

ORIGINAL ARTICLE

## Peculiarities of the formation and functioning of soybean-rhizobial complexes and the productivity of soybean culture under the influence of retardant of paclobutrazol

V.G. Kuryata, L.A. Golunova

Vinnitsya State Pedagogical University after named Mykhailo Kotsyubynskiy, Ostrozhskogo St., 32, Vinnitsa, 21000, Ukraine

E-mail: [galpryadk@gmail.com](mailto:galpryadk@gmail.com)

Received: 20.04.2018. Accepted: 21.06.2018

The effect of triazole derivative retardant of paclobutrazol on the formation and function of soybean-rhizobial complex, activity of key ferments of nitric metabolism-nitrogenase and nitratereductase, morphogenesis and photosynthetic apparatus of soybean plants in connection with the productivity of the culture have been established. The inoculation of bacteria of seeds with highly effective strain M 8 *Bradyrhizobium japonicum* followed by treatment of the plants with antigibberellic preparation of paclobutrazol during budding caused essential anatomic-morphological and physiological changes in function of the source-sink system optimized the formation and function of bean-rhizobial complexes. Since the intensity of symbiotic nitrogen fixation is considerably dependent on the process of photosynthesis application of the retardant proved to be effective, for it was followed by increase of leaves in number and in their total area per plant as a result from the stem branching. The simultaneous application of paclobutrazol caused the formation of a more powerful mezostructure of the leaves due to the enhanced development of the main photosynthetic tissue – chlorenchima, per unit of the leaf area. Thus the application of paclobutrazol tended to bring into action the more developed of source spheres of the plants which provided with assimilates symbiotic nitrogen fixation as well as processes of carpogenesis. The result obtained in the research testify to the steady trend towards the formation of bean-rhizobium complexes: under the effect of retardant the number and weight of tubers on the roots of the inculcated plants increased. The analysis of the nitrogen-fixing activity of the tubers shows that under paclobutrazol there was a significant increase of the nitrogen activity of bean-rhizobial complexes, which occurred, evidently, also due to more intensive absorption of assimilators in consequence of photosynthetic intensification of plant productivity. Along with generative organs bean-rhizobial complexes serve as supplementary traction centres for the redistribution of products of photosynthesis. One of the important factors which influenced the formation of plant productivity was that to enhance the assimilate assurance of the processes of symbiotic nitrogen fixation causing a shift of nitrogenase activity towards a later stage of ontogenesis - the green bean phase. Beside the assimilation of free nitrogen, due to the nitrogen activity of the tubers, a part of nitrogen was consumed by plants from the soil in the nitrate form, which dominated the bound forms of nitrogen. The analysis of the obtained data testifies to the use of paclobutrazol preceded by inoculation of soybean seeds with strains M 8 *Bradyrhizobium japonicum* which provided growth activity of nitratereductase both in roots and in leaves of soybean plants. We found out that the highest activity of nitrate reduction with mutual use of strain and retardant occurred in the period of blossom. Thus, the application of paclobutrazol against the inoculation background with strains M 8 brought into effect a considerable growth of nitrogen reduction activity both in the leaves and in the roots in comparison with the absolute control (spontaneous inoculation), and which efficiently enhanced the nitrogen metabolism of plants. To sum up, the complex application of paclobutrazol after inoculation of the seeds with strain M8 *Bradyrhizobium japonicum* proved to be the efficient cause of stem branching as well as growth of beans in number and their crop productivity due to the formation of a more powerful photosynthetic apparatus and more essential redistribution of nitrogen in the plants.

**Keywords:** *Glycine max* (L.) Merr.; retardants; nitrogen fixation activity; morphogenesis; productivity process

---

### Вступ

Особливості формування і функціонування бобово - ризобіальних комплексів значною мірою визначають забезпечення рослин зв'язаним азотом, що суттєво впливає на урожайність бобових культур. Важливий вплив на взаємодію бобової рослини з ризобіями мають фізіологічний стан рослини з однієї сторони, та вірулентність й активність бактерій з іншої, в зв'язку з чим ведеться пошук шляхів мобілізації внутрішніх резервів азотфіксаторів для

досягнення максимальної інтенсифікації процесу біологічної фіксації атмосферного азоту (Lee et al., 2012; Leonova, 2015). Ознаками високої азотфіксувальної активності є також конкурентоздатність по відношенню до аборигенної мікрофлори ґрунту та стійкість до стресових чинників бактеріальних препаратів. Встановлено, що ефективний симбіоз бульбочкових бактерій з рослиною-господарем встановлюється за умови надходження із бобової рослини до її кореневих бульбочок достатньої кількості продуктів фотосинтезу, які є джерелом енергії для азотфіксації і асиміляції аміаку. Збільшення потоку фотоасимілятів в бульбочки, як правило, призводить до посилення азотфіксації і навпаки (Kots et al., 2011).

