

ФОРМУВАННЯ ФОТОСИНТЕТИЧНОГО АПАРАТУ СОЇ ЗА ІНОКУЛЯЦІЇ БІОПРЕПАРАТАМИ НА ОСНОВІ ЕНДОФІТНИХ БАКТЕРІЙ

Н. І. Адамчук-Чала, к.б.н.

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

Більшість з протестованих на сьогодні штамів ризобактерій здатні позитивно впливали на ріст бобових рослин, викликати збільшення активності бульбочок. Останнім часом дослідники звернули особливу увагу на ендofітні бактерії, як групу потенційних стимуляторів росту рослин [1].

Залежність формування бульбочок бобових від вуглецевого обміну визначають такі процеси як: фотосинтез, формування фотосинтетичного апарату рослин [2]. Оптимальне забезпечення вуглеводними сполуками позитивно впливає на інокуляційні процеси і накопичення рослинами білку.

Метою нашої роботи було дослідження формування фотосинтетичного апарату сої, інокульованої бактеріальними препаратами на основі комплексу бульбочкових та ендofітних бактерій.

Bradyrhizobium japonicum УКМ В-6018 використали для бактеріальної обробки насіння сої сорту Лісабон 2 окремо та у комплексі із ендofітними бактеріями *Paenibacillus* sp 3 або *Brevibacillus* sp 5.

Досліджували морфо-функціональні показники фотосинтетичного апарату сої, інокульованої бактеріальними

препаратами на основі ризобій сої *Bradyrhizobium japonicum* УКМ В-6018 та ендоефітних бактерій з бактеріальним навантаженням 10^7 клітин на насінину. Рослини вирощували на стерильному агроперліті з стерилізованим поживним середовищем Ленгріджа-Квітко.

Етапи органогенезу сої визначали за критеріями, наведеними в роботі [3]. Для фіксації висічок листків використали розчин: метанол, 3 або 4%-ий нейтральний формальдегід, 2,5%-вий забуферений глутаральдегід (рН 7.4 протягом 4 годин за 4°C, без осмієвої та з осмієвою постфіксацією). Для виготовлення напівтонких (0,5-1,0 мкм) зрізів, що дозволяють значно підвищити якість та інформативність досліджень у світловому мікроскопі, матеріал занурювали і полімеризували в суміші епоксидних смол епон-аралдіт та нарізали напівтонкими зрізами на мікросомі LKB (Швеція).

Кількість хлорофілів і каротиноїдів визначали за методом Д.М. Гродзинського (1979) на спектрофотометрі СФ-26. Фотосинтетичну активність вимірювали на амплітудно-модульовальному флуоресцентному аналізаторі хлорофілів G-гер (Чехія) лабораторії нанобіотехнології Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України за методикою Brestic, Zveak (2013).

Виявлено, що за обробки *B. japonicum* УКМ В-6018 з ендоефітними бактеріями *Paenibacillus* sp.3 або *Brevibacillus* sp. 5, порівняно з контролем без обробки достовірно збільшувались морфометричні показники примордіальних листків проростків сої (табл. 1).

Табл. 1. Морфо-метричні показники примордіальних листків проростків сої, см

Варіант	Довжина, мм	Ширина, мм	Площа, м ²
Контроль	18.25±0.13	11.25±0.18	35.10±3.41
<i>B. japonicum</i> УКМ В-6018	27.48±1.39	11.96±1.77	47.26±2.84
<i>B. japonicum</i> УКМ В-6018+ <i>Paenibacillus</i> sp. 3	29.27±1.45	12.47±1.82	50.08±3.36
<i>B. japonicum</i> УКМ В-6018+ <i>Brevibacillus</i> sp. 5	32.26±1.38	27.21±2.44	66.08±1.73

Порівняно з не інокульованим контролем довжина примордіальних листків проростків сої за інокуляції штамом *B. japonicum* УКМ В-6018 збільшувалась в 1,5 рази, за обробки *B. japonicum* УКМ В-6018+*Paenibacillus* sp. 3 – у 1,6 рази, у варіанті *B. japonicum* УКМ В-6018+*Brevibacillus* sp. 5 – у 1,8 рази. Їх ширина в основному варіанті у 2,4 рази перевищувала контрольне значення, що зумовило достовірне збільшення площі листка на 88%. Обробка біопрепаратами сприяла зростанню кількості клітин на одиницю площі зрізу за рахунок міжклітинного простору.

