

<https://doi.org/10.15407/frg2019.03.241>

УДК 631.461:633.57

РЕГУЛЯТОРНАЯ РОЛЬ ГЛЮКОЗО- И ГАЛАКТОЗОСОДЕРЖАЩИХ АМИНОСАХАРОВ В РЕАЛИЗАЦИИ СИМБИОТИЧЕСКОГО И ПРОДУКТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА СОЕВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА В УСЛОВИЯХ ПРИРОДНОЙ ЗАСУХИ

Е.В. КИРИЧЕНКО

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины

03022, Киев, ул. Васильковская, 31/17

e-mail: azoleki@ukr.net

Изучали роль аминоксахаров N-ацетил-D-глюкозамина и N-ацетил-D-галактозамина (0,1 М) как возможных экзогенных регуляторов реализации симбиотического (по нодуляционной способности ризобий и нитрогеназной активности симбиозов) и продуктивного (по биологической и семенной продуктивности) потенциала соево-ризобияльных систем в условиях природной засухи (температурный режим положительно отклонялся от нормы на 1,5–2,0 °С при количестве осадков 11–65 % нормы). Установлено, что бинарные инокулянты на основе клубеньковых бактерий сои и аминоксахаров положительно влияли на всхожесть семян (на 7–12 %), вегетативный рост (на 6–31 %) и формирование биомассы растений (в 1,3–1,8 раза для надземной массы и в 1,2–1,5 раза для корневой системы), а также активность плодообразования (в 1,5–1,7 раза). Клубенькообразующая способность ризобий возрастала в 1,2–1,3 раза при увеличении массы образовавшихся клубеньков в 1,4–1,5 раза, нитрогеназная активность симбиотических систем (фактическая и удельная) — соответственно в 1,5 и 1,2 раза. В условиях природной засухи как наиболее эффективный экзогенный регулятор относительно реализации симбиотического потенциала ризобий определен N-ацетил-D-глюкозамин, который способствовал повышению нодуляционной способности клубеньковых бактерий и нитрогеназной активности симбиозов. Что касается развития растений сои, более эффективным оказался инокулянт на основе ризобий и N-ацетил-D-галактозамина. Аминоксахара в бинарных инокулянтах с ризобияльной культурой по сравнению с моноинокулянтом клубеньковых бактерий в большей мере повышали урожай семян сои. Полученные результаты подтвердили перспективность исследования применения аминоксахаров в качестве экзогенных регуляторных модуляторов формирования, функционирования и эффективности бобово-ризобияльных симбиозов.

Ключевые слова: соево-ризобияльный симбиоз, аминоксахара, N-ацетил-D-глюкозамин, N-ацетил-D-галактозамин, нодуляция, азотфиксация, урожай, засуха.

Реализация продуктивного потенциала зернобобовых культур в значительной степени зависит от уровня реализации симбиотического

потенциала их азотфиксирующих систем [1, 2], обусловленного проявлением таких свойств, как клубенькообразующая (нодуляционная) способность ризобий [3], конкурентоспособность, специфичность к определенной бобовой культуре [4], а также функциональная (нитрогеназная) активность симбиозов, определяющая уровень азотного питания растений — базовую составляющую формирования урожая [5]. На сегодня доказано, что уровень реализации симбиотического потенциала бобово-ризобийных систем можно повысить в результате использования дополнительных биологических агентов — агрономически полезных бактерий, микоризных грибов, водорослей, биологически активных веществ — метаболитов растений и микроорганизмов, регуляторов роста растений, хелатированных форм микроэлементов, создавая комплексные инокулянты на основе культуры клубеньковых бактерий [1, 2, 6—9]. Комплексные инокулянты оказывают множественное (поливекторное) влияние на растительно-микробные системы, в том числе и в условиях действия разнообразных стрессоров абиотической и биотической природы за счет рострегуляторной, фитопротекторной, адаптогенной, иммуномодулирующей активности компонентов, входящих в их состав [7—10]. Поэтому вопрос поиска новых биологических агентов, которые оказались бы положительными экзогенными регуляторами, повышающими симбиотический и продуктивный потенциалы бобово-ризобийных систем, особенно при действии стресс-факторов, остается актуальным.

Углеводсодержащие соединения, в том числе и аминсахара, являются продуктами растительного метаболизма, которые с корневыми экссудатами выделяются в ризосферную зону растений, влияя на развитие и функциональную активность микрофлоры [11, 12]. Как компоненты питательных сред при выращивании микроорганизмов они активно метаболизируются в качестве энергетических субстратов для роста и развития бактерий в условиях чистой культуры [13]. Более того, углеводсодержащие вещества в условиях действия абиотических стрессоров различной природы играют адаптогенную роль [14, 15]. При выращивании инокулированных ризобиями растений сои в условиях действия абиотического стрессора — искусственно созданной засухи (нормальное — 60 % ПВ и недостаточное — 40 % ПВ водообеспечение) установлено существенное повышение уровня углеводсодержащих соединений, а именно, ряда сахаров и многоатомных спиртов в метаболомном профиле корней сои [16]. Этот факт авторы объяснили возможной ролью углеводсодержащих соединений в формировании адаптивных реакций соево-ризобийных симбиозов в стрессовых условиях.

Целью данной работы была оценка роли аминсахаров как возможных экзогенных регуляторов степени реализации симбиотического и продуктивного потенциалов соево-ризобийных систем в условиях природной засухи.

Методика

Исследовали соево-ризобийные симбиозы, образованные растениями сои сорта Лиссабон и клубеньковыми бактериями *Bradyrhizobium*

japonicum 6346, модифицированными аminosахарами N-ацетил-D-глюкозамином (GlcNAc) и N-ацетил-D-галактозамином (GalNAc).

Сорт Лиссабон (оригинатор селекционно-семенная компания «Saatbau Linz», Австрия) — раннего созревания (вегетационный период до 105 сут), применяется в аграрном производстве с 2011 г. Продуктивный потенциал 45—50 ц/га, содержание белка — 40 %, жира — до 24 %, масса 1000 зерен — 160—190 г [17]. Сорт устойчив к засухе (7 баллов), полеганию и осыпанию (9 баллов), бактериозам, вирусным заболеваниям (9 баллов), пероноспорозу (8 баллов).

Клубеньковые бактерии *V. japonicum* 6346 (коллекция штаммов симбиотических и ассоциативных азотфиксирующих микроорганизмов Института физиологии растений и генетики НАН Украины — ИФРГ НАН Украины) выращивали на агаризованной маннитно-дрожжевой среде при 28 °С, смывали культуру стерильной водой, перемешивали до однородной суспензии и определяли численность жизнеспособных колониеобразующих бактерий [13]. Подсчет их количества осуществляли на 7-е сутки выращивания ризобий в чашках Петри при 28 °С после высева 5-, 6- и 8-го разведений при титровании культуры. Титр бактерий в инокуляционной суспензии составлял $30,3 \cdot 10^{10}$ кл/мл.

