

## ФОРМУВАННЯ ТА ФУНКЦІОНУВАННЯ СИМБІОТИЧНИХ СИСТЕМ СОЯ – *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* ЗА ВПЛИВУ КОМПЛЕКСІВ НАНОЧАСТИНОК КАРБОКСИЛАТІВ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ

С. Я. Коць, Л. І. Рибаченко, П. П. Пухтаєвич, К. А. Мокрицький

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

**Мета.** Вивчити дію комбінованих препаратів на основі високоактивних штамів *Bradyrhizobium japonicum* та комплексів карбоксилатів мікроелементів германію, молібдену і заліза на симбіотичний апарат рослин сої, з метою підвищення ефективності бактеріальних інокулянтів. **Методи.** Газова хроматографія, мікробіологічні, фізіологічні. **Результати.** Виявлено, що поєднання мікробного препарату на основі ефективних штамів бульбочкових бактерій із комплексами наночастинок карбоксилатів Mo, Fe, Ge сприяє підсиленню нодуляційної активності, забезпечує зростання маси корневих бульбочок, активізує азотфіксувальну активність симбіотичних систем сої. За використання комбінованого зі сполуками германію і молібдену препарату показники нітрогеназної активності зростають на 23–63 %, за поєднання інокулюму з нанокарбоксилатами германію і заліза — на 14–21 % залежно від фаз органогенезу рослин сої. Комплексне застосування біологічного та абіотичного чинників впливу на формування і функціонування симбіотичних азотфіксувальних систем сприяє покращенню морфометричних показників рослин та забезпечує отримання високих урожаїв даної культури. При цьому встановлено, що комплекси карбоксилату германію з карбоксилатом молібдену, а також нанокарбоксилати германію і феруму доцільно застосовувати як ефективні стимулятори формування насінневої продуктивності рослин сої та азотфіксувальної активності симбіотичних систем, створених за їх участю. У досліді урожайність сої за поєднання *B. japonicum* з нанокарбоксилатами германію і молібдену зростала на 10 %, а за комплексного застосування бактеріального інокулюму з наночастинками карбоксилатів германію і заліза — на 13 %. **Висновки.** Застосування вказаних комплексів наноконпонентів у технологіях виробництва мікробних препаратів дозволить забезпечувати рослини додатковими елементами живлення, формуючи ефективні рослинно-мікробні системи, та отримувати високі і стабільні врожаї екологічно безпечного харчового і кормового білка.

Ключові слова: *Bradyrhizobium japonicum*, бобово-ризобіальний симбіоз, азотфіксувальна активність, нанокарбоксилати мікроелементів.

**Вступ.** Сільське господарство є важливим і стабільним сектором економіки, оскільки виробляє та забезпечує сировину для харчової та кормової промисловості. Його розвиток залежить від багатьох факторів, а саме: соціальної інтеграції, кліматичних змін, енергетики, екосистемних процесів, природних ресурсів, якісного планування та ін. Водночас межа природних ресурсів та зростання населення у світі вимагають еко-

номічного росту цієї галузі, її екологічності та ефективності [1; 2]. Тому важливими на сьогодні є розробка і впровадження нових, науково обґрунтованих технологій та методів, спрямованих на покращення сільськогосподарського виробництва, що забезпечують максимальне зниження ступеня залежності величини і якості врожаю від дедалі більших дотацій енергії і несприятливих чинників довкілля [2]. Проте недоцільно орієнтуватися

на подальше збільшення застосування агрохімікатів і технологій, що входять у конфлікт із природним середовищем.

Одним із шляхів вирішення цієї проблеми є застосування нанотехнологій, тобто технологій, спрямованих на отримання та ефективне практичне використання наноб'єктів і наносистем із заданими властивостями. Ці технології знаходять своє застосування в усіх галузях промисловості, зокрема й у агропромисловому комплексі (АПК) [3; 4].

