

<https://doi.org/10.15407/frg2022.01.026>

УДК 581.557:58.032.3

ВИКОРИСТАННЯ БУЛЬБОЧКОВИХ БАКТЕРІЙ ЯК ЗАСОБУ РОЗШИРЕННЯ АДАПТИВНИХ МОЖЛИВОСТЕЙ СОЇ В УМОВАХ ПОСУХИ

Н.А. ВОРОБЕЙ, П.П. ПУХТАЄВИЧ, Т.А. КОЦЬ, С.Я. КОЦЬ

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

Вивчали симбіотичні системи, створені соєю сорту Алмаз (*Glycine max* (L.) Merr.) та штамми бульбочкових бактерій *Bradyrhizobium japonicum* 646, PC09, B157, за різного вологозабезпечення (30 і 60 % ПВ). У результаті досліджень встановлено, що посуха залежно від функціональної та адаптаційної здатності кожного з мікосимбіонтів пригнічувала процес нодуляції, внаслідок чого кількість і маса корневих бульбочок рослин за недостатнього поливу зменшувалася порівняно з показниками контрольних рослин (вирощених за 60 % ПВ). Недостатнє вологозабезпечення (30 % ПВ) негативно впливало на функціонування симбіотичних систем *Glycine max* (L.) Merr.—*Bradyrhizobium japonicum* залежно від тривалості посухи. Штами *Bradyrhizobium japonicum* PC09 і B157 формували толерантніші до посухи симбіотичні системи оскільки їм була притаманна вища азотфіксувальна активність за зниженого вологозабезпечення (30 % ПВ) і в період відновлення поливу порівняно зі штамом *Bradyrhizobium japonicum* 646. Показано, що з подовженням посухи (від 3- до 10-ї доби) різниця за фізіологічними й симбіотичними показниками між дослідними і контрольними рослинами збільшувалася, але з відновленням поливу частково нівелювалася залежно від штаму-інокулянта.

Ключові слова: соя (*Glycine max* (L.) Merr.), азотфіксація, ефективність, симбіоз, ризобії, вологозабезпечення.

На початку 2021 р. NASA та низка екологічних організацій і наукових установ повідомили, що 2020 р. був найспекотнішим за всю історію метеоспостережень, а останні 20 років демонструють стійку тенденцію до зростання середньорічної температури. Концентрація вуглекислого газу в атмосфері зростає до рівня, який на 148 % вищий від доіндустріального, що призводить до посилення парникового ефекту, та як наслідок — до глобального підвищення температури [1–3]. Атмосферна посуха впродовж тривалого часу посилює випаровування води, висушування ризосферного шару ґрунту, спричинює підвищення вмісту солей. Відомо, що температурний і водний стреси гальмують фотосинтетичні процеси [4], порушують біосинтетичну

Цитування: Воробей Н.А., Пухтаєвич П.П., Коць Т.А., Коць С.Я. Використання бульбочкових бактерій як засобу розширення адаптивних можливостей сої в умовах посухи. *Фізіологія рослин і генетика*. 2022. 54, № 1. С. 26–39. <https://doi.org/10.15407/frg2022.01.026>

здатність рослин, посилюють розпад білків, змінюють колоїдно-хімічний стан цитоплазми, зменшують накопичення рослинами органічної речовини [5], призводять до втрат значної частини врожаю культурних рослин і зниження його якості [6]. У зв'язку з цим багато дослідників особливу увагу приділяють вивченню впливу змін клімату на екосистеми.

Згідно з результатами сучасних досліджень, симбіоз бобових рослин із бульбочковими бактеріями — одна з найефективніших систем біологічної фіксації азоту, яка функціонує як єдина система за впливу різноманітних біотичних та абіотичних чинників, має велике екологічне і практичне значення [7].

Активність азотфіксації у посівах бобових культур пов'язана з низкою чинників: ґрунтово-кліматичними умовами, сортовими особливостями, агротехнічними прийомами, але перш за все — із вологістю ґрунту, оскільки бульбочкові бактерії погано розмножуються за нестачі вологи. Водний стрес, пов'язаний із посухою, є одним із основних негативних чинників, що впливає на азотфіксацію при симбіозі бобових рослин із бульбочковими бактеріями [8]. Наслідки впливу посухи на формування та функціонування симбіозу бобових рослин із бульбочковими бактеріями добре вивчено й описано в наукових публікаціях. Згідно з літературними даними, гостра нестача вологи в ґрунті призводить до морфологічних змін структури оболонки бульбочки [9], порушення механізмів кисневого контролю, метаболізму і функціонування бульбочок та їх передчасного старіння [10, 11]. При цьому порушується формування і функціонування симбіотичного апарату, внаслідок чого знижується азотфіксувальна активність, що спричинює зменшення продуктивності рослин [12].

Сьогодні вчені багато уваги приділяють вивченню фізіології стійкості рослинно-мікробних симбіозів до впливу посухи [13, 14]. Проте головним завданням є пошук шляхів оптимізації функціонування бобово-ризобіальних систем за недостатнього вологозабезпечення. З цією метою пропонують використовувати різні природні біологічно активні речовини, зокрема ризобіальні глюкани, які здатні регулювати процеси становлення симбіотичних відносин між рослинами та мікроорганізмами. Доведено, що ризобіальний глюкан діє на рослину як екзогенний біоефектор [15]. За недостатнього вологозабезпечення рослин комбіноване застосування розчину глюкану та інокуляції активними штамами ризобій поліпшує формування і функціонування азотфіксувального апарату, активізує ріст надземної маси люцерни [16]. Як спосіб підвищення азотфіксувальної активності та продуктивності симбіотичних систем люцерна—*Sinorhizobium meliloti* за умов посухи запропоновано використовувати регулятор росту рослин цитокінінової дії полістимулін К [17]. Одним із перспективних шляхів, здатних пом'якшувати негативний вплив посухи на хід фізіологічних процесів у рослинах, є використання біологічно активних речовин, зокрема лектинів — білків неімунного походження, що вибірково й зворотно зв'язують вуглеводи без їх хімічного перетворення. Дія цих білків може бути пов'язана як із посиленням симбіотичних властивостей бульбочкових бактерій, так і з прямим їхнім впливом на ростові процеси рослин [18, 19].

