

ФОРМУВАННЯ СИМБІОТИЧНОЇ СИСТЕМИ СОЇ ЗА ВПЛИВУ ШТАМІВ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* — ПРОДУЦЕНТІВ РЕЧОВИН ФІТОГОРМОНАЛЬНОЇ ДІЇ

Д.В. Крутило¹, Н.О. Леонова², Г.О. Іутинська²

¹ Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН

² Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

*З'ясовано, що активні штами бульбочкових бактерій сої можуть продукувати біологічно активні речовини ауксинової та цитокінінової природи. Виявлено відмінності між штамами за рівнем синтезу фітогормонів: повільнорослий штам *B. japonicum* 46 продукує більшу кількість ауксинів (48,4 порівняно з 34,2 мкг/г абсолютно сухої біомаси), тоді як інтенсивнорослий штам *B. japonicum* KB11 істотно переважає за синтезом цитокініни (835,3 до 328,5 мкг/г абсолютно сухої біомаси). Встановлено, що не лише штами бактерій, але і продукти їх метаболізму можуть спричиняти кількісні зміни у складі бульбочкових популяцій ризобій та позитивно впливати на формування і функціонування симбіотичних систем сої. Бінарна інокуляція сої штамами *B. japonicum* 46 і KB11 виявилась ефективнішою за впливом на рослини, ніж моноінокуляція кожним штамом окремо. На фоні ґрунтової популяції ризобій обробка насіння метаболітами двох штамів у вигляді фільтрованих культуральних рідин забезпечила збільшення надземної фітомаси сої подібно до дії живих клітин цих мікроорганізмів (на 16,9% порівняно з контролем).*

Ключові слова: *Bradyrhizobium japonicum*, соя, симбіоз, фітогормони.

Бобово-ризобіальний симбіоз вважається найефективнішою системою біологічної азотфіксації, що має важливе екологічне та практичне значення [1]. Результатом тісної взаємодії між бульбочковими бактеріями і бобовими рослинами є розвиток спеціалізованих органів — корневих бульбочок, у яких бактерії реалізують свою здатність фіксувати молекулярний азот [2].

Формування і функціонування бульбочок потребує складної регуляції з боку обох партнерів на генетичному й біохімічному рівнях, у т.ч. за дії біологічно активних речовин, зокрема фітогормонів. Останні відповідають за збалансований перебіг процесів росту, розвитку рослинного організму та за синхронне функціонування в ньому біохімічних механізмів [3, 4].

Здатність ризобій синтезувати фітогормони інтенсивно вивчалась ще у 60–70-ті роки минулого століття у досліджах із різними бобовими культурами [5]. Було встановлено, що основними сполуками, які беруть участь у процесах утворення

азотфіксувальних бульбочок, є ауксини, цитокініни, гібереліни та брасиностероїди. Їх рівень і співвідношення відіграють важливу роль у мікробно-рослинній взаємодії та контролюються обома партнерами симбіозу. Останнім часом вивчаються молекулярні механізми впливу фітогормонів на процес бульбочкоутворення та їх взаємодія з компонентами сигнального каскаду, що активуються бактеріальними Nod-факторами [3].

Встановлено також, що продукування фітогормональних речовин азотфіксувальними бактеріями обумовлено продуктивністю рослин [6]. На думку І.В. Драговоза [7], здатність штамів ризобій сої до синтезу фітогормонів цитокінінової природи можна використовувати як одну із характеристик їх симбіотичної ефективності. З огляду на це, оцінка біологічної активності буде корисною на етапі лабораторного скринінгу штамів, здатних підвищувати врожайність бобових культур.

Під час дослідження ґрунтових популяцій бульбочкових бактерій сої в різних

регіонах України нами було встановлено, що серед їх представників трапляються як типові повільнорослі штами виду *Bradyrhizobium japonicum*, так і штами з інтенсивним ростом, що істотно відрізняються за фенотиповими та генотиповими ознаками [8, 9]. Методом аналітичної селекції отримано активні штами ризобій сої з повільним (*B. japonicum* 46) та інтенсивним (*B. japonicum* KB11) ростом, які можуть застосовуватись як біоагенти сучасних мікробних препаратів.

Метою нашої роботи було дослідити здатність штамів *Bradyrhizobium japonicum* з різною швидкістю росту до продукування речовин фітогормональної дії та оцінити їх вплив на рослину-господаря.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Об'єктами досліджень були штами бульбочкових бактерій сої з повільним (*B. japonicum* 46) та інтенсивним (*B. japonicum* KB11) ростом.

Культивування бактерій здійснювали в колбах об'ємом 750 мл на качалці (220 об./хв) при температурі 26–28°C на рідкому манітно-дріжджовому середовищі [10]. Як посівний матеріал використовували культури *B. japonicum* у експоненційній фазі росту (92–96 год). Кількість посівного матеріалу становила 5% від об'єму середовища.