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Застосування нанотехнологій у рослинництві може змінити традиційні системи виробництва продукції, дозволяючи здійснювати контрольоване вивільнення агрохімікатів (наприклад, добрив, пестицидів і гербіцидів) і цільову доставку біомолекул (наприклад, нуклеотидів, білків, і активаторів). [3–6]. Також перспективним є застосування нанотехнологій у виробництві мікродобрив. Адже відомо, що мікроелементи є необхідною частиною багатьох біологічно активних сполук: білків, ферментів, гормонів, вітамінів, пігментів у організмі рослин. На відміну від макроелементів, які значною мірою функціонують як структурні елементи, мікроелементи в складі ферментативної системи виконують роль каталізаторів хімічних реакцій. Різноманітні процеси життєдіяльності і обміну речовин без них неможливі незважаючи на те, що необхідна кількість їх для рослин є мінімальною (близько одного-двох атомів у складі молекули білка або ферменту). Як ключова ланка ферментів, мікроелементи-метали безпосередньо впливають на імунітет рослин, їх життєздатність, стійкість до шкідників і захворювань [7]. Проте у вигляді солей ці елементи не можуть повною мірою засвоюватись рослинами. Мікродобрива у такій формі є неефективними та викликають забруднення ґрунтів. Саме нанотехнології дозволяють підвищити ефективність мікроелементів, переводячи їх у біологічно активну форму — нанокарбоксилати. Препарати на основі таких мікроелементів мають низку переваг проти препаратів на основі неорганічних солей. Зокрема, вони практично нетоксичні, повністю розчинні у воді та легко засвоюються рослинами, стійкі у діапазоні рН ґрунту та не зв'язуються ним у важкорозчинні сполуки, не руйнуються мікрооргані-

мами. Такі препарати забезпечують підвищення стійкості до несприятливих погодних умов і збільшення врожайності (в середньому в 1,5–2 рази) майже всіх продовольчих і технічних культур [8]. Ефект тут досягається завдяки більш активному проникненню мікроелементів у рослину за рахунок нанорозміру частинок і їх нейтрального статусу. Наноматеріали і, насамперед, наночастинки мають комплекс фізичних, хімічних властивостей та біологічну дію, які часто радикально відрізняються від властивостей цієї ж речовини у формі суцільних фаз або макроскопічних дисперсій.

Не менш важливу роль для біологічного землеробства, а саме відновлення і збереження ґрунтової родючості, відіграє симбіотична фіксація азоту. Завдяки здатності бобових рослин, серед яких провідне місце за посівними площами в Україні займає соя, вступати в симбіоз із специфічними для певного виду бульбочковими бактеріями, вони можуть засвоїти за вегетацію до 80 кг/га азоту повітря, який використовується наступними культурами на 90–100 %, тоді як мінеральний — на 50–60 % [9]. Завдяки симбіотичній азотфіксації бобові культури формують значну кількість дешевого рослинного білка без застосування дорогих та екологічно небезпечних мінеральних азотних добрив. Інокуляція насіння високоефективними штамми бульбочкових бактерій, одержаними в процесі селекційного відбору, дозволяє реалізувати до 15–50 % симбіотичного азотфіксувального потенціалу, а решта резерву може бути використана при оптимізації умов функціонування симбіозу [10].

За останні десятиліття досягнуто значних успіхів у дослідженні біологічної азотфіксації. Розроблено інструментальні методи, що дозволяють здійснювати комплексні дослідження, які охоплюють різні рівні організації та функціонування рослинно-мікробних систем: генетичний, молекулярний, клітинний, організменний, системний. Водночас нові методи молекулярної біології, біотехнології та генетичної інженерії поряд із класичними методами мікробіології, фізіології рослин, генетики й агрохімії дозволяють вирішувати як фундаментальні питання, що стосуються виявлення особливостей формування та функціонування фітобактеріальних систем різної ефективності, так і розкри-

вають практичні шляхи корекції взаємин симбіотичних партнерів із метою створення високоєфективних симбіозів, спрямованих на підвищення існуючого рівня біологічного перетворення азоту атмосфери в органічні азотовмісні сполуки [11; 12].

Зважаючи на вищеописане, сучасні системи господарювання потребують розробки та впровадження нових препаратів, які б забезпечували повноцінне і комплексне живлення сільськогосподарських культур, підвищували їх стійкість до негативних факторів навколишнього середовища, мали б змогу регулювати ростові процеси, сприяти підвищенню рівня врожайності і його якісних показників та були б екологічно безпечними для довкілля і здоров'я людини.

**Мета досліджень.** Вивчити дію комбінованих препаратів на основі високоактивних штамів *Bradyrhizobium japonicum* та комплексів карбоксилатів мікроелементів Ge, Mo, Fe на симбіотичний апарат рослин сої для підвищення ефективності бактеріальних інокулянтів.

**Матеріали та методи досліджень.** Симбіотичні системи, створені за участю рослин сої (*Glycine max* (L.) Merr.) сорту Васильківська (селекція Селекційно-генетичного інституту — Національного центру насінництва і сортовивчення, Інституту фізіології рослин і генетики НАН України та Інституту землеробства НААН України) та бульбочкових бактерій високоактивного виробничого штаму *Bradyrhizobium japonicum* 6346 із музейної колекції азотфіксувальних мікроорганізмів відділу симбіотичної азотфіксації ІФРГ НАН України.