Роль і значення азотфіксувальних мікроорганізмів у системі мутуалістичних взаємовідносин із бобовими рослинами безумовно особливо важливі за дії різних стресорів абіотичної та біотичної природи [20]. Вони багатофункціонально впливають на рослину власними екзометаболітами, які визначають не тільки здатність ризобіального штаму до бульбочкоутворення, а й реалізацію мікросимбіонтом його азотфіксувального потенціалу [21], тому пошук біологічних агентів — позитивних регуляторів, які підвищують симбіотичний і продуктивний потенціали бобово-ризобіальних систем, особливо за дії стресових чинників, залишається актуальним [22].

Одним із важливих типів адаптації бульбочкових бактерій родів *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium* і *Bradyrhizobium* до дефіциту вологи є продукування екзополісахаридів, які є гідратованими сполуками з 97 %-м вмістом води в полімерній матриці, що формують біоплівку [23]. Дефіцит вологи, як правило, стимулює вироблення екзополісахаридів, останні міцніше прикріплюють бактерії, які таким чином ефективніше колонізують корені бобових рослин. Дослідженнями з мутантами podD1 виявлено, що формування біоплівки має вирішальне значення для оптимальної колонізації коренів і симбіозу між *Sinorhizobium fredii* та рослинами сої [23]. Інокуляція сої стійкішим до дефіциту вологи штамом *S. fredii* поліпшувала характеристики кореневих бульбочок за вирощування рослин в умовах дефіциту води, однак не завжди стимулювала ріст рослин [24]. Серед стресових адаптаційних механізмів бульбочкових бактерій виявлено біосинтез сумісних розчинних речовин, що збалансовують внутрішній і зовнішній водні потенціали клітин [25].

Отже, стійкіші до стресу ризобіальні штами здатні ініціювати формування бульбочок, які мають поліпшену структуру та ефективніший метаболізм для фіксації біологічного азоту [26].

У низці досліджень показано, що взаємозв'язок рослин із вільноіснуючими ґрунтовими бактеріями — ризобактеріями, які сприяють росту рослин (PGPR), може бути засобом толерантності до посухи. Ризобактерії сприяли підвищенню врожайності рослин та якості зерна під час посухи в результаті збільшення еластичності клітинної стінки [27]. Отже, дослідження реакції рослин — партнерів симбіозу на дію водного стресу необхідні для контролю й поліпшення їхніх агрономічних характеристик, а також актуальні у зв'язку з глобальним потеплінням клімату.

У зв'язку з цим метою наших досліджень було вивчення ефективності застосування нових штамів азотфіксувальних бактерій *Bradyrhizobium japonicum* при вирощуванні рослин сої за різних умов вологозабезпечення.

Методика

Об'єктами дослідження були симбіотичні системи, створені соєю сорту Алмаз (*Glycine max* (L.) Merr.) (оригіна́тор — Полтавська державна аграрна академія, занесений до реєстру сортів рослин України з 2007 р. і рекомендований для вирощування у Лісостепу України) за участю активних штамів бульбочкових бактерій *B. japonicum*.

Сою вирощували по 8 рослин у 10-кілограмових посудинах, простерилізованих 20 %-м розчином H_2O_2 , на річковому піску за природного освітлення та оптимального (60 % ПВ) і недостатнього (30 % ПВ) вологозабезпечення. Джерелом мінерального живлення слугувала поживна суміш Гельригеля [28], що містила 0,25 норми азоту (повна норма азоту становить 0,708 г $Ca(NO_3)_2$ на 1 кг субстрату), з додаванням мікроелементів.

У роботі використано високоактивні конкурентоспроможні штами бульбочкових бактерій з музейної колекції азотфіксувальних мікроорганізмів відділу симбіотичної азотфіксації ІФРГ НАН України — *B. japonicum* 646 (виробничий штам аналітичної селекції), *B. japonicum* PC09 (виділений з бульбочок сої сорту Київська 27, що росла на темно-сірому опідзоленому ґрунті в Уманському р-ні Черкаської обл.) та *B. japonicum* B157 (Tn5-мутант, отриманий у результаті транспозонового мутагенезу (pSUP5011::Tn5mob) штаму *B. japonicum* 646).

Ризобії вирощували на МДА протягом 8 діб за температури 28 °С [29]. Мікроорганізми з поверхні МДА змивали стерильною водопровідною водою. Насіння сої стерилізували протягом 15 хв 70 %-м розчином етанолу, промивали під проточною водою 1 год, інокулювали упродовж 1 год бактеріальною суспензією концентрацією 10^9 кл/мл і висівали в піщаний субстрат.

Моделюну посуху створювали за допомогою контрольованого поливу. Із фази трьох справжніх листків упродовж 10 діб вологість субстрату підтримували на рівні 30 % ПВ, потім полив відновлювали до рівня оптимальної вологості субстрату (60 % ПВ). Фізіологічні й симбіотичні показники рослин визначали через 3 і 10 діб посухи та через 7 діб після відновлення поливу. Контролем слугували рослини, вирощені за оптимального вологозабезпечення.

Азотфіксувальну активність (АФА) визначали за рівнем ацетиленвідновлювальної активності бульбочок методом Hardy et al. [30] і виражали в мікромолях етилену, який утворили бульбочки однієї рослини за 1 год. Газову суміш аналізували на газовому хроматографі «Agilent Technologies 6850» (США) Network GC System із полумєново-іонізаційним детектором. Гази розділяли на колонці (Supelco Porapak N) за температур термостата +55 °С і детектора +150 °С. Газовим носієм був азот (50 мл/хв), визначення проводили в 4-разовому повторенні.

Біометричні показники — масу рослин і масу бульбочок — вимірювали у 10-разовому повторенні. Експериментальні дані оброблено статистично за використання методів статистичного аналізу програми Microsoft Excel 2019. У таблицях наведено середньоарифметичні дані та їхні стандартні похибки.

