

УДК 581.1:581.557:582.736

ВПЛИВ РІЗНИХ СПОСОБІВ ЗАСТОСУВАННЯ ЛЕКТИНУ НА СИМБІОТИЧНІ СИСТЕМИ СОЯ—*BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*, СФОРМОВАНІ В УМОВАХ ОПТИМАЛЬНОГО ТА НЕДОСТАТНЬОГО ВОДОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ

Л.І. ВЕСЕЛОВСЬКА, С.Я. КОЦЬ

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17
e-mail: veselovskalili@mail.ru*

Вивчено особливості формування надземної маси і вміст фотосинтетичних пігментів у рослинах сої, інокульованої різними за активністю штамми *Bradyrhizobium japonicum*, за умов оптимального й недостатнього водозабезпечення. Досліджено нодуляційну та апетилєнвідновлювальну активність цих рослинно-мікробних систем. Розглянуто можливість використання екзогенного гомологічного лектину як протектора симбіотичних систем сої з бульбочковими бактеріями в умовах негативного впливу посухи. Встановлено, що використання цього білка сприяє підвищенню вмісту фотосинтетичних пігментів у листках сої у симбіозі як з активним штамом *B. japonicum* 634б, так і неактивним *B. japonicum* 604к, а також наростанню надземної маси рослин за оптимального й недостатнього водозабезпечення, активізує процеси бульбочкоутворення та азотфіксації, підвищує ефективність бобово-ризобіального симбіозу. При цьому обробка насіння білком чинить більш виражений стимулювальний ефект на процеси формування і функціонування симбіозу, тоді як інкубація ризобій з лектином сприяє підвищенню вмісту фотосинтетичних пігментів. Отримані дані свідчать, що застосування гомологічного лектину частково нівелює негативний вплив посухи на фізіологічний стан рослин сої, при цьому його ефект, вірогідно, не обмежується дією на процес симбіотичної азотфіксації.

Ключові слова: *Bradyrhizobium japonicum*, соя, лектин, азотфіксація, нодуляційна активність, посуха, каротиноїди, хлорофіл *a*, хлорофіл *b*.

Біологічною особливістю сої як бобової культури є здатність утворювати високоефективні азотфіксувальні симбіози з бульбочковими бактеріями, в результаті функціонування яких ґрунти збагачуються доступними для рослин формами азоту [24].

Проте азотфіксувальна активність симбіотичних систем, як і врожайність та білкова продуктивність сої, значною мірою залежить від умов навколишнього середовища. Складним інтегральним чинником, який призводить до патологічних змін на різних рівнях організації симбіозу — від субклітинного до організменного — є посуха. Як відомо, за недостатнього водозабезпечення порушуються тонкі механізми кисневого контролю в бульбочках, що спричинює їх старіння. Зокрема зменшується проникність бар'єра дифузії кисню в кортексі бульбочок, внаслідок чого знижується доступ кисню в бактероїди [29].

Тривала посуха зумовлює низку істотних незворотних змін і в самих рослинах сої, в результаті яких зменшується активна листкова по-

верхня, ослаблюється функціонування фотосинтетичного апарату та ін. [20]. Оскільки бобові мають унікальну здатність поєднувати в собі два основних в енергетичному й трофічному забезпеченні рослин фізіологічних процеси — фотосинтез і біологічну азотфіксацію [7] одним із опосередкованих показників ефективності симбіозу є кількість хлорофілів, що накопичуються рослиною [1]. Крім цього, маркерами загального адаптаційного синдрому рослин можуть бути каротиноїди. Так, при адаптації до посухи каротиноїди й епоксидативні процеси ксантофілового циклу регулюють перебіг фотосинтезу безпосередньо та опосередковано, беручи участь у синтезі абсцизової кислоти, що через регуляцію продигової провідності контролює доступність CO_2 для фотосинтезу [17].

На сьогодні важливим питанням залишається пошук шляхів адаптації бобово-ризобіального симбіозу до несприятливих умов довкілля.

Відомо, що стійкість до несприятливих чинників навколишнього середовища формується в результаті перебудови метаболізму живого організму [13]. Величезна роль при цьому відводиться лектинам [19]. Екзогенні лектини здатні регулювати низку фізіологічних процесів у рослинах, підвищувати їх продуктивність і стійкість до стресових чинників абіотичної й біотичної природи [8].

Встановлено, що аглютинін зародків пшениці відіграє роль протектора в умовах індукованого засоленням окиснювального стресу [22]. Доведено здатність фітогемаглютеніну запобігати гальмуванню мітотичної активності клітин коренів, спричиненому засоленням і пришвидшувати репарацію росту клітин після видалення стресора із середовища [11]. Виявлено також, що лектини бобових активують процеси бульбочкоутворення та азотфіксації, підвищують ефективність бобово-ризобіального симбіозу [26].

Мета роботи полягала в дослідженні можливості використання і визначенні ефективнішого способу застосування екзогенного гомологічного лектину як протектора симбіотичних систем сої в умовах негативного впливу посухи.