Сучасний стан розвитку фітофізіології дозволяє проаналізувати процеси накопичення і перерозподілу фотоасимілятів та елементів живлення між органами рослини з позицій концепції донорно-акцепторних відносин рослини ("source-sink" - система). При цьому, як правило, в якості донора розглядаються процеси фотосинтезу, а в якості акцептора - процеси росту, накопичення резервних речовин і зони активного метаболізму при автотрофному живленні (Yu et al., 2015; Bonelli et al., 2016), або взаємодія між органами запасу та процесами росту на гетеротрофному етапі розвитку проростку (Poprotska and Kuryata, 2017; Kuryata et al., 2017). Для бобових рослин аналіз донорно-акцепторних відносин не може бути обмеженим лише специфікою перерозподілу асимілятів між вегетативними і генеративними органами рослин, процесами росту й фотосинтезу, оскільки додатковими атрагувальними центрами перерозподілу асимілятів виступають бобово-ризобіальні комплекси. Розвиток і функціонування корневих бульбочок потребує регуляції, зокрема за участі фітогормонів. І хоча питання гормональної регуляції симбіотичної азотфіксації є одним із важливих, воно залишається ще малодослідженим. Встановлена позитивна дія ауксинів та цитокінінів на процеси формування бульбочок (Nonokava et al., 2007). З'ясованою є також здатність бульбочкових бактерій синтезувати гібереліни, однак обробка насіння сої гібереліном уповільнювала утворення бульбочок та здійснювала негативний вплив на процеси азотфіксації (Zhang et al., 1997). Виходячи з наведеного, доцільно проаналізувати вплив препаратів з антигібереліновим механізмом дії – ретардантів на формування і функціонування бобово-ризобіального комплексу. Ретарданти – синтетичні регулятори росту, які застосовуються для інгібування ростових процесів (Kasem and Abd El-Baset, 2015; Carvalho et al., 2016), підвищення стійкості рослин до несприятливих факторів середовища (Li et al., 2010; Peng et al., 2014; Abu-Muriefah, 2015; Mo et al., 2016; Кошелев, 2017), регуляції якості продукції (Souza, 2010). Ці препарати значно відрізняються за своєю хімічною будовою, однак викликають один і той же ефект – уповільнюють поділ і розтягування клітин, що призводить до гальмування росту в цілому, не викликаючи аномальних відхилень. При цьому вони сприяють формуванню більш потужної донорної сфери в рослині (Matsoukis et al., 2015; Sousa Lima et al., 2016; Wang et al., 2016). При достатній активності асиміляційного апарату штучне обмеження росту вегетативних органів під впливом ретардантів призводить до перерозподілу асимілятів в бік формування плоду, внаслідок чого часто підвищується урожайність та покращується якість продукції сільськогосподарських культур (Altintas, 2011; Pavlista, 2013; Macedo et al., 2017). Відомо, що фізіологічний ефект дії препаратів цієї групи здійснюється або через блокування синтезу гіберелінів в рослині, або блокуванням утворення гормон-рецепторного комплексу, внаслідок чого не реалізується дія вже синтезованого гібереліну (Sang-Kuk and Hak-Yoon 2014; Rademacher, 2016; Hedden and Thomas, 2016). Роботи останніх років свідчать, що застосування різних груп ретардантів не лише призводить до уповільнення лінійного росту, але й стимулює галушення стебла, закладку більшої кількості квітів та плодів, що суттєво підвищує урожайність сільськогосподарських культур (Pobudkiewicz, 2014; Rogach and Rogach, 2015; Kasem and Abd El-Baset, 2015; Rogach et al., 2016; Koutroubas, 2016). При цьому в літературі відсутні дані про ефективність спільного застосування інокуляції насіння високоефективними штамми *Bradyrhizobium japonicum* та обробки ретардантами для оптимізації продукційного процесу. Практично відсутні також дані про вплив ретардантів на активність нітрогенази та нітратредуктази, які є ключовими ферментами у фіксації атмосферного азоту та включенні нітратів в метаболізм.

Серед різних груп ретардантів в останні роки все більше застосовують триазолпохідні препарати, які проявляють найбільш сильну антигіберелінову дію – паклобутразол (Kumar et al., 2012, 2016), уніказол (Yan W., et al., 2013; Yan Y. et al., 2015), тебуконазол (Kuryata and Kravets, 2018) та інші. Встановлено, що паклобутразол не спричиняє мутагенної дії, і з токсиколого-гігієнічних міркувань є найбільш прийнятним серед триазолпохідних препаратів.

В зв'язку з викладеним, метою даної роботи було вивчити вплив триазолпохідного ретарданту паклобутразолу на формування та ефективність функціонування симбіотичної системи соя – *Bradyrhizobium japonicum*, морфогенез, продуктивність та якість продукції культури сої.

## Матеріали і методи досліджень

Рослини сої сорту Подільська 1 вирощували в 15-кілограмових посудинах в ґрунтовій культурі на поживному середовищі ВНІС у вегетаційному будиночку кафедри біології Вінницького державного педагогічного університету. Інокуляцію насіння проводили в день сівби штамом *Bradyrhizobium japonicum* М 8. Перед посівом насіння протягом 20 хв. стерилізували 70 %-им етиловим спиртом, промивали в проточній воді та інокулювали. Насіння для контрольного варіанту не інокулювали, лише промивали водою. В посудинах вирощували по 5 рослин. Протягом дослідження підтримувалася 60% вологість ґрунту, освітлення – природне.

Обробляли рослини в ранкові години до повного змочування листків 0,025%-м розчином паклобутразолу (ПБ) у фазу бутонізації. Паклобутразол – 4,4-диметил-2-(1,2,4-триазоліл-1)-1-(4-хлорфеніл) пентанол-3, похідна 1,2,4 триазолу. Характеризується низькою розчинністю у воді – 0,035 г/л, температура плавлення 165-166 °С. ЛД<sub>50</sub> для білих пацюків 1356-1953 мг/кг. Контрольні рослини обробляли водопровідною водою.

Морфометричні показники - висоту рослин, кількість листків, сумарну площу листової поверхні, кількість і масу бульбочок на коренях визначали у кожну фазу розвитку. Мезоструктурну організацію листків сої вивчали на фіксованому матеріалі за допомогою мікроскопа „Микмед-1” і окулярного мікрометра МОВ-1-15х. Рослинний матеріал фіксували сумішшю, яка складалася з рівних частин етилового спирту, гліцерину, 1%-го водного розчину формаліну. Вимірювання клітин епідермісу проводили на препаратах, мацерованих 5 %-м розчином оцтової кислоти в 2 N соляній кислоті. В ході вегетації, за фазами розвитку (цвітіння-початок утворення бобів, масове формування бобів, фаза зеленого бобу) відбирали рослини для подальших досліджень. Рослини для біохімічних аналізів фіксували рідким азотом та досушували в сушильній шафі при температурі 60°C. Повторність дослідів п'ятикратна.