Результати та обговорення

Згідно з літературними даними, азотфіксувальні бактерії (симбіотичні та асоціативні), які мають адаптаційні механізми, набуті в процесі еволюції або в результаті штучної трансформації їхнього геному, можуть бути природними антидепресантами впливу абіотичних стрес-

сових чинників на життєдіяльність рослин [23]. У процесі проведення експериментів ми використали ефективні штами бульбочкових бактерій *B. japonicum* PC09 та B157, отримані різними методами селекції, особливістю яких є підвищена здатність до продукування екзополісахаридів у чистій культурі.

На підставі отриманих результатів досліджень було з'ясовано, що умови недостатнього вологозабезпечення рослин сої істотно впливають на вірулентність, бульбочкоутворювальну (нодуляційну) здатність зазначених мікросимбіонтів, а також на функціональну (нітрогеназну) активність сформованих за їхньою участю симбіозів *Glycine max* (L.) Merr.—*B. japonicum*, яка визначає рівень накопичення азоту — основну складову формування продуктивності рослин [31].

Протягом усього періоду спостережень кількість бульбочок, ініційованих різними штамми ризобій на коренях сої за умов оптимального поливу рослин (60 % ПВ), характеризувалася позитивною динамікою (табл. 1).

За недостатнього вологозабезпечення (30 % ПВ) у сої, інокульованої штамми *B. japonicum* 646, PC09 та B157, на 10-ту добу штучно створеної посухи (III відбір рослин) кількість бульбочок істотно зменшилася — відповідно в 1,3, 1,2 та 1,2 раза, порівняно з рослинами сої, інокульованої аналогічними штамми за оптимального вологозабезпечення (див. табл. 1). На 7-му добу після відновлення поливу ця різниця між показниками зменшувалася і становила відповідно 1,3, 1,1 та 1,1 раза. Отже, посуха чинила менший негативний вплив на нодуляційну активність селекціонованих нами активних ризобій PC09 і B157 порівняно зі штамом 646, що підтверджує їхню більшу толерантність до стресових умов, імовірно, за рахунок пристосувальних властивостей — інтенсивнішого продукування екзополісахаридів.

За даними літературних джерел, здатність бульбочкових бактерій пристосовуватися до навколишнього середовища, як правило, вища,

ТАБЛИЦЯ 1. Кількість бульбочок (шт/рослину) на коренях сої, інокульованої бульбочковими бактеріями *B. japonicum*, за різного вологозабезпечення

Варіант	До посухи	Тривалість посухи, доба		Доба після відновлення поливу
	I відбір	3-тя, II відбір	10-та, III відбір	7-ма, IV відбір
60 % ПВ				
Без інокуляції	—	—	—	—
646	15,2±0,5	20,6±1,5	26,0±2,2	35,5±2,6
PC09	17,7±1,3	21,6±1,5	28,8±1,6	37,8±2,7
B157	19,0±1,2	24,8±1,9	32,3±1,3	37,5±2,4
30 % ПВ				
Без інокуляції	—	—	—	—
646	—	17,2±1,6	20,2±1,4	27,3±2,1
PC09	—	20,5±0,9	24,7±1,8	34,5±1,3
B157	—	21,5±0,8	26,4±1,9	35,0±2,3

ніж у бобових рослин, оскільки й діапазон їхнього існування значно ширший [23]. Майже повсюдне поширення бульбочкових бактерій є доказом високого ступеня їх адаптованості до різних ґрунтово-кліматичних умов, здатності вести симбіотичний і сапрофітний способи життя. В зв'язку з цим ризобії, як правило, є стійкими до короткочасних посух.

Аналогічну тенденцію виявлено щодо наростання маси бульбочок на коренях сої залежно від штамів-інокулянтів, різного вологозабезпечення та тривалості дії посухи. За впливу короткочасної посухи маса бульбочок на коренях рослин сої, інокульованої штамми 646, РС09, В157, зменшилася в середньому в 1,3 раза (3-тя доба посухи, фаза 3 справжніх листків, II відбір) порівняно з відповідними показниками за оптимального поливу (60 % ПВ) у цей період (табл. 2). В інокульованих рослин сої, які зазнали тривалішої посухи (10-та доба посухи, III відбір рослин, фаза бутонізації) зазначений показник зменшився ще істотніше — в 2,2, 1,9 і 1,8 раза порівняно з масою кореневих бульбочок, сформованих на рослинах сої за оптимального вологозабезпечення (див. табл. 2). Як бачимо, активні штами РС09 і В157 виявилися більш адаптованими до штучно створеної посухи.

Відновлення поливу рослин до 60 % ПВ сприяло появі нових бульбочок і позитивно позначилося на збільшенні загальної їхньої маси на коренях сої, тому перевага рослин, які зростали за 60 % ПВ, за цим показником зменшилася й у фазу цвітіння була більшою лише в 1,8 та 1,7 раза (IV відбір). Водночас рослини, інокульовані штамом 646, за оптимального вологозабезпечення мали вдвічі більшу масу бульбочок, ніж за умов відновлення поливу.

Отже, посуха залежно від функціональної та адаптаційної здатності кожного з мікросимбіонтів пригнічувала процеси нодуляції, внаслідок чого кількість і маса бульбочок, сформованих на коренях рослин за недостатнього поливу, зменшувалися різною мірою

ТАБЛИЦЯ 2. Маса бульбочок (мг сухої речовини/рослину) на коренях сої, інокульованої бульбочковими бактеріями *V. jarrowii*, за різного вологозабезпечення

Варіант	До посухи	Тривалість посухи, доба		Доба після відновлення поливу
	I відбір	3-тя, II відбір	10-та, III відбір	7-ма, IV відбір
60 % ПВ				
Без інокуляції	—	—	—	—
646	12,0±0,9	15,2±1,2	30,5±1,4	55,2±2,1
РС09	13,2±1,2	17,3±1,1	31,3±1,6	58,5±3,1
В157	13,8±0,8	19,6±0,8	33,8±2,1	58,0±2,4
30 % ПВ				
Без інокуляції	—	—	—	—
646	—	11,3±0,5	13,7±1,0	27,5±1,4
РС09	—	12,8±0,7	16,6±0,7	31,8±1,7
В157	—	15,2±0,6	18,8±1,0	33,8±2,4

порівняно з показниками контрольних рослин, які зростали за оптимального вологозабезпечення.

