

## ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ СИМБІОТИЧНИХ СИСТЕМ ТА ФОТОСИНТЕТИЧНОГО АПАРАТУ СОЇ, ІНОКУЛЬОВАНОЇ ШТАМАМИ *BRADYRHIZOBIUM* *JAPONICUM*, ЗА ВПЛИВУ КАРБОКСИЛАТІВ МЕТАЛІВ

**В.В. Моргун, Л.І. Рибаченко, С.Я. Коць,  
Д.А. Кірізій, К.П. Кукол, О.Р. Рибаченко**

*Інститут фізіології рослин і генетики НАН України,  
вул. Васильківська, 31/17, Київ, 03022, Україна  
e-mail: veselika@ukr.net*

**Мета.** Дослідити вплив карбоксилатів металів як компонентів інокуляційної суспензії на процеси формування і функціонування симбіотичних систем, активність фотосинтетичного апарату сої. **Методи.** Мікробіологічні, фізіологічні, біохімічні, газова хроматографія. **Результати.** Використання карбоксилатів молібдену, феруму та германію як компонентів середовища культивування ризобій у співвідношенні 1:1000 для отримання інокулянта стимулювало азотфіксувальну активність симбіотичних систем та інтенсивність фотосинтезу у листках сої. Найсильніший позитивний вплив чинив карбоксилат германію. **Висновки.** На основі отриманих результатів рекомендовано культивування активних штамів бульбочкових бактерій із карбоксилатами германію при створенні комплексних біопрепаратів для бобових рослин, що забезпечує формування потужного та високоактивного симбіотичного апарату на коренях, а також стимулює інтенсивність фотосинтезу в листках сої.

**Ключові слова:** *Bradyrhizobium japonicum*, карбоксилати молібдену, феруму, германію, азотфіксувальна активність, інтенсивність фотосинтезу.

Тотальна хімізація сільськогосподарського виробництва призвела до забруднення навколишнього середовища, погіршення якості продуктів харчування та спонукала до пошуку нових екологічно безпечних підходів до систем господарювання. Потужним фактором підвищення продуктивності агроєкосистем, який не чинить негативного впливу на довкілля, може бути активізація рослинно-мікробної взаємодії. Одним із видів такої взаємодії є бобово-ризобіальний симбіоз. У результаті діяльності симбіотичних систем щороку з атмосфери засвоюється від 40 до більш, ніж 300 кг/га азоту [1]. Взаємодія бобових із симбіотичними мікроорганізмами дозволяє не лише забезпечувати рослини доступними формами азоту, а і фітогормонами, амінокислотами, сприяє їх захисту від патогенних мікроорганізмів.

Відомо, що у регіонах тривалого вирощування бобових культур у ґрунті формуються численні популяції ризобій, однак на практиці майже неможливо визначити їхню кількість та ефективність, особливо на полях, що зазнали дії високих або низьких температур та суворих зим [2]. У симбіозі з бобовими рослинами такі ризобії формують бульбочки, які недостатньо ефективно фіксують молекулярний азот. Одним із основних прийомів,

що значно підвищують азотфіксувальну активність бобово-ризобіальних систем, є передпосівна інокуляція насіння відповідними бактеріальними препаратами [3]. Застосування якісних інокулянтів сприяє значному зростанню ефективності симбіозу, насінневої продуктивності культур, а також поліпшенню якості зерна. Проте, слід зазначити, що традиційні бактеріальні препарати при незаперечній екологічній та економічній доцільності застосування не завжди забезпечують бажане зростання продуктивності. З огляду на це актуальним є створення нових комбінованих форм мікробних препаратів, які окрім бактеріального компонента містили б й інші фактори підвищення ефективності бобово-ризобіальної взаємодії.

У даному аспекті доцільним було б застосування мікроелементів. Адже їх дефіцит у ґрунті може слугувати бар'єром ефективного використання макродобрих. Це пояснюється тим, що мікроелементи, як окремо, так і у складі ферментів, беруть участь у численних фізіолого-біохімічних процесах, а саме: утворюють комплекси із нуклеїновими кислотами, впливають на фізіологічні властивості рибосом та проникність клітинних мембран, беруть участь в окисно-відновних процесах, вуглеводному і азотному обміні, підвищують інтенсивність фотосинтезу, регулюють надходження мінеральних речовин у рослину та водний режим рослин тощо [4].