Для відділення біомаси культуральну рідину бактерій центрифугували впродовж 20 хв при 9000 об./хв і температурі +4°C. Клітини бактерій відмивали від залишків екзополімерів фізіологічним розчином тричі, центрифугуючи кожного разу за тих самих умов. Надосадкові рідини використовували для подальших досліджень з метою екстракції фітогормональних сполук, а осад клітин суспендували в дистильованій воді, потім висушували при 103–105°C у сушильній шафі до постійної маси. Кількість абсолютно сухої біомаси (АСБ) мікроорганізмів визначали ваговим методом.

Визначення якісного та кількісного складу фітогормонів у культуральних рідинах штамів *B. japonicum* 46 та *B. japonicum* KB11 здійснювали методом спектроден-

ситометричної тонкошарової хроматографії [10, 11]. Позаклітинні фітогормони виділяли із надосадкових рідин ризобій за відповідною методикою. [12]. Кількісне визначення ауксинів, цитокінінів та абсцизової кислоти здійснювали за допомогою сканувального спектроденситометра «Сорбфіл» (Росія). Кількість фітогормонів розраховували в мкг на 1 г АСБ продуцента. Стандартами були синтетичні фітогормони *Sigma-Aldrich* (Німеччина) і *Acros Organic* (Бельгія): *ауксини* – індоліл-3-оцтова кислота (ІОК), індол-3-масляна кислота, індол-3-карбоксилова кислота, індол-3-карбінол, індол-3-оцтової кислоти гідразид, індол-3-карбоксальдегід; *цитокініни* – зеатин, зеатинрибозид, кінетин, ізопентеніл-аденін, ізопентеніл-аденозин рибозильований та *абсцизова кислота*.

Вивчення впливу штамів *B. japonicum* та їх метаболітів на формування і функціонування симбіотичних систем сої проводили у вегетаційному досліді на дерново-підзолістому ґрунті. Культури бульбочкових бактерій вирощували впродовж трьох діб у колбах об'ємом 250 мл на бобовому середовищі з гороховим відваром. Фільтровані культуральні рідини досліджуваних штамів отримували за допомогою скляних мікропористих фільтрів. Відсутність бактеріальних клітин у фільтратах перевіряли під світловим мікроскопом.

Насіння сої сорту Устя обробляли повільно- та інтенсивнорослим штамми *B. japonicum*. Інокуляційне навантаження становило 200–300 тис. клітин на 1 насінину. Фільтровані культуральні рідини застосовували із розрахунку 0,2 мл/100 г насіння. У комбінованих варіантах із двома штамми або фільтратами їх застосовували у співвідношенні 1:1. Повторність досліді – п'ятикратна. Вологість ґрунту підтримували на рівні 60% повної вологомості.

Приналежність ризобій сої до певної серогрупи визначали у реакції аглютинації із застосуванням специфічних антисироваток та гомогенатів бульбочок. Різноманіття бульбочкових бактерій у бульбочках оцінювали за допомогою індексу Шеннона, який розраховували за формулою [13]:

$$H = -\sum P_i \ln P_i,$$

де H — індекс різноманіття Шеннона; P_i — відносна рясність i -го штаму, розрахована як n_i/N , де N — загальна кількість бульбочок, утворених різними штамми бульбочкових бактерій сої, та n_i — кількість бульбочок, сформованих штамом ризобій певної серогрупи.

Оцінювали кількість та масу бульбочок, уміст сухої речовини в надземній масі рослин. Активність симбіотичної азотфіксації вимірювали ацетилен-етиленовим методом [14] на газовому хроматографі Chrom-4 з полум'яно-іонізаційним детектором. Уміст фотосинтетичних пігментів у листках рослин визначали у фазі цвітіння спектрофотометричним методом [15].

