

ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

УДК 581.1+582.23+582.73

doi: 10.25128/2078-2357.21.4.9

Г. Б. ГУЛЯЄВА, Н. В. ЖИТКЕВИЧ, Т. Т. ГНАТЮК, В. П. ПАТИКА

Інститут мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАНУ
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143
e-mail: ab_k@ukr.net

ФОТОХІМІЧНА АКТИВНІСТЬ ЛИСТКІВ СОЇ ЗА ДІЇ ФІТОПАТОГЕННИХ БАКТЕРІЙ РІЗНОЇ ВІРУЛЕНТНОСТІ

Методом індукції флюоресценції хлорофілу виявлено, що ступінь деградації хлорофілу та пригнічення фотосинтетичної активності в листках сої за штучного інфікування бактеріальними штамми, виділеними з різних видів рослин родини *Fabaceae* залежала від вірулентності штамів: більш негативно діючим виявився виділений із рослин сої високо вірулентний штам *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* 9284, порівняно з виділеним із квасолі низько вірулентним до сої штамом – *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* 8843. За пролонгованої дії патогенних бактеріальних штамів *X. axonopodis* pv. *glycines* 9284 і *X. axonopodis* pv. *phaseoli* 843 (два тижні) показано суттєве пригнічення каталазної і пероксидазної активності, що є свідченням посилення утворення АФК в тканинах листків. Виявлено, що високо вірулентний штам найістотніше пригнічував каталазну активність тканин листків.

Ключові слова: соя, *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, каталаза, пероксидаза, індукція флюоресценції хлорофілу, фотосистема II.

Соя – одна з основних білково-олійних культур із широким спектром застосування у харчовій, кормовій, технічній і медичній галузях. Завдяки значному попиту на сою, за останні п'ятдесят років світове її виробництво значно зросло за рахунок застосуванню основних стратегій – підвищення продуктивності та розширення посівних площ. Як азотфіксатор вона збагачує ґрунт азотом, покращує його структуру, є цінним попередником. Феномен культури полягає в тому, що за вегетаційний період нею синтезуються два врожаї – білка й рослинної олії. Білок сої за хімічним складом і вмістом амінокислот близький до тваринних білків, а за перетравленням – до казеїну молока [7, 8, 23]. Варто відзначити, що суттєвим фактором обмеження продуктивності сої є її ураження фітопатогенними збудниками різної природи, зокрема бактеріальної [14]. Одним із найбільш шкодочинних збудників посівів сої, що викликає пустульний бактеріоз, є – *X. axonopodis* pv. *Glycines*. Він переважно уражує листовий апарат і призводить до значних втрат урожаю – до 40 % у деяких регіонах. Разом із тим, ізоляти зазначеного вище збудника різного походження можуть відрізнятися за агресивністю та здатністю викликати реакцію надчутливості при зараженні несумісних рослин-хазяїв [14, 26]. Основними симптомами цього захворювання є численні дрібні пустули, утворені гіпертрофією і гіперплазією клітин паренхіми [11]. Останнім часом у посівах сої визначають ураження високо вірулентними до споріднених видів зернобобових збудниками, зокрема *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, що викликає буру плямистість квасолі (до 2 % від загального ураження посівів сої) [1]. *X. axonopodis* pv. *phaseoli* є збудником однієї з найбільш розповсюджених і шкодочинних

хвороб в усьому світі, що значно обмежує урожайність квасолі [22]. Хазяями для цього збудника є багато видів *Phaseolius*: *Helianthus annuus*, *Lupinus polyphyllus*, *Phaseolus acutifolius* і *P. Coccineus* та безсимптомні хазяї: *Senna (Cassia) hirsuta* і *Digitaria scalarum* [24].

Збудники бактеріальних хвороб викликають зміни у вуглецевому метаболізмі рослини-живителя, зокрема змінюють спрямованість донорно-акцепторних зв'язків завдяки використанню вуглецю у якості джерела живлення й екскреції специфічних метаболітів. У роботі Gottig, et al. (2008) продемонстровано, що бактеріальний білок *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* впливає на фізіологічні реакції, включаючи відкриття продихів у рослин [12]. Варто відзначити, що за допомогою генетичних аналізів виявлено гени збудників бактеріальних хвороб, що модулюють реакції не тільки специфічних рослин-хазяїв, а й неспецифічних рослин, викликаючи реакцію надчутливості. Так, у роботі Kim et al. підтверджено існування специфічних взаємодій між *X. axonopodis* pv. *glycines* й рослинами, що не є хазяями, й виділено білок-елісітор HraG, що відповідає за індукцію реакції надчутливості в рослинах, що не є хазяями [16].

Проте, особливості фізіолого-біохімічних реакцій рослин за інфікування як високо вірулентними, так і низько вірулентними штамми збудників з'ясовані недостатньо. У той же час, для експрес-аналізу особливостей фізіологічної реакції рослин на стрес, обумовлений взаємодією рослина-патоген, доцільним є застосування методу індукції флуоресценції хлорофілу [9, 15, 20].

Тому метою нашої роботи було з'ясування особливостей фізіолого-біохімічних реакцій рослин сої за інокуляції штамми бактеріозів різного походження – з листків квасолі і сої за дії на фотохімічну активність листків.