Методика

Досліджено рослини сої (*Glycine max* (L.) Merr.) сорту Васильківська (селекція Селекційно-генетичного інституту—Національного центру насіннезнавства та сортовивчення НААН України, Інституту фізіології рослин і генетики НАН України та Інституту землеробства НААН України) і бульбочкові бактерії *Bradyrhizobium japonicum* 6346 (активний виробничий штам) та 604к (неактивний високовірulentний штам) із музейної колекції азотфіксувальних мікроорганізмів відділу симбіотичної азотфіксації ІФРГ НАН України.

Культури бульбочкових бактерій вирощували на твердому манітно-дріжджовому середовищі протягом 7 діб за 26—28 °С.

Насіння сої перед посівом стерилізували 70 %-м розчином етанолу протягом 15 хв і промивали під проточною водою. Лектин застосовували у два способи: 1) насіння інкубували в розчині комерційного лектину сої (Львів, «Лектинотест») концентрацією 100 мкг/мл, після чого бактеризували ризобіями (10^8 кл/мл) протягом 1 год; 2) насіння інокулювали протягом 1 год бактеріальною суспензією (10^8 кл/мл), попередньо проінкубованою з лектином (кінцева концентрація білка 100 мкг/мл) упродовж 20 год.

Схема досліду включала 10 варіантів (див. рисунок): 1 — насіння + *B. japonicum* 6346, 60 % ПВ (контроль 1); 2 — (насіння + лектин) +

+ *V. japonicum* 634б, 60 % ПВ; 3 — насіння + (*V. japonicum* 634б + лектин), 60 % ПВ; 4 — насіння + *V. japonicum* 634б, 30 % ПВ (контроль 2); 5 — (насіння + лектин) + *V. japonicum* 634б, 30 % ПВ; 6 — насіння + (*V. japonicum* 634б + лектин), 30 % ПВ; 7 — насіння + *V. japonicum* 604к, 60 % ПВ (контроль 3); 8 — насіння + (*V. japonicum* 604к + лектин), 60 % ПВ; 9 — насіння + *V. japonicum* 604к, 30 % ПВ (контроль 4); 10 — насіння + (*V. japonicum* 604к + лектин), 30 % ПВ.

Сою вирощували в умовах вегетаційного досліду по 6 рослин у 16-кілограмових посудинах Вагнера, як субстрат використовували промитий річковий пісок із внесенням поживної суміші Гельригеля з 0,25 норми азоту за природних освітлення та температури, оптимального (60 % ПВ) чи недостатнього (30 % ПВ) водозабезпечення. Вологість субстрату підтримували контрольованим поливом. Посуху створювали протягом двох тижнів, починаючи з фази трьох справжніх листків, після чого у фазу цвітіння полив відновлювали до 60 % ПВ.

Зразки для аналізу відбирали у фази початку бутонізації (4-та доба посухи) та формування бобів (11-та доба після завершення посухи). Визначали надземну масу рослин, оцінювали формування симбіотичного апарату за кількістю та масою бульбочок на їх коренях. Встановлювали ацетиленвідновлювальну активність (АВА) бульбочок [25] на газовому хроматографі «Agilent GC system 6850» (США), а також вміст пігментів (хлорофілів і каротиноїдів) [28] у повністю сформованих листках середнього ярусу рослин.

АВА та нодуляційну активність вимірювали в п'ятиразовій біологічній повторності, надземну масу рослин — у десятиразовій, вміст пігментів у листках — у триразовій. Отримані дані оброблено статистично з використанням програми Excel.

Результати та обговорення

Відомо, що в процесах формування і функціонування ефективних бобово-ризобіальних симбіотичних систем важливу роль відіграє нодуляційна активність ризобій, а також нітрогеназна активність уже сформованих кореневих бульбочок [5]. Згідно з результатами дослідження рослин, вирощених за 60 % ПВ, у фазу початку бутонізації у варіанті з використанням насіння, проінкубованого з лектином та інокульованого ризобіями, виявлено тенденцію до зростання АВА, при цьому кількість бульбочок на коренях рослин зменшувалась на 18 % відносно контролю 1 (табл. 1). У фазу формування бобів у цьому ж варіанті відмічено тенденцію до зростання обох показників. У результаті інокуляції насіння ризобіями, інкубованими з лектином, у фазу початку бутонізації як кількість бульбочок, так і ацетиленвідновлювальна активність залишались на рівні контрольного варіанта, тоді як у фазу формування бобів за істотного (на 39 %) збільшення кількості бульбочок виявлено тенденцію до зростання АВА. Ці результати підтвердили отримані раніше дані щодо позитивного впливу екзогенного лектину на бобово-ризобіальні симбіотичні системи [10].