Бинарные инокулянты (ризобии + аminosахара, $V: V = 1:1$) готовили смешиванием культуры клубеньковых бактерий с растворами (0,1 М) N-ацетил-D-глюкозамина и N-ацетил-D-галактозамина с последующей инкубацией смесей на протяжении суток при 28 °С. Инокуляцию семян проводили в день посева (за 1 ч до посева), выдерживая их в инокулянте на протяжении 1 ч (4 мл/800 семян одного варианта). В контрольном варианте бактерии инкубировали с водой, получая таким образом аналогичную инокуляционную нагрузку ризобиальных клеток во всех вариантах опыта.

Полевой (мелкоделяночный) опыт проводили на опытной площадке ИФРГ НАН Украины в четырехкратной повторности по вариантам рендомизированным посевом. Учетная площадь одного участка составляла 0,6 м². Исходя из результатов оценки лабораторной всхожести семян сои сорта Лиссабон (всхожесть 60 %), для инокуляции и посева брали 2,5 нормы их посева. Осуществляли посев 50 семян на 1 м погонный (1 рядок), 4 рядка (200 семян/одна повторность), 4 повторности (800 семян/вариант). Полевой опыт в 2016 г. проводили с мая (посев 21.05.16) по сентябрь (уборка 21.09.16).

Во вторую половину вегетации сои (фазы цветения, начала плодобразования и налива бобов) проанализировали эффективность соево-ризобиальных симбиозов по:

- симбиотическим характеристикам — нодуляционной способности ризобий (количество и масса корневых клубеньков на растении, масса одного клубенька, шкала нодуляции) и нитрогеназной активности — ацетиленовым методом по Харди и соавт. [18] симбиотических систем;

- показателям роста и развития растений (всхожесть семян, формирование вегетативной массы, репродуктивных органов, урожая семян).

Результаты обработаны статистически (Statgraphics Plus) и представлены в виде средних значений и их погрешностей ($M \pm m$).

Результаты и обсуждение

Анализ климатических условий периода проведения полевого опыта (май—сентябрь 2016 г.), осуществленный на основе данных, представленных на сайте «Погода и Климат» [www.pogodaiklimat.ru/monitor.php?id=33345&year=2016&month=5...10], указывает на существенную засуху с июня по сентябрь — период активной вегетации растений сои (рис. 1). Температурный режим положительно отклонялся от нормы на 1,5–2,0 °С при количестве осадков 11–65 % нормы. Таким образом, растения сои росли, развивались, формировали симбиозы, репродуктивные органы и урожай в условиях действия абиотического стрессора — засухи — практически на протяжении всего вегетационного периода за исключением начальных его этапов.

Установлено, что бинарные инокулянты на основе клубеньковых бактерий и аминокислот GlcNAc, GalNAc положительно влияли на всхожесть семян сои, о чем свидетельствуют результаты как полевых, так и лабораторных исследований (табл. 1). В полевых условиях уровень всхожести семян в опытных вариантах достоверно (на 7 и 18 % соответственно) превышал контрольное значение.

В лабораторных условиях особо отмечена активация выхода семян из состояния покоя, что наблюдалось с первых суток действия

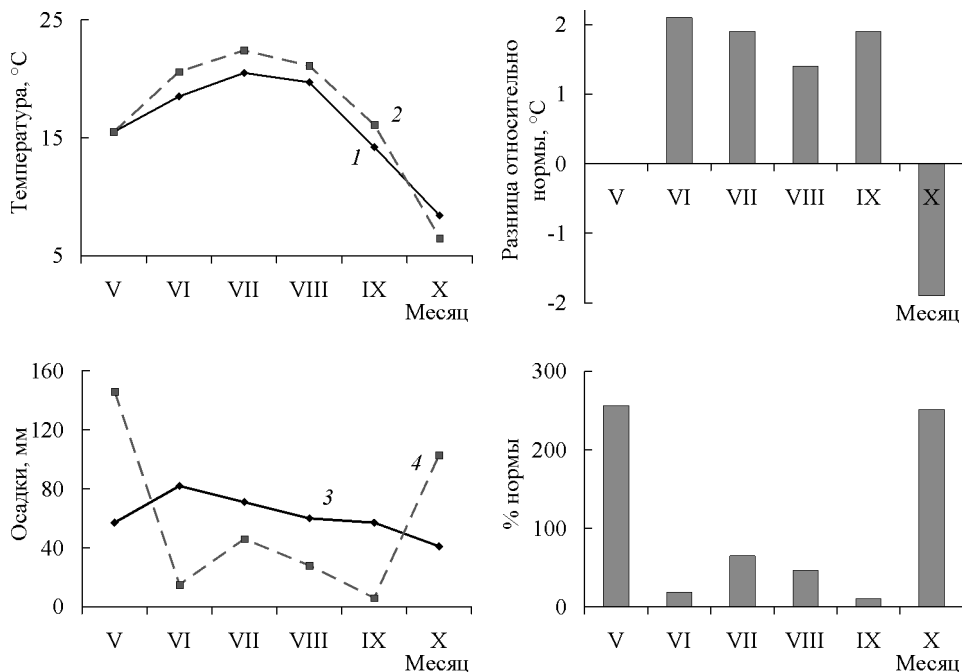


Рис. 1. Характеристика климатических условий (температура, осадки) периода проведения полевого опыта [www.pogodaiklimat.ru/monitor.php?id=33345&year=2016]:

1 — средняя температура за 1881—2018 гг. (норма); 2 — температура в 2016 г.; 3 — среднее количество осадков за 1881—2018 гг. (норма); 4 — количество осадков в 2016 г.

ТАБЛИЦА 1. *Всхожесть семян сои под влиянием инокулянтов на основе ризобий и аминоксахаров*

Вариант	Лабораторный опыт						Полевой опыт			
	Динамика прорастания семян, сут			Энергия прорастания семян, %			Длина проростка, мм	Масса проростка, мг	шт./м	% всходов/м
	1-е	2-е	3-и	1-е	2-е	3-и				
	Количество семян/чашку, шт.									
1	11,8±0,6	19,0±0,9	20,0±1,6	47,3±2,7	76,0±3,7	80,0±6,5	23,8±1,7	63,0±5,3	29,6±1,0	59,3±1,0
2	14,3±0,9*	19,5±1,0	20,5±0,5	57,0±3,8*	78,0±4,2	81,8±1,3	22,3±0,6	57,8±1,5	31,6±0,8*	63,4±0,8*
3	16,0±0,6*	21,5±1,0	21,3±0,8	64,0±2,3*	86,0±4,2*	85,0±3,0	27,5±1,5*	74,6±1,5*	34,9±1,7*	70,0±2,3*

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: номер варианта 1 — ризобии + вода, 2 — ризобии + GlcNAc (N-ацетил-D-глюкозамин), 3 — ризобии + GalNAc (N-ацетил-D-галактозамин). Лабораторный опыт — 25 семян/чашку Петри, 100 семян/вариант. Полевой опыт — 50 семян/м, 800 семян/вариант, 17-суточные растения; * достоверно относительно контроля (вариант 1 — инокуляция ризобиями)

бинарных инокулянтов. Положительное влияние галактозамина на бактериальную культуру проявлялось и в активном формировании проростков растений, которые по длине и массе превышали растения контрольного варианта соответственно на 16 и 18 %. В варианте с использованием глюкозамина сформированные проростки не отличались от контрольных.

