

УДК 581.557

ЕФЕКТИВНІСТЬ СИМБІОТИЧНОЇ СИСТЕМИ СОЯ — *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* ЗА ДІЇ ПАКЛОБУТРАЗОЛУ

В.Г. КУР'ЯТА,¹ Л.А. ГОЛУНОВА,¹ С.К. БЕРЕГОВЕНКО²

¹Вінницький державний педагогічний університет ім. М. Коцюбинського
21100 Вінниця, вул. Острозького, 32

²Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17

Вивчено особливості формування і функціонування симбіотичних систем соя — *Bradyrhizobium japonicum*, утворених різними штамми без застосування та із застосуванням антигіберелінового препарату паклобутразолу. Найефективнішою виявилася передпосівна інокуляція насіння штамом 71т, що проявилася у збільшенні кількості й підвищенні нітрогеназної активності бульбочок порівняно з виробничим штамом 634б. Комплементация генотипів макро- і мікросимбіонтів під час формування бобово-ризобіальної системи великою мірою визначається гормональним статусом рослини. Застосування ретарданту призводило до підвищення нітрогеназної активності симбіотичних систем і збільшення продуктивності рослин, інокульованих штамми 71т і 634б.

Ключові слова: *Glycine max* (L.) Merr., азотфіксація, ретарданти, донорно-акцепторні відносини, продуктивність.

Відомо, що продуктивність рослинного організму визначається функціонуванням донорно-акцепторної системи [4, 6]. Для бобових рослин аналіз донорно-акцепторних відносин не може бути обмежений лише специфікою перерозподілу асимілятів між вегетативними і генеративними органами рослин, процесами росту і фотосинтезу, оскільки додатковим атрагувальним компонентом цієї системи є бобово-ризобіальні комплекси. Достатнє надходження до кореневих бульбочок продуктів фотосинтезу — один із чинників регуляції активності азотфіксувальних процесів [2, 5].

Відомо, що мікросимбіонти виявляють сортову специфічність, їх генотипи мають відповідати генотипу рослини-хазяїна. Висококонкурентний штам на одному сорті може знижувати здатність до утворення симбіотичної системи на іншому [1, 9]. Відомо також, що активність азотфіксувального апарату формується і регулюється за допомогою фітогормонів. Встановлено позитивну дію ауксину і цитокінінів на формування бульбочок та їх нітрогеназну активність [5, 8]. Це пояснюють їх роллю як медіаторів змін клітинної стінки кореня, пов'язаних з утворенням інфекційної нитки всередині кореневого волоска [10]. Разом із тим дані щодо впливу іншого класу фітогормонів — гіберелінів на формування і функціональну активність бульбочок нечисленні і суперечливі. Зокрема, давно встановлено, що за дії гіберелінів у бобових рослин збільшується співвідношення між надземною частиною і кореневою системою з одночасним пригніченням утворення бульбочок та зменшенням їх нітроге-

назної активності [13, 14]. Інші автори відмічали збільшення числа бульбочок та їх маси за дії гібереліну при відсутності впливу на активність нітрогенази [12].

Сучасна фізіологія рослин має потужний інструмент модифікації дії гіберелінів — ретарданти, які блокують синтез і активність гіберелінів і таким чином впливають на атрагувальний потенціал органів. У літературі є лише поодинокі публікації з вивчення впливу ретардантів на формування і функціонування бобово-ризобіальних систем [13]. До того ж продуктивність цих систем у різних ґрунтово-кліматичних умовах великою мірою визначається еколого-географічним походженням штамів, тому скринінг на вірулентність і активність ризобій у симбіотичних системах є передумовою збільшення потенціалу азотфіксації в агроценозах.

У зв'язку з цим метою нашої роботи було встановлення впливу сучасного високоефективного антигіберелінового препарату паклобутразолу на вірулентність і активність різних штамів *Bradyrhizobium japonicum*, а також можливість його застосування для підвищення продуктивності сої.

Методика

Для досліджень у польових умовах протягом 2004—2006 рр. на сірих лісових середньосуглинкових ґрунтах дослідного господарства «Бохоницьке» Інституту кормів УААН (м. Вінниця) використано рослини сої (*Glycine max* (L.) Merr.) сорту Подільська 1. Сорт районований, напівдетермінантний, середньопізньостиглий. Попередник — озима пшениця. Насіння сої перед посівом стерилізували 70 %-м етанолом протягом 20 хв [2], після чого промивали водопровідною водою. Передпосівну бактеризацію насіння здійснювали виробничим штамом *Bradyrhizobium japonicum* 6346 і штамом 71т (змивом із чистої культури). Висівали насіння в першій декаді травня. Розміщення дослідних ділянок — послідовне, площа облікових ділянок — 10 м², повторність дослідів — п'ятиразова. Рослини обробляли 0,025 %-м водним розчином паклобутразолу до повного змочування листків у фазі бутонізації—початку цвітіння, контрольні рослини — водопровідною водою. Через 12 діб після обробки паклобутразолом відбирали проби для визначення азотфіксації.