Ризобії вирощували за 26–28 °С на манітно-дріжджовому середовищі такого складу (г/л):  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  — 0,5,  $\text{MgSO}_4$  — 0,2, NaCl — 0,1, дріжджовий екстракт — 1,0, маніт — 10,0 [13].

Для дослідження впливу обробки бактеріальними препаратами, що містили нанокарбоксилати металів, на симбіотичний апарат та продуктивність сої у манітно-дріжджове середовище вносили хелатовані метали Mo, Fe, Ge та їх комплекси у розведенні 1 : 1000 та 1 : 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 [14]; 2 — отримання карбоксилатів металів реакцією прямої взаємодії одержаних наночастинок із харчовою карбоною кислотою [15].

Культивування бактерій здійснювали методом періодичного інкубування на кругових качалках у колбах Ерленмейера, що містили 200 мл живильного середовища, та швидкістю обертання качалки 220 об./хв. Посівний матеріал у колби вносили в концентрації 2 % від об'єму живильного середовища. Чисельність ризобій у суспензії, що вносились, становила  $10^8$  клітин/мл. Чистоту культури ризобій перевіряли шляхом її висіву на середовище МПА, на якому ризобії не ростуть.

Дослідження проводили на вегетаційному майданчику ІФРГ НАН України. Насіння перед посівом стерилізували 70 %-ним розчином етанолу і промивали проточною водою. Інокуляцію проводити за такою схемою:

1. *B. japonicum* 6346 (контроль).
2. *B. japonicum* 6346 + Ge.
3. *B. japonicum* 6346 + Ge + Mo.
4. *B. japonicum* 6346 + Ge + Fe.

Рослини вирощували у 16-кілограмових посудинах у піщаній культурі із внесенням поживної суміші Гельрігеля з 0,25 норми азоту за природного освітлення та оптимального (60 % ПВ) водозабезпечення.

Відбори зразків для аналізу процесів формування та функціонування симбіотичного апарату проводили у фазі: трьох справжніх листків, бутонізації та цвітіння. Визначали нодуляційну активність ризобій за кількістю бульбочок на коренях рослин та масу сформованих бульбочок. Також проводили вимірювання азотфіксувальної активності (АФА) симбіотичних систем ацетиленовим методом [16]. Для цього корені з утвореними на них бульбочками переносили в герметично закриті скляні флакони, куди вводили 10 % ацетилену. Тривалість інкубації становила 1 год. Газову суміш аналізували на хроматографі Agilent GC system 6850 (США). Азотфіксувальну активність виражали в мікромольх утвореного етилену за 1 год (мкмоль  $\text{C}_2\text{H}_4$ /год) на рослину.

Протягом вегетації проводили біометри-

чні спостереження за формуванням вегетативної маси, а також здійснювали облік насіннєвої продуктивності.

Статистична обробка експериментальних даних виконана за Доспєховим [17] та з використанням програми Microsoft Excel 2010. У таблицях і на рисунках представлено середні арифметичні та їх стандартні похибки.

**Результати та їх обговорення.** Аналіз результатів наших досліджень дозволив виявити позитивний вплив сумішей карбоксилатів металів на азотфіксувальну активність симбіотичних систем сої (табл. 1). Встановлено, що найбільший стимулювальний ефект чинив комплекс із нанокарбоксилатів Ge та Mo. Симбіотичні системи цього варіанту за азотфіксувальною активністю перевищували контрольні на 64 % — у фазу трьох справжніх листків, 51 % — у фазу бутонізації та на 23 % — у фазу цвітіння. Карбоксилат Ge, як компонент бактеріальної суспензії, виявився менш ефективним, але також стимулював бобово-ризобіальний симбіотичний апарат і сприяв підвищенню АФА щодо контрольного варіанту на 23 та 38 % у фази трьох справжніх листків та бутонізації відповідно. У фазу цвітіння відзначено несуттєве зниження активності симбіотичного апарату рослин сої цього ж варіанту проти контролю. Комплекс із карбоксилатів Ge та Fe збільшував АФА симбіотичних систем у фазу трьох справжніх листків на 22 %, у фазу бутонізації зафіксовано лише тенденцію до зростання цього показника.

