А анализировали методом ГЖХ метиловых эфиров ЖК.

О-дезацилирование ЛПС проводили в 12%-ном растворе $NH_4OH$ при 37°С в течение 16 ч. Модифицированную форму ЛПС выделяли хроматографией на колонке с гелем TSK HW-40 («Merck», Германия) в 1%-ной $CH_3COOH$.

## Результаты и их обсуждение

Анализ биополимерного состава ЛПС показал высокое содержание углеводов (в ЛПС *A.zeae* 75,6±5,9%, а в ЛПС *A. formosense* 64,9±2,5%), что согласуется с данными ЭФ, а также показано наличие КДО и фосфора. Содержание КДО в ЛПС было менее 2% (ЛПС *A.zeae* 1,5±0,1%, ЛПС *A. formosense* 1,7±0,1%). Фосфор был обнаружен в ЛПС *A. zeae* (4,9±0,9%), а в ЛПС *A. formosense* его содержание было менее 1%. Наличие КДО доказывает принадлежность выделенных гликополимеров к ЛПС. ЭФ показал преобладание S-форм молекул ЛПС.

В липидах А идентифицированы ЖК (в % соответственно для *A. zeae* и *A. formosense*): 3-гидрокситетрадекановая (63 и 51), 3-гидроксигексадекановая (28 и 23), октадеценовая (4 и 23), гексадеценовая (3 и 1) и гексадекановая (2 у обоих штаммов), характерные для рода *Azospirillum*.

При О-дезацилировании ЛПС *A. zeae* по результатам ГЖХ содержание 3-гидрокситетрадекановой, гекса- и октадеценовой кислот стало значительно ниже, следовательно, они являются О-связанными. Содержание 3-гидроксигексадекановой кислоты повысилось, из чего следует, что она является N-связанной. Охарактеризована гетерогенность препаратов ЛПС методом ЭФ.

© Потапова О. А., Сигида Е. Н., Коннова С. А., 2017

## Список литературы


1. *Pérez-Montaño F., Alías-Villegas C., Bellogín R. A., Cerro P. del, Espuny M. R., Jiménez-Guerrero I., López-Baena F. J., Ollero F. J., Cubo T.* Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: From microorganism capacities to crop production // Microbiol. Res. 2014. Vol. 169. P. 325–336.
2. *Konnova S. A., Makarov O. E., Skvortsov I. M., Ignatov V. V.* Isolation, fractionation and some properties of polysaccharides produced in a bound form by *Azospirillum brasilense* and their possible involvement in Azospirillum-wheat root interactions // FEMS Microbiol. Lett. 1994. Vol. 118. P. 93–100.


### Peculiarities of the Structure of *Azospirillum zeae* and *Azospirillum formosense* Lipopolysaccharides


**O. A. Potapova, E. N. Sigida, S. A. Konnova**

Oksana A. Potapova, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, oxpo@mail.ru

Elena N. Sigida, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13, Prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russia, si_elena@mail.ru

Svetlana A. Konnova, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia; Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13, Prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russia, Konnovasa@yandex.ru



Lipopolysaccharides (LPS) of plant-growth-promoting bacteria of the genus *Azospirillum* are involved in the initial steps of formation of the association with host plant. This work aimed compositional analysis of the LPS from *Azospirillum zeae* and *Azospirillum formosense*. The LPS were extracted from the cells by hot phenol-water solution. Biopolymer composition of the LPS was studied by colorimetric methods. Determination of the fatty acid composition of the lipid A was performed by GLC. O-deacylation of the LPS *A. zeae* revealed that 3-hydroxyhexadecanoic acid is N-linked, whereas 3- hydroxytetradecanoic hexa- and octadecenoic acids are O-linked. Electrophoretic mobility of the LPS in SDS-PAGE was examined and predominance of the S-form LPS was revealed.



**Key words:** *Azospirillum*, lipopolysaccharide.

**Образец для цитирования:**

*Потапова О. А., Сигида Е. Н., Коннова С. А.* Особенности структуры липополисахаридов *Azospirillum zeae* и *Azospirillum formosense* // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 335–336. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-335-336.

**Cite this article as:**

Potapova O. A., Sigida E. N., Konnova S. A. Peculiarities of the Structure of *Azospirillum Zeae* and *Azospirillum Formosense* Lipopolysaccharides. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 335–336 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-335-336.