

Регопланта – для оптимизации симбиотической азотфиксации, как дополнительных элементов технологии выращивания культуры в местных почвенно-климатических условиях.

Ключевые слова: *Phaseolus vulgaris L., Rhizobium leguminosarum biovar phaseoli, Регоплант, Стимпо, симбиоз, производительность*

O. B. Kononchuk, S. V. Pyda, I. P. Hrigoryuk

Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University, Ukraine

INFLUENCE OF GROWTH REGULATORS REGOPLANT AND STYMPON ON SYMBIOTIC SYSTEM AND PRODUCTIVITY OF COMMON BEAN (*PHASEOLUS VULGARIS L.*)

The formation and functioning of symbiotic systems of the common bean with local populations of soil legume bacteria and planting productivity under the influence of growth regulators with protective properties Regoplant and Stympon were studied.

It was established that the presowing seed treatment with the regulator of growth Regoplant influences the formation and functioning of the *Rhizobium* – bean symbiosis more effectively than Stympon in the flowering period and preserves its stimulating effect during of green bean.

Bioregulators Regoplant and Stympon increase grain productivity by 9,8-14,3% due to stimulating growth processes in the above-ground part of a plant, higher haulm density and other elements of yield components.

The obtained data demonstrate the appropriateness and prospects of the use of growth regulators Regoplant and Stympon for the increase in the common bean productivity and Regoplant for optimization of symbiotic nitrogen fixation. These growth regulators are to be used as additional elements of the crop cultivation technology under the conditions of local soil and climate.

Keywords: *Phaseolus vulgaris L., Rhizobium leguminosarum biovar phaseoli, Regoplant, Stympon, symbiosis, productivity*

Рекомендує до друку

Надійшла 17.04.2014

В.В. Грубінко

УДК 581.1:581.557

С.Я. КОЦЬ, Л.І. ВЕСЕЛОВСЬКА, Л.М. МИХАЛКІВ

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України
вул. Васильківська, 31/17, Київ, 03022

НІТРАТРЕДУКТАЗНА АКТИВНІСТЬ У ЛИСТКАХ СОЇ, ІНОКУЛЬОВАНОЇ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*, НА ФОНІ РІЗНОГО ВОДОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ТА ВИКОРИСТАННЯ ЛЕКТИНУ

Досліджено вплив екзогенного лектину насіння сої на відновлення нітратів у листках рослин сої, інокульованої активним (634б) та неактивним (604к) штамми *Bradyrhizobium japonicum*, за різного водозабезпечення. Показано, що характер змін нітратредуктазної активності внаслідок дії водного стресу пов'язаний із особливостями формування симбіотичних взаємовідносин між рослинами сої та ризобіями. Застосування лектину сумісно з активним штамом ризобій зменшує інгібуючий вплив нестачі вологи на активність нітратредуктази в листках рослин сої.

Ключові слова: *нітратредуктаза, соя, Bradyrhizobium japonicum, азотфіксація, нодуляція, водозабезпечення, лектин*

Характерною особливістю азотного метаболізму сої як представника родини бобових є здатність засвоювати зв'язану (в першу чергу нітратну) та молекулярну форми азоту за умов формування симбіозу з бульбочковими бактеріями, що обумовлено наявністю відповідних ферментних систем, зокрема, нітратредуктази та нітрогенази. Питання взаємодії цих двох ферментів висвітлено в багатьох працях [3, 5, 9], проте, зважаючи на сучасні кліматичні зміни, важливого значення набувають дослідження азотного живлення бобових рослин і пошук шляхів його оптимізації за дії несприятливих факторів довкілля, зокрема, за недостатнього водозабезпечення [7, 10].

У попередніх дослідженнях нами було показано [3, 4], що застосування лектину з насіння сої може підвищувати нодуляційну активність ризобій і азотфіксувальну активність корневих бульбочок, а також збільшувати продуктивність сої як за оптимального водозабезпечення, так і за посушливих умов. Метою представленої роботи було вивчити вплив екзогенного лектину насіння сої на відновлення нітратів у листках рослин сої, інокульованої різними за активністю штамми *Bradyrhizobium japonicum*, за оптимального та недостатнього водозабезпечення.

