

<https://doi.org/10.15407/frg2022.06.498>

УДК 581.1:581.557: 632.95:577.121.9

ВМІСТ МЕТАБОЛІТІВ У КОРЕНЯХ СОЇ ЗА ІНОКУЛЯЦІЇ НАСІННЯ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* ТА ОБРОБКИ ФУНГІЦИДНИМИ ПРЕПАРАТАМИ

С.Я. КОЦЬ, А.В. ХРАПОВА, О.В. КАРАУШУ

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

Рослинні організми зазнають постійного впливу зовнішніх чинників різноманітної природи, які здатні змінювати перебіг низки фізіологічних і біохімічних процесів і, як наслідок, позначатися на рості й розвитку рослин, а також на реалізації їхнього генетичного потенціалу. Дослідження метаболічного профілю рослин сої на фоні протруювання насіння стандак топом і февером та інокуляції ризобіями дає змогу визначити зміни у біологічній системі, спричинені обробкою насіння фунгіцидами. Метою роботи був аналіз загального вмісту основних груп низькомолекулярних сполук коренів сої та розгляд їх динаміки за обробки насіння фунгіцидами февер, стандак топ й інокуляції *Bradyrhizobium japonicum* 634б. Використано мікробіологічні, фізіологічні, біохімічні та статистичні методи досліджень. Під час проведення аналізу мас-спектрів метаболітів коренів сої встановлено, що за дії фунгіцидів февер і стандак топ збільшується вміст багатоатомних спиртів у фазах примордіальних і двох трійчастих листків. При цьому в період формування й активного функціонування бобово-ризобіального симбіозу (фази розвитку двох-трьох трійчастих листків) стандак топ чинив вираженіший ефект, ніж февер. Зазначено, що фунгіциди впродовж ранніх етапів розвитку сої істотно впливають на накопичення органічних кислот у коренях рослин, що супроводжується значним збільшенням їх вмісту в період розвитку першого (за дії обох фунгіцидів) і двох трійчастих листків (за обробки стандак топом), це може бути зумовлено залученням їх у формування захисних реакцій рослин на дію стресора. Простежено поступове зростання відсоткового вмісту цукрів протягом вегетації рослин у варіантах, де насіння обробляли февером, із найбільшим їх вмістом (34,12 %) у фазу розвитку трьох трійчастих листків. За обробки стандак топом найбільше цукрів (30,55 %) накопичувалось у фазу розвитку першого трійчастого листка. Ми припустили, що відсоток цукрів у загальному пулі метаболітів збільшувався, зокрема внаслідок зменшення відсоткового вмісту органічних кислот. Найвищий вміст амінокислот у контрольних рослинах і за обробки февером зафіксовано у фазу розвитку двох трійчастих листків, що відповідає періоду активного формування кореневих бульбочок, збільшенню їхньої маси й посиленню фіксації атмосферного азоту, чим створюються умови для забезпечення подальшого ефективного функціонування бобово-ризобіального симбіозу. Отже, ми з'ясували, що ступінь і характер вираженості дії фунгіцидів залежав від фази розвитку рослин і природи протруйника. Застосування феверу і

Цитування: Коць С.Я., Храпова А.В., Караушу О.В. Вміст метаболітів у коренях сої за інокуляції насіння *Bradyrhizobium japonicum* та обробки фунгіцидними препаратами. *Фізіологія рослин і генетика*. 2022. 54, № 6. С. 498–515. <https://doi.org/10.15407/frg2022.06.498>

стандак топу спричинювало певні зміни вмісту низки сполук (спиртів, органічних кислот, цукрів, амінокислот) упродовж вегетації, які можна розглядати як складові комплексу реакцій на дію стресового чинника та адаптаційних процесів у рослинно-бактеріальній системі.

Ключові слова: *Glycine max* (L.) Merr., *Bradyrhizobium japonicum*, метаболіти, спирти, цукри, амінокислоти, органічні кислоти, февер, стандак топ.

Метаболоміка є одним із сучасних і важливих напрямів молекулярних досліджень біологічних об'єктів, описує функціональний стан живої системи в конкретний момент часу [1]. Вона інтенсивно розвивається і дає змогу за один аналіз отримати найточнішу інформацію про сотні й тисячі метаболітів, сприяє глибшому розумінню росту, функціонування та реакцій біологічного об'єкта у межах певного середовища. На особливу увагу заслуговують дослідження в галузі метаболоміки рослин, що включають аналіз широкого спектра хімічних сполук із різними фізіологічними властивостями [2].

Метаболіти є сукупністю низькомолекулярних речовин (проміжних і кінцевих продуктів обміну речовин із молекулярною масою, меншою за 3000 Да), що утворюються в певний момент часу в клітині і беруть участь в усіх реакціях, необхідних для підтримання її гомеостазу, росту і нормального функціонування. Вони є субстратами, інтермедіатами або продуктами більшості біохімічних реакцій, будівельним матеріалом для макромолекул, зокрема складових геному, протеому і транскриптому [3]. Пул невеликих метаболічних аналітів, які можна виявити, включає амінокислоти, олігопептиди, цукри, прості жирні кислоти та проміжні продукти багатьох біохімічних шляхів, зокрема циклу трикарбонових кислот і гліколізу [4].

Рослинні організми зазнають постійного впливу зовнішніх чинників різноманітної природи, які здатні змінювати перебіг низки фізіологічних та біохімічних процесів і, як наслідок, відбиваються на рості й розвитку рослин, а також реалізації їхнього генетичного потенціалу [5]. Однією з основних цілей метаболоміки у фізіології рослин є отримання їхніх метаболічних профілів, а також кількісне визначення метаболітів у клітинах і тканинах. Такі дослідження дають змогу виявити реакції рослин на певні зміни, допомагають розшифрувати вплив біотичного чи абіотичного стресу на будь-який критичний біохімічний процес. Унаслідок порушення обміну речовин метаболічна мережа має бути переконфігурована, щоб уможливити як підтримання гомеостазу, так і вироблення сполук, які б ослаблювали стресовий вплив [6, 7].

З погляду метаболоміки для процесів адаптації рослин важливі три різні типи сполук: 1) речовини, що беруть участь у процесі аклімації, такі як антиоксиданти, осмопротектори; 2) побічні продукти стресу, які з'являються у клітинах через порушення нормального гомеостазу внаслідок зміни умов зростання; 3) сигнальні молекули, що безпосередньо залучаються у відповідь на аклімацію рослин [8].

Одним із потужних впливів на рослинний організм є використання хімічних засобів захисту рослин — фунгіцидів, склад яких із

року в рік модифікується, вдосконалюється, а обсяги їх використання у сільському господарстві зростають у геометричній прогресії. Хоча використання фунгіцидних препаратів сприяє підвищенню продуктивності сільськогосподарського виробництва, однак їх дія не обмежується захистом рослин від фітопатогенів. Вони здатні впливати на ключові ланки метаболізму рослин, брати участь в основному обміні речовин, індукувати утворення різних біомолекул, змінювати фізіологічні параметри рослин [9–11], причому їх дія може бути різноспрямованою залежно від діючої речовини протруйника, способу, терміну обробки та умов вирощування рослин [12].

Важливим є дослідження впливу хімічних препаратів захисту від фітопатогенів на перебіг фізіолого-біохімічних процесів у рослинному організмі за інокуляції насіння сої бульбочковими бактеріями при формуванні та функціонуванні соєво-ризобіального симбіозу. На сьогодні відомо, що на фоні застосування фунгіцидів розвиток рослин і формування їхньої біологічної та зернової продуктивності зазнають істотних змін, а нітрогеназна активність бобово-ризобіальних симбіозів значно ослаблюється, особливо в першу половину вегетації рослин [13–17].

Аналіз характеру вияву фізіологічних ефектів фунгіцидних препаратів та розуміння відповіді рослинного організму на дію стресового чинника створює передумови для визначення фітотоксичності сполуки і є важливим напрямом у побудові систем захисту і догляду за посівами сільськогосподарських культур. Питання перебігу біохімічних реакцій та їх регуляції при фіксації азоту за протруювання насіння фунгіцидами залишаються маловивченими. Дослідження метаболічного профілю рослини за допомогою хромато-мас-спектрометрії дає змогу найінформативніше розкрити особливості функціонування бобово-ризобіального симбіозу, сприяє визначенню змін стану біологічної системи, спричинених зовнішніми подразниками [18].