Упродовж вегетаційного періоду за оптимального вологозабезпечення (60 % ПВ) виявлено позитивну динаміку АФА симбіотичних систем сої з піком активності у фазу цвітіння. При цьому АФА бульбочок сої, ініційованих перспективними штамми РС09, В157, була більшою порівняно з рослинами сої, інокульованої штамом *V. japonicum* 646, на 17,8 та 15,0 % у фазу 3 справжніх листків (II відбір), на 11,2 та 13,7 % у фазу бутонізації (III відбір), на 17,5 та 20,5 % у фазу цвітіння (IV відбір рослин) (табл. 3).

За умов 30 % ПВ АФА бульбочок сої, сформованих штамми РС09 і В157, зменшилася відповідно в 2,2 і 2,4 раза на 3-тю добу посухи (II відбір), у 3,9—4,1 раза — на 10-ту добу посухи (III відбір) порівняно з показниками рослин, вирощених за оптимального вологозабезпечення. За цих же умов кореневі бульбочки сої, ініційовані штамом *V. japonicum* 646, виявилися найменш активними і поступалися контрольним (60 % ПВ) за азотфіксацією в 2,4 раза на 3-тю добу та в 4,4 раза на 10-ту добу посухи.

Після відновлення вологозабезпечення (7-ма доба після відновлення поливу, IV відбір) у рослин, які раніше вирощували за умов посухи, АФА корневих бульбочок, сформованих штамми 646, РС09, В157, підвищилась, і перевага рослин контрольних варіантів за АФА становила лише 1,7, 1,4 та 1,5 раза. Отже, за умов посухи симбіоз сої з *V. japonicum* РС09 та В157 був ефективнішим за функціональною активністю порівняно з використанням для інокуляції штаму 646.

Нестача вологи негативно позначається перш за все на рослинному організмі. Неприятливий вплив виявляється в порушенні процесів фотосинтезу, що спричинює дефіцит вуглеводів. Недостатня кількість вуглеводів у рослині пригнічує активність азотфіксації. За-

ТАБЛИЦЯ 3. Динаміка загальної азотфіксувальної активності (ммоль C_2H_4 /(год × рослину) корневих бульбочок сої, інокульованої бульбочковими бактеріями *V. japonicum*, за різного вологозабезпечення

Варіант	До посухи	Тривалість посухи, доба		Доба після відновлення поливу
	I відбір	3-тя, II відбір	10-та, III відбір	7-ма, IV відбір
60 % ПВ				
Без інокуляції	—	—	—	—
646	0,69±0,03	0,73±0,02	1,68±0,12	2,34±0,18
РС09	0,62±0,02	0,86±0,04	1,78±0,10	2,75±0,16
В157	0,70±0,01	0,84±0,06	1,82±0,09	2,82±0,20
30 % ПВ				
Без інокуляції	—	—	—	—
646	—	0,30±0,01	0,38±0,01	1,31±0,11
РС09	—	0,36±0,02	0,45±0,02	1,89±0,15
В157	—	0,38±0,01	0,44±0,02	1,88±0,09

пускаються механізми захисту і всі поживні речовини витрачаються на побудову й розвиток кореневої системи для збільшення водопоглинання. Після нормалізації водного обміну в рослин, які зазнали впливу посухи, деяка частина старих бульбочок уже не відновлює своїх функцій. Водночас на периферійних коренях утворюються нові, дрібніші бульбочки, які фіксують значно менше азоту, ніж ті, що втратили життєздатність. Проте в сукупності рослинно-мікробна симбіотична система відновлюється і тим самим запускаються механізми подолання наслідків стресу.

Головним критерієм господарської цінності штамів бульбочкових бактерій *V. japonicum* є здатність формувати ефективний симбіоз із рослинами сої, який визначається насамперед збільшенням продуктивності останніх. Водночас ці мікроорганізми можуть бути чинниками адаптації бобово-ризобіального симбіозу сої до посухи, пом'якшувати вплив стресового навантаження на рослинно-мікробну систему та стимулювати біосинтетичні процеси.

З'ясовано, що за короткотривалої посухи (3-тя доба посухи), за надземною масою сухої речовини інокульовані й неінокульовані рослини істотно не відрізнялися від відповідних контрольних рослин (60 % ПВ). За тривалої посухи різниця між дослідними й контрольними рослинами за цим показником помітно зростає.

У результаті вивчення ростових параметрів рослин сої визначено, що найменшу масу сухої надземної речовини мали неінокульовані рослини за різних умов вологозабезпечення. За бактеризації активними штамми 646, PC09, B157 маса рослин зростала на 4,5; 23,5; 18,5 % відповідно за 60 % ПВ. І навпаки, за умов водного дефіциту (10-та доба посухи) показники надземної маси сухої речовини в усіх рослин зменшилися. Позитивний вплив передпосівної інокуляції насіння сої бульбочковими бактеріями за умов посухи чітко виявився у збільшенні приросту маси сухої речовини на 17,7; 26,2 та 28,0 % відносно неінокульованих рослин (табл. 4).

У результаті аналізу динаміки наростання маси рослин з'ясовано, що ефективність інокуляції сої толерантними до посухи штамми PC09, B157 була значно вищою порівняно з обробкою штамом 646 — на 18,2 і 13,4 % за оптимального вологозабезпечення і на 16,6 та 11,1 % за недостатнього вологозабезпечення (10-та доба посухи, фаза бутонізації, III відбір) (див. табл. 4). Після відновлення поливу до оптимального вологозабезпечення біосинтетичні процеси активізувались, про що свідчили прирости надземної маси та маси коренів рослин сої.