На сьогоднішній день найефективнішими і перспективними для застосування в агропромисловому комплексі є препарати, до складу яких входять мікроелементи у формі карбоксилатів наночастинок металів. Застосування цих добрив сприяє покращенню якісних та кількісних показників урожаю, підвищує стійкість рослин до несприятливих чинників навколишнього середовища (висока або низька температура повітря, посуха, недостатня кількість кисню в ґрунті, накопичення пестицидів), стимулює розвиток симбіотичної мікробіоти на коренях бобових культур та збільшує азотфіксувальну активність симбіотичних систем. Карбоксилати металів, маючи малі розміри частинок, характеризуються високою питомою поверхнею [5], впливають на біологічні об'єкти на клітинному рівні, беручи участь у процесах переносу електронів, підвищують ефективність протікання фізіологічних процесів у рослинах, посилюють дію ферментів, інтенсифікують фотосинтез та дихання, синтез ферментів та амінокислот, вуглеводний і азотний обмін [6, 7, 8, 9]. Такий ефект досягається завдяки активнішому проникненню мікроелементів у рослинний організм внаслідок нанорозміру частинок та їх нейтрального (в електрохімічному значенні) статусу [10].

Метою даної роботи було дослідити вплив карбоксилатів наночастинок металів як компонентів середовища культивування ризобій для отримання інокуляційної суспензії на процеси формування і функціонування симбіотичних систем, а також активність фотосинтетичного апарату сої.

**Матеріали та методи.** Об'єктами досліджень були симбіотичні системи, створені за участі рослин сої (*Glycine max* (L.) Merr.) сорту Васильківська та штамів бульбочкових бактерій: активного – *Bradyrhizobium japonicum* 6346 та неактивного, але високовірулентного – *B. japonicum* 604к із музейної колекції азотфіксувальних мікроорганізмів відділу симбіотичної азотфіксації ІФРГ НАН України.

Культури ризобій вирощували за температури 26–28 °С на манітно-дріжджовому середовищі такого складу (г/л):  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 0,5;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,2;  $\text{NaCl}$  – 0,1; дріжджовий екстракт – 1,0; маніт – 10,0 [11]. Схемою досліду було передбачено внесення у середовище вирощування ризобій хелатованих наночастинок металів  $\text{Mo}$ ,  $\text{Fe}$ ,  $\text{Ge}$  у розведенні 1:1000. Хелатором виступала лимонна кислота. Використані нами препарати мікроелементів люб'язно надані ТОВ «Науково-виробнича компанія «АВАТАР»» (Україна, м. Київ). Їх одержання відбувається у два етапи: 1 – отримання водного колоїдного розчину наночастинок мікроелементів диспергуванням високоочищених гранул відповідних металів імпульсами електричного струму в деіонізованій воді [12]; 2 – отримання карбоксилатів металів реакцією прямої взаємодії одержаних наночастинок з харчовою карбоною кислотою [13].

Культивування бактерій здійснювали на кругових качалках у колбах Ерленмейера, що містили 200 мл живильного середовища, зі швидкістю обертання качалки 220 об./хв. Посівний матеріал у колби вносили в концентрації 2 % від об'єму живильного середовища. Чисельність ризобій у суспензії, яку вносили, становила  $10^8$  клітин/мл. Чистоту культур перевіряли шляхом їх висіву на м'ясо-пептонний агар, на якому ризобії сої не ростуть.

Насіння перед посівом стерилізували 70 %-м розчином етанолу і промивали проточною водою, після чого інокулювали протягом 1 год. Досліди проводили на вегетаційному майданчику ІФРГ НАН України за такою схемою:

- 1) насіння + *B. japonicum* 634б (контроль 1);
- 2) насіння + [*B. japonicum* 634б + карбоксилат  $\text{Mo}$ ];
- 3) насіння + [*B. japonicum* 634б + карбоксилат  $\text{Fe}$ ];
- 4) насіння + [*B. japonicum* 634б + карбоксилат  $\text{Ge}$ ];
- 5) насіння + *B. japonicum* 604к (контроль 2);
- 6) насіння + [*B. japonicum* 604к + карбоксилат  $\text{Mo}$ ];
- 7) насіння + [*B. japonicum* 604к + карбоксилат  $\text{Fe}$ ];
- 8) насіння + [*B. japonicum* 604к + карбоксилат  $\text{Ge}$ ].

Рослини вирощували у 4-кілограмових посудинах у піщаній культурі із внесенням поживної суміші Гельрігеля з 0,25 норми азоту за природного освітлення та оптимального (60 % повної вологоємності) водозабезпечення.

Відбори зразків для аналізу діяльності симбіотичного апарату проводили у фазах: трьох справжніх листків, бутонізації та цвітіння. Нодуляційну активність ризобій визначали за кількістю та масою бульбочок, сформованих на коренях рослин. Вимірювання азотфіксувальної активності (АФА) симбіотичних систем проводили ацетиленовим методом [14].

Інтенсивність фотосинтезу визначали у фазах трьох справжніх листків та бутонізації у контрольованих умовах за допомогою оптико-акустичного інфрачервоного газоаналізатора ГІАМ-5М, включеного за диференціальною схемою. Для вимірювань використовували середню долю невідокремленого від рослини третього зверху листка, яку розміщували в термостатованій камері. Листок освітлювали лампою КГ-2000 через водяний фільтр. Густина потоку фотосинтетично активної радіації (ФАР) у камері становила  $400 \text{ Вт/м}^2$ , температура – 25 °С. Через камеру продували повітря із природною концентрацією  $\text{CO}_2$  зі швидкістю 1 л/хв. Інтенсив-

ність поглинання CO<sub>2</sub> на світлі вимірювали через 30 – 40 хв після розміщення листка у камері за досягнення стаціонарного рівня. Розрахунки проводили за загальноприйнятою методикою [15].