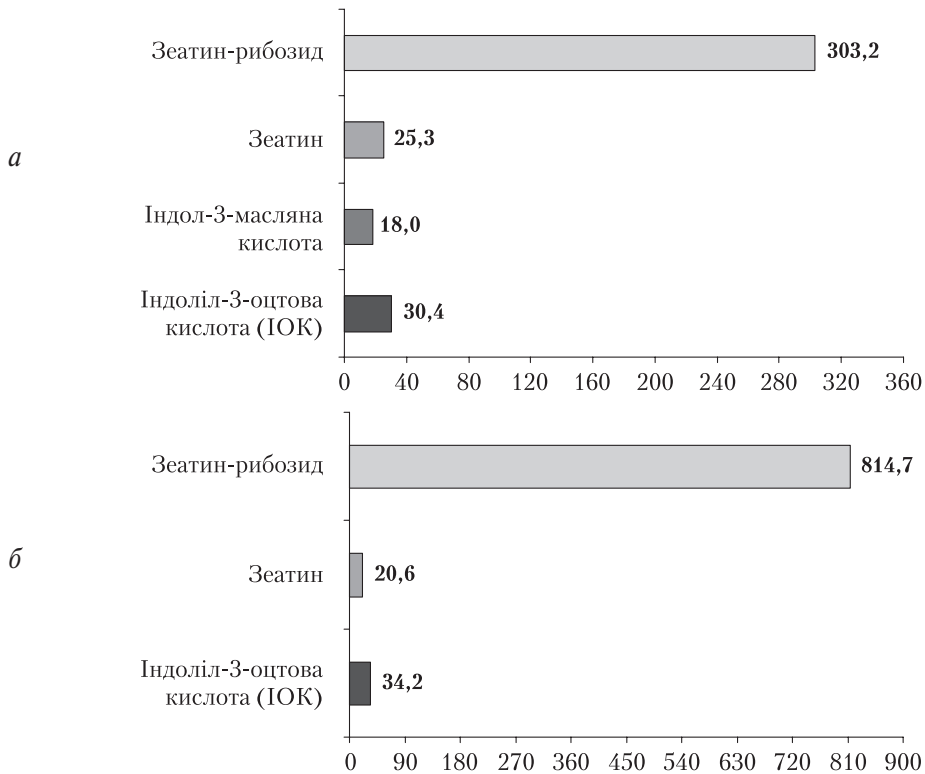
Статистичну обробку даних проводили загальноприйнятими методами із застосуванням комп'ютерної програми Statistica 7.0.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Для формування та функціонування симбіотичних систем важливими є фітогормональні речовини, які синтезуються бульбочковими бактеріями. Зважаючи на те, що селекціоновані нами штамми ризобій сої з повільним та інтенсивним ростом істотно різняться за фенотиповими та генотиповими властивостями, важливо було дослідити, які фітогормони можуть продукувати ці мікроорганізми, та оцінити їх вплив на рослину-господаря.

За використання методу спектроденсиметричної тонкошарової хроматографії встановлено, що штам *B. japonicum* 46 та KB11 синтезують фітогормони-стимулятори ауксинової і цитокінінової природи (рис. 1 — а, б).

За культивування на манітно-дріжджовому середовищі сумарний рівень продукування ауксинів у повільнорослого штаму



Продукування фітогормонів штамми: а — повільнорослим *B. japonicum* 46; б — інтенсивно-рослим *B. japonicum* KB11, мкг/г АСБ

B. japonicum 46 був вищим, ніж у інтенсивнорослого штаму *B. japonicum* KB11. У його надосадовій рідині виявлено два фітогормони: ІОК (30,4 мкг/г АСБ) та індол-3-масляна кислота (18,0 мкг/г АСБ), що розглядається як запасна форма ІОК [16]. Штам *B. japonicum* KB11 продукував лише ІОК — 34,2 мкг/г АСБ.

Досліджувані бульбочкові бактерії сої виявились активними продуцентами речовин цитокінінової природи — зеатину та зеатин-рибозиду. Загальний уміст цих речовин у супернатантах штамів із різною швидкістю росту істотно відрізнявся. Так, повільнорослий штам *B. japonicum* 46 синтезував 328,50 мкг/г АСБ цитокінінів, тоді як інтенсивнорослий штам *B. japonicum* KB11 — 835,3 мкг/г АСБ. Рівень продукування зеатину штамми ризобій сої був майже на одному рівні (25,3 та 20,6 мкг/г АСБ відповідно). Проте штам *B. japonicum* KB11 синтезував значно більшу кількість транспортної форми цитокінінів — зеатин-рибозиду (814,70 мкг/г АСБ) порівняно зі штамом *B. japonicum* 46 (303,20 мкг/г АСБ). На нашу думку, підвищена здатність штаму *B. japonicum* KB11 до продукування фітогормонів цитокінінової природи може впливати на його взаємодію з макросимбіонтом. Адже відомо, що чим сильнішою є здатність ризосферних бактерій до синтезу рибозильованих форм цитокінінів, тим вищим є рівень їх спеціалізованої адаптації до рослини-господаря [17].

Обидва штами ризобій сої не синтезували абсцизової кислоти, яка регулює широкий спектр захисних реакцій рослин та є фітогормоном-інгібітором їх росту і розвитку. З літератури відомо, що деякі представники виду *B. japonicum* можуть продукувати абсцизову кислоту, однак її біосинтез не корелює з ефективністю цих мікроорганізмів [18].

Наступним етапом нашої роботи було дослідити вплив штамів ризобій сої з різною швидкістю росту та їх метаболітів на формування симбіозу з рослиною-господарем.

Вегетаційний дослід із соєю проводили на дерново-підзолистому ґрунті без бульбочкових бактерій, а також на фоні

численної популяції специфічних ризобій. Насіння сої обробляли окремо повільнорослим (*B. japonicum* 46) або інтенсивнорослим (*B. japonicum* KB11) штамми та їх бінарною композицією. Для оцінки впливу біологічно активних речовин, які продукують досліджувані штами, на симбіотичні взаємовідносини з соєю використовували фільтровані культуральні рідини цих мікроорганізмів.

