

DOI <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-344-6-5>

**THE INFLUENCE OF *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*
ON CHLOROPHYLLS CONTENT IN LEAVES
OF SOYBEAN ISOGENIC LINES BY *E*-GENES
UNDER DIFFERENT OF PHOTOPERIOD**

**ВПЛИВ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* НА ВМІСТ
ХЛОРОФІЛІВ ЛИСТКАХ ІЗОГЕНИХ ЗА *E*-ГЕНАМИ ЛІНІЙ СОЇ
КУЛЬТУРНОЇ В УМОВАХ РІЗНОГО ФОТОПЕРІОДУ**

Hlushach D. V. Глушач Д. В.

*Postgraduate Student at the Department of
Physiology and Biochemistry of Plants and
Microorganisms
V. N. Karazin Kharkiv National University
Kharkiv, Ukraine*

*аспірант кафедри фізіології і біохімії
рослин та мікроорганізмів
Харківський національний університет
імені В. Н. Каразіна
м. Харків, Україна*

Avksentieva O. O. Авксентьєва О. О.

*Candidate of Biological Sciences,
Associate Professor at the Department of
Physiology and Biochemistry of Plants and
Microorganisms
V. N. Karazin Kharkiv National University
Kharkiv, Ukraine*

*кандидат біологічних наук,
доцент кафедри фізіології та біохімії
рослин та мікроорганізмів
Харківський національний університет
імені В. Н. Каразіна
м. Харків, Україна*

Фотосинтез – основний процес, який забезпечує асиміляційну ланку метаболізму. Таким чином, саме ним визначається накопичення біомаси та енергетичні витрати. Це складний процес, який забезпечується великою кількістю ферментів та пігментів. Структурно ці пігменти, зв'язані з білками, знаходяться світлозбиральних комплексах та в реакційних центрах фотосистем [2]. Серед усіх пігментів важливе місце займають хлорофіли. Виділяють два основних типи хлорофілів: *a* – у якості основного, який знаходиться в реакційних центрах фотосистем II та I, і допоміжний, що знаходиться у світлозбиральних комплексах – хлорофіл *b* [2]. Інтенсивність та продуктивність фотосинтезу знаходиться у залежності від багатьох факторів, особливо тих, що пов'язані зі світлом. Одним із таких факторів є фотоперіод, чутливість до якого є генетично детермінованою. Так, зміну у кількості хлорофілів в залежності від фотоперіоду спостерігали Yuanyan Xu et al. при культивуванні *in vitro* *Cunninghamia lanceolata* та Nur Agirman Kaymaz та Ahmet Kadri Cetin при культивуванні ціанобактерії *Scenedesmus acutus* [3, 5].

Також у регуляції росту та розвитку рослин вагому роль відіграють рослинно-мікробні взаємодії. Найвідомішим прикладом таких взаємодій є симбіотичні взаємодії представників пор. *Rhizobiales* із соєю культурною (*Glycine max* (L.) Merr.) Ці симбіотичні діазотрофи теж можуть впливати на вміст загального хлорофілу [1].

Таким чином, **метою роботи** було визначити вплив бактеризації симбіотичним діазотрофом *Bradyrhizobium japonicum 634b* на вміст фотосинтетичних пігментів (хлорофілу А та хлорофілу В) в листках ізогенних за генами контролю фотоперіодичної чутливості ліній сої культурної в умовах різної довжини дня.

Матеріали і методи дослідження. У роботі використовували майже ізогенні лінії (NILs) сої за генами контролю фотоперіодичної реакції: короткоденні лінії – сорт Clark та L80-5879 (генотип відповідно – *e1E2E3E4e5E7* та *E1e2e3E4e5E7*); фотоперіодично нейтральні лінії – L63-3117 та L71-920 (генотип відповідно – *e1e2E3E4e5E7* та *e1e2e3E4e5E7*).

Стерильне насіння бактеризували *Bradyrhizobium japonicum 634b* із розрахунку 300 000 клітин на одну насінину. Контролем слугувало насіння, що було оброблено стерильним розчином фізіологічного розчину. Після сходів, у фазу третього справжнього листка (V3) половину рослин піддавали впливу короткого 9-годинного фотоперіоду, а другу половину продовжували вирощувати на довгому 16-годинному фотоперіоді. Відбір проб проводили у фази розвитку V3 (до впливу) і V5 та аналізували вміст хлорофілів А і В за Ліхтенталером [4].