Статистична обробка експериментальних даних виконана за Доспеховим [16] та з використанням програми Microsoft Excel 2010. У таблицях і на рисунках представлено середні арифметичні та їх стандартні похибки.

**Результати.** У процесах формування і функціонування ефективних бобово-ризобіальних симбіотичних систем одну із найважливіших ролей відіграє нодуляційна активність ризобій [17]. У результаті аналізу рослин сої із варіантів, насіння яких було інокульоване активним штамом бульбочкових бактерій *B. japonicum* 634б, виявлено, що максимальний позитивний ефект на формування симбіотичного апарату сої чинив карбоксилат германію (табл. 1). Так, у фазі трьох справжніх листків цей препарат сприяв зростанню кількості та маси кореневих бульбочок порівняно із контролем 1 відповідно на 38 та 28 %, у фазі бутонізації – на 50 та 28 %, у фазі цвітіння – на 33 та 13 %.

Встановлено, що застосування карбоксилату Fe як компонента бактеріальної суспензії стимулювало нодуляційну активність ризобій лише у фазі трьох справжніх листків (табл. 1). Зокрема, кількість бульбочок на коренях рослин цього варіанта порівняно із рослинами контролю 1 була вищою на 40 %, а маса – на 34 %. У фазах бутонізації та цвітіння досліджувані показники змінювались відносно контрольного варіанта 1 лише в межах похибки досліді. Карбоксилат молібдену хоча і впливав на процеси формування симбіотичних систем, проте його дія була незначною (табл. 1). Всі зміни кількості та маси бульбочок, зафіксовані у рослин цього варіанта, були в межах похибки, за винятком маси бульбочок у фазі бутонізації, яка зросла на 24 % порівняно з контролем.

Обрахунок кількості та маси кореневих бульбочок у варіантах із інокуляцією насіння неактивним штамом *B. japonicum* 604к показав, що застосування карбоксилатів мікроелементів як компонентів поживного середовища для ризобій стимулювало процес бульбочкоутворення відносно контролю 2 у фазі трьох справжніх листків (табл. 1). При цьому максимальний ефект відзначено у рослин варіанта з використанням карбоксилату Mo, де кількість бульбочок перевищувала показник відповідного контролю на 45 %, а їх маса – на 54 %.

Карбоксилат Fe сприяв збільшенню кількості та маси кореневих бульбочок порівняно із тим самим контролем відповідно на 35 і 46 %. Інокуляція ризобіями, вирощеними з карбоксилатом Ge, привела до формування на коренях сої більшої кількості бульбочок (на 12 %) відносно контролю, за показником маси бульбочок зафіксовано лише тенденцію до зростання.

У фазі бутонізації позитивний ефект відзначено тільки у варіанті із використанням карбоксилату Ge, де кількість та маса кореневих бульбочок зростала відносно контролю 2 відповідно на 13 та 25 %. Інокуляція ризобіями, культивованими на середовищі з карбоксилатом заліза, спричинила зниження досліджуваних показників порівняно з тим самим контролем на 13 % (кількість бульбочок) та 46 % (маса бульбочок). Карбоксилат Mo не чинив істотного впливу на нодуляційну активність *B. japonicum* 604к у цій фазі.

Таблиця 1

**Вплив карбоксилатів металів та передпосівної інокуляції насіння на кількість (шт. бульбочок/рослину) та масу (мг/рослину) кореневих бульбочок сої.**