Матеріал і методи досліджень

Дослідні рослини сої вирощували в умовах теплиці (вегетаційний досвід). Дослід проводили за наступною схемою: варіанти: 1 – контроль (вода); 2 – зараження рослин сої *X. axonopodis* pv. *glycines* (ІМВ В – 9284; 3 – зараження рослин сої *X. axonopodis* pv. *phaseoli* ІМВ В – 8843. Повторність в досліді 4-ри кратна. У фазі 4–6-ти листків по 4 відібрані дослідні рослини кожного варіанту штучно інфікували штамми збудників, що одержані з Української колекції мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України (ІМВ). Фотохімічну активність листків сої визначали біофізичним методом індукції флуоресценції хлорофілу через 13 діб після ураження *X. axonopodis* pv. *glycines* 9284 і *X. axonopodis* pv. *phaseoli* 8843. Дослідження фотохімічної активності листків виконували за допомогою портативного приладу «Флоратест», сконструйованого в Інституті кібернетики ім. В. М. Глушкова НАН України [2]. За отриманими масивами даних розраховували відповідні критичні параметри ІФХ, що є відображенням змін у функціональних ланках фотосинтетичної системи. Критичні параметри, що аналізувалися: фонові флуорисценція (F_0); K_{pl} – відповідає відносній кількості Q_v – невідновлювальних комплексів, що не приймають участь у лінійному транспорті електронів ($K_{pl} = \frac{(F_{pl} - F_0)}{(F_m - F_0)}$); квантовий вихід фотосистеми II (ФСII): F_v/F_m , де $F_v = F_m - F_0$ (варіабельна

флуоресценція); параметр «зменшення флуоресценції» – $R_{fd} = \frac{F_m - F_t}{F_t}$ [2, 21].

Вірулентність бактеріальних патогенів визначали на 14 добу від штучної інокуляції бактеріальними патогенами, дані по вірулентності представлені в табл. 1.

Таблиця 1

Вірулентність дослідних бактеріальних патогенів

Штами фітопатогенів	Джерело ізолювання	Штучна інокуляція	
		соя	квасоля
<i>X. axonopodis</i> pv. <i>glycines</i> ІМВ В- 9284	лист сої	4	2
<i>X. axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> ІМВ В-8843	лист квасолі	+	4

Примітка. Оцінка агресивності збудника дана з використанням 5-ти бальної шкали, де 0 – відсутність ураження, а 4 бали – максимальний ступінь вірулентності.

Штучну інокуляцію дослідними штамми проводили на сої.

Активність каталази (КФ 1.11.1.6) виражали в кількості O_2 , що утворився в результаті дії ферменту за 1 хв на 1 г сирової маси ($мл O_2 \cdot г^{-1} \cdot хв^{-1}$). Активність неспецифічних пероксидаз (КФ 1.11.1.7) досліджували за методом Бояркіна. Активність пероксидази виражали в умовних одиницях на $1 г^{-1} \cdot с^{-1}$ сирової речовини тканини [13]. Визначення оксидоредуктаз (каталази, пероксидази) проводили на 14 день від початку ураження.

Статистичну обробку одержаних результатів виконували за методикою Доспехова [3] та з використанням комп'ютерних програм Microsoft Excel.

Результати досліджень та їх обговорення

У результаті дослідження виявлено істотний вплив штучного інфікування рослин сої різними за вірулентністю штамми фітопатогенних бактерій роду *Xanthomonas*, виділених із рослин родини *Fabaceae* (сої і квасолі), який позначався у зниженні рівня флюоресценції хлорофілу, що візуалізовано на кривих Каутського (рис. 1).

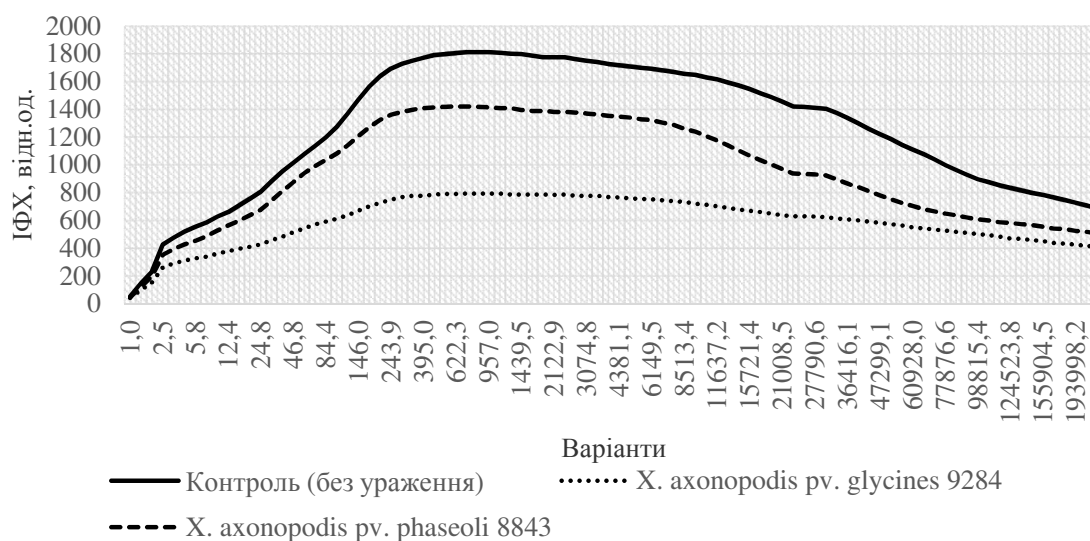


Рис. 1. Візуалізація змін флюоресценції хлорофілу за штучного зараження рослин сої різними за вірулентністю бактеріальними штамми: *X. axonopodis* pv. *glycines* 9284 (з сої) і *X. axonopodis* pv. *phaseoli* 8843 (з квасолі).

