

2. *Воронич-Семченко Н. М.* Проблема дефіциту йоду та особливості діяльності центральної нервової системи, можливості корекції / Н. М. Воронич-Семченко // Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук. — Львів, 2009. — 42 с.

УДК 581.557:58.032.3

**АКТИВНІСТЬ ГВАЯКОЛПЕРОКСИДАЗИ У РОСЛИН СОЇ,
ІНОКУЛЬОВАНОЇ БУЛЬБОЧКОВИМИ БАКТЕРІЯМИ
ЗА РІЗНОГО ВОДОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ**

В. М. Мельник

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України
E-mail: vasyliukvm@ukr.net

Однією із найперспективніших зернобобових культур, вирощуваних в Україні, є соя, формування високих врожаїв якої неможливо досягнути без використання інтенсивних технологій і сучасних методів аграрного виробництва. Ключовим при цьому є застосування інокулянтів на основі бульбочкових бактерій, які утворюють симбіоз із рослинами. Цей процес залежить від різних чинників, у тому числі, водозабезпечення. Відомо, що на сьогодні посушливі території займають значну частину земель, придатних для ведення сільськогосподарських робіт. Тому питання щодо покращення вирощування рослин в умовах дефіциту вологи набувають великої актуальності. Оскільки водний стрес сприяє накопиченню активних форм кисню, стійкість до даного несприятливого фактора залежить від регуляції системи антиоксидантного захисту, в тому числі роботи антиоксидантних ферментів. Активність останніх у бобово-ризобіальних системах, як відомо, може бути пов'язана із симбіотичними властивостями ризобій і відіграє ключову роль в утворенні бульбочок і регулюванні механізмів азотфіксації [2, 4, 5].

Відомо, що реакція бобових культур на посуху змінюється в залежності від генотипів макро- і мікросимбіонтів. Показано,

що використання ефективних штамів бульбочкових бактерій може сприяти підвищенню біологічної фіксації азоту в умовах дії стресових чинників [4]. Одним із підходів при вивченні імунної відповіді рослин на інфікування ризобіями є дослідження антиоксидантних ферментів у симбіотичних системах різної ефективності. Тому метою роботи було дослідити активність гваяколпероксидази (ГПО) у коренях і бульбочках рослин сої, інокульованої різними за симбіотичними властивостями бульбочковими бактеріями за дії оптимального та недостатнього водозабезпечення.

Об'єктами дослідження слугували симбіотичні системи, створенні за участю сої (*Glycine max* (L.) Merr.) сорту Васильківська і бактерій *Bradyrhizobium japonicum*. Рослини вирощували у вегетаційних умовах у посудинах Вагнера на промитому річковому піску, що містив суміш Гельрігеля (0,25 норми азоту) і мікроелементи, за природного освітлення. Інокуляцію насіння проводили ризобіями з музейної колекції Інституту фізіології рослин і генетики НАН України. У роботі використовували різні за азотфіксувальною та нодуляційною активностями *B. japonicum*: штами 646 (активний, вірулентний), T21-2 (активний, вірулентний), 604к (неактивний, високовірулентний) і Tn5-мутант 113 (малоактивний, вірулентний).

Модельну посуху (30 % повної вологоємності (ПВ)) створювали, починаючи з фази 2-х справжніх листків за допомогою контрольованого поливу, який тривав 16 діб, після чого полив відновлювали на рівні оптимальної вологості субстрату (60 % ПВ). Рослини для аналізу відбирали у фазу 2-х справжніх листків (до посухи), 3-х справжніх листків, бутонізації, цвітіння (відповідно 3-я, 9–10-а і 16–17-а доби посухи). Контролем слугували рослини відповідних варіантів, вирощені за оптимального водозабезпечення. Активність ГПО визначали за збільшенням оптичної густини при 470 нм протягом 3-х хвилин у результаті окиснення гваяколу (коефіцієнт екстинції $E = 26,6 \text{ мМ}^{-1} \text{ см}^{-1}$) [4] і виражали в одиницях активності за хв на мг білка. Усі результати обраховували статистично за загальноприйнятою методикою [1] та при використанні програми Microsoft Excel.