Аналіз отриманих даних засвідчив, що за відсутності у ґрунті ризобій сої, повільно- та інтенсивнорослий штами *B. japonicum* сприяли утворенню значної кількості бульбочок — 27–30 од./рослину (табл. 1). Маса бульбочок становила 0,54–0,57 г/рослину, а їх нітрогеназна активність — 32,49–35,14 мкг N/рослину за 1 год. За сумісного використання штамів *B. japonicum* 46 та *B. japonicum* KB11 відзначено достовірне збільшення показників симбіозу порівняно із моноінокуляцією.

У жодному з варіантів із обробкою насіння метаболітами активних штамів *B. japonicum* не спостерігалось утворення бульбочок. Це підтверджує відсутність живих клітин ризобій у фільтрованих культуральних рідинах.

Як свідчать дані, наведені у табл. 1, метаболіти досліджуваних штамів позитивно впливали на розвиток рослини-господаря. За обробки насіння фільтрованою культуральною рідиною кожного із штамів окремо, а також за їх сумісного застосування зафіксовано достовірні прирости надземної фітомаси сої — на 6,4–12,8% порівняно з контролем. Імовірно, це обумовлено стимулювальним впливом на рослини фітогормональних речовин, які синтезуються бульбочковими бактеріями, зокрема активізацією фотосинтетичного апарату сої, про що свідчить виявлена тенденція до підвищення вмісту хлорофілів *a* і *b* у біомасі листя (табл. 2).

Аналогічні результати отримано під час використання фільтрованих культуральних рідин бульбочкових бактерій за вирощування сої на фоні численної популяції ризобій. У цьому варіанті дія метаболітів була більш вираженою.

Вплив штамів бульбочкових бактерій сої та їх продуктів метаболізму на симбіотичні показники та розвиток рослин сої сорту Устя

Варіанти досліджу	Кількість бульбочок, од./рослину	Маса бульбочок, г/рослину	Активність азотфіксації, мкг N/рослину за 1 год	Суха надземна маса рослин	
				г/рослину	приріст до контролю, %
<i>Ґрунт без бульбочкових бактерій сої</i>					
Без інокуляції (контроль)	0	0	0	0,94	100,0
Інокуляція культурою <i>V. jarrowii</i> 46	30,47	0,57	35,14	1,14	121,3
Обробка метаболітами <i>V. jarrowii</i> 46	0	0	0	1,05	111,7
Інокуляція культурою <i>V. jarrowii</i> KB11	27,07	0,54	32,49	1,11	118,1
Обробка метаболітами <i>V. jarrowii</i> KB11	0	0	0	1,00	106,4
Бінарна інокуляція <i>V. jarrowii</i> 46 + <i>V. jarrowii</i> KB11	35,20*	0,63	40,08	1,25	133,0
Обробка метаболітами <i>V. jarrowii</i> 46 + <i>V. jarrowii</i> KB11	0	0	0	1,06	112,8
НІР ₀₅	2,54	0,04	2,84	0,04	
<i>На фоні популяції бульбочкових бактерій сої у ґрунті</i>					
Без інокуляції (контроль)	59,93	0,67	44,30	1,18	100,0
Інокуляція культурою <i>V. jarrowii</i> 46	76,60	0,78	62,33	1,30	110,2
Обробка метаболітами <i>V. jarrowii</i> 46	71,60	0,72	61,80	1,25	105,9
Інокуляція культурою <i>V. jarrowii</i> KB11	67,60	0,78	66,22	1,32	111,9
Обробка метаболітами <i>V. jarrowii</i> KB11	73,93	0,79	62,69	1,31	111,0
Бінарна інокуляція <i>V. jarrowii</i> 46 + <i>V. jarrowii</i> KB11	80,53	0,82	74,87	1,38	116,9
Обробка метаболітами <i>V. jarrowii</i> 46 + <i>V. jarrowii</i> KB11	70,27	0,78	68,69	1,38	116,9
НІР ₀₅	8,15	0,04	8,55	0,05	

Примітка (до табл. 1, 2): * – жирним шрифтом виокремлено достовірні прирости до моноінокуляції.

Таблиця 2

Вплив штамів ризобій сої та їх продуктів метаболізму на вміст хлорофілів у біомасі листя сої сорту Устя (вегетаційний дослід)

