

ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ НАНОКАРБОКСИЛАТІВ Zn I Ge ЗА ІНОКУЛЯЦІЇ СОЇ БУЛЬБОЧКОВИМИ БАКТЕРІЯМИ В УМОВАХ ЗАСОЛЕННЯ

І. М. Обезюк, <https://orcid.org/0009-0003-3663-6246>,

Л. М. Михалків, <https://orcid.org/0009-0003-3663-6246>,

А. В. Жемойда,

С. Я. Коць, <https://orcid.org/0009-0003-3663-6246>

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

Мета. Вивчення впливу внесення карбоксилатів германію та цинку в інокуляційну суспензію бульбочкових бактерій для передпосівної обробки насіння на формування й функціонування симбіотичних систем соя – *Bradyrhizobium japonicum* в умовах засолення. **Методи.** Мікробіологічні, фізіологічні, статистичні. У дослідження залучено штаб *B. japonicum* PC08 і сою сорту Самородок. Вивчено нодуляційну активність ризобій (кількість і масу бульбочок на коренях рослин), масу рослин (надземної частини і кореня) у фази бутонізації, цвітіння та утворення бобів, а також показники зернової продуктивності сої. Визначення азотфіксувальної активності симбіотичної системи проводили ацетиленвідновлювальним методом із використанням хроматографа «Agilent Technologies 6850» (США). **Результати.** Виявлено, що внесення нанокарбоксилату цинку в суспензію бульбочкових бактерій безпосередньо перед інокуляцією насіння пригнічувало формування та функціонування симбіотичної системи соя – *B. japonicum*, незалежно від наявності хлориду натрію у субстраті вирощування рослин. Додавання нанокарбоксилату германію сприятливо впливало на взаємодію сої з бульбочковими бактеріями при засоленні впродовж вегетаційного періоду, збільшуючи кількість і масу бульбочок на 7–35 % і 5–33 % відповідно, а азотфіксувальну активність — від 3 % до 48 %, але не мало пролонгованого позитивного ефекту на вегетативну масу рослин. Показано, що на безсольовому фоні використання цинку призводило до зниження показників зернової продуктивності рослин, зокрема маси зерна на рослину на 15 % і маси 1000 зерен — на 8 %. На фоні засолення наносполуки обох металів забезпечили незначне збільшення маси 1000 зерен, водночас германій сприяв збільшенню маси зерна з рослини на 13 %, а цинк спричиняв зниження кількості бобів на рослині на 12 %. **Висновки.** Можливість використання сполук цинку в умовах формування симбіозу потребує додаткових комплексних досліджень, які б передбачали, зокрема, підбір оптимальних концентрацій і форм препаратів чи штабів бактерій, толерантних до цього елемента. Виявлений позитивний ефект від застосування нанокарбоксилату германію на фоні хлориду натрію потребує подальшого дослідження для використання його у розробці способів підвищення продуктивності симбіозу соя – *B. japonicum* в умовах засолення.

Ключові слова: *Bradyrhizobium japonicum*, *Glycine max* (L.) Merr., нанокарбоксилати металів Ge і Zn, симбіоз, нодуляція, азотфіксація, вегетативна маса, зернова продуктивність.

Вступ. Сольовий стрес є одним із найбільш шкочинних факторів, що призводять до зниження урожайності сільськогос-

подарських культур, зокрема сої. У ґрунтах із підвищеним вмістом солей розчинність макро- і мікроелементів є особливо низькою

і рослини, що ростуть за таких умов, часто відчують їх нестачу [1]. Дефіцит мікроелементів може перешкоджати ефективному використанню рослинами макро- і мікроелементів, як окремо, так і у складі ферментів, беруть участь у численних фізіологічно-біохімічних процесах [2]. Вони відіграють важливу роль у пом'якшенні несприятливих наслідків соляного стресу в рослинах, задіяні у зниженні іонної токсичності, підтриманні водного балансу, покращенні поглинання та засвоєння мінеральних сполук, біосинтезі сумісних розчинених речовин і фітогормонів, модифікуванні газообміну та зменшенні окислювального стресу, а також зміні експресії генів [3]. Забезпеченість бобових рослин мікроелементами має важливе значення для активізації процесу симбіотичної фіксації азоту [4].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. У низці досліджень показано, що застосування мікроелементів, зокрема цинку, може допомогти підвищити стійкість рослин до різних стресів, зокрема засолення й посухи [5–7]. Відзначено позитивний вплив екзогенного германію на проростання насіння та ріст розсади повію (*Lucium ruthenicum* Murr.) і його захисний ефект щодо окисного пошкодження рослин внаслідок соляного стресу [8]. Виявлено, що використання нанокарбоксилатів Zn та Ge підвищує схожість насіння сої за наявності в середовищі пророщування хлориду натрію [9].

Потенційним джерелом мікроелементів є їхні наночастинки [10–12]. Перспективними у рослинництві є препарати, що містять мікроелементи у формі карбоксилатів наночастинок металів. Їх застосування сприяє покращенню якісних та кількісних показників урожаю, підвищує стійкість рослин до несприятливих чинників довкілля, стимулює розвиток симбіотичної мікробіоти на коренях бобових культур і збільшує азотфіксувальну активність симбіотичних систем [13].

Серед шляхів пом'якшення негативного впливу соляного стресу на рослини вагомим місцем також займає використання стійких і ефективних в умовах засолення мікроорганізмів. Показано позитивний зв'язок між ростом рослин сої й азотфіксувальною здатністю бактерій інокулянту в умовах засолення [14], доведено ефективність використання

у вирощуванні сої ризобій, ізольованих із засоленних ґрунтів [15; 16], *Acinetobacter pittii* [15], а також бінарної інокуляції брадиризобіями і псевдомонадами [17] для зниження негативних наслідків соляного стресу для рослин.

Сьогодні перспективним є комбінування мікродобрив із бактеріальними препаратами для передпосівної обробки насіння, що дозволяє активізувати розвиток ризобій, підвищити стійкість рослин до несприятливих чинників довкілля, посилити активність фіксації азоту з повітря та запобігти появі дефіциту мікроелементів [18]. Показано, що додавання сполук молібдену, заліза та германію до середовища культивування ризобій при виготовленні інокулянту стимулювало азотфіксувальну активність симбіотичних систем та інтенсивність фотосинтезу в листках сої [13]. Використання нанокарбоксилатів германію, кобальту та заліза як компонентів бактеріальної інокуляційної суспензії сприяло адаптації соєво-ризобіальних систем до соляного стресу та забезпечувало постстресове відновлення функціональної активності симбіотичного апарату до оптимального рівня [19]. Все це дозволяє припустити, що використання нанокарбоксилатів металів може бути ефективним і при взаємодії рослин та мікроорганізмів за умов засолення.