Отже, встановлено, що найбільший стимулювальний ефект на азотфіксувальну активність симбіотичних систем сої здійснював комплекс нанокарбоксилатів Ge та Mo. Такий ефект є зрозумілим, оскільки мікроелементи, що входять до складу цього комп-

лексу, є виключно важливими для протікання основних біохімічних процесів у рослинному організмі. Зокрема, молібден бере участь у вуглеводневому обміні, в обміні фосфору, у синтезі вітамінів і хлорофілу, впливає на інтенсивність окисно-відновних реакцій. Окрім цього, він є мікроелементом азотного обміну, оскільки входить до складу нітрогенази та нітратредуктази. А германій є антистресантом та антигіпоксантом, сприяє розкладанню води на водень і кисень із подальшою утилізацією кисню [7].

Не менш важливим показником ефективного симбіозу є нодуляційна активність ризобій. У процесі досліджень встановлено, що комплекс із нанокарбоксилатів Ge та Mo здійснював найбільшу позитивну дію і у цьому випадку (табл. 2). Так, у фазу трьох справжніх листків за кількістю корневих бульбочок рослини цього варіанту не відрізнялися від контрольних, але перевищували їх на 60 % за масою. У фазу бутонізації за впливу цього комплексу мікроелементів відбулося зростання як кількості, так і маси бульбочок відповідно на 24 та 20 % проти контрольних показників, а у фазу цвітіння — на 18 та 27 %. Позитивний вплив молібдену на симбіотичні системи відомий давно, зокрема зазначається, що молібденові добрива сприяють збільшенню кількості і розмірів бульбочок, можуть підвищувати інтенсивність азотфіксації у десятки разів у розрахунку на одну рослину [18].

Додавання чистого карбоксилату Ge у ризобіальну суспензію, хоч і меншою мірою, але стимулювало процес бульбочкоутворення і сприяло формуванню більшої кількості корневих бульбочок протягом усіх досліджуваних фаз розвитку. Зокрема, у фазу трьох справжніх листків рослини цього варіанту перевищували контрольні на 9 %, у

Таблиця 1. Азотфіксувальна активність (АФА, мкмоль  $C_2H_4$  / (рослину·год)) симбіотичних систем *Glycine max* – *V. jaranismit* 6346 за впливу комплексів карбоксилатів Ge, Mo, Fe

Варіанти досліджу	Фаза розвитку рослин		
	трьох справжніх листків	бутонізації	цвітіння
<i>V. jaranismit</i> 6346	4,29 ± 0,32	3,38 ± 0,52	17,08 ± 0,65
<i>V. jaranismit</i> 6346 + Ge	5,30 ± 0,44	4,68 ± 0,14	16,67 ± 1,01
<i>V. jaranismit</i> 6346 + Ge + Mo	7,02 ± 0,61	5,12 ± 0,21	21,02 ± 1,99
<i>V. jaranismit</i> 6346 + Ge + Fe	5,22 ± 0,35	3,87 ± 0,42	17,02 ± 1,84

Таблиця 2. Вплив комплексів карбоксилатів Ge, Mo, Fe на кількість (од./рослину) та масу (г/рослину) кореневих бульбочок сої, утворених штамом *B. japonicum* 6346

Варіанти дослідів	Фаза розвитку рослин					
	трьох справжніх листків		бутонізації		цвітіння	
	кількість бульбочок	маса бульбочок	кількість бульбочок	маса бульбочок	кількість бульбочок	маса бульбочок
<i>B. japonicum</i> 6346	26,5 ± 1,07	0,15 ± 0,02	27,7 ± 1,04	0,30 ± 0,02	34,2 ± 1,57	0,59 ± 0,01
<i>B. japonicum</i> 6346 + Ge	29,0 ± 1,43	0,16 ± 0,04	30,7 ± 1,34	0,35 ± 0,03	37,5 ± 1,09	0,59 ± 0,07
<i>B. japonicum</i> 6346 + Ge + Mo	26,5 ± 2,72	0,24 ± 0,01	34,5 ± 1,82	0,36 ± 0,02	40,5 ± 2,73	0,75 ± 0,01
<i>B. japonicum</i> 6346 + Ge + Fe	27,5 ± 2,69	0,16 ± 0,05	24,0 ± 1,41	0,34 ± 0,01	20,2 ± 2,63	0,59 ± 0,02

фазу бутонізації — на 11 %, а у фазу цвітіння — на 10 %. Проте маса бульбочок залишалася на рівні контролю. Такі результати досліджень підтверджують попередньо встановлений нами позитивний ефект від застосування цього ж елемента на симбіотичний апарат сої [19]. Слід зауважити, що за впливу чистого карбоксилату Ge та комплексу карбоксилатів Ge і Mo наростання кількості кореневих бульбочок відбувалося протягом усього вегетаційного періоду рослин сої (див. табл. 2).