У процесі життєдіяльності бобових рослин вкрай важливу роль відіграє коренева система, оскільки забезпечує рослини необхідними елементами мінерального живлення. Формуючи разом із бульбочковими бактеріями «біофабрику» біологічного азоту, вона також підтримує (забезпечує) баланс азотного живлення рослин за його нестачі тощо. Розвиток кореневої системи, а отже, й усієї рослини величезною мірою залежить від умов вирощування. Висловлено думку, що за несприятливих умов коренева система розвивається інтенсивніше в пошуках елементів живлення та вологи [32].

ТАБЛИЦЯ 4. Динаміка вегетативної маси сої (з сухої речовини/рослину), іноккульованої бульбачковими бактеріями *V. jaranisum*, за різного вологозабезпечення

Варіант	До посухи, I відбір		Тривалість посухи, доба				Доба після відновлення поливу	
	Надземна частина	Корінь	3-тя, II відбір		10-та, III відбір		7-ма, IV відбір	
			Надземна частина	Корінь	Надземна частина	Корінь	Надземна частина	Корінь
	60 % ПВ							
Без інокуляції	0,69±0,03	0,43±0,02	1,13±0,05	0,49±0,03	1,57±0,09	0,66±0,02	1,79±0,08	0,70±0,02
646	0,84±0,01	0,44±0,02	1,23±0,06	0,52±0,02	1,64±0,11	0,60±0,03	2,10±0,10	0,85±0,05
PC09	0,86±0,02	0,50±0,03	1,37±0,1	0,60±0,02	1,94±0,01	0,74±0,02	2,37±0,12	0,79±0,03
B157	0,90±0,03	0,60±0,01	1,36±0,05	0,66±0,01	1,86±0,10	0,72±0,04	2,43±0,18	0,80±0,04
	30 % ПВ							
Без інокуляції	—	—	1,09±0,03	0,50±0,02	1,07±0,05	0,72±0,01	1,29±0,08	0,73±0,02
646	—	—	1,10±0,05	0,61±0,03	1,26±0,06	0,63±0,02	1,70±0,09	0,77±0,01
PC09	—	—	1,25±0,04	0,58±0,02	1,35±0,04	0,65±0,02	1,77±0,07	0,78±0,02
B157	—	—	1,26±0,08	0,67±0,01	1,37±0,09	0,70±0,03	1,82±0,08	0,75±0,03

Оцінюванням ризогенезу рослин сої за різних умов вологозабезпечення в наших дослідках виявлено незначну залежність росту кореневої системи від тривалості дії посухи (від 3 до 10 діб посухи) в разі застосування передпосівної інокуляції рослин активними штамми *V. japonicum*. Короткотривала 3-добова посуха (II відбір) не пригнічувала росту коренів рослин, а в деяких варіантах показники маси сухої речовини коренів мали тенденцію до збільшення. За 10-добової посухи коренева система рослин сої характеризувалася більшою кількістю дрібних новоутворених корінців. У фазу бутонізації (III відбір) маса коренів неінокульованих рослин збільшувалась на 9 % та незначно ослаблювалася ростова активність кореневої системи рослин сої, інокульованої бульбочковими бактеріями, за зниженого вологозабезпечення порівняно з рослинами аналогічних варіантів за оптимального вологозабезпечення.

Отже, недостатнє вологозабезпечення (30 % ПВ) негативно впливає на процеси формування та функціонування симбіотичних систем *Glycine max* (L.) Merr.—*V. japonicum* і певною мірою залежить від тривалості посухи. Посуха пригнічувала формування кореневих бульбочок, АФА симбіотичного апарату та наростання вегетативної маси рослин сої залежно від використаного штаму-інокулянта.

За нодуляційною активністю та масою сформованих на коренях бульбочок штам 646 виявився найчутливішим до посухи з усіх досліджених. Водночас штами *V. japonicum* PC07, B157 формували симбіотичні системи з вищою АФА за обох рівнів вологозабезпечення і сприяли приросту вегетативної маси за вирощування сої у стресових умовах. Показано, що зі збільшенням тривалості дії недостатнього вологозабезпечення різниця за цими показниками у дослідних рослин порівняно з контрольними помітно зростала, а з відновленням поливу частково нівелювалась (залежно від ефективності та толерантності до посухи залучених штамів-інокулянтів) порівняно з рослинами відповідних варіантів за 60 % ПВ.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Прищепя Я. Посухи та зсув природних зон. Як глобальні зміни клімату вплинуть на Україну [Електронний ресурс]. 21 червня 2021. Режим доступу: <https://sus-pilne.media/133665-posuhi-ta-zsuv-prirodnih-zon-ak-globalni-zmini-klimatu-vplintu-na-ukrainu/>
2. Reyer C., Bachinger J., Bloch R., Hattermann F.F., Ibisch P.L., Kreft S., Lasch P., Lucht W., Nowicki C., Spathelf P., Stock M., Welp M. Climate change adaptation and sustainable regional development: a case study for the Federal State of Brandenburg, Germany. *Regional Environmental Change*. 2012. **12**. P. 523–542. <https://doi.org/10.1007/s10113-011-0269-y>
3. Challinor A., Ewert F., Arnold S., Simelton E., Fraser E. Crops and climate change: progress, trends, and challenges in simulating impacts and informing adaptation. *J. Exp. Bot.* 2009. **60**, Is. 10. P. 2775–2789. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp062>
4. Sadras V.O., Milroy S.P. Soil-water thresholds for the responses of leaf expansion and gas exchange: a review. *Field Crops Research*. 1996. **47**, N 2–3. P. 253–266.
5. Taiz L., Zeiger F. *Plant Physiology*. Sunderland: Sinauer Associates, 2006. 764 p.
6. Gil-Quintana E., Larrainzar E., Seminario A., Diaz-Leal J.L., Alamillo J.M., Pineda M., Arrese-Igor C., Wienkoop S., Gonzalez E.M. Local inhibition of nitrogen fixation and nodule metabolism in drought-stressed soybean. *J. Exp. Bot.* 2013. **64**, Is. 8. P. 2171–2182. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert07>