У зв'язку із викладеним, **метою** наших досліджень було вивчити вплив внесення карбоксилатів германію та цинку в інокуляційну суспензію бульбочкових бактерій для передпосівної обробки насіння на формування і функціонування симбіотичних систем соя – *Bradyrhizobium japonicum*.

Матеріали і методи досліджень. Об'єктами дослідження були симбіотичні системи, створені рослинами сої (*Glycine max* (L.) Merr.) сорту Самородок (селекція Інституту кормів та сільського господарства Поділля НААН України) і високоактивним виробничим штамом бульбочкових бактерій *B. japonicum* PC08 із музейної Колекції азотфіксувальних мікроорганізмів відділу симбіотичної азотфіксації Інституту фізіології рослин і генетики НАН України. Рослини вирощували на вегетаційному майданчику ІФРГ НАНУ у 8-кілограмових посудинах (7 рослин/посудину) у піщаному субстраті з внесенням поживного розчину Гельрігеля

(0,25 н азоту) за оптимального водозабезпечення, природних освітлення та температури. Для створення режиму засолення до піщаного субстрату додавали хлорид натрію з розрахунку 0,25 г/кг піску. Перед посівом насіння впродовж 1 год. інокулювали суспензією бульбочкових бактерій *B. japonicum* PC08 (10^8 кл./мл), у яку вносили водні розчини (1:1000) нанокарбоксилатів германію та цинку. Препарати мікроелементів надані ТОВ «Науково-виробнича компанія «Аватар»» (Україна, м. Київ). Схема досліду включала такі варіанти: 1) інокуляція насіння *B. japonicum* PC08; 2) інокуляція насіння *B. japonicum* PC08 + Ge; 3) інокуляція насіння *B. japonicum* PC08 + Zn; 4) інокуляція насіння *B. japonicum* PC08, NaCl; 5) інокуляція насіння *B. japonicum* PC08 + Ge, NaCl; 6) інокуляція насіння *B. japonicum* PC08 + Zn, NaCl.

Досліджували кількість і масу бульбочок на коренях рослин, їхню азотфіксувальну активність, масу кореня та надземної частини і зернову продуктивність сої. Зразки для аналізу відбирали у фазі бутонізації, цвітіння та утворення бобів.

Азотфіксувальну активність кореневих бульбочок сої визначали ацетиленовим методом [20] із використанням хроматографа «Agilent Technologies 6850» (США) з полуменево-іонізаційним детектором. Визначення

проводили у 5-кратній біологічній повторності.

Усі результати обраховано статистично за загальноприйнятою методикою з використанням MS Excel 2016, у таблицях представлені середні арифметичні та їх стандартні похибки.

Результати досліджень та їх обговорення. Дослідження особливостей взаємодії сої з бульбочковими бактеріями на безсольовому фоні виявили (табл. 1) незначний (у межах похибки досліду) стимулювальний ефект нанокарбоксилату германію щодо маси й кількості бульбочок під час бутонізації, тоді як у фазу цвітіння відзначали пригнічення нодуляції на 17 % за одночасного збільшення маси бульбочок на 33 % проти контрольного показника (інокуляція насіння ризобіями без внесення нанокарбоксилатів). У період утворення бобів за використання нанокарбоксилату германію зафіксовано збільшення маси бульбочок на 19 % і незначне зростання їхньої кількості на коренях, як порівняти з рослинами сої відповідного контрольного варіанту.

На фоні внесення до субстрату хлориду натрію за додавання германію у бактеріальну суспензію виявлено збільшення кількості та маси бульбочок (на 21 % і 33 %, відповідно) у фазі бутонізації та їх кількості (на 35 %)

Таблиця 1. Кількість та маса кореневих бульбочок сої, утворених штамом *B. japonicum* PC08 за використання нанокарбоксилатів Ge і Zn в умовах засолення

Варіанти досліду	Фази розвитку рослин					
	бутонізація		цвітіння		утворення бобів	
	кількість, од./росл.	маса, г/росл.	кількість, од./росл.	маса, г/росл.	кількість, од./росл.	маса, г/росл.
<i>B. japonicum</i> PC08 (К-1)	39,80 ± 3,36	0,25 ± 0,02	52,60 ± 2,99	0,52 ± 0,04	49,00 ± 2,88	0,72 ± 0,06
<i>B. japonicum</i> PC08 + Ge	41,20 ± 1,46	0,28 ± 0,01	43,80 ± 2,47	0,69 ± 0,04	51,60 ± 3,44	0,86 ± 0,05
<i>B. japonicum</i> PC08 + Zn	32,80 ± 2,41	0,14 ± 0,01	39,60 ± 1,20	0,38 ± 0,03	42,40 ± 3,10	0,64 ± 0,05
<i>B. japonicum</i> PC08, NaCl (К-2)	41,20 ± 2,80	0,18 ± 0,01	44,00 ± 2,80	0,58 ± 0,03	28,80 ± 2,81	0,58 ± 0,04
<i>B. japonicum</i> PC08 + Ge, NaCl	50,00 ± 4,42	0,24 ± 0,01	47,20 ± 3,00	0,54 ± 0,01	38,80 ± 3,42	0,61 ± 0,05
<i>B. japonicum</i> PC08 + Zn, NaCl	27,80 ± 2,74	0,18 ± 0,02	28,20 ± 1,88	0,37 ± 0,05	22,20 ± 2,35	0,19 ± 0,01

Примітки: тут і в табл. 2 і 3 К-1 — контроль, без внесення NaCl; К-2 — контроль, за внесення NaCl.

у фазі утворення бобів проти показників відповідного контролю (табл. 1). Водночас під час цвітіння маса бульбочок на рослинах у варіанті з використанням германію була дещо нижчою (на 7 %), ніж у контрольних. У решті випадків відзначено тенденцію до збільшення показників кількості й маси бульбочок під впливом нанокарбоксилату германію.