Нами відзначено, що ризобії, які зазнали впливу комплексу нанокарбоксилатів Ge та Fe, мали нижчу нодуляційну активність, аніж у контрольному варіанті. Так, у фазу бутонізації та цвітіння на коренях рослин цього варіанту кількість бульбочок була на 14 та 41 % нижчою відносно контрольних. Маса бульбочок не зазнала суттєвих змін (див. табл. 2).

Отже, нами підтверджено позитивну дію карбоксилату германію на формування та функціонування симбіотичного апарату сої, водночас максимально ефективними були комплекси цього елемента із карбоксилатами молібдену. Зокрема, поєднання карбоксилатів Ge і Mo підвищувало нодуляційну активність ризобій та азотфіксувальну активність симбіотичного апарату сої. Отже, результати наших досліджень демонструють доцільність додавання карбоксилату германію як у чистому вигляді, так і разом із карбоксилатом молібдену до середовища вирощування ризобій, як активуючих агентів для симбіотичних систем сої.

Повноцінне забезпечення рослин необхідними мікро- та макроелементами є одним із найважливіших факторів для отримання високих урожаїв.

В процесі досліджень виявлено, що додавання карбоксилатів металів до середовища вирощування ризобій не здійснювало значного впливу на ростові процеси сої (табл. 3). Так, у фазу трьох справжніх листків надземна маса рослин усіх досліджуваних варіантів хоч і перевищувала контрольні рослини, проте це перевищення було у межах похибки дослідів. Аналіз даних кореневої маси свідчить, що використання комплексів карбоксилатів Ge + Mo, а також Ge + Fe сприяло суттєвому збільшенню цього показника щодо контрольних рослин у цей період, а саме на 65 та 47 % відповідно.

У фазу бутонізації максимальний позитивний вплив на ростові показники сої чинив комплекс карбоксилатів Ge та Mo, а саме: надземна маса рослин цього варіанту перевищувала контроль на 18 %, а маса кореня — на 26 %. Також зафіксовано збільшення надземної маси сої на 15 % щодо контролю у варіанті з додаванням до середовища вирощування ризобій чистого карбоксилату Ge. Поєднання ж його із карбоксилатом Fe стимулювало наростання лише кореневої маси сої на 50 %. У фазу цвітіння всі зміни досліджуваних показників знаходились у межах похибки дослідів (див. табл. 3).

Отже, виявлено, що додавання до середовища вирощування ризобій комплексу карбоксилатів Ge і Mo викликало часткову активізацію ростових процесів у рослин сої.

Таблиця 3. Вплив комплексів карбоксилатів Ge, Mo, Fe на показники вегетативної маси (г/рослину) рослин сої, інокульованої штамом *B. japonicum* 6346

Варіанти досліджу	Фаза розвитку рослин					
	трьох справжніх листків		бутонізації		цвітіння	
	надземна маса	маса кореня	надземна маса	маса кореня	надземна маса	маса кореня
<i>B. japonicum</i> 6346	5,91 ± 0,77	4,16 ± 0,47	6,62 ± 0,25	3,98 ± 0,26	10,71 ± 1,43	6,07 ± 0,27
<i>B. japonicum</i> 6346 + Ge	6,05 ± 0,12	4,04 ± 0,26	7,65 ± 0,20	4,50 ± 0,37	10,24 ± 1,81	5,11 ± 0,14
<i>B. japonicum</i> 6346 + Ge + Mo	6,57 ± 0,83	6,89 ± 0,79	7,83 ± 0,18	5,01 ± 0,31	11,24 ± 1,86	5,30 ± 0,46
<i>B. japonicum</i> 6346 + Ge + Fe	6,87 ± 0,17	6,15 ± 0,70	6,22 ± 0,64	5,99 ± 0,12	9,47 ± 0,91	5,68 ± 0,51

Аналіз насінневої продуктивності показав, що додавання до середовища вирощування ризобій комплексу карбоксилатів Ge і Fe викликало максимальне (на 13 %) з усіх досліджуваних варіантів зростання урожаю рослин сої щодо контролю (табл. 4). Також, досить високу прибавку урожаю забезпечили рослини, що зазнали впливу комплексу карбоксилатів Ge і Mo — 10 % та чистого карбоксилату Ge — 9 % проти контрольних.