Аналіз бульбочкоутворення на коренях сої та ацетиленвідновлювальної активності бульбочок, які функціонували в умовах стресу, показав, що найефективнішим є використання лектину для обробки насіння. Так, у фазу початку бутонізації (4-та доба посухи) обробка насіння лектином у поєднанні з інокуляцією ризобіями привела до зростання як

ТАБЛИЦЯ 1. Вплив екзогенного лектину на ацетиленвідновлювальну активність та кількість бульбочок на коренях рослин сої, інюкульованої *V. japonicum* б.34б, в умовах різного водозабезпечення

Варіант	Фаза розвитку рослин			
	Початок бутонізації		Формування бобів	
	АВА, мкмоль C ₂ H ₄ /(рослина · год)	кількість бульбочок, шт/рослину	АВА, мкмоль C ₂ H ₄ /(рослина · год)	кількість бульбочок, шт/рослину
(Насіння + вода) + ризобії (контроль 1)	60 % ПВ			
	0,488±0,038	40,75±2,75	1,345±0,074	36,25±2,32
	0,507±0,035	33,50±1,00	1,407±0,094	37,75±2,62
(Насіння + лектин) + ризобії	0,472±0,035	43,00±1,50	1,411±0,061	50,50±1,75
	30 % ПВ			
(Насіння + вода) + ризобії (контроль 2)	0,342±0,032	19,50±2,25	0,902±0,042	46,25±3,37
	0,486±0,010	34,50±2,50	1,313±0,081	24,50±1,00
(Насіння + лектин) + ризобії	0,283±0,023	27,00±1,50	1,027±0,084	32,75±3,75

АВА на 42 %, так і кількості бульбочок на 77 % відносно контролю 2. Слід зазначити, що і АВА симбіотичних систем цього варіанта, і здатність ризобій до утворення бульбочок на коренях сої були на рівні активності симбіозу, який не зазнав впливу посухи (контроль 1). Інокуляція насіння модифікованими лектином ризобіями викликала зниження АВА на 17 % за зростання кількості бульбочок на 38 % відносно контролю 2. Такий стимулювальний ефект на процес бульбочкоутворення можна пояснити активувальним впливом лектину на синтез екстрацелюлярних і капсульних полісахаридів, що, у свою чергу, індукує утворення інфекційних ниток бактеріями [27].

На 11-ту добу після відновлення поливу (фаза формування бобів) у варіанті з використанням насіння, проінкубованого з лектином та інокульованого ризобіями, кількість кореневих бульбочок зменшилась на 47 % відносно контролю 2 і на 32 % відносно контролю 1, але при цьому активність однієї бульбочки була достатньо високою, оскільки загальна АВА перевищувала контрольний варіант 2 на 46 % і була на рівні контролю 1. Це означає, що за такого способу використання лектину формується стійкіший до впливу посухи симбіотичний апарат, який має вищий потенціал до відновлення у післястресовий період. У разі застосування для передпосівної інокуляції ризобій, інкубованих із лектином, ми спостерігали подібну ситуацію — АВА зростала на 14 % за зниження кількості кореневих бульбочок на 29 % відносно контрольного варіанта 2, а відносно контролю 1 АВА достовірно знизилась за тенденційного (на 10 %) зменшення кількості утворених кореневих бульбочок.

У бульбочках сої, сформованих за участю неактивного штаму *V. jarrowii* 604к, АВА була відсутньою протягом усього онтогенезу рослин.

Отже, ми виявили, що за 30 % ПВ інкубація насіння з лектином чинить більш виражений стимулювальний ефект на процеси формування і функціонування бобово-ризобіального симбіозу, ніж обробка ним ризобій. Таку дію розглянутого способу застосування лектину на симбіотичний апарат можна пояснити впливом цього білка на синтез ферментів і продуктів азотного метаболізму [10].

Посилення симбіотичних властивостей бульбочкових бактерій у разі використання екзогенного лектину сприяло активізації процесів росту та формування вегетативної маси рослинами сої (табл. 2).

ТАБЛИЦЯ 2. Вплив екзогенного лектину на надземну масу рослин сої, інокульованої *V. jarrowii* 634б, в умовах різного водозабезпечення (з сухої речовини/рослину)

Варіант	Фаза розвитку рослин	
	Початок бутонізації	Формування бобів
60 % ПВ		
(Насіння + вода) + ризобії (контроль 1)	0,647±0,037	3,240±0,160
(Насіння + лектин) + ризобії	0,716±0,020	3,832±0,261
Насіння + (ризобії + лектин)	0,681±0,355	3,842±0,091
30 % ПВ		
(Насіння + вода) + ризобії (контроль 2)	0,627±0,015	2,720±0,080
(Насіння + лектин) + ризобії	0,603±0,032	2,812±0,058
Насіння + (ризобії + лектин)	0,691±0,035	3,222±0,043