Варіанти дослідів	Кількість хлорофілу, мг/100 г		
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a + b</i>
<i>Ґрунт без бульбочкових бактерій сої</i>			
Без інокуляції (контроль)	53,85	13,74	67,59
Інокуляція культурою <i>V. japonicum</i> 46	165,46	43,85	209,31
Обробка метаболітами <i>V. japonicum</i> 46	58,34	14,89	73,32
Інокуляція культурою <i>V. japonicum</i> KB11	159,37	33,06	192,43
Обробка метаболітами <i>V. japonicum</i> KB11	53,72	15,78	69,50
Бінарна інокуляція <i>V. japonicum</i> 46 + <i>V. japonicum</i> KB11	188,95*	47,94	236,89
Обробка метаболітами <i>V. japonicum</i> 46 + <i>V. japonicum</i> KB11	60,17	16,73	76,90
НІР ₀₅	15,85	3,96	17,57
<i>На фоні популяції бульбочкових бактерій сої у ґрунті</i>			
Без інокуляції (контроль)	154,30	41,42	195,72
Інокуляція культурою <i>V. japonicum</i> 46	194,48	48,08	242,56
Обробка метаболітами <i>V. japonicum</i> 46	169,16	40,20	209,36
Інокуляція культурою <i>V. japonicum</i> KB11	192,18	48,12	240,30
Обробка метаболітами <i>V. japonicum</i> KB11	168,67	48,23	216,90
Бінарна інокуляція <i>V. japonicum</i> 46 + <i>V. japonicum</i> KB11	216,12	60,47	276,59
Обробка метаболітами <i>V. japonicum</i> 46 + <i>V. japonicum</i> KB11	192,97	46,95	239,91
НІР ₀₅	5,43	4,88	9,03

У варіантах із застосуванням метаболітів кожного штаму окремо, а також за їх поєднання, спостерігалася активізація нодуляційного процесу та підвищення рівня фіксації азоту в бульбочках порівняно з контролем (табл. 1). Обробка насіння фільтратами різних штамів сприяла достовірному збільшенню надземної маси рослин

на 5,9–11,0% порівняно з контролем. Слід підкреслити, що максимальний позитивний вплив на розвиток рослин виявлено у варіантах: за сумісної обробки насіння сої штамми *V. japonicum* 46 і *V. japonicum* KB11 та за сумісного використання їх метаболітів. Надземна маса рослин у цих варіантах була однаковою і становила

1,38 г/рослину. Крім того, за бінарної обробки метаболітами достовірно збільшувався вміст хлорофілів *a* і *b* у біомасі листя порівняно з контролем (табл. 2). На нашу думку, за вирощування сої на фоні ґрунтової популяції бульбочкових бактерій метаболіти досліджуваних штамів позитивно впливали не лише на рослину-господаря, але і на представників цієї популяції, підвищуючи їх здатність до інфікування сої. Найбільший позитивний ефект від суміс-

ного застосування фільтрованих культуральних рідин може бути обумовлений їх синергічною дією. Так, штами з повільним та інтенсивним ростом можуть продукувати фітогормональні речовини, які різняться за якісним та кількісним складом.

Серологічний аналіз бульбочок сої засвідчив, що ризобії, які інфікували рослини в контролі, належали до серогруп 46 та KB11 у співвідношенні 16,7 і 66,7% відповідно (табл. 3). Крім того, 16,7% буль-

Таблиця 3

Частка штамів *V. jarrowii* у бульбочках сої (вегетаційний дослід)

Варіанти дослідів	Частка штамів ризобій сої у бульбочках, %				Індекс Шеннона (H)
	46	M8	KB11	Інші*	
<i>ґрунт без бульбочкових бактерій сої</i>					
Без інокуляції (контроль)	–	–	–	–	–
Інокуляція культурою <i>V. jarrowii</i> 46	100,00	–	–	–	–
Обробка метаболітами <i>V. jarrowii</i> 46	0	–	–	–	–
Інокуляція культурою <i>V. jarrowii</i> KB11	–	–	100,00	–	–
Обробка метаболітами <i>V. jarrowii</i> KB11	–	–	0	–	–
Бінарна інокуляція <i>V. jarrowii</i> 46 + <i>V. jarrowii</i> KB11	54,17	–	45,83	–	0,69
Обробка метаболітами <i>V. jarrowii</i> 46 + <i>V. jarrowii</i> KB11	0	–	0	–	–
<i>На фоні популяції бульбочкових бактерій сої у ґрунті</i>					
Без інокуляції (контроль)	16,67	0	66,67	16,67	0,87
Інокуляція культурою <i>V. jarrowii</i> 46	29,17	0	54,17	16,67	0,99
Обробка метаболітами <i>V. jarrowii</i> 46	29,17	4,17	62,50	4,17	0,92
Інокуляція культурою <i>V. jarrowii</i> KB11	4,17	4,17	66,67	25,00	0,88
Обробка метаболітами <i>V. jarrowii</i> KB11	10,42	0	62,50	27,08	0,88
Бінарна інокуляція <i>V. jarrowii</i> 46 + <i>V. jarrowii</i> KB11	20,83	4,17	54,17	20,83	1,12
Обробка метаболітами <i>V. jarrowii</i> 46 + <i>V. jarrowii</i> KB11	8,33	10,42	68,75	12,50	0,96

Примітка: * – бульбочкові бактерії сої не належать до жодної із відомих серогруп.

бочок сформували бульбочкові бактерії невідомих серологічних груп. Інокуляція сої як досліджуваними штамми, так і їх метаболітами спричиняла кількісні зміни у складі бульбочкових популяцій ризобій сої. У варіантах із обробкою *B. japonicum* KB11, фільтрованою культуральною рідиною *B. japonicum* 46, та сумісною інокуляцією вказаними штамми і їх метаболітами спостерігалось утворення бульбочок мінорними представниками ґрунтової популяції ризобій серогрупи M8 (4,2–10,4% бульбочок).