Показано зниження величини мінімальної флюоресценції F_0 на 37,0 % і 15,4 % за інфікування різними за вірулентністю штамми: *X. axonopodis* pv. *glycines* 9284 (з сої) і *X. axonopodis* pv. *phaseoli* 8843 (з квасолі) відповідно (рис. 2 а). Спостерігалось також суттєве зниження величини F_m на цих варіантах – на 54,9 % (*X. axonopodis* pv. *glycines* 9284) і 19,3 % (*X. axonopodis* pv. *phaseoli* 8843) (рис. 2 б). Відомо, що параметр F_0 представляє кількість відкритих реакційних центрів, коли первинний акцептор електронів Q_A знаходиться в окисленому стані, й відповідає величині флюоресценції хлорофілу при міграції енергії збудження по пігментній матриці. Тоді, як параметр F_m відповідає максимальній флюоресценції, коли первинні акцептори електронів повністю відновлені [2, 19, 21]. За цими двома параметрами можна робити висновок про вміст хлорофілу в листках [25].

Зокрема, зниження величини F_m може свідчити про блокування ресинтезу хлорофілу, його деградацію і відповідне зниження вмісту [6]. Варто зазначити, що за візуальним обліком, листки рослин сої, що були уражені фітопатогенними штамми, відрізнялися суттєвим пожовтінням, що, відповідно, свідчить про руйнування хлорофілу, спричинене більш швидким їх старінням порівняно із листками інтактних рослин сої. Отже, інфікування рослин сої штамми: високо вірулентним до сої – *X. axonopodis* pv. *glycines* і низько вірулентним до сої й високо вірулентним до квасолі – *X. axonopodis* pv. *phaseoli* – спричинювало зниження вмісту

хлорофілу *a* в листках залежно від ступеня вірулентності. Разом із тим значне – на 11,8 % – зниження максимальної квантової ефективності ФСII (F_v/F_m) на варіанті з зараженням рослин сої високо вірулентним штамом *X. axonopodis* pv. *glycines* 9284 (рис. 2 в) свідчить про фотоінгібування чи пошкодження антенних комплексів ФСII фотосинтетичного апарату рослин сої за дії цих штамів. У той же час, за дії *X. axonopodis* pv. *phaseoli* 8843 спостерігалась лише тенденція до зниження максимальної квантової ефективності фотохімії ФСII (див. рис. 2 в), що показує менш агресивну дію цього штаму на рослини сої.

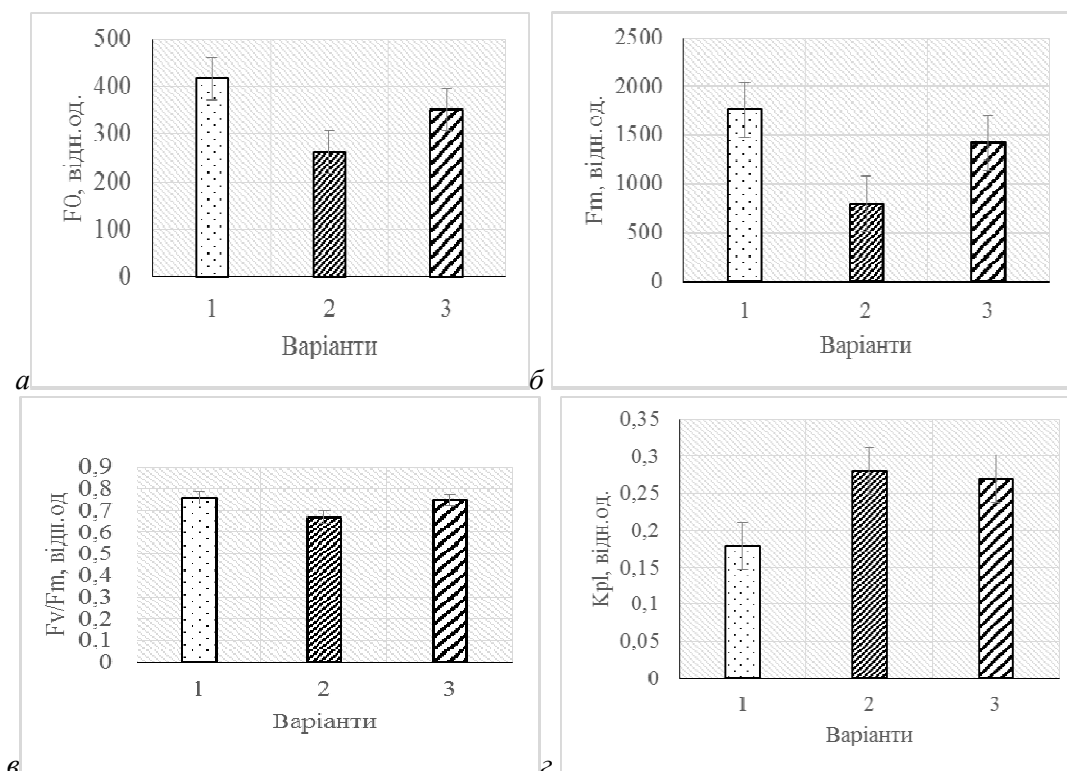


Рис. 2. Вплив штучного зараження різними штамми фітопатогенних бактерій *Xanthomonas* на швидку фазу флюоресценції листків сої (а- F_0 , б- F_m , в- F_v/F_m , г- K_{pl}), (варіанти: 1–контроль (вода); 2 – зараження рослин сої *X. axonopodis* pv. *glycines* 9284; 3– зараження рослин сої *X. axonopodis* pv. *phaseoli* 8843).