Таким образом, по показателям развития растений сои на ранних этапах онтогенеза (прорастание семян, формирование проростков) наиболее выраженное стимулирующее действие проявил инокулянт на основе ризобий и галактозамина.

На протяжении вегетации растения сои в вариантах с обработкой семян ризобиями и аминоксахарами активно развивались и формировали вегетативную массу (табл. 2). Применение глюкозамина для активации ризобияльного компонента привело к увеличению надземной массы растений на 21, 8 и 57 % соответственно в фазы цветения, начала образования плодов и налива бобов, массы корня — на 26 и 21 % соответственно в фазы цветения и налива бобов. При использовании галактозамина для стимуляции клубеньковых бактерий сои получена прибавка надземной массы растений на 55, 26 и 82 %, массы корня — на 48, 15 и 48 %. Бинарные инокулянты способствовали активному росту сои, о чем свидетельствует положительная разница (от 6 до 31 %) высоты растений опытных и контрольного вариантов во все исследуемые фазы вегетации.

В период формирования генеративных органов (фазы начала образования плодов и налива бобов) установлена существенная достоверная разница (соответственно в 2,5 и в 1,5—1,7 раза) между растениями контрольного и опытных

ТАБЛИЦА 2. Формирование вегетативной массы растениями сои при бактеризации семян инокулянтами на основе ризобий и аминокислот (n = 12–20 растений)

Вариант	Масса надземной части (сырой), г	Масса корня (сырого), г	Высота надземной части, см
Фаза цветения, 45-суточные растения, 24 °С			
1	5,12±0,52	0,50±0,03	36,3±1,3
2	6,20±0,63	0,63±0,05*	42,5±1,1*
3	7,91±0,87*	0,75±0,11*	41,9±1,4*
Фаза начала образования плодов, 54-суточные растения, 36 °С			
1	9,15±1,26	0,89±0,12	49,0±1,9
2	9,88±0,91	0,88±0,09	51,9±1,6
3	11,54±1,31*	1,02±0,12	55,3±1,8*
Фаза налива бобов, 75-суточные растения, 30 °С			
1	13,45±2,65	1,22±0,21	56,6±2,2
2	21,07±1,95*	1,48±0,15	64,8±1,4*
3	24,54±2,75*	1,80±0,25*	74,1±1,7*

вариантов по количеству бобов (табл. 3), что может указывать на более высокий уровень реализации продуктивного потенциала симбиозов, образованных при участии регуляторных аминокислот.

Таким образом, исходя из комплексной оценки всех исследованных показателей (всхожесть семян, рост растений, формирование вегетативной массы и генеративных органов) при положительном влиянии бинарных инокулянтов относительно растений сои на протяжении вегетации максимальная эффективность отмечена для инокулянта на основе ризобий и галактозамина.

Исследование проявления симбиотических характеристик ризобий под влиянием аминокислот в комплексных инокулянтах при формировании симбиотических систем с растениями сои также свидетельствует о преимуществах эффективности бинарных инокулянтов (рис. 2, 3). Во вторую половину вегетации сои на корнях растений отмечено наличие симбиотических структур — клубеньков (см. рис. 2), которые имели розовую окраску, что свидетельствует об их функциональности, т. е. способности фиксировать азот. Инокуляция семян ризобияльной культурой привела к образованию в фазу цветения сои в среднем 12 клубеньков на растении с общей их массой

ТАБЛИЦА 3. Активность плодообразования у сои под влиянием ризобий и аминокислот (n = 12–150 растений)

Вариант	Количество бобов на растении, шт.		
	Фаза начала образования плодов, 54-суточные растения	Фаза налива бобов, 75-суточные растения	Фаза полной спелости семян, 120-суточные растения
1	1,3±0,5	7,0±1,4	5,2±0,3
2	3,3±0,8*	10,3±1,0*	5,9±0,3*
3	3,2±0,5*	12,2±1,6*	6,0±0,4*

около 85 мг при массе одного клубенька 7 мг. Ризобии, модифицированные глюкозамин, формировали на растениях на 20 % больше корневых клубеньков с большими их общей массой и массой одного клубенька соответственно на 45 и 31 %. Для растений варианта с галактозамин отмечено повышение показателей количества и

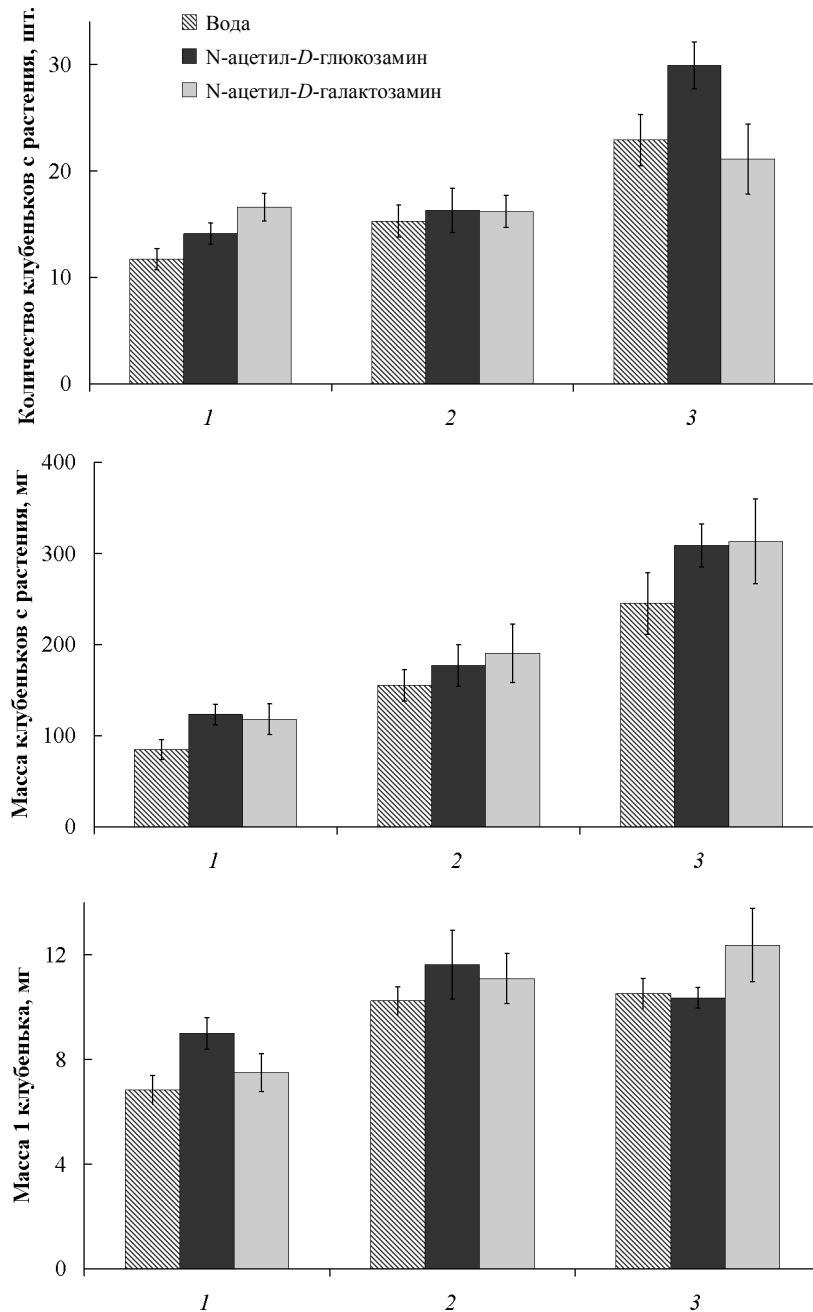


Рис. 2. Нодуляционная активность ризобий сои под влиянием аминоксахаров ($n = 9-20$ растений варианта) в фазы развития растений:

1 — цветения (45-суточные растения); 2 — начала образования плодов (54-суточные растения); 3 — налива бобов (75-суточные растения)

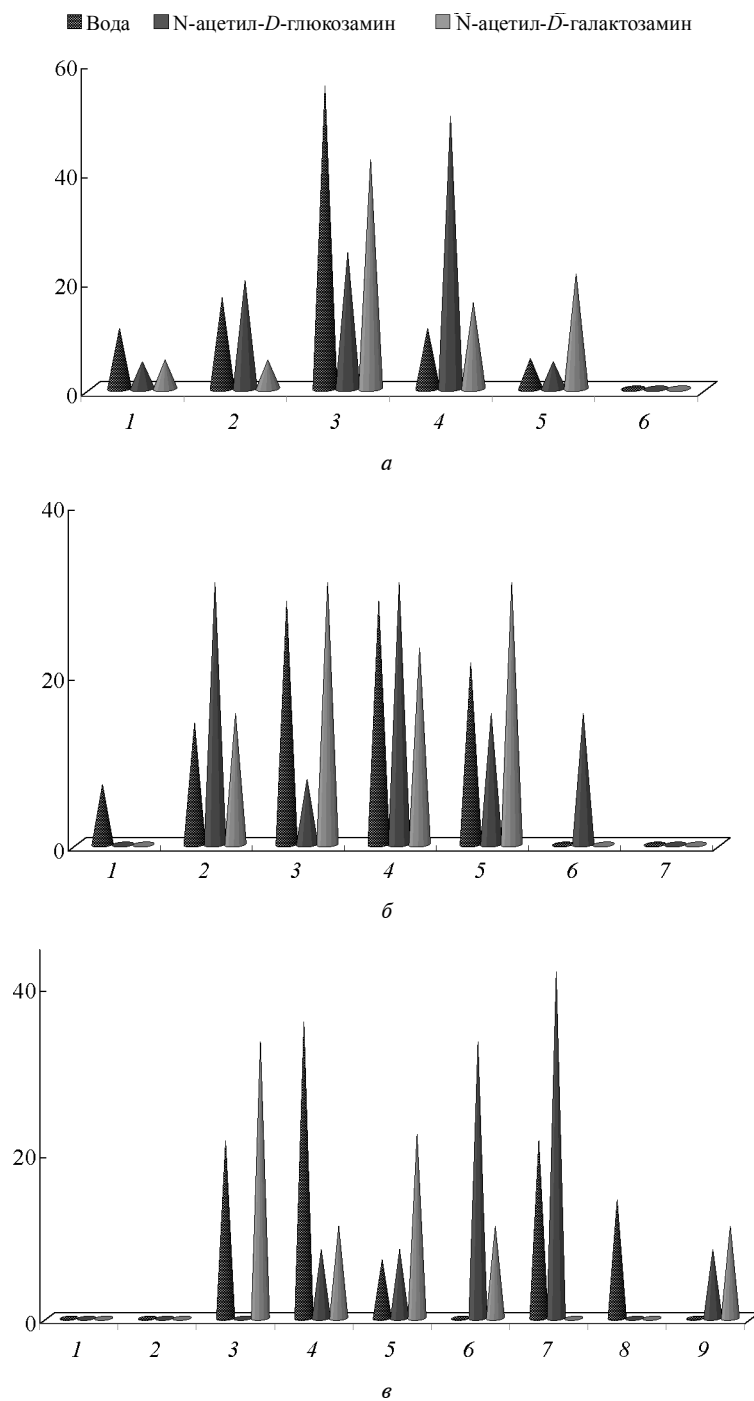


Рис. 3. Шкала нодуляции растений сои ризобиями, модифицированными аминасахарами (0,1 М) ($n = 9-20$ растений):

а — фаза цветения (45-суточные растения); *б* — фаза начала плодообразования (54-суточные растения); *в* — фаза налива бобов (75-суточные растения).

На оси абсцисс — шкала количества клубеньков на растении, шт.: 1 — 1–5; 2 — 6–10; 3 — 11–15; 4 — 16–20; 5 — 21–25; 6 — 26–30; 7 — 31–35; 8 — 36–40; 9 — более 40. На оси ординат — процент растений с определенным количеством клубеньков от общего числа нодулированных растений, проанализированных в варианте

массы клубеньков на растении, а также массы одного клубенька соответственно на 32, 39 и 10 %. В фазу начала образования плодов и налива бобов сохранялось преимущество бинарных инокулянтов относительно формирования симбиотических структур на корнях растений, однако разница между растениями контрольного и опытных вариантов не была такой выраженной, как в фазу цветения сои. При этом максимальные количества корневых клубеньков на растениях отмечены в варианте с обработкой семян ризобиями, модифицированными глюкозамином, тогда как максимальная общая масса клубеньков на растении и масса одного клубенька — при обработке семян ризобиями, модифицированными галактозамином (см. рис. 2).

Шкала нодуляции (см. рис. 3) растений сои ризобиями также подтверждает более высокий уровень способности клубеньковых бактерий к образованию корневых симбиотических структур под влиянием аминокислот на бактериальные клетки. При этом отмечено максимальное преимущество инокулянта на основе ризобий и глюкозамина. Так, если в фазу цветения сои (см. рис. 3) основная масса растений контрольного варианта (83,4 %) сформировала на корнях до 15 клубеньков и лишь 16,7 % — до 25 клубеньков, то в варианте с глюкозамином 55 % растений сформировали от 16 до 25 клубеньков и только 45 % — от 1 до 15 клубеньков. При применении галактозамина для модификации ризобий почти 37 % растений сформировало от 16 до 25 клубеньков, что на 20 % превышало контрольный показатель. В фазы начала образования плодов и налива бобов (см. рис. 3) сохранялась закономерность в способности ризобийных клеток к формированию симбиотических корневых структур, отмеченная нами в фазу цветения сои. Количество растений, сформировавших более 20 клубеньков на корнях, составило в контрольном варианте 21,4 %, в опытных с аминокислотами — до 31 % (фаза начала образования плодов). В фазу налива бобов сои данные показатели равнялись соответственно 42,8; 91,6 и 44,4 % для контрольного и опытных (глюкозамин, галактозамин) вариантов. При этом инокулянты с аминокислотами в отличие от ризобийной монокультуры способствовали формированию на растениях и более 40 клубеньков (соответственно 8,3 и 11,1 % растений). Очевидным является существенное преимущество (до 50 %) по нодуляционной активности инокулянта с глюкозамином по сравнению как с монокультурой ризобий, так и с бактериями, модифицированными галактозамином.