Азотфіксацію визначали за ацетиленвідновлювальною активністю (АВА) кореневих бульбочок [14]. Газову суміш, яка містила етилен, що виділявся у результаті функціонування нітрогенази, аналізували на газовому хроматографі «Chromatograph-504» (Польща) з полуменево-іонізаційним детектором. Об'єм аналізованої газової суміші становив 1,0 см³. Обраховували показники азотфіксувальної активності, кількість бульбочок на рослині, визначали масу сухої речовини кореня і бульбочок. Для цього їх фіксували рідким азотом і досушували в сушильній шафі за температури 60 °С. Визначали ростові параметри (висоту рослин, масу сухої речовини надземної частини і кореневої системи), насінневу продуктивність, обраховували урожайність у кінці вегетації.

Анатомічну будову листка досліджували за допомогою окулярного мікрометра МОВ-1-15х на фіксованому матеріалі. Склад фіксувальної суміші: етанол, гліцерин, 1 %-й водний розчин формаліну у співвідношенні 1:1:1, мацерували тканини листка 5 %-м розчином оцтової кислоти у 2 М соляної кислоти [6].

Результати оброблено статистично за допомогою електронних таблиць Excel. У таблицях наведено середньоарифметичні дані та їх стандартні похибки.

Результати та обговорення

Аналіз морфометричних показників рослин сої сорту Подільська 1 за дії штамів і ретарданту підтвердив, що обробка призводить до істотних морфологічних змін, модифікації інтенсивності росту окремих органів рослини (табл. 1). Зокрема, під впливом штаму 6346 збільшувалась висота рослин, це супроводжувалось формуванням найбільшої площі листової поверхні порівняно з варіантом застосування штаму 71т протягом усієї вегетації. Інокуляція насіння штамами з наступною обробкою рослин 0,025 %-м розчином паклобутразолу призводила до зменшення площі листової поверхні порівняно з інокульованими, але необробленими ретардантом рослинами. Як ми встановили у попередній роботі, основою морфогенетичних змін рослин сої за дії ретардантів є перебудова гормонального комплексу рослини, зокрема зменшення активності гіберелінів і підвищення вмісту абсцизової кислоти в тканинах [7]. Раніше ми також відмічали, що зменшення площі листової поверхні рослин за дії ретардантів супроводжується потовщенням листової пластинки і кращим розвитком асиміляційної паренхіми [6]. Отримані результати аналізу анатомічної будови листків сої підтвердили аналогічні зміни й у цієї культури. Зокрема, об'єм клітин верхнього шару стовпчастої паренхіми листків у варіантах досліді був максимальним за сумісного застосування штаму 71 т і паклобутразолу (табл. 2), тобто зменшення площі листової поверхні за дії ретарданту частково компенсувалося формуванням потужнішої стовпчастої асиміляційної тканини листка, яка відіграє основну роль у фотосинтетичних процесах.

Застосування інокуляції сприяло розвитку потужнішої кореневої системи, що підтверджено збільшенням маси коренів порівняно з контролем. Співвідношення мас сухої речовини надземної частини і коренів істотно зменшувалося за дії паклобутразолу, що вказує на зміну характеру функціонування донорно-акцепторної системи рослини під впливом препарату: внаслідок гальмування росту надземної частини надлишок асимілятів перерозподілявся на формування кореневої системи.

Отже, застосуванням ретарданту можна штучно збільшити надходження асимілятів до зон росту кореня сої, які є місцями формування бульбочок. Оскільки азотфіксувальна активність великою мірою визначається надходженням асимілятів, важливо проаналізувати інтенсивність формування бульбочок та їх нітрогеназну активність за варіантами досліді. Встановлено, що під дією інокуляції істотно збільшувалась кількість бульбочок порівняно з контролем. Найбільше їх формувалося в разі застосування штаму 71т (рисунок, табл. 2).