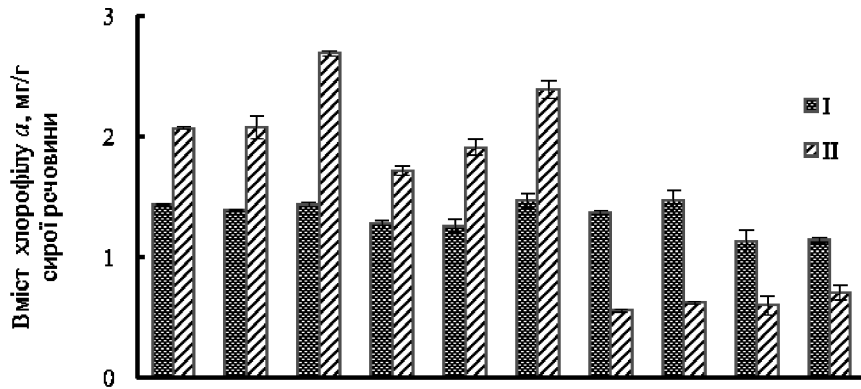
На фоні оптимального водозабезпечення спостерігався приріст надземної маси сої відносно контролю 1 за обох способів використання лектину. Зокрема обробка ним насіння з подальшою інокуляцією ризобіями зумовлювала зростання цього показника відносно контрольного варіанта на 11 % (фаза початку бутонізації) і 18 % (фаза формування бобів). У варіанті з бактеризацією насіння ризобіями, обробленими лектином, вірогідний приріст маси сої (19 %) спостерігали лише у фазу формування бобів.

Оцінивши показники надземної маси рослин у варіантах із недостатнім водозабезпеченням, ми встановили, що найефективнішим є використання лектину для інкубації з ризобіями. Так, на 4-ту добу стресу в рослин цього варіанта приріст надземної маси відносно контролю 2 становив 10 %, а відносно контролю 1 — 7 %. У післястресовий період (фаза формування бобів) надземна маса рослин зростає на 18 % відносно контрольного варіанта 2 і була на рівні контролю 1. Водночас у варіанті з обробкою насіння лектином та інокуляцією ризобіями істотних змін надземної маси відносно контрольного варіанта 2 в обидві досліджені фази розвитку рослин не спостерігалось.

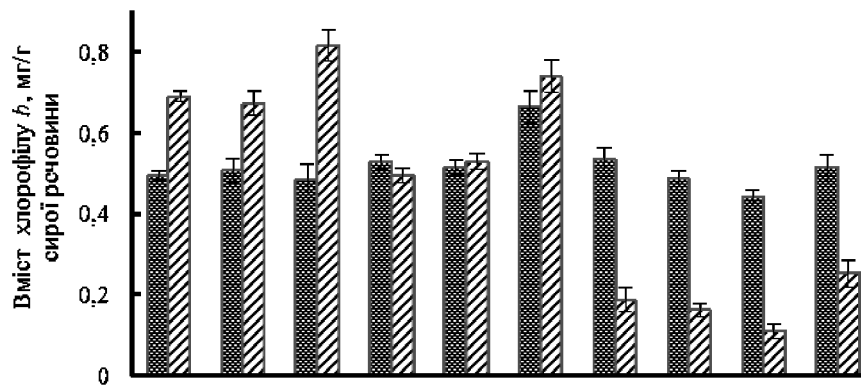
Можливо утворення потужної надземної маси у рослин сої, інокульованої ризобіями, модифікованими лектином, за 30 % ПВ пов'язане з невисокою функціональною активністю симбіотичного апарату в цьому варіанті (див. табл. 1), а відтак — зі зниженням затрат енергії рослини на його функціонування, оскільки відомо, що під час процесу фіксації азоту відбувається посилений відтік фотоасимілятів до корневих бульбочок [10].

Зміни в пігментному комплексі (вміст пігментів та їх співвідношення) протягом вегетаційного періоду є одним із важливих показників фізіологічного стану рослин, особливостей перебігу продукційного процесу та адаптації рослини до дії стресових чинників [15]. Відомо, що за впливу тривалої ґрунтової посухи вміст хлорофілів *a* і *b* знижується [14]. Тому ми проаналізували кількість хлорофілу *a* в листках сої і з'ясували, що найдієвішим прийомом захисту фотосинтетичного апарату в умовах посухи є застосування лектину для інкубації з ризобіальною суспензією (рисунок). Результати досліджень показали, що за 60 % ПВ кількість цього пігменту в листках сої, вирощеної з насіння, проінкубованого з лектином (варіант 2), була на рівні контрольного варіанта 1 в обидві досліджені фази розвитку. За інокуляції насіння інкубованими з лектином ризобіями вміст цього пігменту істотно змінився лише у фазу формування бобів — кількість хлорофілу *a* перевищила контрольний варіант на 30 %.