Варіант	Фаза розвитку рослин							
	Трьох справжніх листків		бутонації		бутонації		цвітіння	
	статистично середня кількість бульбочок	маса бульбочок	статистично середня кількість бульбочок	маса бульбочок	статистично середня кількість бульбочок	маса бульбочок	статистично середня кількість бульбочок	маса бульбочок
<i>B. japonicum</i> 6346 (контроль 1)	33,7 ± 1,8	160,0 ± 8,3	33,0 ± 1,7	234,0 ± 26,0	28,7 ± 3,0	357,0 ± 20,6		
<i>B. japonicum</i> 6346 + карбоксилат Мо	35,0 ± 2,2	190,0 ± 23,1	31,2 ± 2,8	289,0 ± 17,3	24,7 ± 1,7	332,0 ± 22,2		
<i>B. japonicum</i> 6346 + карбоксилат Fe	47,2 ± 1,0	215,0 ± 18,6	30,7 ± 1,7	257,0 ± 31,3	31,2 ± 1,8	325,0 ± 39,8		
<i>B. japonicum</i> 6346 + карбоксилат Ge	46,5 ± 2,2	204,0 ± 14,0	49,5 ± 4,6	300,0 ± 31,7	38,2 ± 2,5	405,0 ± 27,0		
<i>B. japonicum</i> 604к (контроль 2)	39,7 ± 1,1	54,0 ± 9,0	61,2 ± 3,1	121,0 ± 13,4	136,0 ± 9,6	320,0 ± 28,2		
<i>B. japonicum</i> 604к + карбоксилат Мо	57,5 ± 3,1	83,0 ± 5,2	64,2 ± 5,4	114,0 ± 17,0	96,7 ± 2,1	280,0 ± 13,8		
<i>B. japonicum</i> 604к + карбоксилат Fe	53,7 ± 4,4	79,0 ± 2,1	53,2 ± 1,7	65,0 ± 1,5	161,2 ± 5,4	310,0 ± 31,2		
<i>B. japonicum</i> 604к + карбоксилат Ge	45,2 ± 3,0	59,0 ± 7,1	69,0 ± 2,5	151,0 ± 14,2	110,2 ± 8,7	192,0 ± 30,1		

У період цвітіння зафіксовано зниження кількості бульбочок відносно контролю 2 у варіантах із застосуванням карбоксилатів Мо і Ge на 29 та 19 % відповідно (табл. 1). Зростання даного показника (на 19 %) порівняно з контролем відзначено у симбіотичних системах, що зазнали впливу карбоксилату Fe. Що стосується маси кореневих бульбочок, то вона зменшувалася відносно контролю в усіх дослідних варіантах, проте це зменшення було в межах похибки.

Одним із найважливіших показників ефективності функціонування симбіозу бобових рослин із ризобіями є азотфіксувальна активність кореневих бульбочок [17]. Результати досліджень показали, що у фазі трьох справжніх листків максимальне зростання (на 42 %) досліджуваного показника відносно контролю 1 відбулось у варіанті із застосуванням карбоксилату Fe (табл. 2). Інокуляція ризобіями *V. japonicum* 634б, вирощеними на середовищі з карбоксилатами Мо та Ge, сприяла збільшенню АФА порівняно з контрольним варіантом на 29 та 33 % відповідно.

У фазі бутонізації спостерігалось нехарактерне зниження АФА симбіотичних систем сої порівняно з попередньою фазою розвитку рослин. Винятком були рослини варіанта з використанням карбоксилату Ge, у яких АФА перевищувала показники попередньої фази. Окрім цього, бобово-ризобіальні системи даного варіанта відзначались максимальними показниками азотфіксувальної активності порівняно з рослинами контрольного варіанта 1 (табл. 2). Застосування карбоксилату Fe як компонента середовища культивування *V. japonicum* 634б сприяло збільшенню АФА на 27 % порівняно із контролем. У варіанті з використанням карбоксилату Мо відзначено лише тенденцію до зростання азотфіксувальної активності.

У фазі цвітіння сої нами зафіксовано найнижчі з усіх досліджуваних фаз розвитку рослин показники АФА (табл. 2). При цьому застосування карбоксилатів металів чинило позитивну дію на АФА кореневих бульбочок і приводило до збільшення даного показника відносно контролю 1 на 36 % (варіант із карбоксилатом Мо), 21 % (варіант із карбоксилатом Fe) та 40 % (варіант із карбоксилатом Ge).

У симбіотичних системах, створених за участі неактивного штаму *V. japonicum* 604к, азотфіксувальна активність була відсутня у всіх досліджених фазах розвитку рослин.

**Таблиця 2**

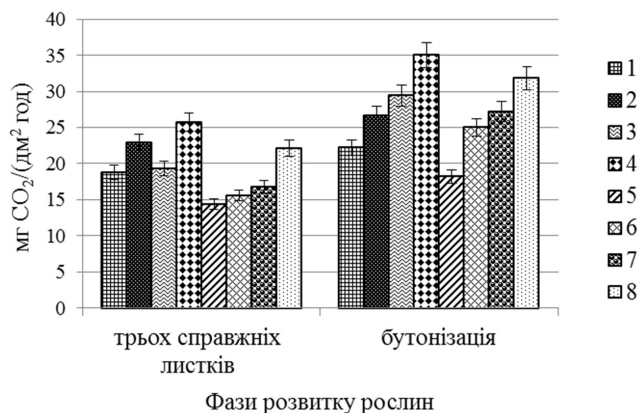
**Вплив карбоксилатів металів на азотфіксувальну активність (мкмоль  $C_2H_4$ /(рослину\*год)) симбіотичних систем, створених за участі сої сорту Васильківська та *Bradyrhizobium japonicum* 634б.**