Таким образом, по результатам оценки одной из важнейших симбиотических характеристик — нодуляционной способности клубеньковых бактерий установлено, что глюкозамин является регуляторным агентом, положительно влияющим на способность ризобий к образованию симбиотического аппарата на корнях растений сои.

Определение функциональной (нитрогеназной) активности соево-ризобийных симбиозов засвидетельствовало ее высокий уровень в фазу цветения сои и существенное снижение в последующие фазы вегетации растений (рис. 4). В фазу цветения сои отмечена достоверная разница относительно контроля по фактической (на растение) и удельной (на 1 г клубеньков) нитрогеназной активности симбиозов, образованных клубеньковыми бактериями, модифициро-

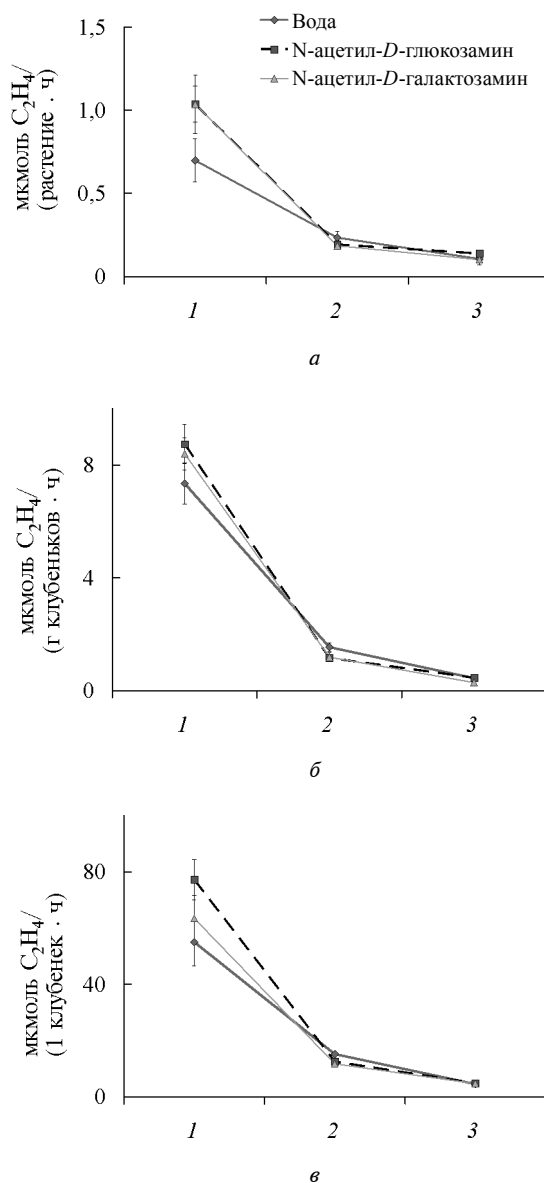


Рис. 4. Нитрогеназная активность корневых клубеньков сои под влиянием аминсахаров на ризобияльную культуру ($n = 9-20$ растений) в фазы развития растений:

1 — цветения (45-суточные растения), 2 — начала образования плодов (54-суточные растения), 3 — налива бобов (75-суточные растения)

ванными аминсахарами. Восстановление молекулярного азота в симбиотических клубеньках растений данных вариантов осуществлялось в 1,5 раза (на растение, см. рис. 4, а) и в 1,2 раза (на 1 г клубеньков, см. рис. 4, б) интенсивнее, нежели при инокуляции семян ризобиями. Максимальной функциональной активностью симбиотического азотфиксирующего клубенька (см. рис. 4, в) характеризовались растения варианта с внесением в суспензию клубеньковых бактерий GlcNAc. Именно для симбиоза данного варианта установлена

достоверная положительная разница по формированию симбиотического аппарата по сравнению с симбиозом, образованным монокультурой ризобий. В последующие фазы вегетации растений сои нитрогеназная активность корневых клубеньков во всех вариантах существенно снижалась, а также практически нивелировалась разница по активности симбиозов, образованных моно- и бинарными инокулянтами.

Данный факт мы связываем, во-первых, с действием природного абиотического стрессора — засухи (см. рис. 1), оказывающей отрицательное влияние как на формирование, так и на функционирование симбиотических систем бобовых растений [19]. Во-вторых, это может быть вызвано перераспределением энергетических ресурсов растений, поскольку образование бобов (фаза начала плодообразования) предполагает существенные их затраты и растение перенаправляет фотоассимиляты — продукты своей фотосинтетической деятельности на формирование генеративных органов.

Прибавка к контрольному показателю по суммарной нитрогеназной активности симбиотических систем, сформированных при участии аминокислот GlcNAc и GalNAc, составила соответственно от 11 до 32 и от 6 до 27 % (рис. 5), что также подтверждает более высокую эффективность глюкозамина как регулятора реализации симбиотического потенциала ризобий сои.

Таким образом, представленные результаты свидетельствуют о протекторном действии аминокислот на соево-ризобиальный симбиоз в условиях засухи, поскольку отмечено как более активное формирование клубеньков на корнях растений (см. рис. 2, 3), так и более высокий уровень их функционирования (см. рис. 4, 5) в вариантах с обработкой семян инокулянтами на основе ризобий и аминокислот.

Ранее нами установлено, что в контролируемых по влажности (60 % ПВ) условиях выращивания инокулированных растений сои на песчаном субстрате *N*-ацетил-*D*-глюкозамин в концентрации 0,01 М способствовал повышению нодуляционной способности штамма 6346 ризобий сои от 1,4 до 2,3 раза при большей массе клубеньков на растении от 1,9 до 2,1 раза и их нитрогеназной активности в 1,7 раза выше, чем симбиоз, образованный моноинокулянтами [20].

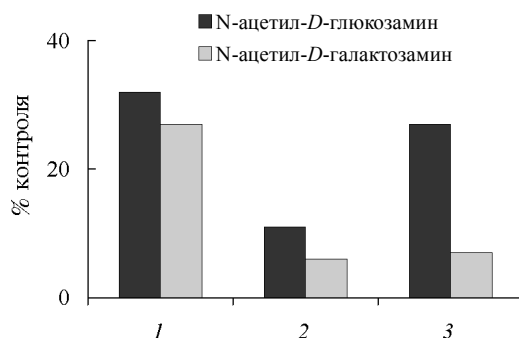


Рис. 5. Прибавка к контрольному показателю (вариант ризобии + вода) по суммарной нитрогеназной активности соево-ризобиальных симбиозов:

1 — мкмоль C_2H_4 /(растение · ч); 2 — мкмоль C_2H_4 /(г клубеньков · ч); 3 — наномоль C_2H_4 /(1 клубенок · ч)

Анализ структуры урожая сои (табл. 4) свидетельствует о положительном влиянии бинарных инокулянтов на формирование урожая растениями по сравнению с моноинокуляцией семян ризобияльной культурой. Прибавка урожая зерна сои (при ручной его уборке) составила около 30 %.