Матеріал і методи досліджень

Досліди проводили на вегетаційному майданчику Інституту фізіології рослин і генетики (ІФРГ) НАН України. Об'єктами дослідження були симбіотичні системи, створені за участю рослин сої (*Glycine max* (L.) Merr.) сорту Васильківська та бульбочкових бактерій *Bradyrhizobium japonicum* штамів 643б (активний, виробничий штам-стандарт) та 604к (неактивний, високовірулентний) із музейної колекції азотфіксувальних мікроорганізмів відділу симбіотичної азотфіксації ІФРГ НАН України. Перед посівом насіння сої стерилізували 70 %-м розчином етанолу, промивали проточною водою та впродовж 1 год інокулювали ризобіями. У дослідних варіантах бактерії інкубували із розчином комерційного лектину насіння сої (Львів, «Лектинотест») у концентрації 100 мкг/мл протягом 20 год, у контрольних варіантах лектин не використовували. Рослини вирощували у 16-кілограмових посудинах Вагнера в піщаній культурі з внесенням поживної суміші Гельрігеля (0,25 норми азоту) за природного освітлення та контрольованого поливу (60 % повної вологості (ПВ)). Посуху (30 % ПВ) створювали протягом 2 тижнів від появи 3 справжнього листка, після чого полив поновлювали до 60 % ПВ. Відбори зразків проводили у фази 3 справжніх листків (6 доба посухи) та цвітіння (8 доба поновлення поливу). Активність відновлення нітратів (НРА) у листках визначали *in vivo* [6], виражали у мікрограмах NO_2^- , що утворився за 30 хв на 1 г сирової речовини. У таблиці наведені середні арифметичні значення із біологічних повторностей та їх стандартні похибки.

Результати досліджень та їх обговорення

Виявлено (таблиця), що на фоні інокуляції сої штамом 634б без застосування лектину 6-догова посуха призвела до зниження активності відновлення нітратів у листках на 8 %, але суттєво не вплинула на даний показник за умов інкубації ризобій із лектином. Після 2-тижневої посухи на 8 добу поновлення поливу (фаза цвітіння) різниця між НРА у листках сої, яку вирощували за різного водозабезпечення, стала чітко вираженою порівняно з попереднім відбором. Так, на фоні активного штаму даний показник у рослинах, що зазнали впливу водного стресу, був у 2 (без лектину) і 5 (застосування лектину) разів меншим, ніж за 60 % ПВ. Використання лектину для обробки *B. japonicum* 634б суттєво не вплинуло на НРА у період 3 справжніх листків, виявлено лише тенденцію до її збільшення за 30 % ПВ. У фазу ж цвітіння за 60 % ПВ спостерігали значну (в 2 рази) інтенсифікацію НРА у варіанті з використанням лектину.

Інокуляція сої неактивним штамом *B. japonicum* 604к сприяла формуванню на коренях великої кількості бульбочок, проте азотфіксувальної активності виявлено не було. Реакція рослин на посушливі умови та застосування лектину в цих симбіотичних системах суттєво відрізнялась від такої у випадку використання активного штаму 634б. Так, у фазу 3 справжніх листків зниження водозабезпечення суттєво не вплинуло на НРА у сої, інокульованої ризобіями без лектину, але при його використанні цей показник зріс на 13 %. Після поновлення поливу (цвітіння) ефект від нестачі води, як і у випадку використання штаму 634б, виявився досить значним, – спостерігали збільшення НРА у листках рослин варіантів без лектину на 71 %. У рослин, інокульованих інкубованими з лектином ризобіями, майже не виявлено НРА. Необхідно

значити, що як за 60, так і за 30 % ПВ інкубація бактерій неактивного штаму 604к із гемаглютиніном призводила до інгібування відновлення нітратів.