Таблиця 4. Урожай насіння сої за впливу комплексів карбоксилатів Ge, Mo, Fe

Варіанти досліджу	г/рослину	Процент до контролю
<i>B. japonicum</i> 6346	4,40 ± 0,12	
<i>B. japonicum</i> 6346 + Ge	4,82 ± 0,08	+ 9
<i>B. japonicum</i> 6346 + Ge + Mo	4,86 ± 0,11	+ 10
<i>B. japonicum</i> 6346 + Ge + Fe	4,99 ± 0,04	+ 13

**Висновки.** Доведено, що поєднання мікробного препарату на основі ефективних штамів бульбочкових бактерій із карбоксилатами мікроелементів сприяє покращенню морфометричних показників рослин сої та забезпечує отримання високих урожаїв цієї культури. За такої умови найбільш ефективними стимуляторами формування насінневої продуктивності сої є комплекс карбоксилатів германію та феруму із суспензією ризобій.

Результати досліджень демонструють доцільність додавання карбоксилату германію як у чистому вигляді, так і у комплексі з карбоксилатами молібдену до середовища вирощування ризобій як стимулюючих агентів для процесів формування та функціонування симбіотичних систем сої. Поєднання мікробного препарату на основі ефективних штамів бульбочкових бактерій із карбоксилатами мікроелементів сприяє підвищенню морфометричних показників рослин сої та забезпечує отримання високих урожаїв даної культури.

#### ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Connor D. J. Organic agriculture and food security: A decade of unreason finally implodes. *Field crops research*. 2018. Vol. 225. P. 128–129. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2018.06.008>
2. Yunlong C., Smit B. Sustainability in agriculture: a general review. *Agric. Ecosyst. Environ.* 1994. Vol. 49. С. 299–307.
3. Prasad R., Bhattacharyya A., Nguyen Q. D. Nanotechnology in Sustainable Agriculture: recent developments, challenges, and perspectives. *Front. Microbiol.* 2017. 8. С. 161–171. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01014>
4. Mukhopadhyay S. S. Nanotechnology in agriculture: prospects and constraints. *Nanotechnol. Sci. Appl.* 2014. Vol. 7. С. 63–71. <https://doi.org/10.2147/NSA.S39409>
5. Проданчук М. Г., Слободкін В. І., Подрушняк А. Є., Левицька В. М. Перспективи впровадження нанотехнологій і наноматеріалів у харчовій промисловості, їх гігієнічна оцінка та актуальні завдання наногігієни харчування. *Проблеми харчування*. 2010. Вип. 3–4. С. 6–15.
6. Wang P., Lombi E., Zhao F. J., Kopittke P. M. Nanotechnology: A New Opportunity in Plant Sci-

ences. *Trends Plant Sci.* 2016. Vol. 21(8). P. 699–712. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.04.005>

7. Коць С. Я., Петерсон Н. В. Мінеральні елементи і добрива в живленні рослин. К. : Логос, 2009. 182 с.

8. Федоренко В. Ф., Ерохин М. Н., Балабанов В. И., Буклагин Д. С., Голубев И. Г., Ищенко С. А. Нанотехнологии и наноматериалы в агропромышленном комплексе. ФГБНУ «Росинформагротех», 2011. 312 с.

9. Медведєва Л. Р., Громова О. В., Кернасюк Ю. В. Шляхи підвищення ефективності виробництва сої в Кіровоградській області. *Вісник ЦНЗ АПВ Харківської області. Рослинництво.* 2009. Вип. 6. С. 104–110.

10. Дерев'янюк О. С., Патица М. В. Перспективи біотехнологій створення комбінованих препаратів на основі бактерій та мікродобрив. Біотехнологія: звершення та надії: збірник V Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених (м. Київ, 12–13 травня). К., 2016. С. 174–175.

11. Патица В. П., Коць С. Я., Волкогон В. В., Шерстобоева О. В. Мельничук Т. М., Калініченко А. В., Гриник І. В. Біологічний азот. К. : Світ, 2003. 424 с.

12. Патица В. П., Гнатюк Т. Т., Булеца Н. М., Кириленко Л. В. Біологічний азот у системі землеробства. *Землеробство.* 2015. Вип. 2. С. 12–20.

13. Child J. J. Nitrogen fixation by a Rhizobium

sp. child association with nonleguminous plant cells. *Nature.* 1975. Vol. 253. P. 350–351.