Значені зміни параметрів листової пластинки також були характерні для перших трійчастих листків рослин сої на 48-добу дослідження (Табл. 2).

Табл. 2. Морфо-метричні показники першого трійчастого листка сої, см

Варіант	Довжина, мм	Ширина, мм	Площа, мм ²
Контроль	32,46±0,54	26,25±0,96	62,21±3,24
<i>B. japonicum</i> УКМ В-6018	42,28±0,62	32,04±0,88	69,19±2,20
<i>B. japonicum</i> УКМВ-6018+ <i>Paenibacillus</i> sp. 3	44,43±1,17	35,21±0,75	73,62±2,43
<i>B. japonicum</i> УКМВ-6018+ <i>Brevibacillus</i> sp. 5	48,23±1,29	34,04±0,90	82,26±3,05

Достовірно збільшувалась довжина листків у порівнянні із контролем: на 30% у варіанті обробки *B. japonicum* УКМ В-6018, на 37% – у варіанті обробки *B. japonicum* УКМ В-6018+*Paenibacillus* sp. 3 та на 49% – у варіанті обробки *B. japonicum* УКМ В-6018+*Brevibacillus* sp. 5. За дії ендofітних бактерій цей показник достовірно збільшувався від такого за обробки насіння тільки *B. japonicum* УКМ В-6018. Бактеризація сприяла збільшенню ширини листової пластинки за дії *B. japonicum* УКМ В-6018 на 22%, у варіанті *B. japonicum* УКМ В-6018+*Paenibacillus* sp. 3 – на 34%, у варіанті *B. japonicum* УКМ В-6018+*Brevibacillus* sp. 5 – на 30%. В останньому варіанті виявлено збільшення площі листової пластинки на 32% порівняно з контролем.

Вимірювання вмісту пігментів у перших трилисниках рослин сої проводили в фазах цвітіння та плодоношення (Табл. 3). У фазі цвітіння виявлено зростання вмісту пігментів у листках: хлорофілів *a* – за дії *B. japonicum* УКМ В-6018 на 21%, за дії *B. japonicum* УКМ В-6018+*Paenibacillus* sp. 3 – на 35%, за дії *B. japonicum* УКМ В-6018+*Brevibacillus* sp. 5 – на 55% у порівнянні з контрольним варіантом без інокуляції. Збільшення вмісту хлорофілів *b* відбувалось за дії *B. japonicum* УКМ В-6018+*Brevibacillus* sp. 5. Сума хлорофілів та вміст каротиноїдів зростали за дії *B. japonicum* УКМ В-6018+*Paenibacillus* sp. 3 на 30%, за дії *B. japonicum* УКМ В-6018+*Brevibacillus* sp. 5 – на 53%.

У фазі плодоношення вміст хлорофілу *a* у порівнянні з контролем збільшувався за дії *B. japonicum* УКМ В-6018 на 26%, *B. japonicum* УКМ В-6018+*Paenibacillus* sp. 3 – на 32%, *B. japonicum* УКМ В-6018+*Brevibacillus* sp. 5 – на 54%. Встановлено зростання вмісту хлорофілу *b* за дії *B. japonicum* УКМ В-6018+*Brevibacillus* sp. 5 – на 52%, суми хлорофілів за дії *B. japonicum* УКМ В-6018 – на 20%, за дії *B. japonicum* УКМ В-6018+*Paenibacillus* sp. 3 – на 27%, за дії *B. japonicum*

УКМ В-6018+*Brevibacillus* sp. 5 – на 53%. Накопичення каротиноїдів зросло за дії *B. japonicum* УКМ В-6018+*Paenibacillus* sp. 3 – на 27%, за дії *B. japonicum* УКМ В-6018+*Brevibacillus* sp. 5 – на 53%.