Додавання в інокуляційну суспензію нанокарбоксилату цинку мало переважно негативний ефект на показники нодуляційної активності ризобій (див. табл. 1). Так, на безсольовому фоні відзначено зниження кількості бульбочок на 13–25 % упродовж періоду бутонізації-утворення бобів, а також їхньої маси на 44 % і 27 % у фазі бутонізації та цвітіння відповідно. На фоні засолення у рослинах варіанту, де за інокуляції було застосовано нанокарбоксилат цинку, відзначено зниження кількості бульбочок (на 23–37 %) і їхньої маси (на 36–67 %) упродовж бутонізації-утворення бобів.

Аналіз результатів дослідження азотфіксувальної активності симбіозу показав (рис.), що внесення нанокарбоксилату германію в інокуляційну суспензію дещо інтенсифікує функціонування нітрогенази у фазі цвітіння та утворення бобів на безсольовому фоні. За внесення хлориду натрію у субстрат виро-

щування рослин під впливом нанокарбоксилату германію виявлено збільшення азотфіксувальної активності бульбочок на 48 % у період бутонізації проти відповідного контролю без нанокарбоксилатів. Водночас за використання нанокарбоксилату цинку відзначено пригнічення процесу азотфіксації бульбочками сої як за оптимальних умов вирощування (період бутонізації-цвітіння), так і на фоні засолення (упродовж бутонізації-утворення бобів). Зокрема, на безсольовому фоні за використання цинку ацетиленвідносна активність бульбочок була нижчою, ніж у контролі — майже в 4 рази у період бутонізації, а на фоні внесення хлориду натрію — у 2,4 і 3,5 рази у фазі цвітіння й утворення бобів відповідно.

Показано (табл. 2), що використання нанокарбоксилату Ge як компонента інокуляційної суспензії сприяло збільшенню надземної маси на 15 % і маси кореня на 6 % у рослин сої у фазу цвітіння, але призводило до незначного (в межах похибки досліду) зниження на 4 % і 10 % відповідно до цих показників під час утворення бобів за оптимальних умов вирощування проти відповідного контролю. На фоні хлориду натрію під впливом нанокарбоксилату германію під час бутонізації відзначено збільшення маси коренів рослин на 27 %, тоді як із подальшим

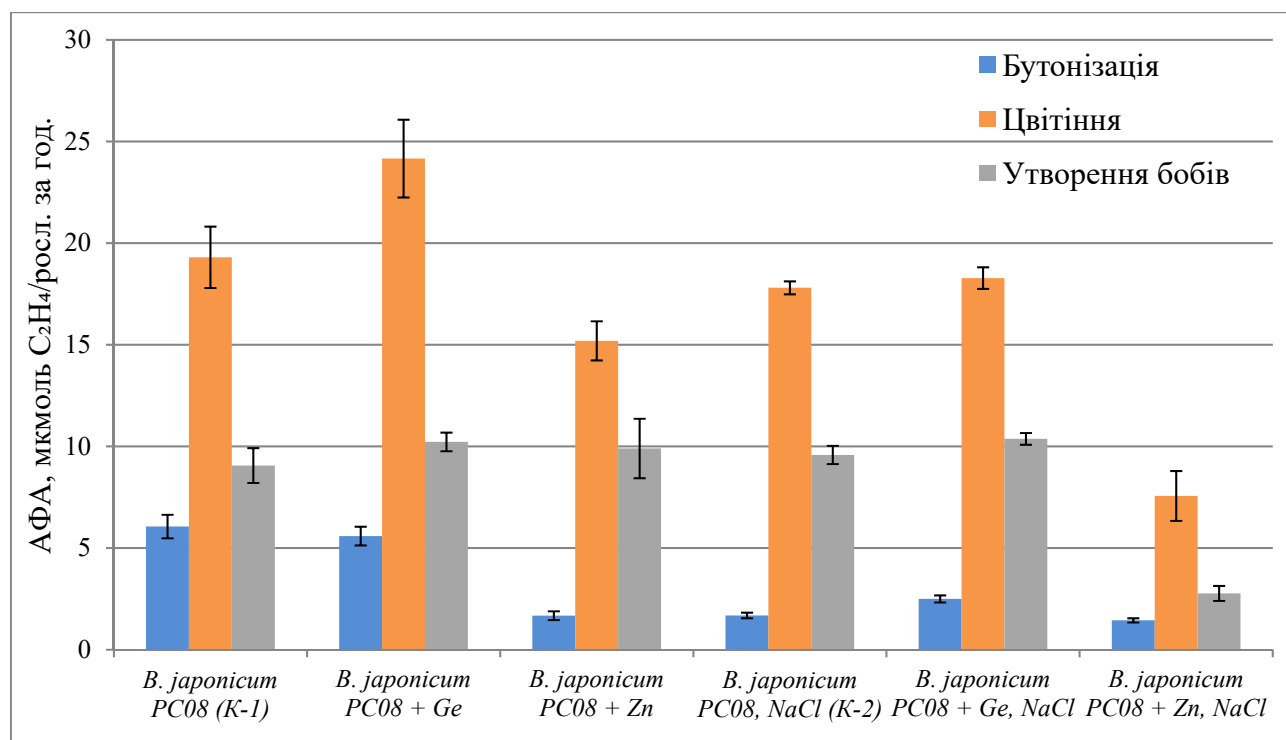


Рис. Азотфіксувальна активність (АФА) симбіотичної системи сої за інокуляції *B. japonicum* PC08 та використання нанокарбоксилатів Ge і Zn в умовах засолення.