Водночас штами впливали на формування бульбочок специфічно. Так, при інокулюванні насіння штамом 6346 утворювалась менша кількість бульбочок, але вони були більшими порівняно зі штамом 71т (див. рисунок). Обробка паклобутразолом чинила різний ефект на формування азотфіксувального апарату. Якщо на фоні інокуляції насіння штамом 6346 обробка ретардантом викликала зростання загальної кількості бульбочок, то за інокулювання штамом 71т додаткове застосування антигіберелінового препарату призводило до зменшення цього показника у фазі цвітіння і початку плодоутворення (див. табл. 2).

Аналіз підтвердив, що за обробки штамами нітрогеназна активність істотно збільшувалась в усіх варіантах досліді в перші дві досліджувані фази, а застосування ретарданту підвищувало її на фоні штаму 6346. Зменшення кількості бульбочок під впливом паклобутразолу за дії шта-

ТАБЛИЦА 1. Морфометричні показники рослини сорту Подільська 1 за дії инокуляції і 0,025 %-го розчину пеклобутразолу

Варіант	Висота рослини, см	Маса сухої речовини, г		Співвідношення мас надземної частини і кореня		Площа листкової поверхні, см ² , у фазу			Об'єм клітин стовпчастої паренхіми, мкм ² (фаза зеленого бобу)
		надземної частини	кореня	квітіння	формування бобів	зеленого бобу			
Контроль	85,57 ± 1,22	7,54 ± 0,5	1,11 ± 0,10	6,79	178,43 ± 4,1	217,42 ± 6,6	265,30 ± 6,0	2161 ± 91	
6346	90,74 ± 2,24	10,10 ± 0,4	1,24 ± 0,04	8,15	226,94 ± 8,4	296,99 ± 10,1	330,57 ± 9,5	2707 ± 103	
6346/ПБ	56,63 ± 1,12	9,61 ± 0,4	1,28 ± 0,06	7,51	176,16 ± 6,9	223,46 ± 6,2	316,60 ± 4,6	5362 ± 78	
71г	79,18 ± 2,27	9,92 ± 0,7	1,23 ± 0,04	8,07	194,96 ± 8,1	252,90 ± 5,8	321,40 ± 6,3	4147 ± 96	
71г/ПБ	56,14 ± 1,43	9,47 ± 0,6	1,33 ± 0,07	7,12	160,93 ± 5,4	200,03 ± 9,2	309,62 ± 9,8	5682 ± 88	

Примітка. Середні дані за 2004—2006 рр.; масу сухої речовини органів визначали у фазу формування бобів; тут і в табл. 2, 3: ПБ — 0,025 %-й розчин пеклобутразолу.

ТАБЛИЦА 2. Формування бульбочок та їх нітрогеназна активність у рослині сорту Подільська 1 за дії инокуляції та 0,025 %-го розчину пеклобутразолу

Варіант	Фаза розвитку рослин									
	Квітіння					Плодоутворення				
	Маса бульбочок, г	Кількість бульбочок, шт.	НА, мкмоль С ₂ Н ₄ /(рослина·год)	Маса бульбочок, мг	Кількість бульбочок, шт.	НА, мкмоль С ₂ Н ₄ /(рослина·год)	Маса бульбочок, г	Кількість бульбочок, шт.	НА, мкмоль С ₂ Н ₄ /(рослина·год)	
Контроль	0,03 ± 0,01	7,4 ± 0,1	0,01 ± 0,02	0,14 ± 0,01	11,5 ± 0,1	0,06 ± 0,03	0,16 ± 0,04	17,0 ± 0,5	0,08 ± 0,1	
6346	0,18 ± 0,02	20,2 ± 1,1	0,54 ± 0,03	0,34 ± 0,01	23,9 ± 1,2	1,31 ± 0,01	0,37 ± 0,06	34,8 ± 0,8	1,11 ± 0,2	
6346/ПБ	0,23 ± 0,03	25,4 ± 1,2	0,87 ± 0,02	0,32 ± 0,02	44,7 ± 2,1	1,36 ± 0,04	0,40 ± 0,1	57,9 ± 1,0	1,50 ± 0,2	
71г	0,21 ± 0,03	46,9 ± 1,4	1,11 ± 0,03	0,38 ± 0,03	65,4 ± 0,8	1,41 ± 0,02	0,42 ± 0,1	72,1 ± 2,7	1,16 ± 0,2	
71г/ПБ	0,22 ± 0,02	24,1 ± 0,9	0,82 ± 0,03	0,40 ± 0,03	47,9 ± 1,2	1,22 ± 0,13	0,47 ± 0,1	67,4 ± 1,8	1,64 ± 0,17	

Примітка. НА — нітрогеназна активність; середні дані за 2005—2006 рр.