Азотфіксувальну (нітрогеназну) активність визначали за рівнем ацетиленвідновлювальної активності (АВА) кореневих бульбочок ацетиленовим методом. Коріння з бульбочками поміщали в герметично закриті гумовими мембранами скляні флакони ємкістю 100 см<sup>3</sup>, в які вводили ацетилен. Кінцева його концентрація у газовій суміші флакона становила 10 %. Тривалість інкубації аналізованих рослинних зразків – 1 година. Після цього газову суміш, яка містила етилен, утворений в результаті редукції ацетилену нітрогеназою, аналізували на газовому хроматографі “Chromatograf – 504” (“Mega Elwro”, Польща) з полум'яно - іонізаційним детектором. Розділення газів проводили на колонці (0,40·130 см) із Paqaras N при температурі 80°C. Газом - носієм був азот (50 мл за 1 хв). Об'єм аналізованої проби газової суміші становив 0,5–1,0 см<sup>3</sup>. Як стандарт використовували чистий етилен. Нітратредуктазну активність у листках і коренях визначали вакуум – інфільтрацією 0,1н. KNO<sub>3</sub> (30 хв. при 27°C) з наступним визначенням оптичної густини розчину при довжині хвилі 540 нм після додавання реактиву Грісса. В насінні на кінець вегетації оцінювали вміст загального азоту – за Кельдалем, олії – методом екстракції в апараті Сокслета Розчинником слугував петролейний ефір з температурою кипіння 40-65°C (АОАС, 2010).

Результати досліджень обробляли статистично з використанням комп'ютерної програми “Statistica”. В таблицях і на рисунках представлені середні арифметичні значення та їх стандартні похибки.

## Результати

Нами встановлено, що обробка препаратами призводить до суттєвих морфологічних змін, модифікації інтенсивності росту окремих органів в різні фази розвитку сої. Зокрема, інокуляція насіння штамом М 8 мала стимулюючий ефект і зумовлювала збільшення висоти рослин. Спільне застосування паклубутразолу та штаму М8 призводило до зменшення висоти рослин та посилення галузнення стебла (рис. 1).



**Рис. 1.** Вплив штаму *Bradyrhizobium japonicum* М 8 та паклубутразолу на ріст рослин сої Подільська 1. 1 – контроль, 2 – обробка штамом М8, 3 – обробка М8+0,025% ПБ.

Відомо, що дія регуляторів росту на фотосинтетичну продуктивність рослини значною мірою реалізується через анатомо - морфологічні зміни фотосинтетичного апарату, в першу чергу через формування листової поверхні рослин (Kuryata and Polyvani, 2018). При цьому, кількість вуглекислоти, що поглинається цілою рослиною і, відповідно, маса новоутворених пластичних речовин в рівних умовах характеризується як інтенсивністю фотосинтезу одиниці площі поверхні листка, так і сумарною площею листків даної рослини. Отримані нами дані свідчать, що за умов застосування штаму М 8 *Bradyrhizobium japonicum* та сумісного використання інокуляції цим штамом та обприскування паклубутразолом в усі фази періоду плодоношення зростала кількість листків та площа сумарної листової поверхні рослин сої, причому комплексне застосування інокуляції та препарату було найбільш ефективним (табл. 1).

**Таблиця 1.** Вплив інокуляції та паклубутразолу на морфо-фізіологічні характеристики листків сої сорту Подільська 1

Період вегетації	Показник	Контроль	Штам М 8	Штам М 8+ ПБ
Цвітіння	Кількість листків, шт.	5,12 ± 1,02	9,02 ± 2,12*	12,05 ± 1,65*
	Площа листків, см <sup>2</sup>	196,98 ± 4,02	279,34 ± 6,10*	264,19 ± 3,16*
	ЧПФ, г/м <sup>2</sup> -добу	1,32 ± 0,12	2,41 ± 0,24*	2,03 ± 0,14*

Масове формування бобів	Кількість листків, шт.	7,24 ± 4,12	11,33 ± 1,25*	15,23 ± 1,18*
	Площа листків, см <sup>2</sup>	233,30 ± 2,77	294,12 ± 3,15*	300,04 ± 3,16*
	ЧПФ, г/м <sup>2</sup> ·добу	1,27 ± 0,17	2,33 ± 0,14	3,11 ± 0,10
Фаза зеленого бобу	Кількість листків, шт.	9,11 ± 2,12	14,33 ± 4,12	24,17 ± 2,12*
	Площа листків, см <sup>2</sup>	265,32 ± 4,36	311,17 ± 6,07*	337,41 ± 6,20*
	ЧПФ, г /м <sup>2</sup> ·добу	0,94 ± 0,05	1,13 ± 0,11*	2,17 ± 0,08*

Примітка: \* – різниця достовірна при P≤0,05.

В літературі представлені нечисельні дані щодо інтенсивності фотосинтезу за дії ретардантів. Однією з причин посилення фотосинтезу сої за дії паклобутразолу є збільшення вмісту фотосинтетичних пігментів - хлорофілів і каротиноїдів в листках (Abd Ei-Aal and Eid, 2017). Аналогічне підвищення вмісту пігментів, продовження періоду життєдіяльності листків сої та підвищення їх фотосинтетичної активності відмічено при застосуванні іншого ретарданту - триазолпохідного препарату уніконазолу (Yan et al., 2015) та хлормекватхлориду на рослинах *Ginkgo biloba* (Zhang et al., 2013). Про посилення фотосинтетичної активності листків сої під впливом інокуляції та комплексному застосуванні бактеризації та паклобутразолу свідчать одержані нами результати вивчення чистої продуктивності фотосинтезу (ЧПФ) по варіантах досліду (табл. 1). Оскільки цей показник характеризує фотосинтетичну активність одиниці площі листка, при аналізі отриманих даних доцільно охарактеризувати особливості анатомічної будови листків, які мають відношення до фотосинтетичних процесів і які в науковій літературі отримали назву «мезоструктура».