У роботі Bonfig et al., де наведені результати досліджень впливу інфікування вірулентним і авірулентним штамми *P. syringae* на зміни фотосинтезу і флюоресценції хлорофілу, показано зниження максимальної квантової ефективності ФСII за інфікування будь-яким штамом [10].

За інфікування обома штамми виявлено збільшення показника K_{pl} на 55,5 % і 50,0 % за впливу високо та низько вірулентного штамів відповідно (рис. 2 г). Відомо, що цей показник відповідає кількості Q_B -невідновлювальних комплексів ФСII, які не беруть участь у лінійній передачі електронів у електрон-транспортному ланцюгу (ЕТЛ) ФСII [6]. Отже, за впливу інфікування означеними штамми на фотосинтетичний апарат рослин відбувалося зниження ефективності залучення квантів світла у ЕТЛ ФСII, тобто зниження ефективності «світлової» фази фотосинтезу.

За дією на параметр «зменшення флюоресценції» R_{fd} , що показує активність асиміляції вуглецю в циклі Кальвіна спостерігалось найбільше пригнічення цієї величини за дії штучного інфікування високо вірулентним штамом – *X. axonopodis* pv. *glycines* 9284 – на 54,5 %, й менш істотне – за інфікування низько вірулентним штамом – *X. axonopodis* pv. *phaseoli* 8843 – на 10,8 % (рис. 3).

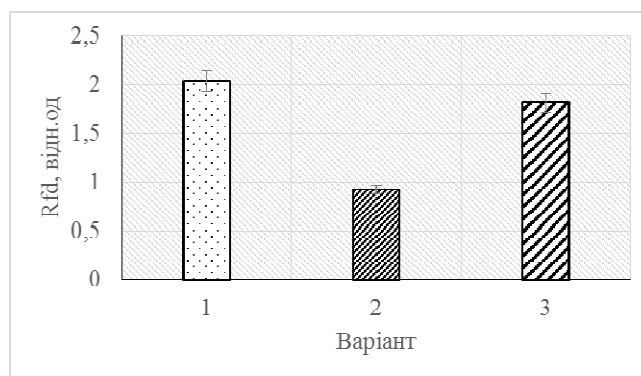


Рис. 3. Вплив штучного зараження різними штамами фітопатогенних бактерій *Xanthomonas* на параметр «зменшення флюоресценції» R_{fd} листків сої (варіанти: 1– контроль (вода); 2–зараження рослин сої *X. axonopodis* pv. *glycines* 9284; 3 – зараження рослин сої *X. axonopodis* pv. *phaseoli* 8843.

Таким чином, високо вірулентний до сої штам *X. axonopodis* pv. *glycines* 9284 найбільше пригнічував фотохімічну активність фотосинтетичного апарату сої, тоді як низько вірулентний штам *X. axonopodis* pv. *phaseoli* 8843 (високо вірулентний до квасолі) впливав на фотосинтетичний апарат сої в меншій мірі.

Відомо, що під час ураження патогеном у рослині виробляються активні форми кисню (АФК). Різні АФК можуть діяти як індуктори окиснюваного стресу або сигнальні молекули, які формують відповідь рослин на патогени й модулюють підвищення стійкості рослинного організму. Накопичення АФК за дії стресорів може бути зумовлене не лише підвищенням активності АФК-генеруючих ферментів, а й зниженням активності антиоксидантних ферментів, зокрема каталази, яка чутлива до дії багатьох несприятливих чинників. Найбільш стабільною молекулою АФК є пероксид водню [4]. Основну регуляторну роль у підтриманні нормального рівня пероксиду водню, розкладаючи його до кисню і води, відіграють субстрат-регуляторні ферменти каталаза і пероксидаза [18], тому їх активність часто цікавить дослідників.

Дослідження активності антиоксидантних ферментів пероксидази і каталази показало суттєве пригнічення активності цих ферментів за дії *X. axonopodis* pv. *glycines* 9284 і *X. axonopodis* pv. *phaseoli* 8843 у період інтенсивного прояву зараження. Пероксидазна активність тканин листків сої знизилася за дії *X. axonopodis* pv. *glycines* 9284 на 35,8 %, а *X. axonopodis* pv. *phaseoli* 8843 – на 46,8 %. Каталазна активність знижувалася за штучного ураження *X. axonopodis* pv. *glycines* 9284 на 78,1 %, а *X. axonopodis* pv. *phaseoli* 8843 – на 63,8 % (табл. 2). Таким чином, через два тижні після штучного інфікування сої збудниками знижувалась активність антиоксидантних ферментів за дії обох штамів. Проте, за ураження високо вірулентним збудником найбільше пригнічувалась каталазна активність тканин листків, а за інфікування менш вірулентним збудником – пероксидазна. Відомо, що окиснюваний стрес може бути спричинений за рахунок інгібування каталази саліциловою кислотою [4, 5, 17]. Таке явище може свідчити про значно більший пул АФК за інфікування високо вірулентним збудником за умов найбільшого пригнічення каталазної активності, що саме і призводило до найбільш шкодочинних проявів інфікування.