Варіант	Фаза розвитку рослин		
	трьох справжніх листків	бутонізації	цвітіння
<i>V. japonicum</i> 634б (контроль 1)	1,6 ± 0,2	1,3 ± 0,2	0,7 ± 0,0
<i>V. japonicum</i> 634б + карбоксилат Мо	2,1 ± 0,2	1,6 ± 0,1	0,9 ± 0,1
<i>V. japonicum</i> 634б + карбоксилат Fe	2,3 ± 0,2	1,7 ± 0,1	0,8 ± 0,1
<i>V. japonicum</i> 634б + карбоксилат Ge	2,1 ± 0,1	2,4 ± 0,1	1,0 ± 0,0

Дослідження фотосинтетичної активності у листках сої, інокульованої контрастними за активністю штамми ризобій, що зазнали впливу карбоксилатів наночастинок металів, показали наступне. У фазі трьох справжніх листків бактеризація насіння активним штамом бульбочкових бактерій *B. japonicum* 634б, вирощеним на середовищі із карбоксилатом Мо, стимулювала фотосинтетичну активність рослин сої та сприяла зростанню цього показника на 22 % відносно контролю 1 (рис. 1). Застосування карбоксилату Ge як компонента середовища вирощування бульбочкових бактерій збільшило інтенсивність фотосинтезу у листках сої на 37 % порівняно з контролем 1. У варіанті із використанням карбоксилату Fe у фазі трьох справжніх листків фотосинтетична активність рослин була на рівні контролю 1.

Використання карбоксилатів Мо, Fe, Ge як компонентів поживного середовища для культивування ризобій сприяло активізації інтенсивності фотосинтезу в листках сої також у фазі бутонізації (рис. 1). Інокуляція бактеріями *B. japonicum* 634б, вирощеними із карбоксилатом Мо, підвищувала цей показник на 20 % відносно контролю 1. У рослин, інокульованих ризобіями, що зазнали впливу карбоксилату Fe, фотосинтетична активність зростала на 32 % порівняно із рослинами контрольного варіанта. Максимальні показники інтенсивності фотосинтезу були у рослин, насіння яких інокульовали ризобіями, вирощеними з карбоксилатом Ge. Так, інокулянт на основі активного штаму і карбоксилату германію сприяв збільшенню досліджуваного показника відносно відповідного контролю на 58 %.

Як у фазі трьох справжніх листків, так і у фазі бутонізації у рослин варіантів із інокуляцією насіння неактивним штамом ризобій *B. japonicum* 604к інтенсивність фотосинтезу була нижчою від рослин, насіння яких було інокульоване активним штамом бульбочкових бактерій *B. japonicum* 634б (рис. 1). Проте застосування карбоксилатів біогенних металів і за



**Рис. 1. Інтенсивність фотосинтезу в листках сої, інокульованої штамми *B. japonicum* 634б та 604к, культивованими з нанокорбоксилатами металів**

Примітка: 1 – *B. japonicum* 634б (контроль 1), 2 – *B. japonicum* 634б+карбоксилат Мо, 3 – *B. japonicum* 634б+карбоксилат Fe, 4 – *B. japonicum* 634б+карбоксилат Ge, 5 – *B. japonicum* 604к (контроль 2), 6 – *B. japonicum* 604к+карбоксилат Мо, 7 – *B. japonicum* 604к+карбоксилат Fe, 8 – *B. japonicum* 604к+карбоксилат Ge.

таких умов активізувало процеси асиміляції вуглецю у рослинах сої. Зокрема, у рослин, інокульованих ризобіями з карбоксилатом Ge, фотосинтетична активність листків підвищувалась порівняно з контролем 2 на 53 % (фаза трьох справжніх листків) та 75 % (фаза бутонізації). Карбоксилати Mo й Fe також приводили до підвищення досліджуваного показника відносно контролю 2. Максимальний стимулювальний ефект від їх використання відзначено у фазі бутонізації, де фотосинтетична активність рослин сої зростає на 37 % (варіант із карбоксилатом Mo) та на 49 % (варіант із карбоксилатом Fe).

**Обговорення.** Забезпеченість бобових рослин мікроелементами відіграє важливу роль для активізації процесу симбіотичної фіксації азоту [7], що підтверджують результати наших досліджень. Очевидно, отриманий нами стимулювальний ефект карбоксилатів металів як на нодуляційну активність бульбочкових бактерій, так і на АФА симбіотичного апарату сої пов'язаний зі специфічною фізіологічною функцією даних мікроелементів у процесах формування та функціонування бобово-ризобіальних систем. Відомо, що залізо разом із молібденом входить до складу активного центру ферментного комплексу нітрогенази у вигляді Fe-Mo-білка. Окрім цього, молібден потрібен для синтезу леггемоглобіну – білка, який захищає нітрогеназу [18, 19]. Механізм біологічної дії сполук германію пов'язаний з їх антиоксидантними властивостями [20].