Метою роботи було проведення аналізу загального вмісту основних груп низькомолекулярних сполук коренів сої та розгляд їхньої динаміки за обробки насіння фунгіцидами февер і стандак топ та інокуляції *Bradyrhizobium japonicum* 6346.

Методика

Об'єктами дослідження були корені рослин сої (*Glycine max* L. Merr.) сорту Алмаз, інокульованої *Bradyrhizobium japonicum* 6346 на фоні протруєння насіння фунгіцидами февер і стандак топ.

Сорт Алмаз зернового типу використання, ранньостиглий, холодо- й посухостійкий, стійкий до хвороб, має стабільний вегетаційний період тривалістю 100–105 діб. Вміст білка в насінні — 38–39 %, олії — 24–26 % [19].

Бульбочкові бактерії *B. japonicum* 6346 (колекція штамів симбіотичних і асоціативних азотфіксувальних мікроорганізмів Інституту фізіології рослин і генетики НАН України) вирощували за 28 °С на агаризованому манітно-дріжджовому середовищі, г/л: K_2HPO_4 — 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,4; NaCl — 0,1; маніт — 10,0; дріжджовий екстракт — 0,5; агар-агар — 16,0; дистильована вода — 1 л; рН 6,8–7,0

протягом 10 діб, змивали культуру стерильною водою, перемішували до однорідної суспензії та визначали кількість життєздатних (колонієутворювальних одиниць) бактерій класичним мікробіологічним методом розбавлянь і висівання на поживне середовище із наступним підрахунком колоній. Титр бактерій у суспензії становив 10^8 кл/мл.

Февер® 300 FS, TH — фунгіцид контактної-системної дії (« Bayer Crop Science AG», Німеччина) із рiстрегуляторними властивостями. Містить діючу речовину протіконазол (300 г/л) із нового підкласу триазолінтіонів.

Стандак топ («BASF», Німеччина) — інноваційний протруйник для контролю основних захворювань сої з діючими речовинами фіпроніл (250 г/л, клас фенілпіразоли) + тіофанат-метил (225 г/л, клас бензimidазоли) + піраклостробін (25 г/л, клас стробілурини), який поєднує в собі фунгіцидну та інсектицидну дію, а також впливає на фізіологічні процеси в рослинах.

Дослід закладали за такою схемою:

- інокуляція насіння *Bradyrhizobium japonicum* 6346 (контроль);
- інокуляція насіння *Bradyrhizobium japonicum* 6346 + февер;
- інокуляція насіння *Bradyrhizobium japonicum* 6346 + стандак топ.

Рослини вирощували в умовах вегетаційного дослід у 4-кілограмових посудинах, попередньо знезаражених 20 %-м розчином H_2O_2 , на піщаному субстраті за природних освітлення й температури, оптимального (60 % ПВ) водозабезпечення. Джерелом компонентів мінерального живлення слугувала суміш Гельригеля, яка містила 0,25 норми азоту.

Для визначення метаболічних змін у коренях рослини сої відбирали у фази:

- I — розвитку примордіальних листків (19-добові рослини);
- II — розвитку першого трійчастого листка (23-добові рослини);
- III — розвитку двох трійчастих листків (29-добові рослини);
- IV — розвитку трьох трійчастих листків (39-добові рослини).

Екстрагування та аналіз метаболітів проводили з деякою модифікацією загальноприйнятої методики виділення метаболітів із коренів рослин [20].

Зразки аналізували на хроматографі «Agilent GC system 7890A» (США) із мас-спектрометром 5975С із застосуванням HP5MS-капілярної колонки завдовжки 30 м, внутрішнім діаметром 0,25 мм, плівкою зі щільністю 0,25 мкм та постійним протоком гелію зі швидкістю 1 мл/хв. Об'єм зразка, який наносили, дорівнював 2 мкл за температури інжектора 280 °С. Початкова температура колонки становила 80 °С із затриманням у 5 хв до 300 °С зі швидкістю 5 °С/хв за затримки 2 хв. Відношення маси до заряду дорівнювало від 50 до 650, діапазон сканування — від 10 до 650. Отримані спектри оброблено за допомогою програми MSD Chem Station E.02.00.493 (Agilent, США).

Кількість отриманих метаболітів виражали у відсотках відносно їхнього загального вмісту. Для усереднення використовували 4—10 спектрів. Усі досліді проведено в 5-разовому біологічному та 3-разовому аналітичному повтореннях. На графіках наведено усереднені арифметичні значення та їх стандартні похибки ($x \pm SE$). Вірогідність відмінностей між вибірками оцінено за допомогою методу однофак-

торного дисперсійного аналізу (ANOVA), де відмінності вважалися значущими, якщо P -значення були меншими за 0,05 (з урахуванням поправки Бонферроні).

Результати та обговорення

Відомо, що узгодженість метаболітичних процесів рослинного організму забезпечує високий ступінь самоорганізації біологічних систем, наявність механізму керування і регуляції пристосувальних реакцій [21]. Під час аналізу мас-спектрів метаболітів коренів сої, інюкульованої *V. japonicum* 6346 на фоні протруєння насіння фунгіцидами февер і стандак топ, виявлено широкий спектр речовин. Більшість із них ідентифіковано й поділено на чотири основні групи за своєю хімічною природою: спирти, органічні кислоти, цукри, амінокислоти. У відсотковому відношенні загального вмісту метаболітів у коренях сої протягом усіх фаз дослідження (на 19-ту, 23-тю, 29-ту і 39-ту доби після сходів) домінували багатоатомні спирти.

Встановлено, що у фазу I (розвиток примордіальних листків) у коренях сої за обробки насіння фунгіцидами їхній відсотковий вміст був дещо вищим порівняно з коренями рослин контрольного варіанта: за дії феверу на 3,24 %, за дії стандак топу на 3,21 % (рис. 1).

У фазу II (розвиток першого трійчастого листка) виявлено, що за обробки насіння февером істотно зменшувався вміст багатоатомних спиртів відносно контрольних значень — на 8,89 %, за дії стандак топу — на 20,63 %.

Фаза III (розвиток двох трійчастих листків) характеризувалась зростанням відсоткового вмісту спиртів за обробки насіння сої фунгіцидами: февер сприяв збільшенню на 10,79 %, стандак топ — на 14,18 %.

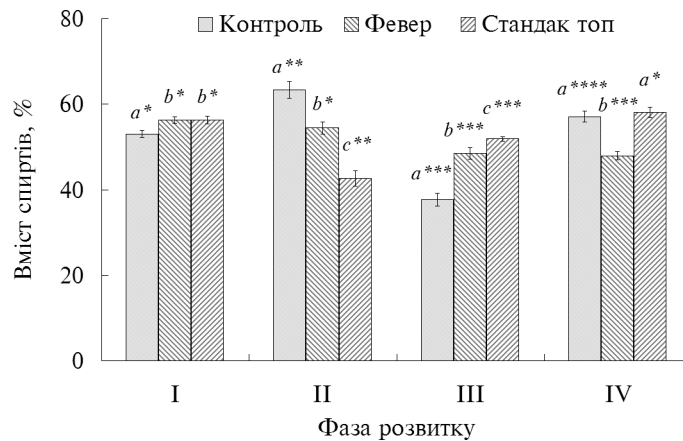


Рис. 1. Вміст багатоатомних спиртів у коренях сої (% загального вмісту метаболітів). Тут і на рис. 2—4 фази розвитку рослин:

I — примордіальних листків (19-добові рослини); II — першого трійчастого листка (23-добові рослини); III — двох трійчастих листків (29-добові рослини); IV — трьох трійчастих листків (39-добові рослини).