Таблиця 2

Ферментативна активність листків сої за штучного ураження фітопатогенними бактеріями

Варіанти	Каталазна активність, мл $O_2 \cdot g^{-1} \cdot хв^{-1}$	Пероксидазна активність, $D_{670} \cdot g^{-1} \cdot c^{-1}$
Контроль	29,75±1,4	2,54±0,06
<i>X. axonopodis</i> pv. <i>glycines</i> 9284	6,52±0,32	1,63±0,05
<i>X. axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> 8843	10,77±0,54	1,35±0,07

Посилення утворення АФК за дії патогенів полягає в їх безпосередньому знищенні у місцях проникнення інфекції: так званий «окиснювальний вибух» – складова реакції надчутливості. У ході такої реакції відбувається загибель патогенів разом із частиною рослинних тканин, що некротизуються [6]. Тобто, виявлене нами суттєве пригнічення активності антиоксидантних ферментів каталази і пероксидази за інфікування дослідними збудниками є свідченням посилення утворення АФК у тканинах листків за інтенсивного розвитку інфекційного процесу.

Отже, нами виявлений більш негативний вплив на фотосинтетичний апарат сої за штучного інфікування штамом *X. axonopodis* pv. *glycines* 9284, що є високо вірулентним до рослин сої, тоді як слабко вірулентний до сої штам *X. axonopodis* pv. *phaseoli* 8843 менш негативно впливав на фотосинтетичний апарат сої за пролонгованої дії інфекції.

Висновки

Методом індукції флюоресценції хлорофілу виявлено, що ступінь деградації хлорофілу та пригнічення фотосинтетичної активності в листках сої за штучного інфікування бактеріями роду *Xanthomonas*, виділених з різних видів родини *Fabaceae*, залежала від вірулентності штамів: більш негативно діючим виявився виділений із рослин сої високо вірулентний штам *X. axonopodis* pv. *glycines* 9284, порівняно з виділеним із квасолі низько вірулентним до сої штамом – *X. axonopodis* pv. *phaseoli* 8843.

Зараження рослин сої високо вірулентним штамом *X. axonopodis* pv. *glycines* 9284 спричинювало істотне пригнічення максимальної квантової ефективності ФСП, що свідчить про руйнування пігмент-білкових комплексів.

Високо вірулентний до сої штам *X. axonopodis* pv. *glycines* 9284 найбільше пригнічував фотосинтетичну активність листків сої, тоді як низько вірулентний штам *X. axonopodis* pv. *phaseoli* 8843 (високо вірулентний до квасолі) впливав на фотосинтез у меншій мірі.

За пролонгованої дії патогенних бактеріальних штамів *X. axonopodis* pv. *glycines* 9284 і *X. axonopodis* pv. *phaseoli* 8843 показано суттєве пригнічення каталазної і пероксидазної активності, що є свідченням посилення утворення АФК у тканинах листків. Виявлено, що високо вірулентний штам найістотніше пригнічував каталазну активність тканин листків.

1. Гнатюк Т. Т., Патица В. П. Поширення та біологія збудників бактеріозів сої роду *Xanthomonas*. *Матеріали конференції V Всеукраїнського з'їзду екологів*, 23–26 вересня 2015 р., Вінниця : ВНТУ, 2015. С. 129.
2. Гуляєва Г. Б. Токовенко І. П., Богдан М. М., Патица М. В., Пасічник Л. А., Буценко Л.М. Метод індукції флюоресценції хлорофілу у фітопатологічних дослідженнях: методичні рекомендації / за ред. Г. Б. Гуляєвої. Київ : ФОП Ямчинський О.В., 2020. 33 с.
3. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. М. : Агропромиздат, 1985. 351 с.
4. Колупаєв Ю. Є., Обозний О. І. Активні форми кисню і антиоксидантна система при перехресній адаптації рослин до дії абіотичних стресорів. *Вісник ХНАУ. Сер. Біологія*. 2013. Вип. 3 (30). С. 18–31.
5. Колупаєв Ю. Є. Основи фізіології стійкості рослин: курс лекцій. Харків, 2010. 121 с.
6. Манько М. В., Олексійченко Н. О., Китаєв О. І. Особливості індукції флюоресценції хлорофілу в листках рослин культиварів *Acer platanoides* l. в умовах міста Києва. *Науковий вісник НЛТУ України*. 2016. Вип. 26.5. С. 102–109.
7. Соя: монографія / В.Ф. Петриченко, В.В. Лихочвор, С.В.Іванюк, О.В. Корнійчук, С.І. Колісник, С.Я. Кобак, В.С. Задорожний, Л.П. Чернолата, М.Ф. Кулик, Ю.В. Обертюх, І.С. Воронецька, В.П. Патица, Т.Т. Гнатюк, О.О. Алексеев, А.В. Калініченко, С.Я. Коць, С.К. Береговенко, О.М. Захарова. Вінниця : «Діло», 2016. 400 с.
8. Хвороби сої: моніторинг, діагностика, захист: монографія / Петриченко В.Ф., Патица В.П., Пасічник Л.А., Житкевіч Н.В., Гуляєва Г.Б., Токовенко І.П. та ін.; за ред. В.Ф. Петриченко, В.П. Патики. Вінниця : «Віндрук», 2016. 106 с.
9. Baker N. R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annu Rev Plant Biol*. 2008. Vol. 59. P. 89–113. DOI: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092759.