Існуючі в літературі дані про вплив ретардантів на мезоструктурні характеристики листків свідчать про їх оптимізацію за дії препаратів з антигіберпеліновим механізмом дії. Досліджено, що у рослин льону олійного (Kuryata and Khodanitska, 2018), маку олійного (Kuryata and Polyvaniy, 2018) та томатів (Kuryata and Kravets, 2018) під впливом ретардантів різних класів відмічалася потовщення листкової пластинки за рахунок збільшення розмірів мезофільних клітин. Отримані нами дані свідчать, що аналогічні зміни при застосуванні паклобутразолу та бактеризації високоактивним штамом та відбувалися у листках рослин сої. Паклобутразол на фоні інокуляції насіння штамом М 8 впливав на товщину листкових пластинок найбільше у порівнянні з бактеризацією та контрольним варіантом. При цьому об'єм клітин стовпчастої паренхіми листків по варіантах досліду також набував максимального значення при сумісному застосуванні інокуляції штамом та паклобутразолу. Разом з тим, застосування препаратів практично не впливало на розміри клітин губчастої паренхіми. Застосування інокуляції штамом М 8 в комплексі з паклобутразолом призводило до змін у продиховому апараті листка, збільшуючи кількість продихів на одиницю абаксіальної поверхні листка, що є важливим показником інтенсивності газообміну та транспіраційних процесів (див. табл. 1).

**Таблиця 2.** Вплив інокуляції штамом М8 *Bradyrhizobium japonicum* та обробки паклобутразолом на мезоструктурні показники листків сої сорту Подільська 1 (фаза формування плодів).

Варіант	Товщина листка, мк	Об'єм клітин стовпчастої паренхіми, мк <sup>3</sup>	Довжина клітин губчастої паренхіми, мк	Ширина клітин губчастої паренхіми, мк	Кількість продихів на мм <sup>2</sup> абаксіальної поверхні листка
Контроль	163,7 ± 4,21	2161 ± 91	30,7 ± 3,23	26,3 ± 2,33	173,1 ± 4,43
Штам М 8	263,0 ± 8,94*	2387 ± 45*	34,9 ± 1,72	29,7 ± 2,26	184,5 ± 1,72*
Штам М8+ПБ	319,5 ± 6,63*	4777 ± 32*	33,3 ± 1,37	28,4 ± 0,91	198,2 ± 4,53*

Примітка: див. табл.1.

Отже, підвищення показника ЧПФ при застосуванні штаму М 8 та паклобутразолу пов'язане з потовщенням листкової пластинки і кращим розвитком асиміляційної паренхіми. Найбільш ефективним було комплексне застосування ретарданту та бактеризації штамом М8. Таким чином, ретардант на фоні інокуляції штамом М8 *Bradyrhizobium japonicum* позитивно впливав на анатомо - морфологічні параметри фотосинтетичного апарату рослин сої, що є важливою передумовою оптимізації формування та функціонування бобово-ризобіальних комплексів.

Одним із критеріїв оцінки ефективності комплементарної взаємодії макро- і мікросимбіонтів є вірулентність бульбочкових бактерій, яку визначають за кількістю бульбочок, що утворилися. В ході нашого дослідження встановлено збільшення нодуляційної активності при застосуванні високоефективного штаму М 8 *Bradyrhizobium japonicum* проти контролю (спонтанної інокуляції, табл. 3). Максимальна кількість та маса бульбочок відмічалася за дії ретарданту на фоні використання штаму М8 в усі фази розвитку рослин сої, найвищими ці показники були у фазу зеленого бобу.

**Таблиця 3.** Вплив інокуляції та ретардантів на формування азотфіксуючого апарату сої сорту Подільська 1

Варіант	Фаза розвитку					
	Цвітіння		Формування бобів		Зеленого бобу	
	Кількість бульбочок, шт	Суха речовина бульбочок, г	Кількість бульбочок, шт	Суха речовина бульбочок, г	Кількість бульбочок, шт	Суха речовина бульбочок, г
Контроль	6,6 ± 0,17	0,02 ± 0,011	11,2 ± 0,18	0,12 ± 0,041	19,0 ± 0,31	0,17 ± 0,103
Штам М 8	30,9 ± 0,06*	0,16 ± 0,032*	52,3 ± 0,23*	0,37 ± 0,053*	59,2 ± 0,11*	0,45 ± 0,057*
Штам М 8 +ПБ	36,2 ± 0,11*	0,23 ± 0,036*	56,4 ± 0,16*	0,42 ± 0,043*	66,1 ± 0,14*	0,68 ± 0,134*

Примітка: див. табл.1.

Вірулентність бульбочкових бактерій має важливе значення при утворенні ефективного симбіозу, однак основне і вирішальне значення в даному процесі належить азотфіксуючій активності утворених бульбочок. Існує кореляція між фотосинтетичною активністю рослин і розвитком бульбочок (Kots at oll, 2011). Період утворення бобів у рослин сої супроводжується відтоком асимілятів до генеративних органів і, як наслідок, припиняється активний ріст вегетативної маси рослин, різко знижується ацетиленвідновлювальна активність корневих бульбочок. За умов ефективного симбіозу бульбочок наприкінці репродуктивної фази настає їх старіння. У неефективних бульбочках бактерії в інфікованих клітинах не перетворюються у сформовані бактероїди і швидко старіють. Отже, підвищення продуктивності симбіотичних систем сої може бути досягнуте шляхом підтримки високої азотфіксуючої активності та інтенсивності фотосинтетичних процесів у генеративну фазу розвитку, а необхідною умовою такого поєднання є висока потенційна активність фотосинтетичного апарату рослин після цвітіння. Нами встановлено, що за обробки штамом М8 *Bradyrhizobium japonicum* нітрогеназна активність істотно збільшувалася в усі досліджувані фази розвитку проти спонтанної інокуляції (рис. 2). Максимальна ацетиленвідновлювана активність відмічалася у фазу формування бобів. Застосування ретарданту суттєво підвищувало нітрогеназну активність симбіотичного комплексу *Bradyrhizobium japonicum* – соя. Комплексне застосування препаратів призводило також до зміщення піку активності нітрогенази на більш пізній етап онтогенезу–фазу зеленого бобу.