Різні літери верхніх індексів a , b , c позначають значення, що відрізняються один від одного в межах однієї фази розвитку сої; різна кількість * означає наявність достовірної різниці між альтернативними варіантами в різні фази розвитку та росту рослин у результаті порівняння за критерієм Стьюдента ($P < 0,05$) з поправкою Бонферроні

У фазу IV (розвиток трьох трійчастих листків) вміст багатоатомних спиртів у коренях сої за обробки февером був меншим на 9,19 % порівняно з контрольними рослинами, а за обробки стандак топом на його рівні (див. рис. 1).

Розглянувши в динаміці відсотковий вміст багатоатомних спиртів починаючи від фази I (розвиток примордіальних листків), спостерігали різні тенденції між показниками рослин за обробки різними препаратами (див. рис. 1).

У коренях контрольних рослин сої у фазу II (розвиток першого трійчастого листка) відсотковий вміст спиртів зростав (на 10,27 %), у фазу III (розвиток двох трійчастих листків) зафіксовано значне (на 25,64 %) його зниження, у фазу IV (розвиток трьох трійчастих листків) — знову підвищення (на 19,43 %).

За дії феверу вміст багатоатомних спиртів у коренях сої з часом зменшувався, найвищий рівень був у фази I і II (розвиток примордіальних листків і першого трійчастого листка).

У коренях рослин сої, насіння яких обробляли стандак топом, відсотковий вміст спиртів зменшувався (на 13,57 %) лише у фазу II (розвиток першого трійчастого листка), а надалі зростав протягом онтогенезу рослин.

Відомо, що багатоатомні спирти з коротким вуглецевим ланцюгом структурують вільну внутрішньоклітинну воду, підвищують її біологічну активність; пришвидшують процеси росту і фотосинтезу; регулюють транспірацію та інтенсивність мінерального живлення. Продуктами перетворення багатоатомних спиртів у клітині є елементарні вуглеводи (моносахариди), які слугують будівельним матеріалом і джерелом енергії, а також можуть виконувати роль вторинних месенджерів у сигналінгу [22].

Багатоатомні спирти також утворюються у відповідь на стрес [23]. Вважають, що інозитол відіграє вирішальну роль у передаванні сигналів під час росту та адаптації рослин, зокрема при стресах навколишнього середовища [24]. Особливо важливими є інозитол-1,4,5-трифосфат і фосфатидилінозитол-4,5-бісфосфат, які передають клітинні повідомлення приєднанням чи від'єднанням ліпідів або фосфатів від інозитулу та його похідних, за участю синтаз, кіназ, фосфоліпаз і фосфатаз [25]. Також міоінозитолгексафосфат (фітинова кислота), аскорбінова кислота та інші беруть участь не тільки у передаванні міжклітинних сигналів, побудові клітинної стінки, збереженні біоактивного фосфату, осмотичній регуляції, а й у захисті рослинних клітин від окисників [26]. Виявлено, що концентрація манітолу зростає в клітинах у відповідь на гіперосмотичний шок. Вміст регулюється не лише швидкістю його біосинтезу, а й активністю ферментів, які відповідають за утилізацію манітолу, а також ферментів, що катаболізують його. Манітол і треїтол — важливі запасні сполуки вуглецю та енергії, вони можуть використовуватися для енергозабезпечення життєдіяльності мікроорганізмів [27, 28].

Отже, багатоатомні спирти не тільки впливають на вуглеводневий обмін, а й здатні забезпечувати формування стійкості організму до несприятливих чинників.

За результатами дослідження встановлено, що обробка фунгіцидами сприяла незначному збільшенню відсоткового вмісту спиртів на початку онтогенезу сої (фаза розвитку примордіальних листків), що може бути пов'язано із процесами росту рослин. Найвищий їх вміст порівняно з контрольними рослинами був у фазу III (розвиток двох трійчастих листків) — коли починав функціонувати симбіотичний апарат бобових рослин. При цьому до фази IV (розвиток трьох трійчастих листків), коли вже активно функціонує симбіотична система рослин, стандак топ чинив вираженіший ефект порівняно з февером (див. рис. 1).

Другою за вмістом групою метаболітів (від 33,66 до 17,56 % загального вмісту сполук) після багатоатомних спиртів були органічні кислоти (рис. 2).

У фазу I (розвиток примордіальних листків) загальний вміст усіх органічних кислот у коренях рослин, насіння яких було протруєне фунгіцидами, був дещо меншим порівняно з контрольними: за обробки февером на 3,45, стандак топом — на 2,45 %. Наступна фаза розвитку рослин сої II (першого трійчастого листка) характеризувалася тим, що вміст органічних кислот за дії фунгіцидів був більшим порівняно з їх вмістом у коренях контрольних рослин: за обробки насіння февером — на 10,92, за обробки стандак топом — на 6,44 %. У фазу III (двох трійчастих листків) за дії феверу значення були у межах контрольного варіанта, а за дії стандак топу більшими на 5,62 %. У фазу IV (розвиток трьох трійчастих листків) за обробки февером вміст органічних кислот був меншим відносно контролю на 1,87 %, за дії стандак топу, навпаки, перевищував контрольні значення на 2,36 % (див. рис. 2).

Згідно з динамікою вмісту органічних кислот, у коренях контрольних рослин високий їх вміст був у фазу I (розвиток примордіальних листків), далі їх відсотковий вміст зменшувався й незначно зростав у фазу III (розвиток двох трійчастих листків). За обробки насіння сої февером вміст органічних кислот істотно не відрізнявся протягом вегетації до фази IV (розвиток трьох трійчастих листків) і змінювався в межах 30 % загального вмісту всіх виявлених нами ме-

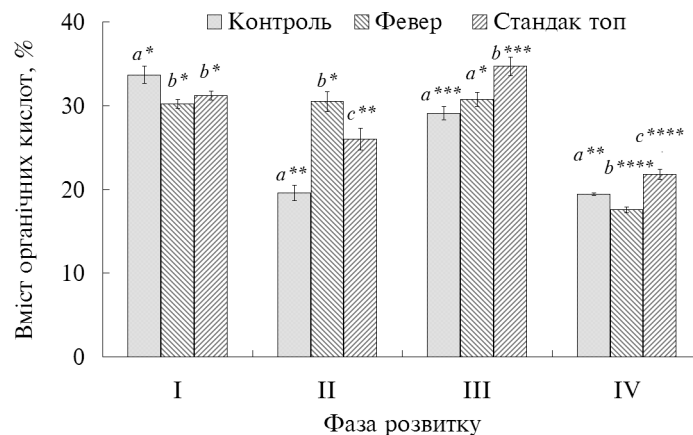


Рис. 2. Вміст органічних кислот у коренях сої (% загального вмісту метаболітів)

таболітів. У фазу IV (розвиток трьох трійчастих листків) він зменшувався на 13,15 %. За обробки стандак топом виявлено таку саму тенденцію у зміні вмісту органічних кислот, як і в коренях контрольних рослин, окрім фази IV (розвитку трьох трійчастих листків), де відсоткове значення в контрольних рослин було на рівні показників, отриманих у фазу II (першого трійчастого листка), а у дослідному варіанті вони знижувалися на 12,92 % (див. рис. 2).

Відомо, що симбіотичні відносини бульбочкових бактерій і рослин сої при формуванні бульбочок характеризуються високими енергетичними затратами на синтез органічних сполук для підтримання росту й формування енергетичних запасів [29]. Органічні кислоти беруть безпосередню участь у більшості реакцій фотосинтетичного та окисно-відновного циклів, зумовлюють необхідне співвідношення катіонів й аніонів при надходженні поживних речовин у корені. Органічні кислоти підвищують стійкість рослин до нестачі кисню активуванням сукцинатдегідрогеназного окиснення і відновленням активності цитохромоксидази, сприяють накопиченню в клітинах АТФ. Вони здатні підвищувати вологоутримувальну здатність у тканинах рослин унаслідок зниження транспірації. Ці зміни сприяють зростанню стійкості організму до несприятливих чинників навколишнього середовища.

Наприклад, пропіонова кислота є активним метаболітом рослинних організмів і попередником синтезу основних кислот циклу Кребса, а саме: піровиноградної (пірувату), оцтової (ацетил КоА) і бурштинової (сукцинату) кислот, використовується як енергетичний субстрат, має антиоксидантні й антимікробні властивості [30].