10. Bonfig K. B. Infection with virulent and avirulent *P. syringae* strains differentially affects photosynthesis and sink metabolism in *Arabidopsis* leaves / [K.B. Bonfig, U. Schreiber, A. Gabler et al]. *Planta*. 2006. Vol. 225 (1). P. 1–12. DOI: 10.1007/s00425-006-0303-3.
11. Chatnarat T., Prathuangwong S., Lindow S. E. Global Pattern of Gene Expression of *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* Within Soybean Leaves. *MPMI*. 2016. Vol. 29 (6). P. 508–522 Doi:10.1094/MPMI-01-16-0007-R
12. Gottig N. *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* uses a plant natriuretic peptide-like protein to modify host homeostasis / [N.Gottig, B.S.Garavaglia, L.D. Daurelio et al]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008. Vol. 105 (47). P. 18631–18636. DOI:10.1073/pnas.0810107105
13. Huliaieva H. Effect of nanoaquacitrates on physiological parameters of Fodder Galega infected with phytoplasma / [H. Huliaieva, I. Tokovenko, V. Maksin et al] // *Ecol Chem Eng S.*, 2018.– Vol.25(1).– P. 153-168 DOI:10.1515/eces-2018-0011
14. Kaewnum S., Prathuangwong S., Burr T. J. Aggressiveness of *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* isolates to soybean and hypersensitivity responses by other plants. *Plant pathology*. 2005. Vol. 54 (3). P. 409–415. DOI:10.1111/j.1365-3059.2005.01176.x
15. Kalaji H.M. Frequently asked questions about in vivo chlorophyll fluorescence: practical issues / [H.M. Kalaji, G. Schansker, R.J. Ladle et al]. *Photosynth Res*. 2014. Vol.122 (2). 121–58. DOI: 10.1007/s11120-014-0024-6.
16. Kim J. G. Characterization of the *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* Hrp pathogenicity island / [J. G. Kim, B. K. Park, C. H Yoo et al]. *Journal of bacteriology*. 2003. Vol. 185 (10). P. 3155–3166. DOI:10.1128/JB.185.10.3155-3166.2003
17. Kolupaiev Yu.Ye., Karpets Yu. V. Reactive oxygen species during plant adaptation to stress temperatures. *Physiology and biochemistry of cultivated plants*. 2009. T. 41, No. 2. P. 95–108.
18. Lutskiy M. A. The activity of the endogenous antioxidant defense system in the process of vital activity of the organism / M.A. Lutskiy, T.V. Kuksova, M.A. Smelyanets [ta in] // *Successes of modern natural science*. 2014. No. 12 (part 1) S. 20–23.
19. Martinazzo E. G., Ramm A., Bacarin M. A. The chlorophyll a fluorescence as an indicator of the temperature stress in the leaves of *Prunus persica*. *Braz. J. Plant Physiol*. 2012. Vol. 24 (4). P. 237–246.
20. Méline V. Computation Method Based on the Combination of Chlorophyll Fluorescence Parameters to Improve the Discrimination of Visually Similar Phenotypes Induced by Bacterial Virulence Factors / [V.Méline, C. Brin, G. Lebreton et al]. *Front. plant sci*. 2020. Vol. 11. P. 213. DOI:10.3389/fpls.2020.00213
21. Misra A. N. Chlorophyll Fluorescence in Plant Biology / A.N. Misra, M.Misra, R.Singh; Misra A.N. (ed.). In book: *Biophysics*. Ch. 7, Publisher: Intech, 2012. P. 171–192. DOI: 10.5772/35111
22. Nunes W. M. C. Characterization of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* isolates / [W. M.C. Nunes, M. J. Corazza, S. Aparecida et al. *Summa phytopathol*. 2008. Vol. 34 (3). P. 228–231. Doi:10.1590/S0100-54052008000300004
23. Ritchie H., Roser M. Soy [Online Resource]/ H. Ritchie, M.Roser // Published online at OurWorldInData.org. 2021. Retrieved from: <https://ourworldindata.org/soy>.
24. *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (bean blight). CABI. [Online Resource]. 2019. Retrieved from: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/56962>
25. Zhorii A. In situ chlorophyll fluorescence kinetics as a tool to quantify effects on photosynthesis in *Euphorbia cyparissias* by a parasitic infection of the rust fungus *Uromyces pisi* / [A.Zhorii, M.Meco, H.Brandl et al.]. *BMC Res Notes*. 2015. Vol. 8. 698 Doi:10.1186/s13104-015-1681-z
26. Zinsou V. A. Occurrence and characterisation of *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*, causing bacterial pustules on soybean in Guinea Savanna of benin / [V.A.Zinsou, L.A.C.Afouda, N.Zoumarou-Wallis та ін]. *African Crop Science Journal*. 2015. Vol. 23 (3). P. 203–210.