Установлено (см. табл. 4), что прибавка получена за счет достоверного увеличения таких показателей, как «количество бобов на растении» (на 13 и 15 %) и «масса зерен с растения» (на 20 %), тогда как относительно других характеристик структуры урожая, таких как «густота стояния растений», «количество плодузлов и зерен на растении» отмечена лишь тенденция к повышению их значений по сравнению с контролем в пределах соответственно 7—9 и 9—20 %. Масса 1000 зерен несущественно превышала контрольное значение (на 5 %) в варианте ризобии + глюкозамин или находилась на его уровне в варианте ризобии + галактозамин. При этом зафиксировано достоверно меньшее количество поврежденного зерна с растения (на 46 % меньше, чем в контроле) в варианте с применением ризобий, модифицированных галактозамином.

ТАБЛИЦА 4. Структура урожая сои при предпосевной обработке семян инокулянтами на основе ризобий и аминокислот (n ≤ 150 растений, 120-суточные растения, ручная уборка урожая)

Структура урожая сои	Вариант (предпосевная обработка семян)		
	Ризобии + вода	Ризобии + GlcNAc	Ризобии + GalNAc
Густота стояния растений сои, шт./м ²	197,5±11,5	211,0±4,2	214,5±19,8
	100 %	107 %	109 %
Количество бобов, шт./растение	5,2±0,3	5,9±0,3*	6,0±0,4*
	100 %	113 %	115 %
Количество плодузлов, шт./растение	4,5±0,2	4,9±0,2	4,9±0,1
	100 %	109 %	109 %
Количество бобов в плодузле, шт.	1,2±0,0	1,2±0,0	1,2±0,0
	100 %	100 %	100 %
Количество зерен, шт./растение	9,8±0,8	11,6±0,8	11,8±1,1
	100 %	118 %	120 %
Поврежденные зерна, шт./растение	5,7±1,3	8,3±1,2	3,1±0,9*
	100 %	146 %	54 %
Масса зерен, г/растение	1,73±0,13	2,07±0,14*	2,07±0,17*
	100 %	120 %	120 %
Масса зерна с 1 м ² , г	334,15±9,94	429,76±21,86*	433,71±19,01*
	100 %	129 %	130 %
Урожай зерна, ц/га	33,4±1,0	43,0±2,2*	43,4±1,9*
	100 %	129 %	130 %
Масса 1000 зерен, г	183,1±8,4	191,6±4,7	183,0±5,0
	100 %	105 %	100 %

Результаты исследований, проведенных в контролируемых по влажности условиях песчаной культуры, также подтвердили положительное влияние инокулянта с глюкозамином на формирование урожая растениями сои [20]. Прибавка урожая составила 14 % по сравнению с моноинокулянтом ризобий. Растения формировали на 14 и 16 % больше плодузлов и бобов, масса которых превышала контроль на 13 %, а также больше семян (на 8 %) с массой, возросшей на 14 %. Масса 1000 семян положительно достоверно (на 6 %) отличалась от контроля, что свидетельствует о большей выполненности семян в бобах растений при использовании инокулянта на основе ризобий и глюкозамина.

Исходя из результатов ранее проведенных исследований по выращиванию сои на песчаном субстрате при контролируемом уровне влажности (60 % ПВ) [20], а также из представленных выше результатов (см. табл. 1–4, рис. 2–5), полученных в полевых условиях при действии природной засухи (разница в температурном режиме положительно отклонялась от нормы на 1,5–2,0 °С при количестве осадков 11–65 % нормы) практически на протяжении всех периодов вегетации растений за исключением начальных этапов онтогенеза сои, можно утверждать, что N-ацетил-D-глюкозамин играет роль положительного регуляторного агента в инокуляционной суспензии ризобий, способствует формированию более эффективного симбиоза с растениями как в нормальных, так и стрессовых условиях выращивания сои.

Таким образом, при изучении регуляторной роли аминоксахаров N-ацетил-D-глюкозамина и N-ацетил-D-галактозамина в инокуляционных суспензиях специфичных для растений клубеньковых бактерий в условиях природной засухи как наиболее эффективный экзогенный регулятор относительно реализации симбиотического потенциала ризобий определен N-ацетил-D-глюкозамин, регуляторная функция которого состояла в повышении клубенькообразующей способности ризобий и нитрогеназной активности симбиозов, тогда как по отношению к растениям сои (всхожесть семян, формирование проростков, вегетативной массы и бобов) отмечена более высокая эффективность инокулянта на основе ризобий и N-ацетил-D-галактозамина. Оба аминоксахара в бинарных инокулянтах с ризобиальной культурой по сравнению с моноинокулянтом клубеньковых бактерий способствовали существенному повышению урожая семян сои. Полученные результаты указывают на перспективность исследования применения аминоксахаров N-ацетил-D-глюкозамина и N-ацетил-D-галактозамина в качестве экзогенных регуляторных агентов формирования, функционирования и эффективности бобово-ризобиальных симбиозов.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Kyrychenko O.V. The effect of specific plant exogenous lectin on the symbiotic potential of soybean-rhizobium system and lectin activity of soybean seeds. *Scientia Agriculture*. 2014. 2, N 1. P. 1–7. <http://doi.org/10.15192/PSCP.SA.2014.2.1.17>.
2. Канделинская О.Л., Грищенко Е.Р., Рипинская К.Ю., Алешенкова З.М., Картыжова Л.Е., Купцов В.Н., Купцов Н.С. Роль лектинов в регуляции эффективности