Малат (яблучна кислота) є інтермедіатом циклу Кребса та гліоксилатного циклу, синтезується рослинами постійно і може бути метаболізований у цитозолі NADP-Me ферментом, який дуже поширений у різних метаболічних шляхах рослинного організму, в тому числі й залучений до біосинтезу специфічних захисних компонентів — флавоноїдів або кофакторів антиоксидантних ферментів [31].

Бензойна кислота є основною функціональною молекулярною одиницею, задіяна у формуванні стійкості рослин за умов стресу, виконує протекторну роль у рослинах, її вміст позитивно корелює з підвищенням стійкості рослин до абіотичних стресів — холоду й посухи. Бензойна кислота та її похідні — структурні елементи багатьох метаболітів і природних продуктів, що виконують найважливіші функції в рослинах як регулятори росту, захисні сполуки та атрактанти для запилювачів [32].

Отже, високий вміст органічних кислот у коренях сої в період розвитку першого (за дії обох фунгіцидів) і двох трійчастих листків (за обробки стандак топом) може свідчити про формування стійкості до дії хімічних засобів захисту рослин, які провокують їх накопичення. Відомо, що фаза IV (розвиток трьох трійчастих листків) для сої характеризується утворенням осі суцвіття та квіткових органів, збільшенням кількості кореневих бульбочок і вже активною фіксацією атмосферного азоту [33]. У цю фазу ми виявили значне зниження загального вмісту органічних кислот у всіх варіантах, що, ймо-

вірно, пов'язано з тим, що в цей період розвитку рослини переважна частина фотоасимілятів (основна частина утворених органічних кислот є вторинним продуктом фотосинтезу) залишається в надземній частині рослини, а не надходить у корені.

Таким чином, обробка насіння фунгіцидами февер і стандак топ протягом ранніх фаз розвитку сої істотно змінює рівень накопичення органічних кислот у коренях рослин, приводить до значного підвищення їх вмісту в період розвитку першого і двох трійчастих листків, що може бути зумовлено залученням їх у формування захисних реакцій рослин за дії фунгіцидів (див. рис. 2).

Проміжними продуктами низки біохімічних циклів, що входять до складу багатьох сполук і структурних елементів у рослинних клітинах, є цукри. Розвиток рослин супроводжується активним їх обміном [34]. Згідно зі спектром метаболітів у коренях сої, у фазу I (розвиток примордіальних листків) вміст цукрів у коренях неістотно відрізнявся в контрольних і дослідних рослин. Дещо більший їх відсоток був за обробки насіння февером порівняно зі стандак топом (рис. 3).

У фазу II (розвиток першого трійчастого листка) за обробки насіння сої стандак топом істотно зростав вміст цукрів відносно контрольних значень — на 14,17 %. Фаза III (розвиток двох трійчастих листків) характеризувалась низьким рівнем цукрів у коренях сої у варіантах із обробкою насіння фунгіцидами порівняно з контрольними рослинами. За дії феверу і стандак топу їх відсотковий вміст був меншим на 13,07 і 17,9 % відповідно. Найвищим вмістом цукрів вирізнялись корені рослин сої у фазу IV (розвиток трьох трійчастих листків) за обробки насіння февером, де їх вміст був на 11,05 % більшим, ніж у коренях контрольних рослин, і на 14,74 % — порівняно з рослинами, насіння яких обробляли стандак топом (див. рис. 3).

Динаміка накопичення цукрів у коренях сої свідчить про поступове зростання їх відсоткового вмісту протягом вегетації рослин у варіантах, де насіння обробляли февером, із найбільшим їх вмістом (34,12 %) у фазу IV (розвиток трьох трійчастих листків). За обробки насіння стандак топом найбільше цукрів (30,55 %) накопичувалось у фазу II (розвиток першого трійчастого листка), що на 19,34 % більше

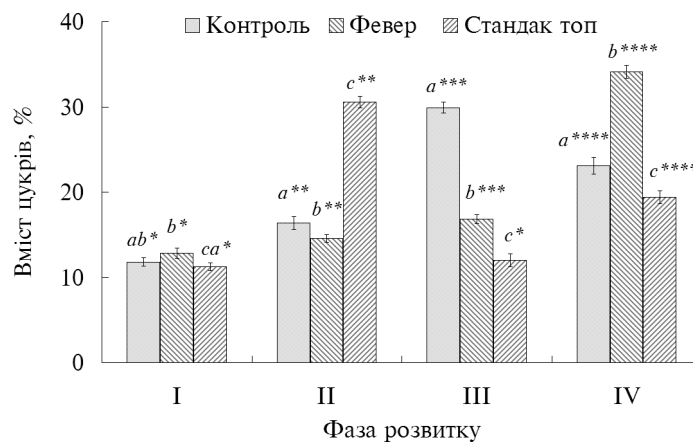


Рис. 3. Вміст цукрів у коренях сої (% загального вмісту метаболітів)

за попередню фазу розвитку сої. У контрольних рослин максимальну кількість цукрів (29,91 %) зафіксовано у фазу III (розвиток двох трійчастих листків), де вміст цукрів зростав на 13,53 % відносно фази II. Ми припустили, що відсоток цукрів у загальному пулі метаболітів збільшувався, зокрема в результаті зменшення відсоткового вмісту органічних кислот (див. рис. 2, 3).

Цукри можуть виконувати захисну функцію стосовно мембран і біолоїдів клітин. Є дані, що за дії гіпотермії та деяких інших чинників у багатьох рослинах накопичуються розчинні вуглеводи. Зазначено, що у відповідь на стрес, спричинений посухою, більшість основних вуглеводів, таких як глюкоза, фруктоза, сахароза, рафіноза, накопичується на вищому рівні порівняно з контролем. Це вказує на те, що у відповідь на посуху ріст сої гальмується і синтезується більше вуглеводів [35, 36]. Прості цукри, що накопичуються за дії на рослини засолення, посухи та інших несприятливих чинників середовища, є універсальними осмолітами, забезпечують протекторний ефект, захищають білково-ліпідні компоненти мембран від денатурації при зневодненні [37, 38]. Крім того, рослина використовує їх як енергетичний і пластичний матеріал [39], вони мають антиоксидантні властивості, зумовлені здатністю зв'язувати вільні радикали, але їх дія може бути і не прямою, а пов'язаною з метаболічною регуляцією компонентів антиоксидантної системи. Вони можуть залучатись у регуляцію утворення і знешкодження активних форм кисню [40]. Експериментально доведено можливість утворення водневих зв'язків між атомами кисню фосфатів у складі фосфоліпідів та атомами водню гідроксильних груп цукрів [41].

Відомо, що фіксація атмосферного азоту є досить енергоємним процесом, у коренях запасуються великі кількості моно- та олігосахаридів, при метаболізмі яких вивільнюються значні запаси енергії, необхідної для підтримання симбіозу та біосинтезу багатьох інших сполук. Отже, збільшення вмісту цукрів у коренях сої може свідчити про підвищення стійкості рослин до стресових чинників (у тому числі й до обробки фунгіцидами) і, як наслідок, сприяти ефективному формуванню і функціонуванню симбіотичного апарату [31].

Найменшою групою серед виявлених нами метаболітів були амінокислоти (до 2 %) (рис. 4). Це одні з найактивніших учасників метаболізму. Утворившись у надземній частині або в результаті синтетичної діяльності коренів, амінокислоти надалі беруть участь у найрізноманітніших біохімічних процесах, у тому числі в синтезі білкових і ростових речовин, від яких, у свою чергу, залежать ростові процеси [42].