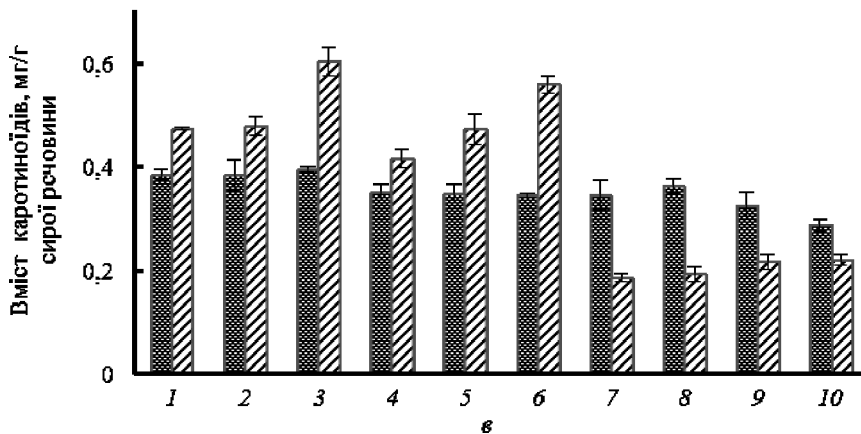
Вважають, що вміст хлорофілу починає знижуватись за тривалого пригнічення асиміляції CO_2 [14]. У наших дослідженнях обробка насіння лектином із наступною інокуляцією ризобіями (варіант 5) не викликала змін вмісту хлорофілу *a* відносно контролю 2 на 4-ту добу посухи. Це означає, що така тривалість стресу недостатньо жорстка для фотосинтетичного апарату сої, сформованого за впливу насінневого лектину, у результаті дії якого в листках рослин підвищується ендогенний рівень цитокінінів [9], що, як відомо, виконують роль протекторів фотосинтетичного апарату. Після відновлення поливу (фаза формування бобів) цей показник зріс на 11 %. Унаслідок інокуляції насіння ризобіями, інкубованими зі згаданим білком (варіант 6), вміст хлорофілу як в умовах посухи, так і в післястресовий період зріс відповідно на 15 і 39 %. Таке



a



b



c

Вплив екзогенного лектину на вміст хлорофілу *a* (a), хлорофілу *b* (б) та каротиноїдів (в) у листках рослин сої, інюкульованої *V. japonicum*, в умовах різного водозабезпечення:

1 – насіння + *V. japonicum* 634б, 60 % ПВ (контроль 1); 2 – (насіння + лектин) + *V. japonicum* 634б, 60 % ПВ; 3 – насіння + (*V. japonicum* 634б + лектин), 60 % ПВ; 4 – насіння + *V. japonicum* 634б, 30 % ПВ (контроль 2); 5 – (насіння + лектин) + *V. japonicum* 634б, 30 % ПВ; 6 – насіння + (*V. japonicum* 634б + лектин), 30 % ПВ; 7 – насіння + *V. japonicum* 604к, 60 % ПВ (контроль 3); 8 – насіння + (*V. japonicum* 604к + лектин), 60 % ПВ; 9 – насіння + *V. japonicum* 604к, 30 % ПВ (контроль 4); 10 – насіння + (*V. japonicum* 604к + лектин), 30 % ПВ; I – початок бутонізації; II – формування бобів

підвищення вмісту пігменту вказує на те, що за описаного способу використання лектину в рослин формується пігментна система, стійкіша до стресу.

Оскільки підвищення вмісту хлорофілу *a* у варіантах за обробки лектином ризобій не можна пояснити збільшенням АВА, то в цьому разі, очевидно, виявляється інший аспект стимулювального впливу ризобій на життєдіяльність рослинного організму. Відомо, що азотфіксувальні бактерії як вільноіснуючі, так і симбіотрофні, здатні продукувати фізіологічно активні речовини фітогормональної природи, зокрема цитокініни [2]. Останні відіграють важливу роль при становленні симбіотичних взаємовідносин між мікро- та макросимбіонтами. Цитокініни беруть участь у процесі утворення і росту корневих бульбочок через активування поділу корових клітин кореня, а також регулювання експресії низки генів ранньої нодуляції [21]. Встановлено, що інокуляція насіння сої азотфіксувальними бактеріями супроводжується збільшенням вмісту цитокінінів як у коренях, так і в корневих бульбочках на початкових етапах формування і функціонування бобово-ризобіального симбіозу [4]. Проте у бульбочках, що вже сформувалися, виявлено негативний зв'язок між вмістом зеатинрибозиду та азотфіксувальною активністю, що й не дивно, оскільки вони вже не потребують стимулювання поділу клітин та експресії Nod-факторів.

Інокуляція насіння інкубованими з лектином ризобіями неактивного штаму сприяла зростанню вмісту хлорофілу *a* порівняно з контролем (варіант 7). За оптимального водозабезпечення вміст цього пігменту підвищувався на 7 % у фазу початку бутонізації та на 12 % у фазу формування бобів, а в умовах посухи був на рівні контролю 4, проте зростає у післястресовий період на 18 %.

Дослідження показали, що за 60 % ПВ у результаті інокуляції насіння активними 6346 ризобіями (варіант 3), кількість хлорофілу *b* у фазу початку бутонізації була на рівні контролю 1, тоді як у фазу формування бобів зростала на 18 % відносно цього ж варіанта (див. рисунок, б). Обробка насіння лектином у поєднанні з інокуляцією ризобіями (варіант 2) не викликала істотних змін вмісту цього пігменту відносно контролю 1 у жодній із досліджених фаз розвитку рослин.