Слід наголосити, що сумісне використання двох штамів (*B. japonicum* 46 та *B. japonicum* KB11) забезпечувало формування збалансованої симбіотичної системи сої без явного домінування деяких штамів у бульбочках. Про це свідчить максимальне значення індексу різноманіття Шеннона ($H = 1,12$).

Отримані дані демонструють, що на формування симбіозу бульбочкових бактерій із соєю можуть впливати не лише штамми-інокулянти, але і синтезовані ними біологічно активні речовини. За обробки насіння метаболітами досліджуваних штамів *B. japonicum* з різною швидкістю росту відбувалось перегрупування ризобій у бульбочкових популяціях та змінювалась їх частка у бульбочках. До того ж індекс різноманіття Шеннона збільшувався порівняно з контролем — у межах значень 0,87–0,96.

ВИСНОВКИ

Штами бульбочкових бактерій *B. japonicum* 46 і *B. japonicum* KB11 можуть продукувати біологічно активні речовини ауксинової та цитокинінової природи. Виявлено відмінності між штамми за рівнем синтезу позаклітинних фітогормонів: повільнорослий штам *B. japonicum* 46 продукує більшу кількість ауксинів (48,4 порівняно з 34,2 мкг/г АСБ), тоді як інтенсивнорослий штам *B. japonicum* KB11 значно переважає за кількістю цитокинінів (835,3 до 328,5 мкг/г АСБ).

Встановлено, що не лише штамми бульбочкових бактерій *B. japonicum* 46 і *B. japonicum* KB11, але і продукти їх метаболізму можуть позитивно впливати на формування і функціонування симбіотичних систем сої. Досліджувані штамми-інокулянти та фільтровані культуральні рідини цих мікроорганізмів спричиняли кількісні зміни у складі бульбочкових популяцій ризобій сої і забезпечували зростання їх різноманіття. Бінарна інокуляція сої штамми *B. japonicum* 46 і *B. japonicum* KB11 виявилась ефективнішою, ніж моноінокуляція. На фоні ґрунтової популяції ризобій обробка насіння метаболітами двох штамів у вигляді фільтрованих культуральних рідин забезпечила збільшення надземної фітомаси сої аналогічно дії живих клітин цих мікроорганізмів (на 16,9% порівняно з контролем).

ЛІТЕРАТУРА

1. *Иванова К.А.* Защитные реакции в бобово-ризобийном симбиозе: индукция и супрессия / К.А. Иванова, В.Е. Цыганов // Сельскохозяйственная биология. — 2014. — Т. 49, № 3. — С. 3–12.
2. Биологическая фиксация азота: бобово-ризобийный симбиоз: монография в 4-х т. / С.Я. Коць, В.В. Моргуи, В.Ф. Патыка и др.; под. общ. ред. С.Я. Коця. — Т. 2. — К.: Logos, 2011. — 523 с.
3. Роль фитогормонов в контроле развития симбиотических клубеньков у бобовых растений. Сообщение I: Цитокинины / Е.А. Долгих, А.Н. Кириенко, И.В. Лепянен, А.В. Долгих // Сельскохозяйственная биология. — 2016. — Т. 51, № 3. — С. 3–12.
4. *Ferguson B.J.* Signaling interactions during nodule development / B.J. Ferguson, U. Mathesius // J. Plant Growth Regul. — 2003. — Vol. 22, No. 1. — P. 47–72.
5. *Phillips D.A.* A cotyledonary inhibitor of root nodulation in *Pisum sativum* / D.A. Phillips // Physiol. Plantarum. — 1971. — Vol. 25, No. 3. — P. 482–487.
6. *Умаров М.М.* Микробиологическая трансформация азота в почве / М.М. Умаров, А.В. Кураков, А.А. Степанов. — М.: ГЕОС, 2007. — 138 с.
7. *Драгатов И.В.* Синтез фитогормонов штаммами *Bradyrhizobium japonicum* различной симбиотической эффективности / И.В. Драгатов, Н.О. Леонова, Г.А. Иутинская // Микробиол. журн. — 2011. — Т. 73, № 4. — С. 29–35.
8. Біологічна різноманітність бульбочкових бактерій сої в ґрунтах України / Д.В. Крутило, О.В. Надкеришна, Т.М. Ковалевська, В.П. Патица // Микробиол. журн. — 2008. — Т. 70, № 6. — С. 27–34.