- бобово-ризобіального симбіозу у люпина. Ботаника (исследования). Сб. научн. трудов. Вып. 44/Ин-т эксп. ботаники НАН Беларуси. Минск: Ин-т радиобиологии. 2015. 372 с. (с. 283—290).
3. Suzaki T., Kawaguchi M. Root nodulation: a developmental program involving cell fate conversion triggered by symbiotic bacterial infection. *Cur. Opin. Plant Biol.* 2014. **21**, N 10. P. 16—22. <http://doi.org/10.1016/j.pbi.2014.06.002>.
 4. Wang D., Yang Sh., Tang F., Zhu H. Symbiosis specificity in the legume — rhizobial mutualism. *Cel. Microbiol.* 2012. **14**, N 3. P. 334-342. <http://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2011.01736.x>.
 5. Моргун В.В., Коць С.Я. Роль біологічного азоту в азотному живленні рослин. *Вісник НАН України*. 2018. № 1. С. 62—74.
 6. Чеботарь В.К., Рафальский С.В., Ариткин А.Г., Есин В.В. Эффективность комплексного применения микробиологических препаратов при возделывании сои. *Достижения науки и техники АПК*. 2012. № 8. С. 23—25.
 7. Jabbarova D.P., Egamberdieva D., Davranov K., Jabbarov M.P. Restoration of growth of soybean under saline conditions due to inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and *Pseudomonas putida*. *Узб. биол. журн.* 2013. N 5. P. 23—26.
 8. Кurychenko O.V. Market analysis and microbial biopreparations creation for crop production in Ukraine. *Biotechnologia Acta*. 2015. **8**, N 4. P. 40—52. <http://doi.org/10.15407/biotech8.04.040>.
 9. Степин А.Д., Астратова Т.Г., Митюков А.С. Влияние микробиологических препаратов комплексного действия на продуктивность и устойчивость к фитопатогенам льна-долгунца. *Агрофизика*. 2017. № 1. С. 44—50.
 10. Коць С.Я., Михалків Л.М., Маменко П.М., Веселовська Л.І. Застосування лектину насіння сої для регуляції формування і функціонування бобово-ризобіального симбіозу люцерни та сої за дії посухи: пат. на корисну модель UA № 102077 A01N25/00, A01N65/20/заявник та патентовласник Інститут фізіології рослин і генетики НАН України. Опубл. 26.10.15. Бюл. № 20.
 11. Burgmann H., Meier S., Bunge M., Widmer F., Zeyer J. Effects of model root exudates on structure and activity of a soil diazotroph community. *Environ Microbiol.* 2005. **7**, N 11. P. 1711—1724. <http://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00818.x>.
 12. Кириченко Е.В. Биологическая активность ризосферной почвы пшеницы яровой в ассоциации с бактериями *Azotobacter chroococcum* T79, модифицированными N-ацетил-D-глюкозаминном. *Мікробіологія і біотехнологія*. 2016. № 3. С. 30—42. [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2016.3\(35\).77955](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2016.3(35).77955).
 13. Антипчук А.Ф., Пляшенко-Новохатній А.І., Євдокименко Т.М. Практикум з мікробіології: навч. посібник. Київ: Вид-во ун-ту «Україна», 2011. 156 с.
 14. Shulaev V., Cortes D., Miller G., Mittler R. Metabolomics for plant stress response. *Physiologia Plantarum*. 2008. **132**, N 2. P. 199—208. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.01025.x>.
 15. Thapa G., Dey M., Sahoo L., Panda S.K. An insight into the drought stress induced alterations in plants. *Biologia Plantarum*. 2011. **55**, N 4. P. 603—613. <https://doi.org/10.1007/s10535-011-0158-8>.
 16. Левішко А.С., Маменко П.М., Коць С.Я. Метаболоміка рослин: її основи та роль у вивченні рослинно-мікробних взаємодій. *Фізіологія рослин і генетика*. 2014. **46**, № 1. С. 19—26.
 17. www.snpk.com.ua/ua/soy/lisabon/
 18. Hardy R.W.F., Burns R.C., Holsten R.D. Application of the acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation. *Soil. Biol. Biochem.* 1973. **5**, N 1. P. 41—83.
 19. Веселовська Л.І., Михалків Л.М., Коць С.Я. Вплив екзогенного лектину на ефективність симбіозу *Glycine max—Bradyrhizobium japonicum* в умовах посухи. *Фізіологія рослин і генетика*. 2013. **45**, № 4. С. 319—326.
 20. Кириченко О.В., Хоменко Ю.О., Коць С.Я. Вплив глюкозозвмісних моноцукрів на симбіотичні властивості бульбочкових бактерій сої та формування урожаю рослинами. *Ukr. J. Ecol.* 2018. **8**, N 1. P. 460—465. http://doi.org/10.15421/2018_236.

Получено 10.04.2019

REFERENCES

1. Kyrychenko, O.V. (2014). The effect of specific plant exogenous lectin on the symbiotic potential of soybean-rhizobium system and lectin activity of soybean seeds. *Scientia Agriculture*, 2, No. 1, pp. 1-7. <http://doi.org/10.15192/PSCP.SA.2014.2.1.17>.
2. Kandelinskaya, O.L., Grischenko, E.R., Ripinskaya, K.Ju., Aleschenkova, Z.M., Kartizhova, L.E., Kuptsov, V.N. & Kuptsov, N.S. (2015). Role of lectins in regulation of legume-rhizobium symbiosis efficiency in lupin. *Botanika (issledovaniya)*. Sb. Nauch. Tr./In-t Experimentalnoy Botaniki NAN Belarusi. Minsk: In-t radiobiologii, 44, pp. 283-290 [in Russian].
3. Suzaki, T. & Kawaguchi, M. (2014). Root nodulation: a developmental program involving cell fate conversion triggered by symbiotic bacterial infection. *Cur. Opin. Plant Biol.*, 21, No. 10, pp. 16-22. <http://doi.org/10.1016/j.pbi.2014.06.002>.
4. Wang, D., Yang, Sh., Tang, F. & Zhu, H. (2012). Symbiosis specificity in the legume – rhizobial mutualism. *Cel. Microbiol.*, 14, No. 3, pp. 334-342. <http://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2011.01736.x>.
5. Morgun, V.V. & Kots, S.Ya. (2018). The role of biological nitrogen in nitrogen nutrition of plants. *Visnyk NAS Ukraine*, No. 1, pp. 62-74 [in Ukrainian].
6. Chebotar, V.K., Raphalskiy, S.V., Aritkin, A.G. & Esion, V.V. (2013). Efficiency of combined application of microbiological means for soybean cultivation. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*, No. 8, pp. 23-25 [in Russian].
7. Jabbarova, D.P., Egamberdieva, D., Davranov, K. & Jabbarov, M.P. (2013). Restoration of growth of soybean under saline conditions due to inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and *Pseudomonas putida*. *Uzbek. Biol. J.*, No. 5, pp. 23-26.
8. Kyrychenko, O.V. (2015). Market analysis and microbial biopreparations creation for crop production in Ukraine. *Biotechnologia Acta*, 8, No. 4, pp. 40-52. <http://doi.org/10.15407/biotech8.04.040>.
9. Stepin, A.D., Astratova, T.G. & Mityukov, A.S. (2017). The effect of microbiological preparations of complex action on the long-flax productivity and resistance to phytopathogens. *Agrofizika*, No. 1, pp. 44-50 [in Russian].
10. Kots, S.Ya., Mykhalkiv, L.M., Mamenko, P.M. & Veselovska, L.I. (2015). Application of soybean seeds lectin for regulation of the formation and functioning of bean-rhizobial symbiosis of alfalfa and soya under the effect of drought: Patent na korysnu model UA № 102077 A01N25/00, A01N65/20. Opubl. 26.10.15, byul. No. 20 [in Ukrainian].
11. Burgmann, H., Meier, S., Bunge, M., Widmer, F. & Zeyer, J. (2005). Effects of model root exudates on structure and activity of a soil diazotroph community. *Environ Microbiol.*, 7, No. 11, pp. 1711-1724. <http://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00818.x>
12. Kyrychenko, O.V. (2016). Biological activity of rhizosphere soil spring wheat in association with bacteria *Azotobacter chroococcum* T79 modified N-acetyl-D-glucosamine. *Microbiol. and Biothechnol.*, No. 3, pp. 30-42 [in Russian]. [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2016.3\(35\).77955](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2016.3(35).77955).
13. Antypchuk, A.F., Pilyashenko-Novokhatniy, A.I. & Evdokimenko, T.M. (2011). *Practicum on Microbiology*. Kyiv: Manual. University “Ukraine”, 156 p. [in Ukrainian].
14. Shulaev, V., Cortes, D., Miller, G. & Mittler, R. (2008). Metabolomics for plant stress response. *Physiologia Plantarum*, 132, No. 2, pp. 199-208. <http://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.01025.x>
15. Thapa, G., Dey, M., Sahoo, L. & Panda, S.K. (2011). An insight into the drought stress induced alterations in plants. *Biologia Plantarum*, 55, No. 4, pp. 603-613. <https://doi.org/10.1007/s10535-011-0158-8>
16. Levishko, A.S., Mamenko, P.M. & Kots, S.Ya. (2014). Plant metabolomics: fundamentals and role in the study of plant-microbe interactions. *Fiziol. rast. genet.*, 46, No. 1, pp. 19-26 [in Ukrainian].
17. www.snpc.com.ua/ua/soy/lisabon/
18. Hardy, R.W.F., Burns, R.C. & Holsten, R.D. (1973). Application of the acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation. *Soil. Biol. Biochem.*, 5, No. 1, pp. 41-83.
19. Veselovska, L.I., Mykhalkiv, L.M. & Kots, S.Ya. (2013). The influence of exogenous lectin on the effectiveness of *Clycine max*–*Bradyrhizobium japonicum* symbiosis under drought conditions. *Fiziol. rast. genet.*, 45, No. 4, pp. 319-326 [in Ukrainian].