Зазначимо, що в коренях контрольних рослин сої у фазу I (розвиток примордіальних листків) вміст вільних амінокислот був вищим порівняно з дослідними рослинами, у яких за обробки февером вміст цих сполук був меншим на 0,72 %, а за обробки стандак топом — на 0,21 %. Встановлено, що найвищий вміст амінокислот у контрольних рослинах і за обробки февером (протягом усього періоду спостережень) був у фазу III (розвиток двох трійчастих листків), при цьому за дії феверу він перевищував контрольні значення на 0,57 % (див. рис. 4). У фазу IV (розвиток трьох трійчастих листків) відсотковий

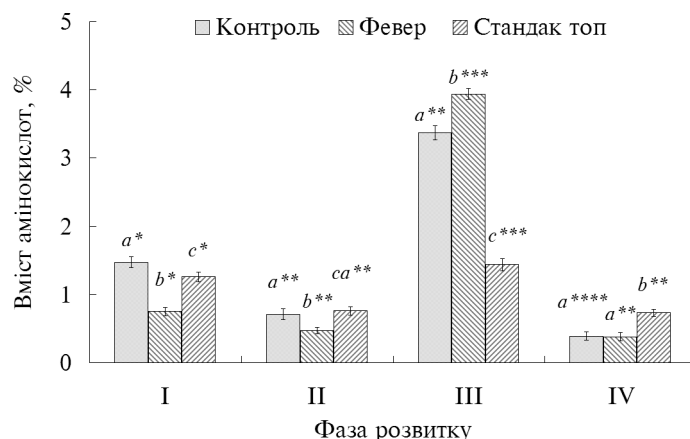


Рис. 4. Вміст амінокислот у коренях сої (% загального вмісту метаболітів)

вміст амінокислот у рослинах, насіння яких обробляли февером, був на рівні контрольних рослин, а у разі застосування стандак топу — на 0,34 % більшим.

При дослідженні динаміки вмісту амінокислот виявлено, що у коренях усіх рослин у фазу II (розвиток першого трійчастого листка) їх вміст зменшується, у фазу III (розвиток двох трійчастих листків) їх накопичується найбільше. У фазу IV (розвиток трьох трійчастих листків) відсотковий вміст амінокислот у всіх рослинах сої значно зменшується (див. рис. 4).

Амінокислоти разом із вуглеводами виконують у рослинах низку функцій як структурні одиниці білків та основні акумулювальні молекули біологічно зв'язаного азоту. Деякі амінокислоти важливі для гормонального обміну.

Вільні амінокислоти не тільки є основною складовою синтезу білка, а й значно впливають на стійкість рослин до стресу [42]. Їх накопичення сприяє стресостійкості рослин за допомогою осмотичного регулювання, детоксикації активних форм кисню та внутрішньоклітинної регуляції рН. Зазначалось, що водний стрес здатний підвищувати рівень вільних амінокислот, які зазвичай містяться в білках, таких як ізолейцин, лейцин, валін, фенілаланін, глутамін і гістидин, і вказує на те, що білок гідролізується під час стресу. Відомо, що аспарагінова кислота стимулює проростання насіння і є попередником для інших амінокислот [43]. Серин підвищує опірність стресовим впливам, а також є попередником ауксину — вкрай важливого фітогормону, без якого неможливі процеси росту й відновлення клітини. Він слугує також осмотичним протектором, забезпечує толерантність до жаркої і посушливої погоди, сольового стресу.

У рослинах у великих кількостях може накопичуватись пролін, що відіграє важливу роль у забезпеченні нормального функціонування рослинного організму. Його вміст може збільшуватись у кілька разів за дії стресорів, його розглядають не тільки як осмопротектор, а й як сполуку, що захищає білково-ліпідні комплекси, в тому числі внаслідок знешкодження гідроксильних радикалів та інших активних форм кисню, що ушкоджують біомембрани. Зазначалось, що під час

посухи речовини, які за звичайних умов спрямовуються на ріст рослин, використовуються на синтез проліну [44]. Лейцин відіграє роль осмопротектора, посилює стійкість рослин до спеки, посухи та засолення (сольового стресу), підвищує життєздатність пилку, впливає на гідрофобність білків [45].

Отже, найвищий вміст амінокислот у фазу III (розвиток двох трійчастих листків) ми пов'язуємо з ростовими процесами. У цей період також активно формуються кореневі бульбочки, збільшується їх маса, зростає фіксація атмосферного азоту, який перетворюється на азотовмісні сполуки, передусім амінокислоти. Все це створює умови для ефективного функціонування бобово-ризобіального симбіозу.

Таким чином, з використанням хромато-мас-спектрометрії ми виявили низку метаболітів, які містилися у коренях сої, за інокуляції її насіння бульбочковими бактеріями та на фоні використання фунгіцидів.

Встановлено, що найвищий вміст спиртів у коренях сої за обробки її насіння фунгіцидами порівняно з контрольними рослинами був у фазу III (розвиток двох трійчастих листків), коли починав функціонувати симбіотичний апарат бобових рослин, при цьому до фази IV (розвиток трьох трійчастих листків) стандак топ чинив вираженіший ефект порівняно з февером.

Показано, що фунгіциди февер і стандак топ протягом ранніх фаз розвитку сої істотно змінювали рівень накопичення органічних кислот у коренях рослин, приводили до значного підвищення їх вмісту в період розвитку першого (за дії обох фунгіцидів) і двох трійчастих листків (за обробки стандак топом), що може бути зумовлено залученням їх до формування захисних реакцій рослин за дії фунгіцидів. Про підвищення стійкості рослин до стресових чинників (у тому числі й до обробки фунгіцидами) також може свідчити виявлене нами збільшення вмісту цукрів у коренях сої. Найвищий вміст амінокислот у фазу III (розвиток двох трійчастих листків) ми пов'язали з періодом зростання фіксації азоту кореневими бульбочками і перетворенням його на азотовмісні сполуки, насамперед амінокислоти, що створює умови для ефективного функціонування бобово-ризобіального симбіозу.

На основі отриманих результатів логічно припустити, що рослини сої за інокуляції насіння бульбочковими бактеріями *Bradyrhizobium japonicum* 6346 реагують на протруювання фунгіцидами февер і стандак топ як на стресовий чинник, про що, на нашу думку, свідчать зміни відсоткового вмісту основних метаболітів (спиртів, органічних кислот, цукрів, амінокислот) протягом вегетації, які, як відомо, залучені в адаптаційні процеси для нормалізації функціонування організму.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Shulaev V., Cortes D., Miller G., Mittler R. Metabolomics for plant stress response. *Physiologia Plantarum*. 2008. **132**, N 2. P. 199–208. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.01025.x>