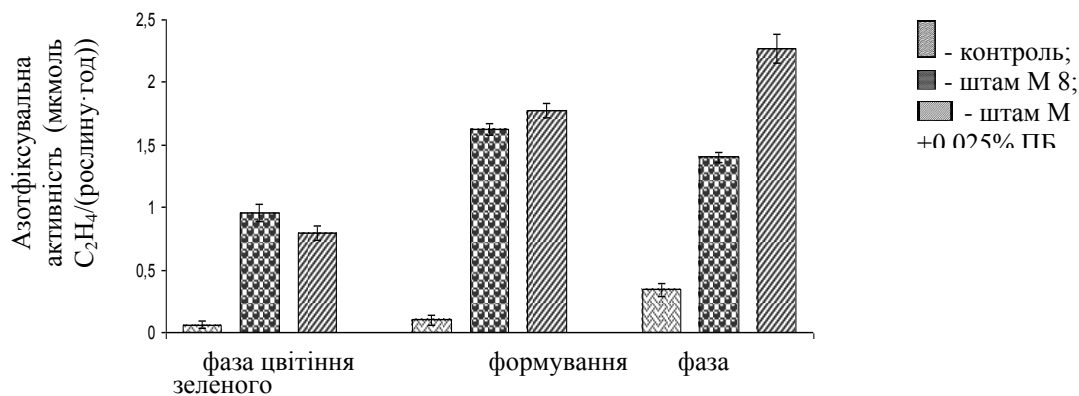
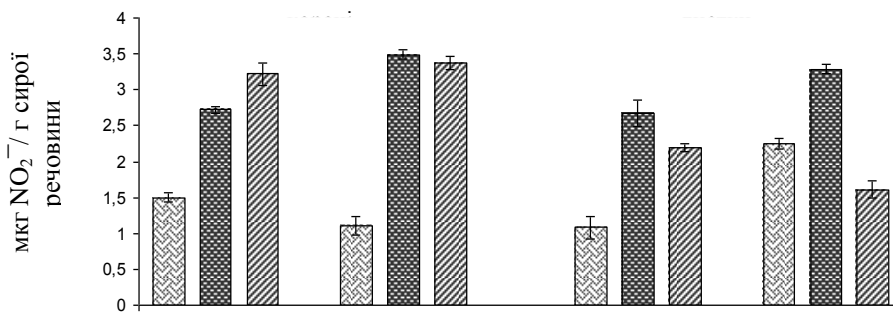


Рис. 2. Динаміка загальної нітрогеназної активності сої за дії штаму М 8 *Bradyrhizobium japonicum* та паклобутразолу.

Отже, встановлене формування більш потужного фотосинтетичного апарату рослин сої за дії паклобутразолу, наслідком чого стало краще забезпечення продуктами фотосинтезу бактероїдів, призводило до посилення їх нітрогеназної активності. Крім фіксації вільного азоту завдяки нітрогеназній активності бульбочок, частину азоту рослини споживають із ґрунту у вигляді нітратної форми, яка є домінуючою серед зв'язаних форм азоту. Нітратредуктазна активність регулюється на різних рівнях. Швидкість редукції нітратів у листках залежить від її притоку з коренів, розподілу між метаболічним і вакуолярним пулами. Старіння листків призводить до зниження активності асиміляторних ферментів, у тому числі й нітратредуктази. Посилене залучення нітратів в азотний метаболізм рослин може спричинити зниження вмісту азоту в коренях і прикореневому ґрунті, а це, в свою чергу, призводить до синтезу нітрогенази в бульбочках (Kots at oll, 2011). Нами встановлено, що пік активності нітратредуктази у коренях і листках при застосуванні бактеризації та сумісному використанні штаму і ретарданту припадав на фазу цвітіння, при цьому значення активності ферменту були більш високими у порівнянні з контролем. У коренях варіанту із застосуванням паклобутразолу нітратредуктазна активність в цю важливу фазу розвитку рослини була достовірно вищою, ніж у варіанті із застосуванням лише бактеризації штамом М 8. Зменшення показників її активності спостерігали у фазу формування бобів, хоча в листках рослин контрольного варіанту відмічалася в цей час продовження зростання цього показника (рис. 3).



**Рис. 3.** Активність нітратредуктази в коренях та листках рослин сої на фоні передпосівної інокуляції штамом М 8 та обробки паклобутразолом: - контроль; - штам *Bradyrhizobium japonicum* М 8; - штам *Bradyrhizobium japonicum* М 8+0,025% ПБ.

Таким чином, бактеризація насіння штамом М 8 та застосування паклобутразолу призводить до суттєвого зростання нітратредуктазної активності як у листку, так і в коренях проти спонтанної інокуляції у фазу цвітіння, що суттєво впливає на азотний метаболізм в рослині.

Роботами останніх років встановлено, що застосування антигіберелінових препаратів може призводити до переорієнтації потоків асимілятів у рослин (Rogach and Rogach, 2015; Kuryata and Kravets, 2018). Такий характер змін донорно - акцепторних відносин визначається тим, що відбувається гальмування діяльності меристем вегетативних органів рослин і появою нових акцепторних центрів. Так, за дії ретардантів уповільнення лінійного росту рослин супроводжувалося більш інтенсивним галушенням, закладкою більшої кількості квітів і плодів (генеративних органів), зростанням урожайності (Altintas, 2011; Pavlista, 2013). Нами встановлено, що аналогічний вплив здійснювали ретарданти і на рослини сої. Їх дія на фоні бактеризації насіння штамом *Bradyrhizobium japonicum* призводила до закладки більшої кількості бобів та зростання продуктивності культури (табл. 4). При цьому отримані результати свідчать, що обробка препаратами практично не впливала на вміст олії в насінні, та зумовлювала зростання загального азоту.