Таблиця 2. Вплив нанокарбоксилатів Ge і Zn і засолення на показники вегетативної маси сої, інокульованої *V. jaronicum* PC08

Варіанти дослідів	Фази розвитку рослин					
	бутонізація		цвітіння		утворення бобів	
	надземна маса, г	маса кореня, г	надземна маса, г	маса кореня, г	надземна маса, г	маса кореня, г
<i>V. jaronicum</i> PC08 (К-1)	6,06 ± 0,42	3,57 ± 0,26	8,68 ± 0,26	5,15 ± 0,36	12,58 ± 0,69	7,56 ± 0,66
<i>V. jaronicum</i> PC08 + Ge	5,78 ± 0,26	4,08 ± 0,30	9,98 ± 0,26	5,47 ± 0,33	12,09 ± 0,76	6,80 ± 0,63
<i>V. jaronicum</i> PC08 + Zn	5,38 ± 0,41	2,26 ± 0,19	7,57 ± 0,42	3,66 ± 0,38	10,90 ± 0,63	5,49 ± 0,29
<i>V. jaronicum</i> PC08, NaCl (К-2)	4,44 ± 0,30	2,50 ± 0,20	7,31 ± 0,41	3,93 ± 0,30	10,10 ± 0,65	4,72 ± 0,29
<i>V. jaronicum</i> PC08 + Ge, NaCl	5,14 ± 0,30	3,18 ± 0,22	7,53 ± 0,40	3,95 ± 0,15	9,90 ± 0,58	4,30 ± 0,38
<i>V. jaronicum</i> PC08 + Zn, NaCl	4,81 ± 0,34	2,50 ± 0,27	7,15 ± 0,47	3,16 ± 0,32	7,96 ± 0,33	3,21 ± 0,13

розвитком рослин сої нанокарбоксилат германію не проявив суттєвого впливу на наростання надземної маси рослин і кореня. Внесення в інокуляційну суспензію нанокарбоксилату цинку здебільшого пригнічувало наростання маси рослин сої як на безсольовому фоні, так і за внесення хлориду натрію.

Виявлено, що за оптимальних умов вирощування застосування нанокарбоксилату германію суттєво не впливало на зернову продуктивність сої, як порівняти з рослинами контрольного варіанту з інокуляцією, тоді як використання нанокарбоксилату цинку знижувало показники кількості та маси зерна

з рослини і маси 1000 зерен (табл. 3). За внесення нанокарбоксилатів Ge і Zn в інокуляційну суспензію на фоні використання хлориду натрію відзначали тенденцію до збільшення маси 1000 зерен. Водночас нанокарбоксилат цинку призводив до зниження кількості бобів на рослинах сої на 12 %, а германію — сприяв збільшенню маси зерна з рослини на 13 %.

Відомо, що цинк бере активну участь у різноманітних процесах у складі ферментів і білків та є важливим для захисту рослин від стресових впливів [5–7]. Зважаючи на значення цього елемента для функціонування

Таблиця 3. Структурні показники урожаю насіння сої, інокульованої *V. jaronicum* PC08 з використанням нанокарбоксилатів Ge і Zn в умовах засолення

Варіанти дослідів	Кількість бобів, од./роsl.	Кількість зерен, од./роsl.	Маса зерна, г/роsl.	Маса 1000 зерен, г
<i>V. jaronicum</i> PC08 (К-1)	9,25 ± 0,49	16,14 ± 0,51	2,62 ± 0,06	162,49 ± 2,31
<i>V. jaronicum</i> PC08 + Ge	8,71 ± 0,25	15,79 ± 0,59	2,66 ± 0,04	159,61 ± 2,01
<i>V. jaronicum</i> PC08 + Zn	8,75 ± 0,22	14,82 ± 0,29	2,22 ± 0,09	149,66 ± 3,64
<i>V. jaronicum</i> PC08, NaCl (К-2)	8,18 ± 0,50	14,18 ± 0,13	2,34 ± 0,07	167,90 ± 3,49
<i>V. jaronicum</i> PC08 + Ge, NaCl	8,00 ± 0,23	15,11 ± 0,76	2,64 ± 0,11	173,58 ± 3,65
<i>V. jaronicum</i> PC08 + Zn, NaCl	7,18 ± 0,14	14,00 ± 0,33	2,44 ± 0,03	172,45 ± 2,97

бобово-ризобіальних структур [21, 22], а також на результати наших попередніх досліджень, у яких виявлено підвищення відсотка пророслого насіння сої на 31,6 % за внесення нанокарбоксилату цинку в середовище пророщування насіння із хлоридом натрію [9], ми припустили можливий позитивний ефект від використання цієї сполуки в умовах засолення. Проте, як видно із отриманих результатів, внесення нанокарбоксилату цинку в інокуляційну суспензію переважно пригнічувало нодуляційні процеси в рослинах, спричиняючи зниження кількості й маси бульбочок на коренях сої, а тому й їхньої азотфіксувальної активності, як порівняти з рослинами варіантів зі звичайною інокуляцією. Попередні дослідження, проведені у чистій культурі [18], виявили інгібуючий ефект нанокарбоксилату цинку, внесеного в середовище культивування, на приріст біомаси клітин *V. japonicum* 634б, до того ж було відзначено пряму залежність між концентрацією нанокарбоксилату та його інгібувальною дією. Ми припускали, що в умовах формування симбіотичних структур між рослинами та мікроорганізмами макросимбіонт забезпечить захист мікросимбіонта від можливої негативної дії Zn. Проте зіткнулися із фактом пригнічення процесів взаємодії рослин та мікроорганізмів і зниження азотфіксувальної активності симбіозу. Очевидно, що саме недостатнє забезпечення рослин азотом стало основною причиною зменшення вегетативної маси сої, обробленої цинквмісним інокулянтом. Причому зниження зазначених показників спостерігали як на фоні внесення хлориду натрію у піщаний субстрат, так і за відсутності засолення. Водночас виявлено незначне зростання маси насіння за використання нанокарбоксилату цинку на фоні засолення (але зниження кількості бобів на рослинах), тоді як у рослин варіанту без застосування хлориду натрію цей показник був меншим, ніж у сої, інокульованої лише бактеріями. Отже, можливість використання сполук цинку в умовах формування симбіозу потребує додаткових комплексних досліджень, які б передбачали, зокрема, підбір оптимальних концентрацій і форм препаратів чи штамів бактерій, толерантних до цього елемента [23].

Раніше проведені дослідження щодо впливу нанокарбоксилату германію на ріст

брадиризобій у чистій культурі та їхні симбіотичні властивості показали ефективність внесення цієї сполуки в середовище вирощування ризобій: відзначено підвищення показників нодуляційної активності бактерій упродовж періоду досліджень, їхньої азотфіксувальної активності та сприяння росту вегетативної маси рослин [18]. Такий позитивний ефект автори пов'язали з модифікацією метаболізму бактеріальних клітин, зважаючи на те, що наночастинки є біоактивними, тобто впливають на біологічні об'єкти на клітинному рівні, підвищуючи ефективність перебігу біохімічних процесів у живих організмах та беруть участь у формуванні мікроелементного балансу [24–27]. Також було висунуто припущення, що свою роль могло відіграти потрапляння сполуки у складі інокуляційної суспензії на насіння сої, що могло стимулювати безпосередньо розвиток рослин. Відомо, що наночастинки, беручи участь у процесах переносу електронів, посилюють дію ферментів, інтенсифікують дихання клітин, фотосинтез, синтез ферментів та амінокислот, вуглеводний і азотний обмін і, як наслідок, безпосередньо впливають на мінеральне живлення рослин [28]. Не менш важливу роль може відігравати і забезпечення рослин необхідними для їх розвитку мікроелементами. Оскільки мікроелементи у наноформі засвоюються поступово, їхні іонні форми швидко включаються в біохімічні реакції. Отже, може досягатися пролонгований ефект живлення рослин [26].