2. Patel M.K., Pandey S., Kumar M., Haque M.I., Pal S., Yadav N.S. Plants Metabolome Study: Emerging Tools and Techniques. *Plants*. 2021. **10**. 2409. <https://doi.org/10.3390/plants10112409>
3. Hong J., Yang L., Zhang D., Shi J. Plant Metabolomics: An indispensable system biology tool for plant science. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016. **17**, N 6. 767. <https://doi.org/10.3390/ijms17060767>
4. Clarke C.J., Haselden J.N. Metabolic Profiling as a Tool for Understanding Mechanisms of Toxicity. *Toxicologic Pathology*. 2008. **36**, N 1. P. 140—147. <https://doi.org/10.1177/0192623307310947>
5. Приседський Ю.Г., Лихолат Ю.В. Адаптація рослин до антропогенних чинників: підручник. Вінниця: ТОВ «Нілан-ЛТД», 2017. 98 с.
6. Bowne J., Vacic A., Tester M., Roessner U. Abiotic stress and metabolomics. *Annual Plant Reviews*. 2011. **43**. P. 61—85.
7. Obata T., Fernie A.R. The use of metabolomics to dissect plant responses to abiotic stresses. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2012. **69**, N 19. P. 3225—3243.
8. Левчик Н.Я., Скрипка Г.І., Левон В.Ф., Закрасов О.В., Горбенко Н.Є. Вміст біохімічних речовин у рослин *Phlox paniculata* L. в умовах Лісостепу України. *Науковий вісник НЛТУ України*. 2020. **30**, № 2. С. 19—23.
9. Sartori F.F., Pimpinato R.F., Tornisiello V.L., Engroff T.D., Jaccoud-Filho D.S., Menten J.O., Dorrance A.E., Dourado-Neto D. Soybean seed treatment: how do fungicides translocate in plants? *Pest management science*. 2020. **76**, N 7. P. 2355—2359. <https://doi.org/10.1002/ps.5771>
10. Amaro A.C.E., Baron D., Ono E.O., Rodrigues J.D. Physiological effects of strobilurin and carboxamides on plants: an overview. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2020. **42**, N 4. P. 212—218. <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2991-x>
11. Singh G., Sahota H.K. Impact of benzimidazole and dithiocarbamate fungicides on the photosynthetic machinery, sugar content and various antioxidative enzymes in chickpea. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2018. **132**. P. 166—173. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.09.001>
12. Павлище А.В., Кірізій Д.А., Коць С.Я. Реакція симбіотичних систем сої на дію фунгіцидів за різних способів обробки. *Физиология растений и генетика*. 2017. **49**, № 3. С. 237—247. <https://doi.org/10.15407/frg2017.03.237>
13. Mamenko T., Kots S., Patyka V. Realization of protective and symbiotic properties of soybeans using fungicide seed treatment. *Agricultural Science and Practice*. 2021. **8**, N 2. P. 24—35. <https://doi.org/10.15407/agrisp8.02.024>
14. Mostoviak I.I., Kravchenko O.V. Symbiotic apparatus of soya under the application of different types of fungicides and microbial preparation. *Taurian Scientific Herald*. 2019. **108**. P. 72—77. <https://doi.org/10.32851/2226-0099.2019.108.10>
15. Gorskov A.P., Tsyganova A.V., Vorobiev M.G., Tsyganov V.E. The fungicide tetramethylthiuram disulfide negatively affects plant cell walls, infection thread walls, and symbiosomes in pea (*Pisum sativum* L.) symbiotic nodules. *Plants*. 2020. **9**, N 11. P. 1488. <https://doi.org/10.3390/plants9111488>
16. Rodrigues T.F., Bender F.R., Sanzovo A.W.S., Ferreira E., Nogueira M.A., Hungria M. Impact of pesticides in properties of *Bradyrhizobium* spp. and in the symbiotic performance with soybean. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2020. **36**, N 11. P. 1—16. <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02949-5>
17. Kots S., Kiriziy D., Pavlyshche A., Rybachenko L. Peculiarities of formation and functioning of the soybean — *Bradyrhizobium japonicum* symbiotic apparatus in relation to photosynthetic activity under the influence of seed protectant. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. **11**, N 6. e3128. <https://doi.org/10.55251/jmbfs.3128>
18. Scandiani M.M., Luque A.G., Razori M.V., Casalini L.C., Aoki T., O'Donnell K., Cervigni G.D.L., Spampinato C.P. Metabolic profiles of soybean roots during early stages of *Fusarium tucumaniae* infection. *Journal of Experimental Botany*. 2015. **66**, N 1. P. 391—402. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru432>
19. Білявська Л.Г., Присяжнюк О.І. Модель ранньостиглого сорту сої. *Новітні агротехнології*. 2018. **6**. С. 1—15. <https://doi.org/10.21498/na.6.2018.165365>
20. Lisek J., Schauer N., Kopka J., Willmitzer L., Fernie A.R. Gas chromatography mass spectrometry — based metabolite profiling in plants. *Nature protocols*. 2006. **1**, N 1. P. 387—396. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.59>

21. Долгова Л.Г. Осмотично активні речовини у формуванні стійкості рослин-інтродуцентів роду *Chaenomeles lindl.* Питання біоіндикації та екології. Запоріжжя: Запорізь. нац. ун-т, 2010. **15**. С. 127—134.
22. Wang H., Zhang Y., Zhou W. Mechanism and enhancement of lipid accumulation in filamentous oleaginous microalgae *Tribonema minus* under heterotrophic condition. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*. 2018. **11**. 328. P. 214. <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1329-z>
23. Blanch M., Alvarez I., Sanchez-Ballesta M.T., Escribano M., Merodio C. Trisaccharides isomers, galactinol and osmotic imbalance associated with CO₂ stress in strawberries. *Postharvest Biology and Technology*. 2017. **131**. P. 84—91. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.05.008>
24. Jia Q., Kong D., Li Q., Sun S., Song J., Zhu Y., Huang J. The Function of Inositol Phosphatases in Plant Tolerance to Abiotic Stress. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019. **20**, N 16. 3999. <https://doi.org/10.3390/ijms20163999>
25. Michell R.H. Inositol and its derivatives: Their evolution and functions. *Advances in Enzyme Regulation*. 2011. **51**, N 1. P. 84—90. <https://doi.org/10.1016/j.advenzreg.2010.10.002>
26. Loskutov I.G., Shelenga T.V., Rodionov A.V., Khoreva V.I., Blinova E.V., Konarev A.V. Application of metabolomic analysis in exploration of plant genetic resources. In *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural, Exact and Applied Sciences*. 2019. **73**, N 6. P. 494—501. <https://doi.org/10.2478/prolas-2019-0076>
27. Султангазіна Г.Ж. Физиология растений. Учебно-методическое пособие (курс лекций). Костанай: КГУ им. А. Байтурсынова, 2012. 72 с.
28. Patel T.K., Williamson J.D. Mannitol in Plants, Fungi, and Plant—Fungal Interactions. *Trends in Plant Science*. 2016. **21**, N 6. P. 486—497. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.006>
29. Kaschuk G., Kuypers T.W., Leffelaar P.A., Hungria M., Giller K.E. Are the rates of photosynthesis stimulated by the carbon sink strength of rhizobial and arbuscular mycorrhizal symbioses? *Soil Biology and Biochemistry*. 2009. **41**, N 6. P. 1233—1244.
30. Прудникова Т.Н., Росляков Ю.Ф. Пропионовая кислота в метаболизме живых организмов. *Известия вузов. Пищевая технология*. 1994. № 5—6. С. 23—27.
31. Couto C., Silva L.R., Valentao P., Velazquez E., Peix A., Andrade P. Effects induced by the nodulation with *Bradyrhizobium japonicum* on *Glycine max* (soybean) metabolism and antioxidant potential. *Food Chemistry*. 2011. **127**, N 4. P. 1487—1495. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.135>
32. Qualley A.V., Widhalm J.R., Adebesin F., Kish C.M., Dudareva N. Completion of the core β -oxidative pathway of benzoic acid biosynthesis in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012. **109**, N 40. P. 16383—16388.
33. Петриченко В.Ф., Лихочвор В.В., Іванюк С.В., Корнійчук О.В., Колісник С.І., Кобак С.Я., Задорожний В.С., Чернолата Л.П., Кулик М.Ф., Обертюх Ю.В., Вороньцька І.С., Патица В.П., Гнатюк Т.Т., Алексеев О.О., Калініченко А.В., Коць С.Я., Береговенко С.К., Захарова О.М. Соя. Вінниця: Діло, 2016. 400 с.
34. Das A., Rushton P.J., Rohila J.S. Metabolomic profiling of soybeans (*Glycine max* L.) reveals the importance of sugar and nitrogen metabolism under drought and heat stress. *Plants*. 2017. **6**, N 4. 21. <https://doi.org/10.3390/plants6020021>
35. Gardner K. What Is Glucose Used for in a Plant? *Sciencing*. 2018. **220**. P. 3—13.
36. Nielsen T., Rung J., Villadsen D. Fructose-2,6-bisphosphate: a traffic signal in plant metabolism. *Trends in Plant Science*. 2004. **9**, N 11. P. 556—563. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.09.004>
37. Liu L., Wang B., Liu D. Transcriptomic and metabolomic analyses reveal mechanisms of adaptation to salinity in which carbon and nitrogen metabolism is altered in sugar beet roots. *BMC Plant Biology*. 2020. **20**. 138. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02349-9>
38. Франко О.Л., Мело Ф.Р. Осмопротекторы: ответ растений на осмотический стресс. *Физиология растений*. 2000. **47**, № 1. С. 152—159.
39. Колупаев Ю.Е., Трунова Т.И. Активность инвертазы и содержание углеводов в колосках пшеницы при гипотермическом и солевом стрессах. *Физиология растений*. 1994. **41**, № 4. С. 552—557.
40. Rosa M., Prado C., Podazza G., Interdonato R., Gonzalez J.A., Hilal M., Prado F.E. Soluble sugars — metabolism, sensing and abiotic stress. *Plant Signal. Behav.* 2009. **4**. P. 388—393.