7. Berendsen R.L., Pieterse C.M., Bakker P.A. The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science*. 2012. **17**, Is. 8. P. 478–486. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>
8. Serraj R. Effects of drought stress on legume symbiotic nitrogen fixation: Physiological mechanisms. *Indian J. Exp. Biol.* 2003. **41**, N 10. P. 1136–1141.
9. Matamoros M.A., Baird L.M., Escuredo P.R., Dalton D.A., Minchin F.R., Iturbe-Ormaetxe I., Rubio M.C., Moran J.F., Gordon A.J., Becana M. Stress-induced legume root nodule senescence. Physiological, biochemical and structural alternation. *Plant Physiol.* 1999. **121**, Is. 1. P. 97–111. <https://doi.org/10.1104/pp.121.1.97>
10. Apel A., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*. 2004. **55**. P. 373–399. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701>
11. Esfahani M.N., Mostajeran A. Rhizobial strain involvement in symbiosis efficiency of chickpea-rhizobia under drought stress: plant growth, nitrogen fixation and antioxidant enzyme activities. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2011. **33**. P. 1075–1083. <https://doi.org/10.1007/s11738-010-0635-2>
12. 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. Agr. Scien. and Technol.* 2011. N 3. P. 454–457.
13. Staudinger C., Mehmeti-Tershani V., Gil-Quintana E., Gonzalez E.M., Hofhansl F., Bachmann G., Wienkoop S. Evidence for a rhizobia-induced drought stress response strategy in *Medicago truncatula*. *J. Proteom.* 2016. **136**. P. 202–213. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.01.006>
14. Marino D., Frendo P., Ladrera R., Zabalza A., Puppo A., Arrese-Igor C., Gonzamlez E.M. Nitrogen fixation control under drought stress. Localized or systemic? *Plant Physiol.* 2008. **143**. P. 1968–1974. <https://doi.org/10.1104/pp.107.097139>
15. Косенко Л.В., Михалків Л.М., Кругова Е.Д., Мандровська Н.М., Затовська Т.В., Коць С.Я. Біологічна активність глюкана *Sinorhizobium meliloti*. *Мікробіологія*. 2003. № 5. С. 633–638.
16. Kots S.Ya., Mykhalkiv L.M., Melnykova N.M. Improving lucerne productivity under water stress by treatment with periplasmic glucan. *Grassland Science in Europe*. 2003. **8**. P. 649–652.
17. Спосіб підвищення азотфіксувальної активності та продуктивності симбіотичних систем люцерна—*Sinorhizobium meliloti*: пат. на корисну модель 102763 Україна, МПК А01Р 21/00, А01N 25/00, заявл. 06.03.2015. Опубл. 25.11.2015. Бюл. № 22.
18. Кірізій Д.А., Веселовська Л.І., Коць С.Я. Вплив посухи на газообмін листків сої, інокульованої ризобіями із застосуванням насінневого лектину. *Фізіологія рослин і генетика*. 2014. **46**, № 6. С. 498–506.
19. Бабоша А.В. Индуцибельные лектины и устойчивость растений к патогенным организмам и абиотическим стрессам. *Биохимия*. 2008. **73**, № 7. С. 1007–1022.
20. Serraj R., Sinclair T.R., Purcell L.C. Symbiotic N₂ fixation response to drought. *J. Exp. Bot.* 1999. **50**, N 331. P. 143–155.
21. Кириченко Е.В. Регуляторная роль глюкозо- и галактозосодержащих аминсахаров в реализации симбиотического и продуктивного потенциала соево-ризобияльного симбиоза в условиях природной засухи. *Фізіологія рослин і генетика*. 2019. **51**, № 3. С. 241–256. <https://doi.org/10.15407/frg2019.03.241>
22. Миколаєвський В.П., Сергієнко В.Г., Титова Л.В. Вплив інокулянтів на формування симбіотичних систем, розвиток хвороб та продуктивність сої різних сортів. *Мікробіологія і біотехнологія*. 2016. № 3. С. 57–68.
23. Perez-Montaco F., Jimenez-Guerrero I., Del Cerro P., Baena-Ropero I., Lopez-Baena F.J., Ollero F.J., Bellogin R., Lloret J., Espuny R. The symbiotic biofilm of *Sinorhizobium fredii* SMH12, necessary for successful colonization and symbiosis of *Glycine max* cv Osumi, is regulated by quorum sensing systems and inducing flavonoids via NodD1. *PLoS One*. 2014. **9**, N 8. e105901. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105901>
24. Kibido T., Kunert K., Makgopa M., Greve M., Vorster J. Improvement of rhizobium-soybean symbiosis and nitrogen fixation under drought. *Food and Energy Security*. 2020. **9**, Is. 1. e177. <https://doi.org/10.1002/fes3.177>

25. Mabrouk Ya., Belhadj O. Enhancing the biological nitrogen fixation of leguminous crops grown under stressed environments. *African J. Biotechnol.* 2012. **48**, N 11. P. 10809–10815. <https://doi.org/10.5897/AJB10.2170>
26. Mhadhbi H., Chihaoui S., Mhamdi R., Mnasri B., Jebara M., Mhamdi R. A highly osmotolerant rhizobial strain confers a better tolerance of nitrogen fixation and enhances protective activities to nodules of *Phaseolus vulgaris* under drought stress. *African J. Biotechnol.* 2011. **10**, N 22. P. 4555–4563.
27. Creus C.M., Sueldo R.J., Barassi C.A. Water relations and yield in *Azospirillum*-inoculated wheat exposed to drought in the field. *Canadian J. Bot.* 2004. **82**, N 2. P. 273–281. <https://doi.org/10.1139/b03-119>
28. Гродзинский А.М., Гродзинский Д.М. Краткий справочник по физиологии растений. Киев: Наукова думка, 1964. 388 с.
29. Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М., Колотилова Н.Н., Котова И.Б., Семенова Е.В., Татарина Н.Ю., Уголкина Н.В., Цавкелова Е.А., Бобкова А.Ф., Богданов А.Г., Данилова И.В., Динариева Т.Ю., Зинченко В.В., Исмаилов А.Д., Кураков А.В., Максимов В.Н., Милко Е.С., Никитина Е.П., Рыжкова Е.П., Семенов А.М., Хомякова Д.В., Чердынцева Т.А., Юдина Т.Г. Практикум по микробиологии. Москва: Академия, 2005. 608 с.
30. 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. 1855–1907. <https://doi.org/10.1104/pp.43.8.1185>
31. Моргун В.В., Коць С.Я. Роль біологічного азоту в азотному живленні рослин. *Вісник НАН України*. 2018. № 1. С. 62–74. <https://doi.org/10.15407/visn2018.01.062>
32. Адамь Ф.Ф., Вергунов В.А., Лазер П.Н., Вергунова И.Н. Агробиологические особенности возделывания сои в Украине. К.: Аграрна наука, 2006. 456 с.