**Таблиця 4.** Структура урожаю сої сорту Подільська 1 за інокуляції штамом М8 *Bradyrhizobium japonicum* та обробки паклобутразолом

Варіант	Кількість бобів на рослині, шт	Маса насіння на рослині, г	Маса 1000 насінин, г	Вміст олії, %	Азот, %
Контроль (без обробки)	12,4 ± 0,98	4,2 ± 0,33	155,3 ± 1,14	21,1 ± 1,76	4,11 ± 0,12
Штам М 8	16,2 ± 1,04*	6,2 ± 0,46*	172,3 ± 2,06*	22,1 ± 1,25	5,32 ± 0,10*
Штам М 8 + ПБ	22,6 ± 1,12*	9,1 ± 0,28*	180,2 ± 2,23*	22,6 ± 1,32	5,66 ± 0,17*

Примітка: див. табл.1.

## Обговорення

Застосування бактеризації насіння сої високоефективним штамом М 8 *Bradyrhizobium japonicum* з наступною обробкою рослин антигібереліновим препаратом паклобутразолом в період бутонізації призводило до суттєвих анатомо - морфологічних та фізіологічних змін у функціонуванні донорно - акцепторної системи, оптимізувало формування та функціонування бобово - ризобіальних комплексів. Оскільки інтенсивність симбіотичної азотфіксації значною мірою визначається забезпеченням процесу продуктами фотосинтезу, застосування ретарданту було ефективним саме тому, що призводило до зростання кількості листків та їх сумарної площі на рослині в результаті посиленого галушення стебла. Одночасно застосування паклобутразолу викликало формування більш потужної мезоструктури листків внаслідок посиленого розвитку основної фотосинтезуючої тканини - хлоренхіми, що призводило до зростання чистої продуктивності фотосинтезу одиниці площі листків. Отже, застосування паклобутразолу зумовлювало формування більш розвиненої донорної сфери рослини, що забезпечувало асимілятами як процеси симбіотичної асиміляції, так і процеси карпогенезу (формування і розвиток плодів та насіння). Отримані результати дослідження свідчать про посилення утворення бобово - ризобіальних комплексів: за дії ретарданту зростала кількість і маса бульбочок на коренях інокульованих рослин. Аналіз азотфіксувальної активності бульбочок свідчить, що за дії паклобутразолу нітрогеназна активність бобово - ризобіальних комплексів достовірно зростала, що, очевидно, теж пояснюється більш інтенсивним надходженням до них асимілятів внаслідок посилення фотосинтетичної продуктивності рослини. Отже, бобово - ризобіальні комплекси, наряду з генеративними органами, виступають додатковими атрагувальними центрами перерозподілу продуктів фотосинтезу. Важливим для формування продуктивності рослин є той факт, що посилене забезпечення асимілятами процесів симбіотичної азотфіксації призводило також до зміщення піку активності нітрогенази на більш пізній етап онтогенезу - фазу зеленого бобу. Крім фіксації вільного азоту завдяки нітрогеназній активності бульбочок, частину азоту рослини споживають із ґрунту у вигляді нітратної форми, яка є

домінуючою серед зв'язаних форм азоту. Аналіз отриманих результатів свідчить, що застосування паклобутразолу на фоні бактеризації насіння сої штамом M 8 *Bradyrhizobium japonicum* забезпечує зростання активності нітратредуктази як у коренях, так і в листках рослин сої. Пік активності нітратредуктази при сумісному використанні штаму і ретарданту припадав на фазу цвітіння. Таким чином, застосування паклобутразолу на фоні бактеризації насіння сої штамом M8 призводить до суттєвого зростання нітратредуктазної активності як у листку, так і в коренях проти контролю (спонтанної інокуляції), що суттєво посилює азотний метаболізм рослини. Отже, комплексне застосування ретарданту паклобутразолу і бактеризації насіння сої штамом M8 *Bradyrhizobium japonicum* призводило до посиленого галузнення стебла і закладки більшої кількості бобів, зростання продуктивності рослини внаслідок формування більш потужного фотосинтетичного апарату та покращення азотного обміну рослин.

## Висновки

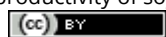
Застосування паклобутразолу у фазу бутонізації рослин сої на фоні передпосівної бактеризації насіння високоефективним штамом M 8 *Bradyrhizobium japonicum* призводить до корекції донорно-акцепторних відносин в рослині, сприяє формуванню більш потужної донорної сфери, посиленому формуванню соєво-ризобіальних комплексів та підвищенню їх азотфіксувальної активності. Внаслідок посиленого галузнення стебла і закладання більшої кількості квітів і бобів, формування потужнішої листової поверхні та зростання фотосинтетичної активності одиниці площі листка, покращення азотного живлення через оптимізацію нітрогеназної та нітратредуктазної активності, спільне застосування інокуляції насіння бульбочковими бактеріями та паклобутразолу призводить до підвищення продуктивності культури без суттєвих змін вмісту олії в насінні та сприяло накопиченню азоту в ньому.