У наших дослідженнях внесення нанокарбоксилату германію у суспензію бульбочкових бактерій безпосередньо в день інокуляції загалом суттєво не впливало на процес формування бульбочок на коренях сої на безсольовому фоні, за винятком незначного зниження їх кількості, але відзначено збільшення їхньої маси у період цвітіння, а також підвищення останнього показника під час утворення бобів, як порівняти з рослинами варіанту з інокуляцією лише бактеріями. Водночас на фоні внесення хлориду натрію використання нанокарбоксилату германію забезпечувало вищі показники маси бульбочок під час бутонізації та їх кількості у фазу утворення бобів, як порівняти зі значеннями рослин сої, обробленої звичайним інокулянтом. Це, відповідно, відобразилося на активності азотфіксації симбіотичними системами

соє – *V. japonicum* та вегетативній масі рослин: за відсутності хлориду натрію у субстраті вирощування рослин зростання показників у фазі цвітіння й утворення бобів, а на фоні засолення — їх підвищення під час бутонізації. Водночас на фоні засолення у фазу утворення бобів і азотфіксувальна активність, і маса рослин сої, оброблених інокулянтом із нанокарбоксилатом германію, суттєво не відрізнялися від таких у контрольних, бактеризованих лише ризобіями. Використання нанокарбоксилату Ge так само, як і Zn, сприяло збільшенню маси зерна сої, проте кількість бобів на рослинах залишалася на рівні контрольних. Але, на відміну від Zn, нанокарбоксилат германію не впливав на урожайність зерна сої, вирощеної на безсольовому субстраті.

Відзначений в окремі фази розвитку рослин позитивний ефект від застосування нанокарбоксилату германію може бути пов'язаний як із впливом на клітини ризобій, так і з безпосередньою дією на рослини. Раніше нами було показано [9], що застосування нанокарбоксилату Ge сприяло збільшенню кількості пророслих насінин на фоні засолення на 23,4% у сої та майже у 3 рази в люцерни. Можливо, отримані нами ефекти від використання германію за наявності NaCl-засолення пов'язані із його антиоксидантними властивостями [29].

Отже, аналіз отриманих результатів свідчить, що внесення нанокарбоксилату Zn у суспензію бульбочкових бактерій безпосередньо перед інокуляцією пригнічує формування та функціонування симбіотичних систем соє – *V. japonicum*. Додавання нанокарбоксилату германію сприятливо впливає на взаємодію сої з бульбочковими бактеріями на фоні засолення впродовж вегетаційного періоду, але не має стабільного позитивного ефекту на формування вегетативної маси рослин. Водночас обидві сполуки забезпечують незначне (в межах похибки досліду) збільшення зернової продуктивності сої. Порівнюючи представлені дані із попередньо отриманими результатами щодо ефективності нанокарбоксилатів мікроелементів за внесення їх у середовище культивування ризобій [18], можна стверджувати про деяку сумнівність перспективності подальших досліджень представленого способу використання цих сполук (внесення в інокуляційну суспензію перед її

застосуванням), особливо Zn. Водночас привертає увагу виявлений нами позитивний ефект від застосування Ge на фоні хлориду натрію, що, на нашу думку, може бути використано в подальшому в розробці способів підвищення продуктивності симбіозу соє – *V. japonicum* в умовах засолення.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Flowers T. J., Colmer T. D. Plant salt tolerance: adaptations in halophytes. *Ann. Bot.* 2015. Vol. 115, № 3. P. 327–331. <https://doi.org/10.1093/AOB/MCU267>
2. Коць С. Я., Петерсон Н. В. Мінеральні елементи і добрива в живленні рослин. К.: Логос, 2015. 242 с.
3. Hussain S., Khalid M. F., Hussain M., Ali M. A., Nawaz A., Zakir I. ... Ahmad S. Role of micronutrients in salt stress tolerance to plants. M. Hassanuzzaman, M. Fujita, H. Oku, K. Nahar, B. Hawrylak-Nowak (Eds.). *Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance*. Springer, 2018. P. 363–376. https://doi.org/10.1007/978-981-10-9044-8_15
4. Li Y., Liu Q., Zhang D.-X., Zhang Zh.-Y., Xu A., Jiang Y.-L., Chen Z.-C. Metal nutrition and transport in the process of symbiotic nitrogen fixation. *Plant Commun.* 2024. Vol. 5, № 4. 100829. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2024.100829>
5. Hassan M. U., Aamer M., Chattha M. U., Haiying T., Shahzad B., Barbanti L. ... Guoqin H. The critical role of zinc in plants facing the drought stress. *Agriculture*. 2020. Vol. 10, № 9. 396. <https://doi.org/10.3390/agriculture10090396>
6. Moulick D., Bhutia K. L., Sarkar S., Roy A., Mishra U. N., Pramanick B. ... Hossain A. The intertwining of Zn-finger motifs and abiotic stress tolerance in plants: Current status and future prospects. *Front. Plant Sci.* 2022. Vol. 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1083960>
7. Rahman A., Islam R., Azim A., Skalicky M., Hossain A. Role of zinc for abiotic stress tolerance in plants. D. K. Tripathi, V. P. Singh, S. Pandey, S. Sharma, D. K. Chauhan (Eds.). *Zinc in Plants. Current Knowledge and Recent Advances*. Chapter 6. Academic Press, 2024. P. 95–148. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91314-0.00007-7>
8. Liu Y., Hou L.-yu, Li Q.-mei, Jiang Ze.-ping, Lio D., Zhu Y. The effects of exogenous antioxidant germanium (Ge) on seed germination and growth of *Lycium ruthenicum* Murr subjected to NaCl stress. *Environ. Technol.* 2016. Vol. 37, № 8. P. 909–919. <https://doi.org/10.1080/09593330.2015.1091512>
9. Обезюк І. М., Михалків Л. М., Коць С. Я. Проростання насіння сої та люцерни в умовах засолення за використання нанокарбоксилатів Ge і Zn. *Actual Scientific Research in the Modern World*. 2024. Is. 8(112). С. 11–16.