Таблиця

Активність відновлення нітратів у листках сої за інокуляції штамми *B. japonicum* при застосуванні лектину, мкг NO₂⁻/г за 30 хв

Варіант	Фаза розвитку рослин	
	3 справжні листки (посуха)	цвітіння (поновлення поливу)
Інокуляція <i>B. japonicum</i> 6346		
контроль без лектину, 60 % ПВ	47,41 ± 0,15	6,35 ± 0,15
ризобії + лектин, 60 % ПВ	46,66 ± 1,79	12,47 ± 1,79
контроль без лектину, 30 % ПВ	43,53 ± 1,79	3,10 ± 0,42
ризобії + лектин, 30 % ПВ	46,44 ± 1,49	2,37 ± 0,34
Інокуляція <i>B. japonicum</i> 604к		
контроль без лектину, 60 % ПВ	44,57 ± 2,24	1,27 ± 0,15
ризобії + лектин, 60 % ПВ	36,06 ± 1,79	0,53 ± 0,01
контроль без лектину, 30 % ПВ	46,52 ± 3,58	4,47 ± 0,50
ризобії + лектин, 30 % ПВ	40,92 ± 2,01	0,53 ± 0,01

Залежність нітратного метаболізму від симбіотичної азотфіксації – типова властивість бобових рослин, часто зміни в активності нітрогенази та нітратредуктази пояснюють існуванням між ними тісного зв'язку, характер якого може бути різним. Припускають, що ці ферменти конкурують між собою за продукти фотосинтезу, молібден чи відновлені форми піридиннуклеотидів [5], показано, що продукт біологічної азотфіксації здатний інгібувати конститутивну активність нітратредуктази [8]. Водночас виявлено, що за певних умов обернений зв'язок між нітратредуктазою і нітрогеназою може переходити у прямий [2]. У наших дослідженнях застосування лектину приводило до підвищення і симбіотичної азотфіксації [4], і активності відновлення нітратів у листках рослин сої, інокульованої штамом 6346. Використання неактивного штаму 604к дозволило нам уникнути впливу симбіотично фіксованого азоту на НРА у сої. При цьому ефект від застосування лектину, хоч і інгібуючий, все ж спостерігався. У попередньо проведених дослідженнях [1] нами було зроблено припущення, що особливості динаміки НРА у сої, інокульованої штамом 604к, можуть бути пов'язані із утворенням бульбочок. Цілком імовірно, що саме особливості нодуляційного та азотфіксувального процесів, обумовлені властивостями штамів-інокулянтів і дією лектину, вплинули на формування реакцій рослин сої на посуху та визначили виявлені нами функціональні особливості нітратредуктази.

Висновки

У результаті проведених досліджень встановлено, що внесення лектину сої в інокуляційну суспензію змінює нітратредуктазну активність у листках рослини-хазяїна та її реакцію на дію водного стресу, що, в свою чергу, визначається особливостями формування та функціонування симбіотичної системи соя – *B. japonicum*. Показано, що застосування лектину сумісно з активним штамом ризобій зменшує інгібуючий вплив нестачі вологи на активність нітратредуктази в листках рослин сої.

1. *Активність* відновлення нітратів та азотфіксація в симбіотичних системах соя – *Bradyrhizobium japonicum* за інокуляції штамми і транспозоновими мутантами на фоні різного забезпечення рослин мінеральним азотом / [С.Я. Коць, Л.М. Михалків, В.М. Мельник та ін.] // Сільськогосподарська мікробіологія: здобутки та перспективи (збірник наукових праць). — Чернігів, 2012. — С. 222—228.
2. *Активність* ферментів асиміляції азота у люцерны при різному забезпеченні мінеральним азотом / [С.Я. Коць, Е.П. Старченков, И.М. Ермоленко, О.В. Бунтова] // Физиология и биохимия культ. растений. — 1993. — Т. 25, № 6. — С. 546—553.
3. *Биологическая* фиксация азота: бобово-ризобиальный симбиоз. Т. 1 / [С.Я. Коць, В.В. Моргун, В.Ф. Патыка и др.]. — К.: Логос, 2010. — 508 с.
4. *Веселовська Л.І.* Вплив екзогенного лектину на ефективність симбіозу *Glycine max* – *Bradyrhizobium japonicum* в умовах посухи / Л.І. Веселовська, Л.М. Михалків, С.Я. Коць // Физиология растений и генетика. — 2013. — № 4 (45). — С. 319—326.
5. *Львов Н.П.* Взаимоотношение нитрогеназы и нитратредуктазы в клетках азотфиксаторов / Н.П. Львов, Ш.С. Буриханов, В.Л. Кретович // Прикладная биохимия и микробиология. — 1980. — №6 (XVI) — С. 805—817.