Вплив штамів *Bradyrhizobium japonicum* на формування симбіотичного апарату рослин сої сорту Подільська 1 (фаза формування бобів):

1 — контроль (без інокуляції); 2 — штам 6346; 3 — штам 71т

му 71т супроводжувалось зниженням їх нітрогеназної активності у фази бутонізації—початку цвітіння та початку формування бобів, тоді як у фазу масового плодоутворення цей показник значно зростає. Звідси можна дійти висновку, що застосування ретарданту в досліді призводить до зміщення піка активності симбіотичного апарату на пізніший етап онтогенезу.

Такий складний характер комбінованого впливу мікросимбіонтів і ретарданту на формування азотфіксуючого апарату і нітрогеназну активність бульбочок підтверджує висловлену в літературі думку про істотний вплив фітогормонів та інших біологічно активних сполук на формування і функціонування симбіотичних систем. Зокрема, відмічався позитивний вплив регуляторів росту рослин на небактеризовані рослини і відсутність такого впливу в разі поєднання передпосівної бактеризації насіння з обробкою регуляторами росту [3]. При цьому основною причиною відсутності ефекту або навіть зниження показників нітрогеназної активності автори вважали надмірну кількість фітогормонів, які частково синтезуються бактеріальною культурою. На нашу думку, протилежний вплив — блокування синтезу гіберелінів у рослині за дії паклобутразолу призводив до неоднакових змін співвідношення гормональних компонентів симбіотичного комплексу за участі в них різних штамів бактеріальної культури, що і проявилось у різній інтенсивності формування бульбочок та їх нітрогеназної активності.

У другу половину вегетації сої з'являються нові потужні атрагувальні центри — боби. Відомо, що застосування ретардантів зумовлює інтенсивніше надходження продуктів фотосинтезу до плодів і насіння внаслідок штучного уповільнення росту вегетативних органів — стебла і листків та утворення внаслідок цього надлишку асимілятів [4, 6].

Результати аналізу структури урожаю сої на фоні інокуляції і сумісного її застосування з паклобутразолом підтвердили позитивний вплив обробки на кількість бобів, насінневу продуктивність, урожайність культури (табл. 3).

Сумісне застосування штаму 71т і паклобутразолу приводило до зростання кількості бобів і маси насіння на рослині порівняно з передпосівною обробкою лише бульбочковими бактеріями. Паклобутразол на

ЭФФЕКТИВНОСТЬ СИМБИОТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ

ТАБЛИЦА 3. Структура врожаю сои сорту Подільська 1 за дії інокуляції та 0,025 %-го розчину паклобутразолу

Варіант	Кількість бобів на рослині, шт.	Кількість насіння на рослині, шт.	Маса насіння на рослині, г	Урожайність, ц/га
Контроль	14,8 ± 1,3	27,7 ± 1,1	3,50 ± 0,1	14,67 ± 0,8
6346	21,7 ± 0,9*	43,56 ± 1,6*	6,25 ± 0,15*	26,25 ± 1,2*
6346/ПБ	24,4 ± 1,2*	47,07 ± 0,9*	7,04 ± 0,11*	29,57 ± 1,4*
71т	23,3 ± 1,1*	46,38 ± 1,2*	6,70 ± 0,2*	28,14 ± 1,0*
71т/ПБ	25,1 ± 1,2*	47,03 ± 1,1*	7,23 ± 0,18*	30,37 ± 1,5*

Примітка: середні дані за 2004—2006 рр. *Різниця вірогідна за $P \leq 0,05$.

фоні передпосівної обробки насіння штамом 6346 сприяв збільшенню кількості бобів, кількості і маси насіння на одній рослині, що відповідало підвищенню нітрогеназної активності в цьому варіанті (див. табл. 2).

Отже, серед застосованих у досліді штамів на сірих лісових середньосуглинкових ґрунтах у кліматичних умовах Вінницької обл. найефективнішим виявився штам 71т. Паклобутразол зміщував пік активності нітрогенази на пізніший етап онтогенезу. За дії ретарданту підвищувалась нітрогеназна активність симбіотичної системи та зростала насіннева продуктивність рослин, інокульованих штамми 71т і 6346.