Отримано 17.01.2022

REFERENCES

1. Prischepa, Ya. (21.06.2021). Droughts and landslides of natural areas. How global climate changes will affect Ukraine [Electronic resource]. Access mode: <https://suspilne.media/133665-posuhi-ta-zsuv-prirodnih-zon-ak-globalni-zmini-klimatu-vplivut-na-ukrainu/> [in Ukrainian].
2. Reyer, C., Bachinger, J., Bloch, R., Hattermann, F.F., Ibisch, P.L., Kreft, S., Lasch, P., Lucht, W., Nowicki, C., Spathelf, P., Stock, M. & Welp, M. (2012). Climate change adaptation and sustainable regional development: a case study for the Federal State of Brandenburg, Germany. *Regional Environmental Change*, 12, pp. 523-542. <https://doi.org/10.1007/s10113-011-0269-y>
3. Challinor, A., Ewert, F., Arnold, S., Simelton, E. & Fraser, E. (2009). Crops and climate change: progress, trends, and challenges in simulating impacts and informing adaptation. *J. Exp. Bot.*, 60, Iss. 10, pp. 2775-2789. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp062>
4. Sadras, V.O. & Milroy, S.P. (1996). Soil-water thresholds for the responses of leaf expansion and gas exchange: a review. *Field Crops Research*, 47, No. 2-3, pp. 253-266.
5. Taiz, L. & Zeiger, E. (2006). *Plant Physiology*. Sunderland: Sinauer Associates.
6. Gil-Quintana, E., Larrainzar, E., Seminario, A., Diaz-Leal, J.L., Alamillo, J.M., Pineda, M., Arrese-Igor, C., Wienkoop, S. & Gonzalez, E.M. (2013). Local inhibition of nitrogen fixation and nodule metabolism in drought-stressed soybean. *J. Exp. Bot.*, 64, Is. 8, pp. 2171-2182. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert07>
7. Berendsen, R.L., Pieterse, C.M. & Bakker, P.A. (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Sci.*, 17, Is. 8, pp. 478-486. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>
8. Serraj, R. (2003). Effects of drought stress on legume symbiotic nitrogen fixation: Physiological mechanisms. *Indian J. Exp. Biol.*, 41, No. 10. pp. 1136-1141.
9. Matamoros, M.A., Baird, L.M., Escuredo, P.R., Dalton, D.A., Minchin, F.R., Iturbe-Ormaetxe, I., Rubio, M.C., Moran, J.F., Gordon, A.J. & Becana, M. (1999). Stress-induced legume root nodule senescence. Physiological, biochemical and structural alteration. *Plant Physiol.*, 121, Is. 1, pp. 97-111. <https://doi.org/10.1104/pp.121.1.97>