10. Chhipa, H. Nanofertilizers and nanopesticides for agriculture. *Environ. Chem. Lett.* 2017. Vol. 15. P. 15–22. <https://doi.org/10.1007/S10311-016-0600-4>
11. Alam P., Arshad M., Al-Kheraif A. A., Az-zam M. A., Al Balawi T. Silicon nanoparticle-induced regulation of carbohydrate metabolism, photosynthesis, and ROS homeostasis in *Solanum Lycopersicum* subjected to salinity stress. *ACS Omega*. 2022. Vol. 7, № 36. P. 31834–31844. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c02586>
12. Ajirloo A. A. R., Amiri E. Effects of nanopotassium fertilizer on yield and water use efficiency of soybean under water deficit conditions (Case study: Moghan Plain, Iran). *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 2022. Vol. 53, № 12. P. 1542–1551. <https://doi.org/10.1080/00103624.2022.2060247>
13. Моргун В. В., Рибаченко Л. І., Коць С. Я., Кірізій Д. А., Кукол К. П., Рибаченко О. Р. Особливості функціонування симбіотичних систем та фотосинтетичного апарату сої, інокульованої штамми *Bradyrhizobium japonicum* за впливу карбоксилатів металів. *Мікробіологічний журнал*. 2019. Т. 81, № 1. С. 94–105. <https://doi.org/10.15407/microbiolj81.01.094>
14. Nitawaki Y., Kitabayashi H., Luisa M., Mason T., Yamamoto A., Saeki Y. Effect of salt stress on soybean growth and nodulation under inoculation with soybean rhizobia. *Soil Sci. Plant Nutr.* 2021. Vol. 67, № 2. P. 103–113. <https://doi.org/10.1080/00380768.2020.1860644>
15. Kang S.-M., Hoque M. I. U., Woo J.-I., Lee I.-J. Mitigation of salinity stress on soybean seedlings using indole acetic acid-producing *Acinetobacter pittii* YNA40. *Agriculture*. 2023. Vol. 13, № 5. 1021. <https://doi.org/10.3390/agriculture13051021>
16. Yu T., Wu X., Song Y., Lv H., Zhang G., Tang W. ... Ni H. Isolation and identification of salinity tolerant rhizobia and nodulation phenotype analysis in different soybean germplasms. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2024. Vol. 46. P. 3342–3352. <https://doi.org/10.3390/cimb46040209>
17. Win K. T., Wasai-Hara S., Tanaka F., Oo A. Z., Minamisawa K., Shimoda Y., Imaizumi-Anraku H. Synergistic N₂-fixation and salt stress mitigation in soybean through dual inoculation of ACC deaminase-producing *Pseudomonas* and *Bradyrhizobium*. *Sci. Rep.* 2023. Vol. 13, № 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-43891-4>
18. Коць С. Я., Рибаченко Л. І., Пухтаевич 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. <https://doi.org/10.35868/1997-3004.28.41-52>
19. Kots S. Y., Rybachenko L. I., Mamenko T. P., Kukol K. P., Pukhtaievych P. P., Rybachenko O. R. Influence of metal nanocarboxylates and different water supply on efficiency of soybean-rhizobial symbiotic systems. *Regul. Mech. Biosyst.* 2021. Vol. 12, № 3. P. 383–390. <https://doi.org/10.15421/022152>
20. Hardy R. W. F., Holsten R. D., Jackson E. K., Burns R. C. The acetylene-ethylene assay for N₂ fixation: laboratory and field evaluation. *Plant Physiol.* 1968. № 43. P. 1185–1207. <https://doi.org/10.1104/pp.43.8.1185>
21. Qiao L., Suzaki T., Liang P. Zink sensing in nodules regulates symbiotic nitrogen fixation. *Nature Plants*. 2024. Vol. 10, № 8. P. 1153–1154. <https://doi.org/10.1038/s41477-024-01758-0>
22. Zhang P., Zhang B., Jiao J., Dai S.-Q., Chen W.-X., Tian C.-Fu. Modulation of symbiotic compatibility by rhizobial zinc starvation machinery. *mBio*. 2020. Vol. 11, № 1. e03193-19. <https://doi.org/10.1128/mBio.03193-19>
23. Gauri, Singh A. K., Bhatt R. P., Pant S. Effects of zinc on cell viability and cell surface components of *Rhizobium* sp. isolated from root nodules of *Trifolium alexandrinum*. *J. of Agricultural Technology*. 2012. Vol. 8, № 3. P. 941–959.
24. Scott N., Chen H. Nanoscale science and engineering for agriculture and food systems. *Industrial Biotechnology*. 2013. Vol. 9, № 1. P. 17–18. <https://doi.org/10.1089/ind.2013.1555>
25. Khot L. R., Sankaran S., Maja J. M., Ehsani R., Schuster E. W. Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: A review. *Crop Protection*. 2012. Vol. 35. P. 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.01.007>
26. Ситар О. В., Новицька Н. В., Таран Н. Ю., Каленська С. М., Ганчурін В. В. Нанотехнології в сучасному сільському господарстві. *Фізика живого*. 2010. Т.18, № 3. С. 113–116.
27. Prasad R., Bhattacharyya A., Nguyen Q. R. Nanotechnology in sustainable agriculture: recent developments, challenges and perspectives. *Front. Microbiol.* 2017. Vol. 8. P. 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01014>
28. Mukhopadhyay S. S. Nanotechnology in agriculture: prospects and constraints. *Nanotechnol. Sci. Appl.* 2014. Vol. 7. P. 63–71. <https://doi.org/10.2147/NSA.S39409>
29. Nyzhnyk T. P., Kots S. Y., Pukhtaievych P. P., Kots T. A., Vegera L. V. Chelated forms of trace elements improve antioxidant properties and nodulation potential of soybean-*Bradyrhizobium* symbiosis under insufficient water conditions. *Biosyst. Divers.* 2024. Vol. 32, № 2. P. 252–259 <https://doi.org/10.15421/012427>