References

1. Hnatiuk T. T., Patyka V. P. Poshyrennia ta biolohiia zbudnykiv bakterioziv soi rodu *Xanthomonas* : Materialy konferentsii V Vseukrainskoho zizdu ekolohiv, 23–26 veresnia 2015 r.: tezy dopovidei. Vynnytsia : VNTU, 2015. S.129. [in Ukrainian]
2. Huliaieva H. B., Tokovenko I. P., Bohdan M. M. Metod induktsii fliuorestsentsii khlorofilu u fitopatolohichnykh doslidzhenniakh. Metodychni rekomendatsii; za red. H. B. Huliaievoi. Kyiv : FOP Yamchynskiy O.V., 2020. 33 s. [in Ukrainian]
3. Dospekhov B. A. Metodyka polevoho opyta. M. : Ahropromyzdat, 1985. 351 s. [in Russian]

4. Kolupaiev Yu. Ye., Oboznyi O. I. Aktivni formy kysniu i antyoksydantna systema pry perekhresnii adaptatsii roslin do dii abiotychnykh stresoriv. *Visnyk KhNAU. Ser. Biologhiia*, 2013. Vyp. 3 (30). S. 18–31. [in Ukrainian]
5. Kolupaiev Yu. Ye. Osnovy fiziologii stiikosti roslin: Kurs lektzii. Kharkiv, 2010. 121 s. [in Ukrainian]
6. Manko M. V., Oleksiichenko N. O., Kytaiev O. I. Osoblyvosti induktsii fluorestsentsii khlorofilu v lystkakh roslin kultyvariv *Acer platanoides* l. v umovakh mista Kyieva. *Naukovyi visnyk NLTU Ukrainy*. 2016. Vyp. 26.5. S.102–109. [in Ukrainian]
7. Soia: monohrafiia / [Petrychenko V.F., Lykhochvor V.V., Ivaniuk S.V. ta in.]. Vinnytsia: «Dilo». 2016. 400 s. [in Ukrainian]
8. Khvoroby soi: monitorynh, diahnostyka, zakhyst: [monohrafiia]/ [Petrychenko V.F., Patyky V.P., Pasichnyk L.A. ta in.]; za red. V.F. Petrychenko, V.P. Patyky. Vinnytsia : «Vindruk». 2016. 106 s. [in Ukrainian]
9. Baker N. R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annu Rev Plant Biol.* 2008. Vol. 59. P. 89–113. DOI: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092759.
10. Bonfig K. B. Infection with virulent and avirulent *P. syringae* strains differentially affects photosynthesis and sink metabolism in *Arabidopsis* leaves / [K.B. Bonfig, U. Schreiber, A. Gabler et al]. *Planta*. 2006. Vol. 225 (1). P. 1–12. DOI: 10.1007/s00425-006-0303-3.
11. Chatnarat T., Prathuangwong S., Lindow S. E. Global Pattern of Gene Expression of *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* Within Soybean Leaves. *MPMI*. 2016. Vol. 29 (6). P. 508–522 Doi:10.1094/MPMI-01-16-0007-R
12. Gottig N. *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* uses a plant natriuretic peptide-like protein to modify host homeostasis / [N.Gottig, B.S.Garavaglia, L.D. Daurelio et al]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008. Vol. 105 (47). P. 18631–18636. DOI:10.1073/pnas.0810107105
13. Hulciaieva H. Effect of nanoaquacitrates on physiological parameters of Fodder Galega infected with phytoplasma / [H. Hulciaieva, I. Tokovenko, V. Maksin et al] // *Ecol Chem Eng S.*, 2018.– Vol.25(1).– P. 153-168 DOI:10.1515/eces-2018-0011
14. Kaewnum S., Prathuangwong S., Burr T. J. Aggressiveness of *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* isolates to soybean and hypersensitivity responses by other plants. *Plant pathology*. 2005. Vol. 54 (3). P. 409–415. DOI:10.1111/j.1365-3059.2005.01176.x
15. Kalaji H.M. Frequently asked questions about in vivo chlorophyll fluorescence: practical issues / [H.M. Kalaji, G. Schansker, R.J. Ladle et al]. *Photosynth Res*. 2014. Vol.122 (2). 121–58. DOI: 10.1007/s11120-014-0024-6.
16. Kim J. G. Characterization of the *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* Hrp pathogenicity island / [J. G. Kim, B. K. Park, C. H Yoo et al]. *Journal of bacteriology*. 2003. Vol. 185 (10). P. 3155–3166. DOI:10.1128/JB.185.10.3155-3166.2003
17. Kolupaiev Yu.Ye., Karpets Yu. V. Reactive oxygen species during plant adaptation to stress temperatures. *Physiology and biochemistry of cultivated plants*. 2009. T. 41, No. 2. P. 95–108.
18. Lutskiy M. A. The activity of the endogenous antioxidant defense system in the process of vital activity of the organism / M.A. Lutskiy, T.V. Kuksova, M.A. Smelyanets [ta in] // *Successes of modern natural science*. 2014. No. 12 (part 1) S. 20–23.
19. Martinazzo E. G., Ramm A., Bacarin M. A. The chlorophyll a fluorescence as an indicator of the temperature stress in the leaves of *Prunus persica*. *Braz. J. Plant Physiol.* 2012. Vol. 24 (4). P. 237–246.
20. Méline V. Computation Method Based on the Combination of Chlorophyll Fluorescence Parameters to Improve the Discrimination of Visually Similar Phenotypes Induced by Bacterial Virulence Factors / [V.Méline, C. Brin, G. Lebreton et al]. *Front. plant sci.* 2020. Vol. 11. P. 213. DOI:10.3389/fpls.2020.00213
21. Misra A. N. Chlorophyll Fluorescence in Plant Biology / A.N. Misra, M.Misra, R.Singh; Misra A.N. (ed.). In book: *Biophysics*. Ch. 7, Pabliisher: Intech, 2012. P. 171–192. DOI: 10.5772/35111
22. Nunes W. M. C. Characterization of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* isolates / [W. M.C. Nunes, M. J. Corazza, S. Aparecida et al. *Summa phytopathol.* 2008. Vol. 34 (3). P. 228–231. Doi:10.1590/S0100-54052008000300004
23. Ritchie H., Roser M. Soy [Online Resource]/ H. Ritchie, M.Roser // Published online at OurWorldInData.org. 2021. Retrieved from: <https://ourworldindata.org/soy>.
24. *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (bean blight). CABI. [Online Resource]. 2019. Retrieved from: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/56962>