Табл. 3. Вміст пігментів у перших трилистниках сої, мг/г сухої маси
Фаза цвітіння

Варіант	Хлорофіл <i>a</i>	Хлорофіл <i>b</i>	Сума хлорофілів	Каротиноїди
Контроль	0.3932±0.0103	0.1303±0.0019	0.5235±0.0203	0.1745±0.0042
<i>B. japonicum</i> УКМ В-6018	0.4752±0.0098	0.1012±0.0113	0.5764±0.0153	0.1921±0.0035
<i>B. japonicum</i> УКМ В-6018+ <i>Paenibacillus</i> sp. 3	0.5285±0.0142	0.1498±0.0113	0.6783±0.0168	0.2261±0.0043
<i>B. japonicum</i> УКМ В-6018+ <i>Brevibacillus</i> sp. 5	0.6057±0.0090	0.1978±0.0094	0.8035±0.0124	0.2678±0.0102

Фаза плодоношення

Варіант	Хлорофіл <i>a</i>	Хлорофіл <i>b</i>	Сума хлорофілів	Каротиноїди
<i>B. japonicum</i> УКМ В-6018	0.4803±0.0062	0.1246±0.0018	0.6049±0.0125	0.1949±0.0024
<i>B. japonicum</i> УКМ В-6018+ <i>Paenibacillus</i> sp. 3	0.5036±0.0236	0.1346±0.0167	0.6382±0.0203	0.2127±0.0082
<i>B. japonicum</i> УКМ В-6018+ <i>Brevibacillus</i> sp. 5	0.5852±0.0088	0.1865±0.0083	0.7717±0.0113	0.2572±0.0111

Індекс фотохімічної активності за інокуляції *B. japonicum* УКМ В-6018 та у комплексі з ендоситними бактеріями був високий (Табл. 4), що може вказувати на активне функціонування фотосистеми 2 за дії азотфіксуючих бактерій.

Табл. 4. Індекс фотохімічної активності

Варіанти	Фаза цвітіння	Фаза плодоношення
Контроль	0,29	0,41
<i>B. japonicum</i> УКМ В-6018	0,36	0,54
<i>B. japonicum</i> УКМ В-6018+ <i>Paenibacillus</i> sp. 3	0,43	0,58
<i>B. japonicum</i> УКМ В-6018+ <i>Brevibacillus</i> sp. 5	0,48	0,61

Обробка насіння сої штамом *B. japonicum* УКМ В-6018 окремо та у комплексі з ендоефітними бактеріями *Paenibacillus* sp. 3 або *Brevibacillus* sp. 5 стимулювала розвиток фотосинтетичного апарату сої, що виявлялося у збільшенні площі листових пластинок, накопиченні хлорофілів і каротиноїдів. Індекс фотохімічної активності фотосинтезу у варіанті *B. japonicum* УКМ В-6018+*Paenibacillus* sp. 3 був високий, що може вказувати на активне функціонування фотосистеми 2 за інокуляції рослин сої біопрепаратами на основі азотфіксувальних і ендоефітних бактерій.

Список літератури

1. Dudeja S.S. Soil biology // S. S. Dudeja, N. P. Singh, P. Sharma, S. C. Gupta, R. Chandra, B. Dhar, R. K. Bansal, G. P. Brahmprakash, S. R. Potdukhe, R. C. Gundappagol, B. G. Gaikawad, K. S. Nagaraj. – 2011.
2. Wang D. Effects of elevated CO₂ on the tolerance of photosynthesis to acute heat stress in C₃, C₄ and CAM species / D. Wang, S.A. Heckathorn, D. Varua et al. // Amer. J. of Bot. – 2008, Vol. 95. – P. 165–176.
3. Pedersen P. Soybean growth and development / P. Pedersen. Iowa state university, Ames. – 2009. – P. 1-12.
4. Гродзинский А. М. Гродзинский Д. М. Краткий справочник по физиологии растений / А. М. Гродзинский, Д. М. Гродзинский. – К.: Наук. думка. – 1973. – 567 с.
5. Brestic M., Zveak M. PSII fluorescence techniques for measurement of drought and high temperature. Stress signal in crop plants: Protocols and Applications / M. Brestic, M. Zveak // Molecular stress physiology of plants. – 2013. – P. 81–131.