## References

- Adb El-Aal, M.M.M, Rania, S.M.E. (2017). Optimizing Growth, Seed Yield and Quality of Soybean (*Glycine max.* L.) Plant Using Growth Substances. *Asian Research Journal of Agriculture*, 6 (3), 1-19. doi: 109734/ARJA/2017/36034
- Altintas, S. (2011). Effects of chlormequat chloride and different rates of prohexadione-calcium on seedling growth, flowering, fruit development and yield of tomato. *African Journal of Biotechnology*, 10 (75), 17160–17169. doi: 10.5897/AJB11.2706.
- AOAC (2010). *Official Methods of Analysis of Association of Analytical Chemist International* (18-th ed.). Rev. 3. 2010. Association of Analytical Chemist. Gaithersburg, Maryland, USA.
- Bonelli, L.E., Monzon, J.P., Cerrudo, A., Rizzalli, R.H., Andrade, F.H. (2016). Maize grain yield components and source-sink relationship as affected by the delay in sowing date. *Field Crops Research*, 198, 215-225. doi:10.1016/j.fcr.2016.09.003.
- Carvalho, M.E.A., Castro, C.P.R., Castro, F.M.V., Mendes, A.C.C. (2016). Are plant growth retardants a strategy to decrease lodging and increase yield of sunflower. *Comunicata Scientiae*, 7(1), 154–164. doi: 10.14295/CS.v7i1.1286.
- Hedden, P., Thomas, S. G. (2016). *The Gibberellins*. John Wiley & Sons. doi:10.1002/9781119210436
- Kasem, M. M., Abd El-Baset, M.M. (2015). Studying the Influence of Some Growth Retardants as a Chemical Mower on Ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Journal of Plant Sciences*, 3(5), 255-258. doi: 10.11648/j.jps.20150305.12
- Koshilyaev, V.V., Kudin, S.M., Koshelyaeva, I.P. (2017). Primenenie regulyatorov rosta pri vozdelovanii ozimoy pshenitsyi v usloviyah Lesostepi Srednego Povolzhya. *Izvestiya Samarskoy gosudarstvennoy s/h-y akademii*, 1, 6-10. doi: 10.12737/24513 (in Russian)
- Kots, S.Y., Morgun, V.V, Patyika, V.F. (2011). *Biologicheskaya fiksatsiya azota: bobovo-rizobialnyiy simbioz: monografiya: t.1*. Logos, 523. (in Russian)
- Koutroubas, S.D., Damalas, C.A. (2016). Morpho-physiological responses of sunflower to foliar applications of chlormequatchloride (CCC). *Bioscience Journal*, 32 (6). 1493–1501. doi: 10.14393/BJ-v32n6a2016-33007.
- Kumar, S., Sreenivas, G., Satyanarayana, J., Guha, A. (2012). Paclobutrazol treatment as a potential strategy for higher seed and oil yield in field-grown *Camelina sativa* L. Crantz. *BSK Research Notes* 5(1). 1–13. doi: 10.1186/1756-0500-5-137
- Kumar, T., Samaiya, R.K., Singh, Y., Dwivedi, S.K., Meena, K.C. (2016). Effect of foliar application of plant growth retardants on growth, yield and yield attributing parameters of soybean (*Glycine max* L.) Merrill *International Journal of Agriculture Scinces*, 8 (50). 2158-2162
- Kuryata, V.G., Poprotska, I.V., Rogach, T.I. (2017). The impact of growth stimulators and retardants on the utilization of reserve lipids by sunflower seedlings. *Regul. Mech. Biosyst.*, 8 (3), 317-322. doi: 10.15421/021750
- Kuryata, V.G., Kravets, O.O. (2018). Features of morphogenesis, accumulation and redistribution of assimilate and nitrogen containing compounds in tomatoes under retardants treatment. *Ukrainian Journal of Ecology*, 8 (1), 356-362. DOI: [http://dx.doi.org/10.15421/2018\\_222](http://dx.doi.org/10.15421/2018_222)
- Kuryata, V.G., Polyvanyi, S.V. (2018). Formation and functioning of source-sink relation system of oil poppy plants under treptolem treatment in connection with productivity of crop. *Ukrainian Journal of Ecology*, 8(1), 11-20. DOI: [http://dx.doi.org/10.15421/2018\\_182](http://dx.doi.org/10.15421/2018_182)
- Kuryata, V.G., Khodanitska, O.O. (2018). Features of anatomical structure, formation and functioning of leaf apparatus and productivity of linseed under chlormequatchloride treatment. *Ukrainian Journal of Ecology*, 8 (1), 918-926. DOI: [http://dx.doi.org/1015421/2018\\_294](http://dx.doi.org/1015421/2018_294)
- Lee, H.-I., Lee, J.-H., Park, K.-H., Sangurdekar, D., Chang, W.-S. (2012). Effect of Soybean Coumestrol on *Bradyrhizobium japonicum* Nodulation Ability, Biofilm Formation, and Transcription Profile. *Appl Environ Microbiol. Apr.*, 78 (8), 2896-2903. doi: 10.1128/AEM.07336-11
- Leonova, N.O. (2015) Sintez auksiniv ta tsitokininiv *Bradyrhizobium japonicum* za diyi flavonoyidiv. *Mikrobiol. zhurnal*. 77 (5). 95-103 (in Ukrainian).