Зниження АФА симбіотичних систем сої, яке ми спостерігали у фазі бутонізації в більшості варіантів, можливо, пов'язане зі значним підвищенням температури повітря, яке відмічено у період настання даної фази. При цьому лише у симбіотичних системах, що зазнали впливу карбоксилату германію, відбулось зростання досліджуваного показника відносно попередньої фази розвитку рослин, що, очевидно, зумовлено антиоксидантними та антигіпоксантами властивостями германію [21, 22]. Пік високих температур повітря припав на фазу цвітіння сої, що і відобразилось на діяльності симбіотичного апарату, зумовивши найнижчі нехарактерні показники АФА усіх досліджуваних варіантів (табл. 2). При цьому навіть за таких стресових умов застосування карбоксилатів металів чинило позитивну дію на АФА корневих бульбочок і приводило до збільшення даного показника відносно контролю 1. Максимальні значення АФА відзначено у варіанті із застосуванням карбоксилатів германію, що ще раз доводить його антиоксидантні властивості. Окрім цього, такі результати також добре узгоджуються із літературними даними, які стверджують, що використання нанопрепаратів біогенних металів підвищує стійкість біологічних систем до несприятливих погодних умов [5, 6, 23].

Окрім азотного метаболізму в основі сталого розвитку рослинного організму лежить процес асиміляції вуглецю, що відбувається за рахунок фотосинтезу шляхом відновлення його діоксиду, який рослина поглинає з навколишнього повітря. Завдяки фотосинтезу запасється сонячна енергія і синтезуються пластичні речовини, з яких формується маса рослини. У процесі еволюції бобово-ризобіального симбіозу між макро- та мікросимбіонтами виробилася добре скоординована система обміну речовин і енергії [17]. Фотосинтез як джерело асимілятив забезпечує енергією



і органічними сполуками процес фіксації азоту, в свою чергу бульбочкові бактерії впливають на інтенсивність фотосинтезу через азотний статус рослини [24, 25].

Продемонстровано, що протягом усього вегетаційного періоду рослини, насіння яких інокулювали неактивним штамом ризобій, характеризувались нижчою інтенсивністю фотосинтезу порівняно з рослинами, які зазнали впливу активного штаму бульбочкових бактерій (рис. 1). Очевидно, це спричинено дефіцитом азоту у таких рослин. Адже фіксація молекулярного азоту (як це мало місце у варіантах із інокуляцією активним штамом) не відбувалась, і рослини були не в змозі забезпечити формування повноцінного фотосинтетичного апарату лише за рахунок стартової дози мінерального азоту в субстраті. Насамперед це стосується хлоропластного рівня – білків фотосинтетичних мембран і ферментів циклу Кальвіна, серед яких кількість головного ферменту фіксації  $\text{CO}_2$  (рибулозобісфосфаткарбоксілази/оксигенази) становить близько половини загального вмісту водорозчинних білків зеленого листка [26, 27].

Показано, що, незалежно від штаму ризобій, застосування карбоксилатів біогенних металів у складі інокулянтів активізувало процеси асиміляції вуглецю у рослинах сої. Ці результати потребують деяких коментарів. Оскільки нанокарбоксилати металів використовували лише як компонент середовища для культивування ризобій, пояснення слід шукати через встановлені нами факти впливу досліджених препаратів на властивості ризобій. Так, у обох штамів карбоксилати металів стимулювали процес нодуляції, а у активного штаму – ще й азотфіксувальну активність. Цілком очевидно, що в останньому випадку інтенсивність фотосинтезу стимулювалась надходженням азотовмісних сполук з коренів. Це підтверджує високий коефіцієнт кореляції ( $r = 0,97$ ) між азотфіксувальною активністю та інтенсивністю фотосинтезу у фазі бутонізації в рослин усіх варіантів з інокуляцією активним штамом ризобій. У фазі трьох справжніх листків коефіцієнт кореляції був менший ( $r = 0,38$ ), але це можна пояснити впливом стартової дози мінерального азоту.

Складніше пояснити інтенсифікацію фотосинтезу в рослин, інокульованих неактивним штамом ризобій сої, культивованим з нанокарбоксилатами металів. Без сумніву, останні певним чином модифікували і ці ризобії, про що свідчить підвищення їх нодуляційної здатності. У зв'язку з цим, нагадаємо, що ризобії впливають також на гормональний статус рослини, а бульбочки є джерелом фізіологічно активних речовин [28]. Отже, можна припустити, що ризобії, культивовані з нанокарбоксилатами металів, чинили подвійний вплив на рослини – поліпшували їх забезпечення азотом в разі застосування активного штаму та пом'якшували вплив стресових чинників завдяки синтезу фізіологічно активних речовин в разі застосування як активного, так і неактивного штаму. Це припущення потребує подальшої перевірки, але може бути прийняте як робоча гіпотеза.