Оцінюванням кількості хлорофілу *b* у листках сої, яка не піддавалася дії стресу, виявлено, що передпосівна інкубація насіння з лектином із наступною інокуляцією бактеріями штаму 6346 (варіант 5) приводила до незначного зростання цього показника лише у післястресовий період (фаза формування бобів) на 7 % відносно контролю 2, тоді як у варіанті з використанням для інокуляції насіння ризобій, оброблених лектином (варіант 6), вміст хлорофілу *b* перевищував контрольний варіант на 26 % у фазу початку бутонізації та на 50 % у фазу формування бобів.

У варіантах з використанням неактивного штаму кількість хлорофілу *b* залежала від рівня водозабезпечення рослин. Так, у листках рослин, що не піддавалися впливу посухи, вміст цього пігменту при застосуванні лектину знижувався відносно контролю 3 на 9 % у фазу початку бутонізації та на 14 % у фазу формування бобів. На 4-ту добу посухи вміст хлорофілу *b* зростає відносно контролю 4 на 16 %, а в післястресовий період — на 33 %.

Виявлені закономірності зміни кількості хлорофілів залежно від активності штаму-інокулянта можуть свідчити про те, що дія лектину на

рослинний організм пов'язана не лише з посиленням симбіотичних властивостей бульбочкових бактерій та участю цього білка в процесах азотфіксації, а й із впливом лектину на ростові процеси рослин. Припустивши позитивний вплив екзогенного лектину на загальну лектинову активність рослин [8], таку реакцію можна розглядати як модифікацію низки процесів, що здійснюються на мембранах хлоропластів, і зміни їх структурної організації [6].

Встановлено, що каротиноїди беруть участь в адаптаційно-захисних реакціях організмів на дію несприятливих чинників навколишнього середовища, виконують антиоксидантні та мембраностабілізуючі функції [12, 23]. Доведено, що в умовах дії стресу в клітинах порушується гомеостатична рівновага, змінюється стан про-антиоксидантної системи мембран, посилюються вільнорадикальні процеси, рівновага зміщується в бік активації пероксидного окиснення ліпідів у клітині [16].

Дослідженням вмісту каротиноїдів у листках сої, інокульованої активним штамом 634б, виявлено (див. рисунок, в), що у фазу початку бутонізації склад цих пігментів істотно не змінюється незалежно від способу використання лектину та рівня водозабезпечення рослин. У фазу формування бобів за оптимального водозабезпечення кількість каротиноїдів зростала на 27 % відносно контролю 1 при інкубації ризобій з лектином. Для рослин, підданих впливу посухи, у цей же період онтогенезу характерним було зростання вмісту каротиноїдів відносно контролю 2 на 14 % при обробці насіння лектином і на 34 % при інкубації ризобій з цим білком.

У разі використання неактивного штаму, інкубованого з лектином, вміст каротиноїдів істотно змінювався лише у фазу початку бутонізації за 30 % ПВ — знижувався на 11 % відносно контролю 4.

Різде зниження кількості пігментів у листках рослин, інокульованих *V. japonicum* 604к, яке ми виявили у фазу формування бобів, пов'язане з дефіцитом азоту. На початку вегетації потреба рослин у цьому елементі певною мірою забезпечувалась його стартовою дозою, але з подальшим їх ростом запаси мінерального азоту в субстраті вичерпувались, молекулярний азот не фіксувався (як це мало місце у варіантах з інокуляцією активним штамом) і рослини ставали неспроможними забезпечити формування повноцінного фотосинтетичного апарату.

З урахуванням ролі пігментів у формуванні захисних механізмів фотосинтетичного апарату рослин, спрямованих на підвищення їх стійкості до несприятливих чинників довкілля, зокрема посухи [18], підвищення вмісту хлорофілів і каротиноїдів у листках сої внаслідок використання лектину може означати, що застосування цього білка частково усуває негативну дію водного стресу на рослини. Найкращий ефект отримано при використанні лектину для інкубації бактеріальної суспензії.

Отже, отримані нами результати вказують на те, що для рослин сої, вирощеної в посушливих умовах, екзогенний лектин може бути протектором, який частково усуває негативний вплив посухи як на макросимбіонта, так і на симбіотичні системи, створені за його участю, сприяє формуванню потужних азотфіксувальних систем, посилює її ріст і розвиток. Проте слід враховувати, що спосіб використання цього білка визначає його вплив на різні фізіологічні процеси.