9. Krutylo D.V. Genotypic analysis of nodule bacteria nodulating soybean in soils of Ukraine / D.V. Krutylo, V.S. Zotov // *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. — 2015. — Vol. 5, Issue 2. — P. 102–109.
10. Леонова Н.О. Синтез ауксинів та цитокинінів *Bradyrhizobium japonicum* за дії флавоноїдів / Н.О. Леонова // *Мікробіол. журн.* — 2015. — Т. 77, № 5. — С. 95–103.
11. Методические подходы к определению фитогормонов с помощью спектроденситометрической тонкослойной хроматографии / С.В. Савинский, И.Ш. Кофан, В.И. Кофанов, И.Л. Стаевская // *Физиол. и биохим. культ. раст.* — 1987. — Т. 19, № 2. — С. 210–215.
12. Методические рекомендации по определению фитогормонов. — К.: Ин-т ботаники АН УССР, 1988. — 78 с.
13. Pielou E.C. Ecological diversity and its measurement / E.C. Pielou // *An Introduction to Mathematical*

- Ecology. — New York: Wiley Interscience. John Wiley & Sons, 1969. — P. 221–235.
14. The acetylene-ethylene assay for N₂-fixation: Laboratory and field evaluation / R.W.F. Hardy, R.D. Holsten, E.K. Jackson, R.C. Burns // *Plant Physiol.* — 1968. — Vol. 43, No. 8. — P. 1185–1207.
15. Гродзинский А.М. Краткий справочник по физиологии растений / А.М. Гродзинский, Д.М. Гродзинский. — К.: Наукова думка, 1973. — 398 с.
16. Epstein E. Indole-3-butyric acid in plants: occurrence, synthesis, metabolism and transport / E. Epstein, J.-L. Müller // *Physiol. plantarum*. — 1993. — Vol. 88. — P. 382–389.
17. Metabolism and molecular activities of cytokinins / Eds. J. Guern, C. Peaud-Lenoel. — New York: Springer Science & Business Media, 2012. — 354 p.
18. Коць С.Я. Способность штаммов и Тп5-мутантов *Bradyrhizobium japonicum* к синтезу ИУК и АБК *in vitro* / С.Я. Коць, Н.В. Волкогон, Е.А. Гришук // *Физиол. и биохим. культ. раст.* — 2010. — Т. 42, № 6. — С. 491–496.

REFERENCES

1. Ivanova, K.A., Tsyganyov, V.E. (2014). Zashchitnyie reaktsii v bobovo-rizobialnom simbioze: induktsiya i supressiya [Defense responses during the legume-rhizobium symbiosis: induction and suppression]. *Selskohozyaystvennaya biologiya — Agricultural biology*, 49, 3, 3–12 [in Russian].
2. Kots, S.Ya., Morgun, V.V., & Patyika, V.F. et al. (2011). *Biologicheskaya fiksatsiya azota: bobovo-rizobialnyiy simbioz [Biological fixation of nitrogen: legume-rhizobial symbiosis]*. S.Ya. Kots (Ed.). (Vol. 1–4). Kiev: Logos [in Russian].
3. Dolgikh, E.A., Kirienko, A.N., Leppyanen, I.V., Dolgikh, A.B. (2016). Rol fitogormonov v kontrole razvitiya simbioticheskikh klubenkov u bobovyih rasteniy. I. Tsitokiniiny [Role of phytohormones in the control of symbiotic nodule development in legume plants. I. Cytokinins]. *Selskohozyaystvennaya biologiya — Agricultural biology*, 51, 3, 3–12 [in Russian].
4. Ferguson, B.J., Mathesius, U. (2003). Signaling interactions during nodule development. *J. Plant Growth Regul*, 22, 1, 47–72 [in English].
5. Phillips, D.A. (1971). A cotyledonary inhibitor of root nodulation. In: *Pisum sativum. Physiol. Plantarum*, 25, 3, 482–487 [in English].
6. Umarov, M.M., Kurakov, A.V., Stepanov, A.A. (2007). *Mikrobiologicheskaya transformatsiya azota v pochve [Microbiological transformation of nitrogen in soil]*. Moscow: GEOS [in Russian].
7. Dragovoz, I.V., Leonova, N.O., Iutinskaya, G.A. (2011). Sintez fitogormonov shtammami *Bradyrhizobium japonicum* razlichnoy simbioticheskoy effektivnosti [Phytohormones synthesis by *Bradyrhizobium japonicum* strains with different symbiotic effectiveness]. *Mikrobiologichnyi zhurnal — Microbiological journal*, 73, 4, 29–35 [in Russian].
8. Krutylo, D.V. Nadkernychna, O.V., Kovalevska, T.M., Patyika, V.P. (2008). Biologichna riznomanitnist bulbochkovykh bakterii soi v gruntakh Ukrainy [Biodiversity soybean rhizobia in soils of Ukraine]. *Mikrobiologichnyi zhurnal — Microbiological journal*, 70, 6, 27–34 [in Ukrainian].
9. Krutylo, D.V., Zotov, V.S. (2015). Genotypic analysis of nodule bacteria nodulating soybean in soils of Ukraine. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*, 5, 2, 102–109 [in English].
10. Leonova, N.O. (2015). Syntez auksyniv ta tsytokininiv *Bradyrhizobium japonicum* za dii flavonoidiv [Auxin and cytokinin synthesis by *Bradyrhizobium japonicum* under flavonoids influence]. *Mikrobiologichnyi zhurnal — Microbiological journal*, 77, 5, 95–103 [in Ukrainian].
11. Savinskiy, S.V., Kofman, I.Sh., Kofanov, V.I., Stasevskaya, I.L. (1987). Metodicheskie podhody k opredeleniyu fitogormonov s pomoschyu spektrodensitometricheskoy tonkosloynoy hromatografii [Methodological approaches to the determination of plant hormones using spectrodensitometry thin layer chromatography]. *Fiziologiya i biokhimiya kulturnyih rasteniy — Physiology and biochemistry of cultivated plants*, 19, 2, 210–215 [in Russian].
12. Metodicheskie rekomendatsii po opredeleniyu fitogormonov. (1988). [Methodological recommendations for determining phytohormones]. Kiev: In-t botaniki AN USSR [in Russian].
13. Pielou, E.C. (1969). *Ecological diversity and its measurement*. In *An Introduction to Mathematical Ecology*. New York: Wiley Interscience. John Wiley & Sons [in English].
14. Hardy, R.W.F., Holsten, R.D., Jackson, E.K., Burns, R.C. (1968). The acetylene-ethylene assay for N₂-fixation: Laboratory and field evaluation. *Plant Physiology*, 43, 8, 1185–1207 [in English].
15. Grodzinskiy, A.M., & Grodzinskiy, D.M. (1973). *Kratkiy spravochnik po fiziologii rasteniy [Brief guide*