14. Спосіб отримання екологічно чистих наночастинок електропровідних матеріалів «електроімпульсна абляція»: пат. 37412 Україна, МПК B01J 2/02, B22F 9/00, A61K 9/50, B82B 3/00, Косінов М. В., Каплуненко В. Г.; опубл. 25.11.2008, Бюл. № 22.

15. Надчистий водний розчин нанокарбоксилату металу: пат. 39397 Україна, МПК C07C 51/41, C07F 5/00, C07F 15/00, C07C 53/00, Косінов М. В., Каплуненко В. Г.; опубл. 25.02.2009, Бюл. № 4.

16. Hardy R. W. F., Holsten R. D., Jackson E. K., Burns R. C. The acetylene-ethylene assay for N<sub>2</sub> fixation: laboratory and field evaluation. *Plant Physiol.* 1968. № 43. С. 1185–1207. <https://doi.org/10.1104/pp.43.8.1185>

17. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. М. : Агропромиздат, 1985. 351 с.

18. Fageria N. K., Baligar V. C., Clark R. B. Micronutrients in crop production. *Advances in Agronomy.* 2002. Vol. 77. P. 185–268. [http://doi.org/10.1016/S0065-2113\(02\)77015-6](http://doi.org/10.1016/S0065-2113(02)77015-6)

19. Коць С. Я., Рибаченко Л. І., Пухтаєвич П. П., Рибаченко О. Р. Реакція *Bradyrhizobium japonicum* у чистій культурі та у симбіотичних системах на застосування нанокарбоксилатів мікроелементів. *Сільськогосподарська мікробіологія.* 2018. Вип. 28. С. 41–52.

Отримано 26.05.2019

<https://doi.org/10.35868/1997-3004.29.12-20>

UDC 581.1:58.557:581.133.1:631.847.1

## FORMATION AND FUNCTIONING OF SYMBIOTIC SYSTEMS OF SOYA – *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* FOR THE INFLUENCE OF COMPLEXES OF NANOPARTICLES OF CARBOXYLATES OF MICROELEMENTS

S. Ya. Kots, L. I. Rybachenko, P. P. Pukhtayevych, K. A. Mokrytsky

Institute of Plant Physiology and Genetics, NAS of Ukraine, Kyiv  
e-mail: veselika@ukr.net

**Objective.** To study the effect of combined preparations based on highly active strains of *Bradyrhizobium japonicum* and complexes of carboxylates of trace elements germanium, molybdenum, and ferrum on a symbiotic apparatus of soybean plants, in order to increase the efficiency of bacterial inoculants. **Methods.** Gas chromatography, microbiological, physiological. **Results.** The combination of a microbiological preparation based on efficient strains of nodule bacteria with complexes of nanoparticles of carboxylates Mo, Fe, Ge was found to promote the enhancement of nodulation activity, provide growth of mass of root nodules, activate the nitrogen-fixing activity of symbiotic soybean systems. When use the preparation combined with germanium and molyb-

denum compounds, nitrogenase activity increases by 23–63 %, in combination with inoculum with germanium and ferrum nanocarboxylates — by 14–21 % depending on the phases of soybean organogenesis. The complex application of biological and abiotic factors influencing the formation and functioning of symbiotic nitrogen-fixing systems contributes to the improvement of plant morphometric parameters and provides high yields of this crop. At the same time, it was established that germanium carboxylate complexes with molybdenum carboxylate, as well as germanium nanocarboxylates, should be used as effective stimulants for the formation of seed productivity of soybean plants and nitrogen-fixing activity of symbiotic systems created with their participation. In the experiment, soybean yield under the combination of *B. japonicum* with germanium and molybdenum nanocarboxylates increased by 10 %, and by 13 % — under the complex application of bacterial inoculum with germanium and ferrum carboxylate nanoparticles. **Conclusion.** Application of these complexes of nanocomponents in microbiological production technologies will allow plants to be supplied with additional nutritional elements, forming effective plant-microbial systems and obtaining high and stable crops of environmentally safe food and feed protein.

Key words: *Bradyrhizobium japonicum*, rhizobium-legume symbiosis, nitrogen-fixing activity, microelement nanocarboxylates.