Таким чином, експериментально доведено, що використання карбоксилатів наночастинок Mo, Fe, Ge як компонентів середовища культивування ризобій у співвідношенні 1:1000 стимулювало азотфіксувальну активність симбіотичних систем та інтенсивність фотосинтезу у листках сої за передпосівної інокуляції насіння. При цьому максимальний вплив на досліджувані процеси виявив карбоксилат германію. З огляду на це при отриманні

комплексних біопрепаратів для бобових рослин ми рекомендуємо застосовувати культивування активних штамів бульбочкових бактерій із карбоксилатами наночастинок Ge, що забезпечує формування потужного та високоактивного симбіотичного апарату на коренях рослин, а також стимулює інтенсивність фотосинтезу в листках сої.

## ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СИМБИОТИЧЕСКИХ СИСТЕМ И ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА СОИ, ИНОКУЛИРОВАННОЙ ШТАММАМИ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*, ПОД ВЛИЯНИЕМ КАРБОКСИЛАТОВ МЕТАЛЛОВ

*В.В. Моргун, Л.И. Рыбаченко, С.Я. Коць,  
Д.А. Киризий, К.П. Кукол, А.Р. Рыбаченко*

*Институт физиологии растений и генетики НАН Украины,  
ул. Васильковская, 31/17, Киев, 03022, Украина*

### Резюме

**Цель.** Исследовать влияние карбоксилатов металлов как компонентов инокуляционной суспензии на процессы формирования и функционирования симбиотических систем, а также активность фотосинтетического аппарата сои. **Методы.** Микробиологические, физиологические, биохимические, газовая хроматография. **Результаты.** Использование карбоксилатов молибдена, железа и германия в качестве компонентов среды культивирования ризобий в соотношении 1:1000 для получения инокулянта стимулировало азотфиксирующую активность симбиотических систем и интенсивность фотосинтеза в листьях сои. Максимальное положительное влияние оказывал карбоксилат германия. **Выводы.** На основе полученных результатов рекомендовано культивирование активных штаммов клубеньковых бактерий с карбоксилатом германия при создании комплексных биопрепаратов для бобовых растений. Это позволит обеспечить формирование высокоактивного симбиотического аппарата на корнях, а также стимулировать интенсивность фотосинтеза в листьях сои.

*Ключевые слова:* *Bradyrhizobium japonicum*, карбоксилаты молибдена, железа, германия, азотфиксирующая активность, интенсивность фотосинтеза.

## FEATURES OF THE FUNCTIONING OF SYMBIOTIC SYSTEMS AND PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF SOYBEAN INOCULATED BY *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* UNDER THE INFLUENCE OF METAL CARBOXYLATES

*V.V. Morgun, L.I. Rybachenko., S.Ya. Kots,  
D.A. Kiriziy, K.P. Kukol, O.R. Rybachenko*

*Institute of Plant Physiology and Genetics NAS of Ukraine,  
31/17 Vasylkivska St., Kyiv, 03022, Ukraine*

### Summary

**Aim.** To study the influence of metal carboxylates as components of the inoculum suspension on the processes of formation and functioning of symbiotic systems as well as the activity of the photosynthetic apparatus of soybean. **Methods.** Microbiological,

physiological, biochemical, gas chromatography. **Results.** The use of molybdenum, iron and germanium carboxylates as components of the rhizobium culture medium in ratio 1:1000 stimulates the nitrogen-fixing activity of symbiotic systems and the photosynthetic rate of soybean leaves. In this case, the strongest positive effect was made by germanium carboxylate. **Conclusions.** Based on the results obtained, we recommend the use of combinations of active strains of nodule bacteria with germanium carboxylate in the creation of complex biopreparations for leguminous plants that provides the formation of a powerful and highly active symbiotic apparatus on the roots and stimulates the photosynthetic rate in soybean leaves.

*Keywords:* *Bradyrhizobium japonicum*, carboxylates of molybdenum, iron, germanium, nitrogen-fixing activity, photosynthetic rate.