1. Антпичук А.Ф., Канцелярук Р.М., Рангелова В.Н. Связь между показателями фотоассимиляционной активности бобовых растений и их симбиотической азотфиксацией // Микробиол. журн. — 1990. — 52, № 6. — С. 49—53.
2. Волкогон В.В., Волкогон М.В., Дімова С.Б. Рістстимулювальні мікроорганізми / Експериментальна ґрунтова мікробіологія. — К.: Аграрна наука, 2010. — С. 383—416.
3. Головатюк Є., Ситар О., Таран Н. Вплив різних доз азотних добрив на вміст фотосинтетичних пігментів та сульфоліпиду у листках сої // Вісн. КНУ ім. Т. Шевченка. — 2007. — № 12. — С. 34—36.
4. Грищук О.О., Коць С.Я., Волкогон М.В. Динаміка вмісту фітогормонів цитокінінової природи у коренях і бульбочках сої на ранніх етапах формування бобово-ризобіального симбіозу // Физиология и биохимия культ. растений. — 2013. — 45, № 1. — С. 20—28.
5. Даценко В.К., Мельник В.М., Коць С.Я., Омельчук С.В. Фізіологічна взаємодія сої з новими Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* // С.-г. мікробіологія: Міжвід. темат. наук. зб. — Чернівці, 2008. — Вип. 8. — С. 52—61.
6. Жесткова И.М., Молотковский Ю.Г. Влияние лектина из семян сои на структуру и энерготрансформирующие реакции хлоропластов // Изучение и применение лектинов: Уч. зап. Тартус. ун-та. — 1989. — 2, вып. 870. — С. 108—113.
7. Зотиков В.И., Головина Е.В. Взаимосвязь интенсивности азотфиксации и фотосинтеза у новых сортов сои северного экотипа // Вестн. Орловск. гос. аграр. ун-та. — 2011. — 30, № 3. — С. 5—8.
8. Кириченко О.В. Біологічна активність екзогенних рослинних лектинів при утворенні та функціонуванні фітобактеріальних асоціацій // Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. Сер. Біологія. — 2011. — Вип. 2(23). — С. 46—59.
9. Кириченко О.В., Волкогон М.В. Вплив аглютеніну зародків пшениці при передпосівній обробці насіння на рівень цитокінінів і ауксинів у листі рослин // Доп. НАН України. — 2010. — № 6. — С. 144—151.
10. Коць С.Я., Моргуєн В.В., Патыка В.Ф. и др. Биологическая фиксация азота: Бобово-ризобияльный симбиоз. — Киев: Логос, 2011. — Т. 2. — 523 с.
11. Лубянова А.Р., Фатхутдинова Р.А., Безрукова М.В., Шакирова Ф.М. Ростстимулирующий и защитный эффекты фитогемагглютинина на растения фасоли. Влияние фитогемагглютинина на рост и гормональный статус корней проростков фасоли // Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. Сер. Біологія. — 2009. — Вип. 1(16). — С. 39—44.
12. Постоєнко О.М. Екологічні характеристики культурних і дикорослих каротиноносних рослин — накопичувачів вірусів та ксенобіотиків і метод отримання з них каротину: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — Київ, 2003. — 23 с.
13. Сакало В.Д., Ларченко К.А., Курчій В.М. Синтез і метаболізм сахарози в листках проростків кукурудзи за умов водного дефіциту // Физиология и биохимия культ. растений. — 2009. — 41, № 4. — С. 305—313.
14. Соколовська-Сергієнко О.Г., Стасик О.О. Особливості реакції фотосинтетичного апарату контрастних за посухостійкістю сортів озимої пшениці на ґрунтову посуху // Вісн. Укр. т-ва генетиків і селекціонерів. — 2008. — 6, № 1. — С. 137—144.
15. Соханчак Р., Лобачевська О., Бешлей С. Сезонні зміни у пігментному комплексі моху *Samolopus introflexus* (Hedw.) Brid. на вершині відвалу шахти «Надія» // Вісн. Львів. держ. ун-ту. Сер. Біологія. — 2013. — Вип. 62. — С. 180—187.
16. Стржалка К., Костецка-Гугала А., Латовски Д. Каротиноиды растений и стрессовое воздействие окружающей среды: роль модуляции физических свойств мембран каротиноидами // Физиология растений. — 2003. — 50, № 2. — С. 188—193.
17. Таран Н.Ю. Адаптаційний синдром рослин в умовах посухи: Автореф. дис. ... д-ра біол. наук. — Київ, 2001. — 41 с.
18. Таран Н.Ю. Каротиноїди фотосинтетичних тканин за умов посухи // Физиология и биохимия культ. растений. — 1999. — 31, № 6. — С. 414—422.
19. Чеботарьова Л.В., Поспелов С.В. Адаптивні зміни активності лектинів пшениці озимої в умовах водного дефіциту та гіпертермії // Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. «Екологія — основа збалансованого природокористування в агропромисловому виробництві». — 2013. — С. 244—247.
20. Шевніков М.Я. Особливості водоспоживання сої в умовах лівобережного Лісостепу України // Вісн. Полтав. держ. аграр. акад. — 2006. — № 1. — С. 44—48.
21. Vauer P., Ratet P., Crespi M.D. et al. Nod-factors and cytokinins induce similar cortical cell divisions, amiloplast deposition and MsENOD12A expression patterns in alfalfa roots // Plant J. — 1996. — 10. — P. 91—105.
22. Bezrukova M., Kildibekova A., Shakirova F. WGA reduces the level of oxidative stress in wheat seedlings under salinity // Plant Growth Regul. — 2008. — 54, N 3. — P. 195—201.