#### REFERENCES

1. Connor, D. J. (2018). Organic agriculture and food security: A decade of unreason finally implodes. *Field crops research*, 225, 128–129. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2018.06.008>
2. Yunlong, C., & Smit, B. (1994). Sustainability in agriculture: a general review. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 49, 299–307.
3. Prasad, R., Bhattacharyya, A., & Nguyen, Q. D. (2017). Nanotechnology in Sustainable Agriculture: recent developments, challenges, and perspectives. *Front. Microbiol.*, 8, 161–171. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01014>
4. Mukhopadhyay, S. S. (2014). Nanotechnology in agriculture: prospects and constraints. *Nanotechnol. Sci. Appl.*, 7, 63–71. <https://doi.org/10.2147/NSA.S39409>
5. Prodanchuk, M. H., Slobodkin, V. I., Podrushniak, A. Ie., Levytska, V. M. (2010). The prospects for the introduction of nanotechnologies and nanomaterials in the food industry, their hygienic assessment and urgent tasks of nutrition nanohygiene. *Food problems*, 3–4, 6–15. [in Ukrainian].
6. Wang, P., Lombi, E., Zhao, F. J., Kopittke, P. M. (2016). Nanotechnology: A New Opportunity in Plant Sciences. *Trends Plant Sci*, 21(8), 699–712. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.04.005>.
7. Kots, S. Ya., & Peterson, N. V. (2009). *Mineral'ni elementy i dobryva v zhyvlenni roslyn* [Mineral elements and fertilizers in plant nutrition]. Kiev: Logos [in Ukrainian].
8. Fedorenko, V. F., Erohin, M. N., Balabanov, V. I., Buklagin, D. S., Golubev, I. G., & Ischenko, S. A. (2011). *Nanotechnologies and nanomaterials in the agro-industrial complex*. Federal State Budgetary Institution “Rosinformagroteh” [in Russian].
9. Medvedieva, L. R., Hromova, O. V., & Kernasiuk, Yu. V. (2009). [Ways of increasing the efficiency of soybean production in the Kirovograd region]. Bulletin of the Center for Scientific Support of the Kharkiv Region. *Plant growing*, 6, 104–110. [in Ukrainian].
10. Derevianko, O. S., & Patyka, M. V. (2016, May). Prospects for biotechnology for combined diseases based on bacteria and microfertilizers. Collection V of the All-Ukrainian Scientific and Practical Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists “Biotechnology: Excellence and Hope” (174–175), Kyiv [in Ukrainian].
11. Patyka, V. P., Kots, S. Ya., Volkohon, V. V., Sherstoboieva, O. V. Melnychuk, T. M., Kalinichenko, A. V., & Hrynyk, I. V. (2003). *Biological nitrogen*. Kyiv: Svit [in Ukrainian].
12. Patyka, V. P., Hnatiuk, T. T., Buletsa, N. M., & Kyrylenko, L. V. (2015). Biological nitrogen in the system of agriculture. *Agriculture*, 2, 12–20 [in Ukrainian].
13. Child, J. J. (1975). Nitrogen fixation by a *Rhizobium* sp. child association with nonleguminous plant cells. *Nature*, 253, 350–351.
14. Patent 37412 UA, МІК B01J 2/02, B22F 9/00, A61K 9/50, B82B 3/00. The method of obtaining ecologically pure nanoparticles of electrically conductive metals “Electropulse ablation”. Kosinov, M. V., & Kaplunenko, V. G. Publ. 25.11.2008 [in Ukrainian].
15. Patent 39397 UA, МІК C07C 51/41, C07F 5/00, C07F 15/00, C07C 53/00. Ultrapure aqueous solution of metal nanocarboxylate, Kaplunenko, V. G., & Kosinov, M. V., Publ. 25.02.2009 [in Ukrainian].
16. Hardy, R. W. F., Holsten, R. D., Jackson, E. K., & Burns, R. C. (1968). The acetylene-ethylene assay for N<sub>2</sub> fixation: laboratory and field



evaluation. *Plant Physiol*, 43, 1185–1207. <https://doi.org/10.1104/pp.43.8.1185>

17. Dospekhov, B. A. (1985). *Metodika polevogo opyta s osnovami statisticheskoy obrabotki rezultatov issledovaniy* [Methods of field experiment with the basics of statistical processing of research results]. Moscow: Agropromizdat [in Russian].

18. Fageria, N. K., Baligar, V. C., & Clark, R. B. (2002). Micronutrients in crop production. *Advances*

*in Agronomy*, 77, 185–268. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(02\)77015-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(02)77015-6)

19. Kots, S. Ya., Rybachenko, L. I., Pukhtaievych, & P. P., Rybachenko, O. R. (2018). Reaction of bradyrhizobium japonicum in pure culture and symbiotic systems for the use of nanocarboxylates microelements. *Agricultural microbiology*, 28, 41–52.

Received 26.05.2019