41. Колупаєв Ю.Є. Основи фізіології стійкості рослин: Курс лекцій. Харків: Міська друкарня, 2010. 121 с.
42. Полянчиков С.П., Ковбель А.И. Роль амінокислот у захисті культур від стресів. *Agro Mage*. 2021. 12 p.
43. Azevedo R.A., Lancien M., Lea P.J. The aspartic acid metabolic pathway, an exciting and essential pathway in plants. *Amino Acids*. 2006. **30**, N 2. P. 143–162. <https://doi.org/10.1007/s00726-005-0245-2>
44. Saradhi P.P., Alia Arora S., Prasad K.V. Proline accumulates in plants exposed to UV radiation and protects them against UV-induced peroxidation. *Biochemical and biophysical research communications*. 1995. **209**, N 1. P. 1–5.
45. Zhang M., Liu Y., Shi H., Guo M., Chai M., He Q., Yan M., Cao D., Zhao L., Cai H., Qin Y. Evolutionary and expression analyses of soybean basic Leucine zipper transcription factor family. *BMC Genomics*. 2018. **19**. 159. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4511-6>

Отримано 12.09.2022

REFERENCES

1. Shulaev, V., Cortes, D., Miller, G. & Mittler, R. (2008). Metabolomics for plant stress response. *Physiologia Plantarum*, 132, No. 2, pp. 199-208. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.01025.x>
2. Patel, M., Pandey, S., Kumar, M., Haque, M., Pal, S. & Yadav, N. (2021). Plants metabolome study: emerging tools and techniques. *Plants*, 10, No. 11, 2409. <https://doi.org/10.3390/plants10112409>
3. Hong, J., Yang, L., Zhang, D. & Shi, J. (2016). Plant metabolomics: an indispensable system biology tool for plant science. *International Journal of Molecular Sciences*, 17, No. 6, 767. <https://doi.org/10.3390/ijms17060767>
4. Clarke, C.J. & Haselden, J.N. (2008). Metabolic profiling as a tool for understanding mechanisms of toxicity. *Toxicologic Pathology*, 36, No. 1, pp. 140-147. <https://doi.org/10.1177/0192623307310947>
5. Prisedsky, Yu.G. & Likholat, Yu.V. (2017). Adaptation of plants to anthropogenic factors. Vinnytsia: Nylan-LTD [in Ukrainian].
6. Bowne, J., Bacic, A., Tester, M. & Roessner, U. (2011). Abiotic stress and metabolomics. *Annu Plant Rev.*, 43, pp. 61-85.
7. Obata, T. & Fernie, A. (2012). The use of metabolomics to dissect plant responses to abiotic stresses. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 69, No. 19, pp. 3225-3243.
8. Levchik, N.Ya., Skripka, G.I., Levon, V.F., Zakrasov, O.V. & Gorbenko, N.E. (2020). Content of biochemical substances in plants *Phlox paniculata* L. in the conditions of the forest-steppe of Ukraine. *Scientific Bulletin of NLTU of Ukraine*, 30, No. 2, pp. 19-23 [in Ukrainian].
9. Sartori, F.F., Pimpinato, R.F., Tornisielo, V.L., Engroff, T.D., Jaccoud-Filho, D.S., Menten, J.O., Dorrance, A.E. & Dourado-Neto, D. (2020). Soybean seed treatment: how do fungicides translocate in plants? *Pest Management Science*, 76, No. 7, pp. 2355-2359. <https://doi.org/10.1002/ps.5771>
10. Amaro, A.C.E., Baron, D., Ono, E.O. & Rodrigues, J.D. (2020). Physiological effects of strobilurin and carboxamides on plants: an overview. *Acta Physiologiae Plantarum*, 42, No. 4, pp. 212-218. <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2991-x>
11. Singh, G. & Sahota, H.K. (2018). Impact of benzimidazole and dithiocarbamate fungicides on the photosynthetic machinery, sugar content and various antioxidative enzymes in chickpea. *Plant Physiology and Biochemistry*, 132, pp. 166-173. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.09.001>
12. Pavlishche, A.V., Kiriziy, D.A. & Kotz, S.Ya. (2017). Reaction of soybean symbiotic systems to the action of fungicides under different treatment methods. *Plant Physiology and Genetics*, 49, No. 3, pp. 237-247 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15407/frg2017.03.237>
13. Mamenko, T., Kots, S. & Patyka, V. (2021). Realization of protective and symbiotic properties of soybeans using fungicide seed treatment. *Agricultural Science and Practice*, 8, No. 2, pp. 24-35. <https://doi.org/10.15407/agrisp8.02.024>

14. Mostoviak, I.I. & Kravchenko, O.V. (2019). Symbiotic apparatus of soya under the application of different types of fungicides and microbial preparation. *Taurian Scientific Herald*, 108, pp. 72-77. <https://doi.org/10.32851/2226-0099.2019.108.10>
15. Gorshkov, A.P., Tsyganova, A.V., Vorobiev, M.G. & Tsyganov, V.E. (2020). The fungicide tetramethylthiuram disulfide negatively affects plant cell walls, infection thread walls, and symbiosomes in pea (*Pisum sativum* L.) symbiotic nodules. *Plants*, 9, No. 11, p. 1488. <https://doi.org/10.3390/plants9111488>
16. Rodrigues, T.F., Bender, F.R., Sanzovo, A.W.S., Ferreira, E., Nogueira, M.A. & Hungria, M. (2020). Impact of pesticides in properties of *Bradyrhizobium* spp. and in the symbiotic performance with soybean. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36, No. 11, pp. 1-16. <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02949-5>
17. Kots, S., Kiriziy, D., Pavlyshche, A. & Rybachenko, L. (2022). Peculiarities of formation and functioning of the soybean — *Bradyrhizobium japonicum* symbiotic apparatus in relation to photosynthetic activity under the influence of seed protectant. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, No. 6, e3128. <https://doi.org/10.55251/jmbfs.3128>
18. Scandiani, M.M., Luque, A.G., Razori, M.V., Casalini, L.C., Aoki, T., O'Donnell, K., Cervigni, G.D.L. & Spampinato, C.P. (2015). Metabolic profiles of soybean roots during early stages of *Fusarium tucumaniae* infection. *Journal of Experimental Botany*, 66, No. 1, pp. 391-402. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru432>
19. Biliavska, L.H. & Prysiazhniuk, O.I. (2018). A model of early-maturing soybean variety. *Novitni agrotehnologii*, 6, pp. 1-15 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.21498/na.6.2018.165365>
20. Lisec, J., Schauer, N., Kopka, J., Willmitzer, L. & Fernie, A.R. (2006). Gas chromatography mass spectrometry — based metabolite profiling in plants. *Nature protocols*, 1, No. 1, pp. 387-396. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.59>
21. Dolgova, L.G. (2010). Osmotically active substances in the formation of resistance of introduced plants of the genus *Chaenomeles* Lindl. *Issues of bioindication and ecology. Zaporozhye: ZNU*, 15, pp. 127-134 [in Russian].
22. Wang, H., Zhang, Y. & Zhou, W. (2018). Mechanism and enhancement of lipid accumulation in filamentous oleaginous microalgae *Tribonema minus* under heterotrophic condition. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*, 11, 328. <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1329-z>
23. Blanch, M., Alvarez, I., Sanchez-Ballesta, M.T., Escribano, M. & Merodio, C. (2017). Trisaccharides isomers, galactinol and osmotic imbalance associated with CO₂ stress in strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 131, pp. 84-91.
24. Jia, Q., Kong, D., Li, Q., Sun, S., Song, J., Zhu, Y. & Huang, J. (2019). The function of inositol phosphatases in plant tolerance to abiotic stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, No. 16, 3999. <https://doi.org/10.3390/ijms20163999>
25. Michell, R.H. (2011). Inositol and its derivatives: Their evolution and functions. *Advances in Enzyme Regulation*, 51, No. 1, pp. 84-90. <https://doi.org/10.1016/j.advenzreg.2010.10.002>
26. Loskutov, I.G., Shelenga, T.V., Rodionov, A.V., Khoreva, V.I., Blinova, E.V. & Konarev, A.V. (2019). Application of metabolomic analysis in exploration of plant genetic resources. In *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural Exact and Applied Sciences*, 73, No. 6, pp. 494-501. <https://doi.org/10.2478/prolas-2019-0076>
27. Sultangazina, G.J. (2012). *Physiology of plants. Teaching aid (course of lectures). Kostanay: KSU named after A. Baitursynova* [in Russian].
28. Patel, T.K. & Williamson, J.D. (2016). Mannitol in plants, fungi, and plant—fungal interactions. *Trends in Plant Science*, 21, No. 6, pp. 486-497. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.006>
29. Kaschuk, G., Kuyper, T.W., Leffelaar, P.A., Hungria, M. & Giller, K.E. (2009). Are the rates of photosynthesis stimulated by the carbon sink strength of rhizobial and arbuscular mycorrhizal symbioses? *Soil Biology and Biochemistry*, 41, No. 6, pp. 1233-1244.
30. Prudnikova, T.N. & Roslyakov, Yu.F. (1994). Propionic acid in the metabolism of living organisms. *Food Technology*, No. 5-6, pp. 23-27 [in Russian].
31. Couto, C., Silva, L.R., Valentao, P., Velazquez, E., Peix, A. & Andrade, P. (2011). Effects induced by the nodulation with *Bradyrhizobium japonicum* on *Glycine max* (soy-