25. Zhorі A. In situ chlorophyll fluorescence kinetics as a tool to quantify effects on photosynthesis in *Euphorbia cyparissias* by a parasitic infection of the rust fungus *Uromyces pisi* [A.Zhorі, M.Meco, H.Brandl et al.]. *BMC Res Notes*. 2015. Vol. 8. 698 Doi:10.1186/s13104-015-1681-z
26. Zinsou V. A. Occurrence and characterisation of *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*, causing bacterial pustules on soybean in Guinea Savanna of benin [V.A.Zinsou, L.A.C.Afouda, N.Zoumarou-Wallis та ін]. *African Crop Science Journal*. 2015. Vol. 23 (3). P. 203–210.

H. B. Huliaieva, N. V. Zhytkevych, T. T. Gnatiuk, V. P. Patyka

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine

PHOTOCHEMICAL ACTIVITY OF SOYBEAN LEAVES UNDER THE ACTION OF PHYTOPATHOGENIC BACTERIA OF DIFFERENT VIRULENCE

Soybean plants were grown in a greenhouse. In the phase of 4-6 leaves soybeans were artificially infected with strains of pathogens: *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* 9284 and *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* 8843. These strains were obtained from the Ukrainian collection of microorganisms of the Zabolotny institute of Microbiology and Virology of National Academy of Sciences of Ukraine. The photochemical activity of soybean leaves was determined by the biophysical method of chlorophyll fluorescence induction in 13 days after plant inoculation with bacterial strains. A portable Florotest fluorometer was use for measurements. A degree of chlorophyll degradation and suppression of photosynthetic activity in soybean leaves at artificial infection with bacterial strains isolated from different plant species of the *Fabaceae* family dependent from its virulence have been shown. The strain *X. axonopodis* pv. *glycines* 9284, isolated from soybean plants, have been highly virulent and acted more negatively than the low virulent to soybean strain *X. axonopodis* pv. *phaseoli* 8843. In particular, the value of the minimum fluorescence F_0 decreased by 37.0 and 15.4 % for inoculation by strains with different virulence degree: *X. axonopodis* pv. *glycines* 9284 (from soybeans) and *X. axonopodis* pv. *phaseoli* 8843 (from beans) respectively. There was also a significant decrease in the value of F_m in these variants – by 54.9 % (*X. axonopodis* pv. *glycines* 9284) and 19.3 % (*X. axonopodis* pv. *phaseoli* 8843). At the same time, the value of maximum quantum yield of PSII (F_v / F_m) was decreased by 11.8 % in the variant with inoculation of soybean plants with the highly virulent strain *X. axonopodis* pv. *glycines* 9284, that indicates photoinhibition or damage of antenna complexes of the PSII photosynthetic apparatus of soybean plants. At the same time, only the tendency to reduce the maximum quantum yield of PSII was determined under action infection plants with *X. axonopodis* pv. *phaseoli* 8843. A parameter chlorophyll fluorescence decrease ratio R_{fd} , which shows the activity of CO_2 assimilation in the Calvin cycle, was inhibition more at the action of artificial infection with a highly virulent strain – *X. axonopodis* pv. *glycines* 9284 – 54.5 and less – at infection with a low virulence strain – *X. axonopodis* pv. *phaseoli* 8843 – by 10.8 %. With prolonged action of the pathogenic bacterial strains *X. axonopodis* pv. *glycines* 9284 and the *X. axonopodis* pv. *phaseoli* 8843 (fortnight) showed significant inhibition of the catalase and peroxidase activity of leaf tissues, which is evidence of an increase in the formation of ROS. It was demonstrated that the highly virulent strain *X. axonopodis* pv. *glycines* 9284 most of all suppressed the catalase activity of soybean leaf tissues.

Keywords: soybeans, Xanthomonas axonopodis pv. *glycines*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, catalase, peroxidase, chlorophyll a fluorescence induction, photosystem II.

Надійшла 07.10.2021.