Припускають, що пероксидаза відіграє важливу роль у

відповіді рослин на дію посухи. Збільшення активності фермента, ймовірно, пов'язано із включенням механізмів адаптації до водного стресу [4]. Нами встановлено підвищення за дії недостатнього водозабезпечення (30 % ПВ) активності ГПО у коренях сої, інокульованої досліджуваними штамми і мутантом протягом усього періоду спостереження (в 1,5–2,0, 1,2–3,9 і 1,3–1,9 рази відповідно на 3-тю, 10-ту і 16-ту доби посухи). У варіанті з інокуляцією насіння високовірулентним штамом 604к спостерігали найвищу активність ГПО у коренях як за стресових, так і за оптимальних умов вирощування.

На 10-ту добу дії недостатнього водозабезпечення показано значне зниження активності ГПО у коренях рослин, інокульованих ефективними штамми 646 і T21-2 (відповідно на 56–47 %) у порівнянні з попередньою фазою спостереження. У той же час зменшення цього показника для сої, бактеризованої малоефективними штамом 604к і Tn5-мутантом 113 не було таким суттєвим і знаходилося в межах похибки. Проте на 16-ту добу посухи активність ГПО у коренях за умови інокуляції ефективними штамми 646 і T21-2 підвищилася у порівнянні з попередньою фазою дослідження. Ці результати можуть свідчити про кращий рівень адаптації ефективних штамів до дії короткотривалого (до 10 діб) стресового впливу і потребують подальшого уточнення.

Нами встановлено що активність ГПО у бульбочках рослин, вирощених за 30 % ПВ, була вищою у порівнянні з відповідними варіантами із оптимальним водозабезпеченням (у 1,1–2,5 рази на 10-ту добу і в 1,4–2,6 рази на 16-ту добу посухи). За дії посухи відмічали зниження активності ГПО у бульбочках рослин, інокульованих високовірулентним неактивним штамом 604к у порівнянні з варіантами з обробкою насіння вірулентними активними штамми 646 і T21-2. За тих же умов на 16-ту добу ми не відмічали достовірного зменшення активності ГПО у бульбочках, сформованих вірулентним малоактивним Tn5-мутантом 113 за відношенням до активності цього ферменту у бульбочках, утворених за ефективного симбіозу. Це може свідчити про відсутність чіткої залежності між активністю ГПО у бульбочках і симбіотичними характеристиками досліджуваних

ризобій.

Отже, нами виявлено підвищення активності гваяколпероксидази у коренях і бульбочках рослин, що зазнавали негативного впливу водного стресу у порівнянні з тими, що росли за оптимальної вологості субстрату. Показано, що активність гваяколпероксидази у коренях за різного водопостачання відрізняється в залежності від нодуляційної здатності мікросимбіонта. У той же час чіткої закономірності між активністю гваяколпероксидази у бульбочках і вірулентністю ризобій ми не спостерігали. Збільшення активності гваяколпероксидази як відповідь рослин на дію недостатнього водозабезпечення свідчить про посилене утворення активних форм кисню і активацію механізмів, що захищають рослини від окиснювальних пошкоджень, викликаних стресом.

Література

1. *Доспехов Б. А.* Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов. — М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.
2. *Коць С. Я.* Биологическая фиксация азота: бобово-ризобиальный симбиоз: в 4 т. Т 1 / [С.Я. Коць, В.В. Моргун, В.Ф. Патыка та ін.] — К.: Логос, 2010. — С. 258—310.
3. *Egley G. H.* Role of peroxidase in the development of water impermeable seed coats in *Sida sprinosa* L. / G.H. Egley, R.N. Paul, R.C. Vaughn, S.O. Duke // *Planta*. — 1983. — 157, N 1. — P. 224—232.
4. *Esfahani M. N. A.* Rhizobial strain involvement in symbiosis efficiency of chickpea–rhizobia under drought stress: plant growth, nitrogen fixation and antioxidant enzyme activities / M.N. Esfahani, A. Mostajeran // *Acta Physiol. Plant*. — 2011. — 33. — P. 1075—1083.
5. *Matamoros M. A.* Biochemistry and molecular biology of antioxidants in the rhizobia-legume symbiosis / [M.A. Matamoros, D.A. Dalton, J. Ramos, та ін.] // *Plant Physiol*. — 2003. — 133, N 2. — P. 499—509.