- Li, N., Li, J.M., Zhai, Z., Li, Z.H., Duan, L.S. (2010) Effects of chemical regulator on the lodging resistance traits, agricultural characters and yield of maize. *J. Maize Sci*, 18, 38–42. doi: 10.13597/j.cnki.maize.science.2010.06.015
- Macedo, W.R., Araujo, D.K., Santos, V.M., Camargo, G.M., Castroand, P.R. (2017). Plant growth regulators on sweet sorghum: physiological and nutritional value analysis. *Comunicata Scientiae*, 8 (1), 170–175. doi: 10.14295/CS.v8i1.1315
- Matsoukis, A., Gasparatos, D., Chronopoulou-Sereli, A. (2015). Mepiquat chloride and shading effects on specific leaf area and K, P, Ca, Fe and Mn content of *Lantana camara* L. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 27 (1), 121–125. doi:10.9755/ejfa.v27i1.17450
- Mo, Z.W., Pan, S.G., Kanu, A.S., Li, W., Duan, M.Y., Tang, X.R. (2016). Exogenous application of plant growth regulators induce chilling tolerance in direct seeded super and non-super rice seedlings through modulations in morpho-physiological attributes. *Cereal Research Communications*, 44 (3), 524–534. doi: 10.1556/0806.44.2016.010
- Nonokava, K., Kokubum, M., Nacajima, T., Nakamyra, T., Yoshida, R. (2007) Roles of Auxin and Cytokinin in Soybean Pod Setting. *Plant Production Science*. 10 (2), 199–206, doi: 10.1626/pp.s.10.199
- Pavlista, A.D. (2013). Influence of foliar-applied growth retardants on russet burbank potato tuber production. *Am. J. Potato*, 90, 395–401. doi: 10.1007/s12230-013-9307-2
- Peng, D., Chen, X., Yin, Y., Lu, K., Yang, W., Tang, Y., Wang, Z. (2014). Lodging resistance of winter wheat (*Triticum aestivum* L.): Lignin accumulation and its related enzymes activities due to the application of paclobutrazol or gibberellin acid. *F. Crop Res*, (157), 1–7. doi:10.1016/j.fcr.2013.11.015
- Pobudkiewicz, A. (2014). Influence of growth retardant on growth and development of *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch. *Acta Agrobotanica*, 67(3), 65–74. doi: 10.5586/aa.2014.030
- Poprotska, I.V., Kuryata, V.G. (2017). Features of gas exchange and use of reserve substances in pumpkin seedlings in conditions of skoto- and photomorphogenesis under the influence of gibberellin and chlormequat-chloride. *Regulatory mechanisms in biosystems*, 8 (1), 71–76. doi.org/10.15421/021713
- Rademacher, W. (2016). Chemical regulators of gibberellin status and their application in plant production. *Annual Plant Reviews*, 49, 359–403. doi: 10.1002/9781119312994.apr0541
- Rogach, V.V., Rogach, T.I. (2015). Vplyv syntetychnyh stymulyatoriv rostu na morfofiziolohichni harakterystyky ta biologichnu produktyvnist' kul'tury kartopli. *Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Ekol.*, 23(2), 221–224 (in Ukrainian). doi:10.15421/011532
- Rogach, V.V., Poprotska, I.V., Kuryata, V.G. (2016). Diya giberelinu ta retardantiv na morfogenez, fotosyntetychnyj aparat i produktyvnist' kartopli. *Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Ekol.*, 24(2), 416–419. doi:10.15421/011656 (in Ukrainian).
- Sharifa, S.A.-M. (2015). Effects of paclobutrazol on growth and physiological attributes of Soybean (*Glycine max*) plants growth under water stress conditions. *International Journal of Advanced Research in Biological Science*. 2 (7):2015:81–93.
- Sang-Kuk, K., Hak-Yoon, K. (2014). Effects of Gibberellin Biosynthetic Inhibitors on Oil, Secoisolarosonolodiglucoiside, Seed Yield and Endogenous Gibberellin Content in Flax. *Korean Journal of Plant Resources*, 27 (3), 229–235. doi: 10.7732/kjpr.2014.27.3.229
- Souza, L., Espíndula, M.C., Rocha, V.S., Fernandes, S.D., D.C., Souza, M.A. (2010). Growth retardants in wheat and its effect in physiological quality of seeds. *Cienc. Rural.*, 40 (6), 1431 – 1434. doi: 10.1590/S0103-84782010000600031
- Sousa, L.G.M., Pereira, M.C.T., Oliveira, M.B., Nietzsche, S., Mizobutsi, G.P., Filho, W.M. (2016). Floral induction management in 'Palmer' mango using uniconazole. *Ciencia Rural*, 46 (8), 1350–1356. doi: 10.1590/0103-8478cr20150940.
- Wang, Y., Gu, W., Xie, T., Li, L., Sun, Y., Zhang, H., Li, J., Wei, S. (2016). Mixed Compound of DCPTA and CCC increases maize yield by improving plant morphology and upregulating photosynthetic capacity and antioxidants. *PLOS ONE* 11(2):e0149404. doi:10.1371/journal.pone.0149404
- Yan, Y., Wan, Y., Liu, W., Wang, X., Yong, T., Yang, W. (2015). Influence of seed treatment with uniconazole powder on soybean growth, photosynthesis, dry matter accumulation after flowering and yield in relay strip intercropping system. *Plant Production Science*, 18 (3), 295–301. doi.org/10.1626/pp.s.18.295.
- Yan, W., Yanhong, Y., Wenyu, Y., Taiwen, Y., Weiguo, L., Xiaochun, W. (2013). Responses of root growth and nitrogen transfer metabolism to uniconazole, a growth retardant, during the seedling stage of soybean under relay strip. *Communications in Soil Science and Plant Analysis Intercropping System*, 44(22), 3267–3280. doi: 10.1080/00103624.2013.840838.
- Yan, Y., Wan, Y., Liu, W., Yong, X. W., Yang, W., Zhao, L. (2015). Influence of Seed Treatment with Uniconazole Powder on Soybean Growth, Photosynthesis, Dry Mater Accumulation after Flowering and Yield in Relay Strip Intercropping System. *Plant production Science*. 18 (3), 295–301. DOI: 10.1626/pp.s.18.295
- Yu, S.M., Lo, S.F., Ho, T.D. (2015). Source–Sink Communication: Regulated by Hormone, Nutrient, and Stress Cross–Signaling. *Trends in plant science*, 20 (12), 844–857. doi: 10.1016/j.tplants. 2015.10.009
- Zhang, F., Pan, B., Smith, D.L., (1997). Application of gibberellic acid to the surface of soybean seed (*Glycine max* (L.) Merr.) and symbiotic nodulation, plant development, final grain and protein yield under short season conditions. *Plant and Soil*, 188, 329–335.
- Zhang, W., Xu, F., Hua, C., Cheng, S. (2013). Effect of chlorocholine chloride on chlorophyll, photosynthesis, soluble sugar and flavonoids of *Ginkgo biloba*. *Not Bot Horti Agrobo*, 41 (1), 97–103. doi: 10.15835/nbha4118294.

**Citation:** Kuryata, V.G., Golunova, L.A. (2018). Peculiarities of the formation and functioning of soybean-rhizobial complexes and the productivity of soybean culture under the influence of retardant of paclobutrazol. *Ukrainian Journal of Ecology*, 8(3), 96–102.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0. License