- to plant physiology]. Kiev: Naukova dumka [in Russian].
16. Epstein, E., Müller, J.-L. (1993). Indole-3-butyric acid in plants: occurrence, synthesis, metabolism and transport. *Physiology Plantarum*, 88, 382–389 [in English].
 17. Guern, J., Peaud-Lenoel, C. (Eds.). (2012). *Metabolism and molecular activities of cytokinins*. New York: Springer Science & Business Media [in English].
 18. Kots, S.Ya., Volkogon, N.V., Grischuk, E.A. (2010). Sposobnost shtammov i Tn5-mutantov *Bradyrhizobium japonicum* k sintezu IUK i ABK in vitro [Ability of strains and Tn5-mutants of *Bradyrhizobium japonicum* to synthesize IAA and ABA in vitro]. *Fiziologiya i biokhimiya kulturnykh rasteniy – Physiology and biochemistry of cultivated plants*, 42, 6, 491–496 [in Russian].

УДК 579.26:577.181

ASSESSMENT OF SORPTION AND TOXICITY OF FLUOROQUINOLONE ANTIBIOTIC IN AGROECOSYSTEMS

L. Symochko

ДВНЗ «Ужгородський національний університет»

Наведено результати досліджень сорбції антибіотика класу фторхінолонів — енрофлоксацину різними сільськогосподарськими культурами за внесення різної його концентрації у ґрунт: $1000 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$; $100 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$; $10 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$. Експериментальні дослідження засвідчили, що активність поглинання антибіотика залежить від його концентрації у ґрунті і виду сільськогосподарської рослини. Встановлено, що найактивніше антибіотик поглинають *Lactuca sativa* var. *Crispa* і *Calendula officinalis*. Мінімальним уміст енрофлоксацину серед п'яти рослин був у *Mentha piperita*. Внесення у ґрунт енрофлоксацину в концентрації $1000 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$ спричиняє формування високого рівня токсичності ґрунту. В модельних екосистемах з *Thymus serpyllum* та *Mentha piperita* токсичність ґрунту становила понад 70% в експериментах in vitro і в середньому на 7% менше в — in vivo.

Ключові слова: енрофлоксацин, агроекосистема, фітотоксичність, антибіотик, сільськогосподарські рослини.

The fluoroquinolones are one of the most used classes of antibiotics. Enrofloxacin belongs to the class of fluoroquinolone antibiotics that have been intensively used for the treatment of bacterial infections in veterinary medicine. Once antibiotics enter the ecosystems, they can be treated as an ecological factor, driving the evolution of the community structure [1, 2]. Accordingly, the change of community structure influences the ecological function of soil and water ecosystems such as biomass production and nutrient transformation. Indirect effects from the antibiotic disturbance to the micro-ecosystem are largely unknown, and it is expected that such disturbance might have significant and

long-term effects on the rate and stability of ecosystem functioning [3–5].

In the environment, enrofloxacin can undergo degradations by different processes including photolysis, biodegradation and oxidation by mineral oxides but it is not sensitive to hydrolysis. Despite these degradation mechanisms, environmental half life time of enrofloxacin is very long. This long environmental persistence of enrofloxacin can affect the growing of plant and the activity of the soil microbial communities.

As final products of metabolism, enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin end up in excrement [6, 7]. Livestock manure is commonly used as organic fertilizer. One of its uses is on the fields where food plants are