Отримано: 24.02.2025

Прийнято до друку: 13.05.2025

Опубліковано онлайн: 17.09.2025

EFFICIENCY OF THE USE OF Zn AND Ge NANOCARBOXYLATES IN THE INOCULATION OF SOYBEAN WITH NODULE BACTERIA UNDER SALINITY CONDITIONS

I. M. Obeziuk, <https://orcid.org/0009-0003-3663-6246>,

L. M. Mykhalkiv, <https://orcid.org/0009-0003-3663-6246>,

A. V. Zhemoida,

S.Ya. Kots, <https://orcid.org/0009-0003-3663-6246>

Institute of Plant Physiology and Genetics, NAS of Ukraine, Kyiv

e-mail: vanya.obezuk@ukr.net

Objective. Study of germanium and zinc carboxylates influence in the inoculation suspension of nodule bacteria for pre-sowing seed processing on the formation and functioning of soybean symbiotic systems — *Bradyrhizobium japonicum* under salinity conditions. **Methods.** Microbiological, physiological, statistical. *B. japonicum* strain PC08 and soybean variety Samorodok were involved in the research. The nodulation activity of rhizobia (number and weight of nodules on plant roots), plant weight (aerial parts and roots) in the phases of budding, blooming and bean formation, as well as indicators of soybean grain productivity were studied. The nitrogen-fixing activity of the symbiotic system was determined by the acetylene-restoring method using an Agilent Technologies 6850 chromatograph (USA). **Results.** It was found that the introduction of zinc nanocarboxylate into the suspension of nodule bacteria immediately before seed inoculation inhibited the formation and functioning of the soybean – *B. japonicum* symbiotic system, regardless the presence of sodium chloride in the plant growing substrate. The addition of germanium nanocarboxylate favourably influenced the interaction of soybean with nodule bacteria under salinity during the growing season, increasing the number and weight of nodules by 7–35 % and 5–33 %, respectively, and nitrogen fixation activity by 3 % to 48 %, but did not have a prolonged positive effect on the vegetative mass of plants. It was shown that on a salt-free background, the use of zinc led to a decrease in grain productivity of plants, in particular, grain weight per plant by 15 % and weight of 1000 grains by 8 %. Under salinity conditions, the compounds of both nanometals provided a slight increase in the weight of 1000 grains, with Ge contributing to a 13 % increase in the weight of grain per plant, and zinc causing a 12 % decrease in the number of beans per plant. **Conclusions.** The possibility of using zinc compounds under the conditions of symbiosis formation requires additional complex researches, which would include, in particular, the selection of optimal concentrations and forms of preparations or bacterial strains tolerant to this element. The revealed positive effect of germanium nanocarboxylate on the background of sodium chloride requires further research in order to use it in the development of the ways to increase the productivity of soybean – *B. japonicum* symbiosis under salinity conditions.

Key words: *Bradyrhizobium japonicum*, *Glycine max* (L.) Merr., carboxylates of nanometals Ge and Zn, symbiosis, nodulation, nitrogen fixation, vegetative mass, grain productivity.

REFERENCES

1. Flowers, T. J., & Colmer, T. D. (2015). Plant salt tolerance: adaptations in halophytes. *Ann. Bot.*, 115(3), 327–331. <https://doi.org/10.1093/AOB/MCU267>
2. Kots, S. Ya., & Peterson, N. V. (2015). *Mineralni elementy i dobrovya v zhyvlenni roslin* [Mineral elements and fertilizers in plant nutrition]. Kyiv: Logos [in Ukrainian].
3. Hussain, S., Khalid, M. F., Hussain, M., Ali, M. A., Nawaz, A., Zakir, I. ... Ahmad, S. (2018). Role of micronutrients in salt stress tolerance to plants. In M. Hassanuzzaman, M. Fujita, H. Oku, K. Nahar, B. Hawrylak-Nowak (Eds.). *Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance* (pp. 363–376). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-10-9044-8_15
4. Li, Y., Liu, Q., Zhang, D.-X., Zhang, Zh.-Y., Xu, A., Jiang, Y.-L., & Chen, Z.-C. (2024). Metal