- bean) metabolism and antioxidant potential. *Food Chemistry*, 127, No. 4, pp. 1487-1495. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.135>
32. Qualley, A.V., Widhalm, J.R., Adebesein, F., Kish, C.M. & Dudareva, N. (2012). Completion of the core β -oxidative pathway of benzoic acid biosynthesis in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109, No. 40. pp. 16383-16388.
 33. Petrichenko, V.F., Likhochvor, V.V., Ivanyuk, S.V., Korniychuk, O.V., Kolesnik, S.I., Kobak, S.Ya., Zadorozhny, V.S., Chernolata, L.P. & Zakharova, O.M. (2016). Soy. Vinnytsia: Dilo [in Ukrainian].
 34. Das, A., Rushton, P.J. & Rohila, J.S. (2017). Metabolomic profiling of soybeans (*Glycine max* L.) reveals the importance of sugar and nitrogen metabolism under drought and heat stress. *Plants*, 6, No. 4, 21. <https://doi.org/10.3390/plants6020021>
 35. Gardner, K. (2018). What is glucose used for in a plant? *Sciencing*, 220, pp. 3-13.
 36. Nielsen, T., Rung, J. & Villadsen, D. (2004). Fructose-2,6-bisphosphate: a traffic signal in plant metabolism. *Trends in Plant Science*, 9, No. 11, pp. 556-563. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.09.004>
 37. Liu, L., Wang, B. & Liu, D. (2020). Transcriptomic and metabolomic analyses reveal mechanisms of adaptation to salinity in which carbon and nitrogen metabolism is altered in sugar beet roots. *BMC Plant Biology*, No. 20, 138. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02349-9>
 38. Franko, O.L. & Melo, F.R. (2000). Osmoprotectors: plant response to osmotic stress. *Plant physiology*, 47, No. 1, pp. 152-159 [in Russian].
 39. Kolupaev, Yu.E. & Trunova, T.I. (1994). Invertase activity and carbohydrate content in wheat coleoptiles under hypothermic and salt stress. *Plant physiology*, 41, No. 4, pp. 552-557 [in Russian].
 40. Rosa, M., Prado, C., Podazza, G., Interdonato, R., Gonzalez, J.A., Hilal, M. & Prado, F.E. (2009). Soluble sugars — metabolism, sensing and abiotic stress. *Plant Signal. Behav*, 4, pp. 388-393.
 41. Kolupaev, Yu.E. (2010). Fundamentals of plant resistance physiology: a course of lectures. Kharkiv: Miska drukarnya [in Ukrainian].
 42. Polyanchikov, S.P. & Kovbel, A.I. (2021). The role of amino acids in protecting crops from stress. *Agro Mage* [in Ukrainian].
 43. Azevedo, R.A., Lancien, M. & Lea, P.J. (2006). The aspartic acid metabolic pathway, an exciting and essential pathway in plants. *Amino Acids*, 30, No. 2, pp. 143-162. <https://doi.org/10.1007/s00726-005-0245-2>
 44. Saradhi, P.P., Alia Arora, S. & Prasad, K.V. (1995). Proline accumulates in plants exposed to UV radiation and protects them against UV-induced peroxidation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 209, No. 1, pp. 1-5.
 45. Zhang, M., Liu, Y., Shi, H., Guo, M., Chai, M., He, Q., Yan, M., Cao, D., Zhao, L., Cai, H., & Qin, Y. (2018). Evolutionary and expression analyses of soybean basic Leucine zipper transcription factor family. *BMC Genomics*, 19, 159. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4511-6>

Received 12.09.2022

THE CONTENT OF METABOLITES IN SOYBEAN ROOTS AFTER INOCULATION SEEDS OF *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* AND TREATMENT WITH FUNGICIDE PREPARATIONS

S.Ya. Kots, A.V. Khrapova, O.V. Karaushu

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylkivska St., Kyiv, 03022, Ukraine
e-mail: khrapova.anastasiia@gmail.com

Plant organisms are constantly affected by external factors of a diverse nature, which can change the course of a number of physiological and biochemical processes, and as a result, be reflected in the growth and development of plants, as well as the realization of their genetic potential. The study of the metabolomic profile of soybean plants against the background

of inoculation with rhizobia allows to determine the changes in the biological system caused by the treatment of seeds with fungicides. Therefore, the aim of the work was to analyze the total content of the main groups of low-molecular-weight compounds of soybean roots and to consider their dynamics after seed treatment with the fungicides fever, standak top and inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* 634b. Microbiological, physiological, biochemical and statistical research methods were used. When analyzing the mass spectra of metabolites of soybean roots, it was established that under the action of the fungicides fever and standak top, the growth of polyatomic alcohols occurs in the stages of the primordial and two trifoliolate leaves. At the same time, during the formation and active functioning of legume-rhizobial symbiosis (stage of development of two or three tripartite leaves), standak top had a more pronounced effect than fever. It was noted that fungicides during the early stages of soybean development significantly affect the accumulation of organic acids in the roots of plants, leading to a significant increase in their content during the development of the first (under the action of both fungicides) and two trifoliolate leaves (under treatment with standak top), which may be due to their involvement in the formation of protective reactions of plants to stressors. A gradual increase in the percentage content of sugars during the growing season of the plants was observed in the variants where the seeds were treated with fever, with the highest content (34.12 %) in the stage of the development of three trifoliolate leaves. When treated with standak top, the greatest accumulation of sugars (30.55 %) was in the stage of development of the first trifoliolate leaf. We assume that the increase in the percentage of sugars in the total pool of metabolites occurred, in particular, due to the decrease in the percentage content of organic acids. It was shown that the highest content of amino acids was found in control plants and those treated with fever in the stage of the development of two tripartite leaves, which corresponds to the period of active formation of root nodules, increasing their mass and increasing the fixation of atmospheric nitrogen, creating conditions for ensuring the further effective functioning of legume-rhizobial symbiosis. In this way, we found out that the degree and character of severity of the action of fungicides depended on the stage of plant development and the nature of the protectant. The use of fever and standak top caused certain changes in the content of a number of compounds (alcohols, organic acids, sugars and amino acids) during the growing season, which can be considered as components of a complex of reactions to the action of a stress factor and adaptation processes in the plant-bacterial system.

Key words: *Glycine max* (L.) Merr., *Bradyrhizobium japonicum*, metabolites, alcohols, sugars, amino acids, organic acids, fever, standak top.