6. *Методы биохимического исследования растений* [ред. А.И. Ермаков]. — Л.: Колос, 1972. — 456 с.
7. *Yasuo F.* Effect of water stress on nitrate assimilation in soybean leaves / Yasuo Fucutokum // Bull. Fac. Agr. Saga University. — 1996. — 80. — P. 69—70.
8. *Li Z.Z.* Development and biochemical regulation of “constitutive” nitrate reductase activity in leaves of nodulating soybean / Z.Z. Li, P.M. Jresshoff // Journal Experimental Botany. — 1991. — 41. — P. 1231—1238.
9. *Lucinski R.* Nitrate reduction and nitrogen fixation in symbiotic association Rhizobium-legumes / R. Lucinski, W. Polcyn, L. Ratajczak // Acta Biochimica Polonica. — 2002. — Vol. 49, N 2. — P. 537—546.
10. *Padder B.M.* Effect of salinity and water stress in Mungbean (*Vigna radiate*) L. Wilczek var.Hum-1 / B.M. Padder, R. Yadav, R.M. Agarwal // Plant Sciences Feed. — 2012. — № 9 (2). — P. 130—134.

С.Я. Коць, Л.И. Веселовская, Л.М. Михалкив

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины

НИТРАТРЕДУКТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ В ЛИСТЯХ СОИ, ИНОКУЛИРОВАННОЙ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*, НА ФОНЕ РАЗНОГО ВОДОБЕСПЕЧЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛЕКТИНА

Исследовали влияние экзогенного лектина сои на восстановление нитратов в листьях сои, инокулированной активным (634б) и неактивным (604к) штаммами ризобий, при оптимальном (60 % ПВ) и недостаточном (30 % ПВ) водообеспечении. Выявлено снижение нитратредуктазной активности при инокуляции сои активным штаммом 634б, под действием 6-суточной засухи. При этом применение лектина нивелировало данный эффект. На фоне инокуляции неактивным, но высоковирулентным штаммом 604к реакция нитратредуктазы на засуху и лектин существенно отличалась от таковой в случае использования *B. japonicum* 634б. Недостаток влаги существенно не влиял на нитратредуктазную активность у сои, инокулированной ризобиями без лектина, но повышал ее при использовании гемагглютинина.

Сделан вывод, что характер изменений нитратредуктазной активности в листьях под влиянием водного стресса связан с особенностями формирования симбиотических взаимоотношений между растениями сои и ризобиями.

Ключевые слова: нитратредуктаза, соя, *Bradyrhizobium japonicum*, азотфиксация, нодуляция, водообеспечение, лектин

S.Ya.Kots, L.I. Veselovska, L.M. Mychalkiv

Institute of Plant Physiology and Genetics of NAS of Ukraine

THE NITRATE REDUCTASE ACTIVITY IN THE LEAVES OF SOYBEAN INOCULATED WITH *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* UNDER DIFFERENT WATER SUPPLY AND LECTIN APPLICATION

The influence of the exogenous soybean seed lectin on nitrate reduction in the leaves of soybean inoculated with active (634b) and inactive (604k) rhizobia strains under 60 % (optimal water supply) and 30 % of soil moisture saturation was investigated. It was found the decrease of nitrate reductase activity in soybean inoculated with active strain after 6-days drought. Using seed lectin discarded this effect. The activity of nitrate reductase during application of drought and lectin under the inoculation with inactive but high virulence strain 604k essentially differed from one in case of strain 634b. The water deficiency did not influence essentially on nitrate reductase activity of soybean inoculated with rhizobia without lectin adding but increased it in presence of hemmagglutinine.

It was concluded that the character of changes of nitrate reductase activity in soybean leaves influenced by water stress is connected to the peculiarities of the formation of symbiotic interaction between plants and rhizobia.

Keywords: nitrate reductase, soybean, *Bradyrhizobium japonicum*, nitrogen fixation, nodulation, water supply, lectin

Рекомендує до друку

Надійшла 17.04.2014

С.В. Пида