10. Apel, A. & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. *Annual Review of Plant Biol.*, 55, pp. 373-399. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701>
11. Esfahani, M.N. & Mostajeran, A. (2011). Rhizobial strain involvement in symbiosis efficiency of chickpea-rhizobia under drought stress: plant growth, nitrogen fixation and antioxidant enzyme activities. *Acta Physiol. Plant.*, 33, pp. 1075-1083. <https://doi.org/10.1007/s11738-010-0635-2>
12. Kots, S.Ya., Mykhalkiv, L.M., Mamenko, P.M. & Volkogon, M.V. (2011). 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.*, No. 3, pp. 454-457.
13. Staudinger, C., Mehmeti-Tershani, V., Gil-Quintana, E., Gonzalez, E.M., Hofhansl, F., Bachmann, G. & Wienkoop, S. (2016). Evidence for a rhizobia-induced drought stress response strategy in *Medicago truncatula*. *J. Proteom.*, 136, pp. 202-213. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.01.006>
14. Marino, D., Frendo, P., Ladrera, R., Zabalza, A., Puppo, A., Arrese-Igor, C. & Gonzamlez, E.M. (2008). Nitrogen fixation control under drought stress. Localized or systemic? *Plant Physiol.*, 143, pp. 1968-1974. <https://doi.org/10.1104/pp.107.097139>
15. Kosenko, L.V., Mykhalkiv, L.M., Krugova, E.D., Mandrovskaia, N.M., Zatovskaia, T.V. & Kots, S.Ya. (2003). The biological activity of the *Sinorhizobium meliloti* glucan. *Mikrobiologiya*, No. 5, pp. 633-638 [in Russian].
16. Kots, S.Ya. Mykhalkiv, L.M. & Melnykova, N.M. (2003). Improving lucerne productivity under water stress by treatment with periplasmic glucan. *Grassland Science in Europe*, 8, pp. 649-652.
17. Pat. 102763 UA, IPC A01P 21/00, A01N 25/00, Method for improving nitrogen-fixing activity and productivity of the symbiotic systems alfalfa-*Sinorhizobium meliloti*, Kots, S.Ya., Mykhalkiv, L.M. & Berehovenko, S.K., Publ. 25.11.2015 [in Ukrainian].
18. Kiriziy, D.A., Veselovska, L.I. & Kots, S.Ya. (2014). The influence of drought on gas exchange of leaves of soybean inoculated by rhizobia under seed lectin application. *Fiziol. rast. genet.*, 46, No. 6, pp. 498-506 [in Ukrainian].
19. Babosha, A.V. (2008). Inducible lectins and resistance of plants to pathogenic organisms and abiotic stresses. *Biochemistry (Moscow)*, 73, No. 7, pp. 1007-1022 [in Russian].
20. Serraj, R., Sinclair, T.R. & Purcell, L.C. (1999). Symbiotic N₂ fixation response to drought. *J. Exp. Bot.*, 50, No. 331, pp. 143-155.
21. Kyrchenko, O.V. (2019). Regulatory role of glucose- and galactose-containing aminosaccharides in the realization of the symbiotic and productive potential of soybean-rhizobium symbiosis under field drought conditions. *Fiziol. rast. genet.*, 51, No. 3, pp. 241-256 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15407/frg2019.03.241>
22. Mykolaievski, V.P., Sergienko, V.G. & Tytova, L.V. (2016). Inoculants influence on the symbiotic systems formation, diseases development and productivity of the different soybean cultivars. *Microbiol. & Biotechnol.*, No. 3, pp. 57-68 [in Ukrainian].
23. Perez-Montaco, F., Jimenez-Guerrero, I., Del Cerro, P., Baena-Ropero, I., Lopez-Baena, F.J., Ollero, F.J., Bellogin, R., Lloret, J. & Espuny, R. (2014). The symbiotic biofilm of *Sinorhizobium fredii* SMH12, necessary for successful colonization and symbiosis of *Glycine max* cv *Osumi*, is regulated by quorum sensing systems and inducing flavonoids via NodD1. *PLoS One*, 9, No. 8, e105901. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105901>
24. Kibido, T., Kunert, K., Makgopa, M., Greve, M. & Vorster, J. (2020). Improvement of rhizobium-soybean symbiosis and nitrogen fixation under drought. *Food and Energy Security*, 9, Is. 1, e177. <https://doi.org/10.1002/fes3.177>
25. Mabrouk, Ya. & Belhadj, O. (2012). Enhancing the biological nitrogen fixation of leguminous crops grown under stressed environments. *African J. Biotechnol.*, 48, No. 11, pp. 10809-10815. <https://doi.org/10.5897/AJB10.2170>
26. Mhadhbi, H., Chihaoui, S., Mhamdi, R., Mnasri, B., Jebara, M. & Mhamdi, R. (2011). A highly osmotolerant rhizobial strain confers a better tolerance of nitrogen fixation and enhances protective activities to nodules of *Phaseolus vulgaris* under drought stress. *African J. Biotechnol.*, 10, No. 22, pp. 4555-4563.
27. Creus, C.M., Sueldo, R.J. & Barassi, C.A. (2004). Water relations and yield in *Azospirillum*-inoculated wheat exposed to drought in the field. *Canadian J. Bot.*, 82, No. 2, pp. 273-281. <https://doi.org/10.1139/b03-119>

28. Grodzinsky, A.M. & Grodzinsky, D.M. (1973). Brief guide to plant physiology. Kiev: Naukova Dumka [in Russian].
29. Netrusov, A.I., Egorova, M.A., Zaharchuk, L.M., Kolotilova, N.N., Kotova, I.B., Semenova, E.V., Tatarinova, N.Yu., Ugolkova, N.V., Tsavkelova, E.A., Bobkova, A.F., Bogdanov, A.G., Danilova, I.V., Dinarieva, T.Yu., Zinchenko, V.V., Ismailov, A.D., Kurakov, A.V., Maksimov, V.N., Milko, E.S., Nikitina, E.P., Ryzhkova, E.P., Semenov, A.M., Homyakova, D.V., Cherdyintseva, T.A. & Yudina, T.G. (2005). Microbiology workshop. Moscow: Akademija [in Russian].
30. 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 Physiol.*, 43, pp. 1855-1907. <https://doi.org/10.1104/pp.43.8.1185>
31. Morgun, V.V. & Kots, S.Ya. (2018). The role of biological nitrogen in nitrogen nutrition of plant. *Visnyk NAN Ukrainy*, 1, pp. 63-74 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15407/visn2018.01.062>
32. Adamen, F.F., Vergunov, V.A., Lazer, P.N. & Vergunova, J.H. (2006). Agrobiological features of cultivation of soybean in Ukraine. Kyiv: Agrarna nauka [in Russian].

Received 17.01.2022

THE USE OF THE NODULE BACTERIA AS A REMEDY FOR EXPANDING ADAPTIVE POSSIBILITIES OF SOYBEAN UNDER DROUGHT CONDITIONS

N.A. Vorobey, P.P. Pukhtaievych, T.A. Kots, S.Ya. Kots

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylkivska St., Kyiv, 03022, Ukraine
e-mail: n-vorobey@ukr.net

Symbiotic systems created by soybean variety Almaz (*Glycine max* (L.) Merr.) and strains of nodule bacteria *Bradyrhizobium japonicum* 646, PC09, B157 with were investigated under different water supply are investigated (30 and 60 % field capacity, FC). It was shown that drought inhibited the process of nodulation, depending on the functional and adaptive capacity of each of the microsymbionts. The number and mass of root nodules on plants decreased compared to control plants under insufficient watering. Insufficient watering (30 % FC) negatively impacted the functioning of symbiotic systems *Glycine max* (L.) Merr.—*Bradyrhizobium japonicum* depending on the drought duration. Strains of *Bradyrhizobium japonicum* PC09 and B157 formed more drought-tolerant symbiotic systems. They had higher nitrogen fixing activity under reduced moisture supply (30 % FC) and during the recovery period compared to the *Bradyrhizobium japonicum* 646 strain. It was shown that with increasing drought duration (from the 3rd to the 10th day) the difference in physiological and symbiotic parameters between treated and control plants increased, but with the resumption of watering they partially leveled depending on the inoculant strain.

Key words: soybean (*Glycine max* (L.) Merr.), nitrogen fixation, efficiency, symbiosis, rhizobia, water supply.