20. Kyrychenko, O.V., Khomenko, Yu.O. & Kots, S. Ya. (2018). Effect of glucose-containing monosaccharides on the symbiotic properties of soybean nodule bacteria and plant crop formation. Ukr. J. Ecol., 8, No. 1. pp. 460-465 [in Ukrainian]. http://doi.org/10.15421/2018_236.

Received 10.04.2019

РЕГУЛЯТОРНА РОЛЬ ГЛЮКОЗО- ТА ГАЛАКТОЗОВМІСНИХ АМІНОЦУКРІВ У РЕАЛІЗАЦІЇ СИМБІОТИЧНОГО І ПРОДУКТИВНОГО ПОТЕНЦІАЛУ СОЄВО-РИЗОБІАЛЬНОГО СИМБІОЗУ В УМОВАХ ПРИРОДНОЇ ПОСУХИ

О.В. Кириченко

Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України, Київ
e-mail: azoleki@ukr.net

Вивчали роль аміноцукрів N-ацетил-D-глюкозаміну та N-ацетил-D-галактозаміну (0,1 М) як можливих екзогенних регуляторів реалізації симбіотичного (за нодуляційною здатністю ризобій і нітрогеназною активністю симбіозів) і продуктивного (за біологічною та насінневою продуктивністю) потенціалу соєво-ризобіальних систем в умовах природної посухи (температурний режим позитивно відхилявся від норми на 1,5–2,0 °С за кількості опадів 11–65 % норми). Встановлено, що бінарні інокулянти на основі бульбочкових бактерій сої й аміноцукрів позитивно впливали на схожість насіння (на 7–12 %), вегетативний ріст (на 6–31 %) і формування біомаси рослин (в 1,3–1,8 раза для надземної маси та в 1,2–1,5 раза для кореневої системи), а також активність плодоутворення (в 1,5–1,7 раза). Бульбочкоутворювальна здатність ризобій зростала в 1,2–1,3 раза за збільшення маси утворених бульбочок в 1,4–1,5 раза, нітрогеназна активність симбіотичних систем (фактична і питома) — відповідно в 1,5 і 1,2 раза. В умовах природної посухи як найефективніший екзогенний регулятор щодо реалізації симбіотичного потенціалу ризобій визначений N-ацетил-D-глюкозамін, який сприяв підвищенню нодуляційної здатності бульбочкових бактерій і нітрогеназної активності симбіозів. Щодо розвитку рослин сої ефективнішим виявився інокулянт на основі ризобій та N-ацетил-D-галактозаміну. Аміноцукри у бінарних інокулянтах із ризобіальною культурою порівняно з моноінокулянтом бульбочкових бактерій більшою мірою підвищували урожай насіння сої. Отримані результати підтвердили перспективність дослідження застосування аміноцукрів як екзогенних регуляторних модуляторів формування, функціонування та ефективності бобово-ризобіальних симбіозів.

Ключові слова: соєво-ризобіальний симбіоз, аміноцукри, N-ацетил-D-глюкозамін, N-ацетил-D-галактозамін, нодуляція, азотфіксація, урожай, посуха.

REGULATORY ROLE OF GLUCOSE- AND GALACTOSE-CONTAINING AMINOSACCHARIDES IN THE REALIZATION OF THE SYMBIOTIC AND PRODUCTIVE POTENTIAL OF SOYBEAN-RHIZOBIUM SYMBIOSIS UNDER FIELD DROUGHT CONDITIONS

O.V. Kyrychenko

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylkivska St., Kyiv, 03022, Ukraine
e-mail: azoleki@ukr.net

It was evaluated the role of aminosaccharides N-acetyl-D-glucosamine and N-acetyl-D-galactosamine (0.1 M) as possible exogenous regulators of the realization of symbiotic (according to the rhizobia nodulation ability and symbiosis nitrogenase activity) and pro-

ductive (by plants biomass and seed productivity) potential of the soybean-rhizobium systems under field drought conditions (the temperature difference positively deviated from the norm by 1.5–2.0 °C with the rainfall 11–65 % of the norm). Binary inoculants based on *Bradyrhizobium japonicum* 634b and aminosaccharides had a positive effect on seed germination (by 7–12 %), vegetative growth (by 6–31 %) and the formation of plant biomass (1.3–1.8 times for aboveground mass and 1.2–1.5 times for the root system), as well as the activity of bean formation (1.5–1.7 times). At the same time, the nodule-forming ability of rhizobia increased by 1.2–1.3 times as well as an increase in the mass of nodules was by 1.4–1.5 times and the nitrogenase activity of symbiotic systems (actual and specific) — by 1.5 and 1.2 times, respectively. Under the field drought conditions N-acetyl-*D*-glucosamine was determined as the most effective exogenous regulator in respect of the realization of the symbiotic potential of rhizobia. Regarding the soybean plants development, a higher efficacy of inoculum on the base of rhizobia and N-acetyl-*D*-galactosamine was noted. Aminosaccharides in binary inoculants with rhizobia contributed to a significant increase in the yield of soybean seeds compared with the monoinoculum of nodule bacteria. The results indicate the prospects for the research of using aminosaccharides as exogenous regulatory agents of the formation, functioning and effectiveness of legume-rhizobium symbiosis.

Key words: soybean-rhizobium symbiosis, aminosaccharides, N-acetyl-*D*-glucosamine, N-acetyl-*D*-galactosamine, nodulation, nitrogen-fixing, yield, field drought.