1. Petrychenko VF, Kots SYa. [Symbiotic systems in modern agricultural production]. Visnyk of the National Academy of Sciences of Ukraine. 2014; 3:57–66. Ukrainian.
2. Patyka VP, Krutylo DV, Kovalevska TM. [Influence of gauge populations of soybean bacteria on the symbiotic activity of the introduced strain *Bradyrhizobium japonicum* 634b]. Mikrobiol Z. 2004; 3(66):14–21. Ukrainian.
3. Pervachuk MV, Vradii OI. [Intensification of the process of fixation of atmospheric nitrogen under the influence of microbial preparations on crops of perennial legumes]. Agriculture and forestry. Ecology and environment protection. 2016; 4:220–230. Ukrainian.
4. Kots SYa, Peterson NV. [Mineral elements and fertilizers in plant nutrition. Edition 2 revised and supplemented]. Kiev: Logos; 2009. 182 p. Ukrainian.
5. Fedorenko VF, Erokhyh MN, Balabanov VY, Buklahyn DS, Holubev YH, Yshchenko SA. [Nanotechnologies and nanomaterials in the agro-industrial complex: scientific edition]. Moscow: FGBNU “Rosinformagrotekh”; 2011. 312 p. Russian.
6. Vyldflush YR, Tsyhanov AR, Myshura OY. [Efficiency of use of microfertilizers and plant growth regulators in the cultivation of crops]. Minsk: Belarusian science; 2011. 293 p. Belarussian.
7. Pykun PT. [Lucerne and its possibilities]. Minsk: Belarusian science; 2012. 310 p. Belarussian.
8. Trakhtenberh IM, Dmytrukha NM. [Nanoparticles of metals, methods of obtaining, scope of application, physico-chemical and toxic properties]. Ukrainian Journal of Medical Problems. 2013; 4 (37):62–74. Ukrainian.
9. Nesli S, Kokini JL. Nanotechnology and its applications in the food sector. Trends in Biotechnology. 2009; 2(27):82–89.
10. Omelchenko AV, Yurkova YN. [Influence of presowing seed treatment with nanobioserebro on growth processes and water exchange of winter wheat under simulated drought conditions]. Young Scientist. 2015; 18:23–26. Russian.
11. Child JJ. Nitrogen fixation by a *Rhizobium* sp. association with nonleguminous plant cell cultures. Nature. 1975; 253:350–351.
12. Kosinov MV, Kaplunenko VG. The method of obtaining ecologically pure nanoparticles of electrically conductive metals «Electropulse ablation». Patent 37412UA. Publ. 25.11.2008, Bul. № 22. Ukrainian.
13. Kaplunenko VG, Kosinov MV. Ultrapure aqueous solution of metal nanocarboxylate. Patent 39397UA. Publ. 25.02.2009, Bul. № 4. Ukrainian.

14. Hardy RWF, Holsten RD, Jackson EK, Burns RC. The acetylene-ethylene assay for N<sub>2</sub> fixation: laboratory and field evaluation. *Plant Physiol.* 1968; 43:1185–1207.
15. [Photosynthesis and bioproductivity: methods for determining]. Mokronosov AT, Kovalev AH, editors. Moscow: Agropromizdat; 1989. 460 p. Russian.
16. Dosphehov BA. [Methodology of field experiment]. Moscow: Agropromizdat; 1985. 351 p. Russian.
17. Vasyliuk VM, Kirizii DA, Kots SYa. [Dynamics of photosynthetic and nitrogen-fixation activity and productivity of soybeans inoculated by Tn5 mutants *Bradyrhizobium japonicum*]. *Visnyk of the National Academy of Sciences of Ukraine.* 2008; 1:147–152. Ukrainian.
18. Bityutskiy NP. [Necessary mikroelements paints]. Textbook for high schools. Saint Petersburg: DEAN; 2005. 256 p. Russian.
19. Mortvedt YY. Micronutriens in Crop Production. *Soil crop Sci. Soc.* 1988; 47:5–9.
20. Lukianchuk VD, Seifullina II, Litvynenko DF, Martynko OE. [Pharmacological properties of organic and coordination compounds of germanium - modern presentation]. *Pharmacology and doctor toxicology.* 2016; 1(47):3–13. Ukrainian.
21. Lukevych YeYa, Har TK, Yhnatovych LM, Myronov VF. [Biological activity of germanium compounds]. Ryga: Zynatne; 1990. 191 p. Latvian.
22. Menchykov LH, Yhnatenko MA. [Biological activity of organic compounds of germanium]. *Chemical-Pharmaceutical Journal.* 2012; 11(46):3–6. Russian.
23. Sytar OV, Novytska NV, Taran NYu, Kalenska SM, Hanchurin VV. [Nanotechnology in modern agriculture]. *Physics of the living.* 2010; 3(18):113–116. Ukrainian.
24. Karyagin YuG. [Efficiency of bacterization of soybean plants by active races of nodule bacteria]. *Microbiology.* 1980; 1(49):141–146. Russian.
25. Nhuen Tkhy Chy, Andreeva TF, Nychyporovych AA. [Interrelation of photosynthesis with nitrogen fixation in lupine plants]. *Plant physiology.* 1983; 5(30):925–930. Russian.
26. Feller U, Anders I, Mae T. Rubiscolytics: fate of Rubisco after its enzymatic function in a cell is terminated. *J. Exp. Bot.* 2008; 7(59):1615–1624.
27. Wingler A, Lea PJ, Quick WP, Leegood RC. Photorespiration: metabolic pathways and their role in stress protection. *Phil. T. Roy. Soc. B.* 2000; 355:1517–1529.
28. Kots SYa, Morhun VV, Patyka VF, Datsenko VK, Kruhova ED, Kyrychenko EV et al. [Biological fixation of nitrogen: legume-rhizobia symbiosis]. Kiev: Logos, 2010. 2: 508 p. Ukrainian.

Отримано 26.09.2018