23. Cloete H., Arher E., Novello V., Hunter J.J. Shoot heterogeneity effects on Shiraz/Richter 99 grapevines. III. Leaf chlorophyll content // South Afr. J. Enol. Vitic. — 2008. — 29, N 1. — P. 9—12.
24. Franche C., Lindstrom K., Elmerich C. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants // Plant Soil. — 2009. — 321. — P. 35—59.
25. 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.
26. Kots S.Ya., Mykhalkiv L.M., Mamenko P.M., Volkogon M.V. The study of alfalfa-*Sinorhizobium meliloti* symbiosis productivity under different water conditions and the influence of the legume seed lectin // J. Agricult. Sci. and Technol. B 1. — 2011. — N 3. — P. 454—457.
27. Mody B., Mody V. Peanut agglutinin induced alterations in capsular and extracellular polysaccharide synthesis and ex-planta nitrogenase activity of cowpea rhizobia // J. Biol. Sci. — 1997. — 12, N 3. — P. 289—296.
28. Wellburn A.R. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution // Plant Physiol. — 1994. — 144. — P. 307—313.
29. Witty J.F., Minchin F.R., Scot L., Sheehy J.E. Nitrogen fixation and oxygen in legume root nodules // Oxford Surveys Plant Mol. Cell. Biol. — 1986. — 3. — P. 275—314.

Отримано 28.05.2014

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ ПРИМЕНЕНИЯ ЛЕКТИНА НА СИМБИОТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ СОЯ—*BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*, СФОРМИРОВАННЫЕ В УСЛОВИЯХ ОПТИМАЛЬНОГО И НЕДОСТАТОЧНОГО ВОДОБЕСПЕЧЕНИЯ

Л.И. Веселовская, С.Я. Коць

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

Изучены особенности формирования надземной массы и содержание фотосинтетических пигментов в растениях сои, инокулированной различными по активности штаммами *Bradyrhizobium japonicum*, в условиях оптимального и недостаточного водобеспечения. Исследована нодуляционная и ацетиленвосстанавливающая активность этих растительно-микробных систем. Рассмотрена возможность использования экзогенного гомологического лектина как протектора симбиотических систем сои с клубеньковыми бактериями в условиях неблагоприятного влияния засухи. Установлено, что использование этого белка способствует повышению содержания фотосинтетических пигментов в листьях сои в симбиозе как с активным штаммом *B. japonicum* 634б, так и неактивным *B. japonicum* 604к, а также нарастанию надземной массы растений при оптимальном и недостаточном водобеспечении, активирует процессы клубенькообразования и азотфиксации, повышает эффективность бобово-ризобияльного симбиоза. При этом обработка семян белком оказывает более выраженный стимулирующий эффект на процессы формирования и функционирования симбиоза, тогда как инкубация ризобий с лектином способствует повышению содержания фотосинтетических пигментов. Полученные данные свидетельствуют, что применение гомологического лектина частично нивелирует негативное влияние засухи на физиологическое состояние растений сои, при этом его эффект, вероятно, не ограничивается воздействием на процесс симбиотической азотфиксации.

THE INFLUENCE OF DIFFERENT WAYS OF LECTIN APPLICATION ON THE SYMBIOTIC SYSTEMS SOYBEAN— *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*, FORMED UNDER OPTIMAL AND INSUFFICIENT WATER SUPPLY CONDITIONS

L.I. Veselovska, S.Ya. Kots

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylykivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

The peculiarities of the aboveground mass forming and the photosynthetic pigment content in soybean inoculated by the strains of *Bradyrhizobium japonicum* with different activity under optimal and insufficient water supply were investigated. The nodule formation and the activity of ethylene

reducing by these plant-microbial systems were studied. The possibility of use of the exogenous homologous lectin as protector of the symbiotic systems formed by soybean and nodule bacteria under negative influence of drought was examined. The use of the protein stimulates the increase of photosynthetic pigments content in the leaves of soybean and shoot growth in symbiosis with active strain *B. japonicum* 6346 as well as inactive strain *B. japonicum* 604к under optimal and insufficient water supply. The lectin application also activates the processes of nodule formation and nitrogen fixation, increases the efficiency of legume-rhizobium symbiosis. At the same time the treatment of seeds by protein leads to the stimulation of both symbiosis formation and functioning at the great extent whereas the incubation of rhizobia with lectin promotes the increase of photosynthetic pigment contents. The results testify that the application of homologous lectin smoothes away negative influence of drought on physiological state of soybean plants, moreover, it influences not only on the process of symbiotic nitrogen fixation.

Key words: *Bradyrhizobium japonicum*, soybean, lectin, nitrogen fixation, nodulation activity, drought, carotenoids, chlorophyll *a*, chlorophyll *b*.