- nutrition and transport in the process of symbiotic nitrogen fixation. *Plant Commun.*, 5(4). 100829. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2024.100829>
5. Hassan, M. U., Aamer, M., Chattha, M. U., Haiying, T., Shahzad, B., Barbanti, L. ... Guoqin, H. (2020). The critical role of zinc in plants facing the drought stress. *Agriculture*, 10(9), 396. <https://doi.org/10.3390/agriculture10090396>
6. Moulick, D., Bhutia, K. L., Sarkar, S., Roy, A., Mishra, U. N., Pramanick, B. ... Hossain, A. (2022). The intertwining of Zn-finger motifs and abiotic stress tolerance in plants: Current status and future prospects. *Front. Plant Sci*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1083960>
7. Rahman, A., Islam, R., Azim, A., Skaliky, M., & Hossain, A. (2024). Role of zinc for abiotic stress tolerance in plants. In D. K. Tripathi, V. P. Singh, S. Pandey, S. Sharma, D. K. Chauhan (Eds.). *Zinc in Plants. Current Knowledge and Recent Advances*, 6 (pp. 95–148). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91314-0.00007-7>
8. Liu, Y., Hou, L., Li, Q., Jiang, Z., Lio, D., & Zhu, Y. (2016). The effects of exogenous antioxidant germanium (Ge) on seed germination and growth of *Lycium ruthenicum* Murr subjected to NaCl stress. *Environ. Technol*, 37(8), 909–919 <https://doi.org/10.1080/09593330.2015.1091512>
9. Obeziuk, I. M., Mykhalkiv, L. M., Kots, S. Ya. (2024). Prorostanna nasinna soi ta lutserny v umovah zasolenna za vykorystanna nanokarboksylativ Ge i Zn [Soybean and alfalfa seed germination under salinity and the use of Ge and Zn nanocarboxylates]. *Actual Scientific Research in the Modern World*, 8(112), 11–16 [in Ukrainian].
10. Chhipa, H. (2017). Nanofertilizers and nanopesticides for agriculture. *Environ. Chem. Lett*, 15, 15–22. <https://doi.org/10.1007/S10311-016-0600-4>
11. Alam, P., Arshad, M., Al-Kheraif, A. A., Azzam, M. A., & Al Balawi, T. (2022). Silicon nanoparticle-induced regulation of carbohydrate metabolism, photosynthesis, and ROS homeostasis in *Solanum Lycopersicum* subjected to salinity stress. *ACS Omega*, 7(36), 31834–31844. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c02586>
12. Ajirloo, A. A. R., & Amiri, E. (2022). Effects of nano-potassium fertilizer on yield and water use efficiency of soybean under water deficit conditions (Case study: Moghan Plain, Iran). *Commun. Soil Sci. Plant Anal*, 53, 1542–1551. <https://doi.org/10.1080/00103624.2022.2060247>
13. Morgun, V. V., Rybachenko, L. I., Kots, S. Ya., Kiriziy, D. A., Kukol, K. P., & Rybachenko, O. R. (2019). Osoblyvosti funktsionuvanna symbiotychnykh system ta fotosyntetychnogo aparatu soi, inokulovanoi shtamamy *Bradyrhizobium japonicum* za vplyvu karboksylativ metaliv [Features of the functioning of symbiotic systems and photosynthetic apparatus of soybean inoculated by *Bradyrhizobium japonicum* under the influence of metal carboxylate]. *Mikrobiologichnyi jurnal — Mikrobiol. Z.*, 81(1), 94–105 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15407/micrbiolj81.01.094>
14. Nitawaki, Y., Kitabayashi, H., Luisa, M., Mason, T., Yamamoto, A., & Saeki, Y. (2021). Effect of salt stress on soybean growth and nodulation under inoculation with soybean rhizobia. *Soil Sci. Plant Nutr*, 67(2), 103–113 <https://doi.org/10.1080/00380768.2020.1860644>
15. Kang, S.-M., Hoque, M. I. U., Woo, J.-I., & Lee, I.-J. (2023). Mitigation of salinity stress on soybean seedlings using indole acetic acid-producing *Acinetobacter pittii* YNA40. *Agriculture*, 13(5), 1021. <https://doi.org/10.3390/agriculture13051021>
16. Yu, T., Wu, X., Song, Y., Lv H., Zhang, G., Tang, W. ... Ni, H. (2024). Isolation and identification of salinity tolerant rhizobia and nodulation phenotype analysis in different soybean germplasm. *Curr. Issues Mol. Biol*, 46, 3342–3352. <https://doi.org/10.3390/cimb46040209>
17. Win, K. T., Wasai-Hara, S., Tanaka, F., Oo, A. Z., Minamisawa, K., Shimoda, Y., & Imaizumi-Anraku, H. (2023). Synergistic N₂-fixation and salt stress mitigation in soybean through dual inoculation of ACC deaminase-producing *Pseudomonas* and *Bradyrhizobium*. *Sci. Rep.*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-43891-4>
18. Kots, S. Ya., Rybachenko, L. I., Pukhtaievych, P. P., & Rybachenko, O. R. (2018). Reaktsia *Bradyrhizobium japonicum* u chystiy kulturi ta u symbiotychnykh systemah na zastosuvanna nanokarboksylativ mikroelementiv [Bradyrhizobium japonicum reaction in pure culture and symbiotic systems to the use of nanocarboxylates of microelements]. *Silskogospodarska mikrobiolohiia — Agricultural Microbiology*, 28, 41–52 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.35868/1997-3004.28.41-52>
19. Kots, S. Y., Rybachenko, L. I., Mamenko, T. P., Kukol, K. P., Pukhtaievych, P. P., & Rybachenko, O. R. (2021). Influence of metal nanocarboxylates and different water supply on efficiency of soybean-rhizobial symbiotic systems. *Regul. Mech. Biosyst*, 12(3), 383–390. <https://doi.org/10.15421/022152>
20. Hardy, R. W. F., Holsten, R. D., Jackson, E. K., & Burns, R. C. (1968). The acetylene-ethylene assay for N₂ fixation: laboratory and field evaluation. *Plant Physiol*, 43, 1185–1207. <https://doi.org/10.1104/pp.43.8.1185>
21. Qiao, L., Suzaki, T., & Liang, P. (2024). Zinc sensing in nodules regulates symbiotic nitrogen fixation. *Nature Plants*, 10(8), 1153–1154. <https://doi.org/10.1038/s41477-024-01758-0>
22. Zhang, P., Zhang, B., Jiao, J., Dai, S.-Q., Chen, W.-X., Tian, C.-Fu. (2020). Modulation of symbiotic compatibility by rhizobial zinc starvation

machinery. *mBio*, 11(1), e03193-19. <https://doi.org/10.1128/mBio.03193-19>

23. Gauri, Singh, A. K., Bhatt, R. P., & Pant, S. (2012). Effects of zinc on cell viability and cell surface components of *Rhizobium* sp. isolated from root nodules of *Trifolium alexandrinum*. *J. of Agricultural Technology*, 8(3), 941–959.

24. Scott, N., & Chen, H. (2013). Nanoscale science and engineering for agriculture and food systems. *Industrial Biotechnology*, 9(1), 17–18. <https://doi.org/10.1089/ind.2013.1555>

25. Khot, L. R., Sankaran, S., Maja, J. M., Ehsani, R., & Schuster, E. W. (2012). Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: A review. *Crop Protection*, 35, 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.01.007>

26. Sytar, O. V., Novyts'ka N., V., Taran, N. Yu., Kalens'ka, S. M., & Ganchurin, V. V. (2010). Nanotehnologii v suchasnomu silskomu gospodarstvi

[Nanotechnology in modern agriculture]. *Fizyka jyvogo — Physics of the Alive*, 18(3), 113–116 [in Ukrainian].

27. Prasad, R., Bhattacharyya, A., & Nguyen, Q. R. (2017). Nanotechnology in sustainable agriculture: recent developments, challenges and perspectives. *Front. Microbiol.*, 8, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01014>

28. Mukhopadhyay, S. S. (2014). Nanotechnology in agriculture: prospects and constraints. *Nanotechnol. Sci. Appl*, 7, 63–71. <https://doi.org/10.2147/NSA.S39409>

29. Nyzhnyk, T. P., Kots, S. Y., Pukhtaievych, P. P., Kots, T. A., & Vejera, L. V. (2024). Chelated forms of trace elements improve antioxidant properties and nodulation potential of soybean-Bradyrhizobium symbiosis under insufficient water conditions. *Biosyst. Divers*, 32(2), 252–259 <https://doi.org/10.15421/012427>

Received: 24.02.2025

Accepted: 13.05.2025

Published online: 17.09.2025