1. Адамень Ф.Ф. Эффективность инокуляции сои. — Симферополь: Таврида, 1995. — 30 с.
2. Береговенко С.К. Интенсивность фотосинтетических процессов разных сортов сои залежно від інокуляції ефективними штамми *Bradyrhizobium japonicum* // Наук. зап. Тернопіл. пед. ун-ту імені Володимира Гнатюка. Сер. Біологія. — 2003. — 2(21). — С. 19—23.
3. Волкогон В.В., Сальник В.П. Значення регуляторів росту рослин у формуванні активних азотфіксувальних симбіозів та асоціацій // Физиология и биохимия культ. растений. — 2005. — 27, № 3. — С. 187—196.
4. Кириций Д.А. Фотосинтез и рост растений в аспекте донорно-акцепторных отношений. — Киев: Логос, 2004. — 191 с.
5. Коць С.Я., Береговенко С.К., Кириченко Е.В., Мельникова Н.Н. Особенности взаимодействия растений и азотфиксирующих микроорганизмов. — Киев: Наук. думка, 2007. — 314 с.
6. Кур'ята В.Г. Физиолого-біохімічні механізми дії ретардантів і етиленпродуцентів на рослини ягідних культур: Автореф. дис. ... д-ра біол. наук. — К., 1999. — 40 с.
7. Кур'ята В.Г., Негрецький В.А., Рогач В.В. та ін. Дія паклобутразолу на активність гіберелінів і вміст абсцизової кислоти в листках деяких сільськогосподарських рослин // Физиология и биохимия культ. растений. — 2005. — 37, № 5. — С. 452—458.
8. Лапинская Э.Б. Влияние фитогормонов на эффективность инокуляции люцерны и клевера различными штаммами клубеньковых бактерий // Агрехимия. — 2002. — № 5. — С. 68—76.
9. Патица В.П., Коць С.Я., Волкогон В.В. та ін. Біологічний азот. — К.: Світ, 2003. — 652 с.
10. Федорова Е.Э., Жизневская Г.Я., Альжаппарова Ж.К., Измайлов С.Ф. Фитогормоны в азотфиксирующих клубеньках бобовых растений // Физиология и биохимия культ. растений. — 1991. — 23, № 5. — С. 426—438.
11. 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, N 8. — P. 1185—1207.
12. Swaraj K., Garg O.P. The effect of gibberellic acid when applied to the rooting medium on nodulation and nitrogen fixation in gram (*Cicer arietinum*) // Physiol. Plant. — 1970. — 23. — P. 747—754.
13. Williams P.M., Sicardi de M.M. Effect of gibberellins and the growth retardant CCC on the nodulation of soya // Plant and Soil. — 1984. — 77, N 1. — P. 53—60.
14. Yhurber J.A., Douglas J.R., Galson A.N. Inhibitory effect of gibberellins on nodulation in dwarf beans, *Phaseolus vulgaris* // Nature. — 1958. — 181. — P. 1082—1083.

Отримано 01.07.2009

ЭФФЕКТИВНОСТЬ СИМБИОТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ СОЯ — *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПАКЛОБУТРАЗОЛА

В.Г. Курьята,¹ Л.А. Голунова,¹ С.К. Береговенко²

¹Винницкий государственный педагогический университет им. М. Коцюбинского

²Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

Изучены особенности формирования и функционирования симбиотических систем соя—*Bradyrhizobium japonicum*, образованных разными штаммами без использования и с использованием антигиббереллинового препарата паклобутразола. Наиболее эффективной оказалась предпосевная инокуляция семян штаммом 71т, что проявилось в увеличении количества и повышении нитрогеназной активности клубеньков по сравнению с производственным штаммом 634б. Комплементация генотипов макро- и микросимбионтов при формировании бобово-ризобияльного комплекса в значительной степени определяется гормональным статусом растения. Использование ретарданта приводило к повышению нитрогеназной активности симбиотических систем и увеличению продуктивности растений, инокулированных штаммами 71т и 634б.

EFFICIENCY OF THE SYMBIOTIC SYSTEM SOYBEAN — *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* UNDER THE INFLUENCE OF PACLOBUTRAZOL

V.G. Kuryata,¹ L.A. Golunova,¹ S.K. Beregovenko²

¹M. Kotsyubynsky State Pedagogical University

32 Ostrozhsky St., Vinnytsia, 21100, Ukraine

²Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine

31/17 Vasykivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

The peculiarities of formation and functioning of the symbiotic systems soybean — *Bradyrhizobium japonicum* strains under and without influence of the antigibberellic retardant paclobutrazol were studied. Preliminary inoculation of the seeds with strain 71t proved to be the most efficient, for it provided increase of the root nodules in quantity as well as increase of their nitrogenase activity in comparison with industrial strain 634b. Complementation of macro- and microsymbionts genotypes during soybean — rhizobia complex formation was considerably determined by phytohormonal status of the plants. The retardant application increased nitrogenase activity of symbiotic systems and productivity of soybean plants inoculated with strains 71t and 634b.

Key words: *Glycine max* (L.) Merr., nitrogen fixation, retardants, source-sink relation, productivity.