Для з'ясування відмінностей між отриманими даними використовували двофакторний дисперсійний аналіз з розрахунком сили впливу факторів (генотип та бактеризація) на показники (h^2).

Результати та обговорення. *Вміст хлорофілу А.* В листках короткоденної лінії L 80-5879 та сорту Clark у фазу розвитку V3 бактеризація не призводила до значної зміни вмісту хлорофілу А. Натомість у фотоперіодично нейтральних лініях бактеризація діяла різнонаправлено: у лінії, що має ген *E3* у домінантному стані відзначалось істотне збільшення хлорофілу А, у той час, як у лінії L 71-920, що має гени *e1-e3* в рецесивному стані бактеризація призводила до зменшення хлорофілу А. Розрахунок сили впливу фактору показав, що наявність бактеризації окремо не чинить істотної дії на вміст хлорофілу А, водночас генотип лінії визначає вміст пігменту на 18,5%, а взаємодія факторів генотипу та наявності бактеризації – на 41,1%. У фазу V5 ефект інокуляції штамом *Bradyrhizobium japonicum 634b* залежить від дії фотоперіоду. Так, за дії короткого дня тільки в листках сорту Clark спостерігали істотне зменшення вмісту хлорофілу А, в усіх інших лініях – бактеризація

приводила до значущого збільшення вмісту пігменту. За дії довгого дня, бактеризація не призводить до істотної зміни пігменту у сорту Clark. Натомість, у короткоденній лінії L 80-5879 попередня інокуляція істотно збільшує кількість хлорофілу А. У інших лініях, що мають фотоперіодично нейтральну реакцію відмічали істотне зменшення пігменту. Розрахунок сили дії факторів показав, що і на довгому і на короткому дні істотний вплив мають, як генотип ліній (LD: $h^2 = 27,6\%$; SD: $h^2 = 28,0\%$) та наявність бактеризації (LD: $h^2 = 10,3\%$; SD: $h^2 = 42,8\%$), так і їхня взаємодія (LD: $h^2 = 55,7\%$; SD: $h^2 = 27,7\%$).

Таблиця

Вміст хлорофілів в листках ізогенних за генами E-серії ліній сої культурної за умови попередньої бактеризації та дії різного фотоперіоду

Лінія	Хлорофіл А, мг/г сухої речовини		Хлорофіл В, мг/г сухої речовини		Співвідношення хлорофіл А/ хлорофіл В	
	Кон- троль	Іноку- ляція	Кон- троль	Іноку- ляція	Кон- троль	Іноку- ляція
<i>Стадія розвитку – V3</i>						
Clark	2,10±0,14	2,10±0,43	0,42±0,05	0,52±0,09*	4,97	4,04
L80-5879	2,65±0,65	2,19±0,24	0,43±0,11	0,65±0,06*	6,19	3,39
L63-3117	2,12±0,34	4,14±0,45*	0,96±0,35	1,60±0,09*	2,21	2,58
L71-920	3,73±0,60	2,29±0,33*	1,95±0,29	0,76±0,06*	1,91	3,02
<i>Стадія розвитку – V5 (короткий день – 9 год)</i>						
Clark	1,71±0,04	1,55±0,06*	0,55±0,02	0,58±0,02*	3,10	2,65
L80-5879	1,61±0,09	3,49±0,17*	0,67±0,03	1,06±0,03*	2,41	3,30
L63-3117	1,94±0,08	2,64±0,20*	0,79±0,05	0,80±0,05	2,46	3,31
L71-920	1,84±0,07	3,85±0,12*	0,64±0,03	1,32±0,04*	2,87	2,91
<i>Стадія розвитку – V5 (довгий день – 16 год)</i>						
Clark	2,00±0,11	1,89±0,12	0,71±0,03	0,72±0,04	2,83	2,63
L80-5879	1,85±0,05	2,37±0,09*	0,64±0,02	0,92±0,05*	2,90	2,57
L63-3117	1,99±0,05	1,40±0,06*	0,77±0,02	0,47±0,02*	2,59	3,01
L71-920	2,37±0,10	1,77±0,08*	0,86±0,03	0,58±0,02*	2,76	3,06

* – відмінності у порів'янні з контрольним варіантом істотні при $p < 0,05$

Вміст хлорофілу В. У фазу V3 тільки лінія L 71-920, що має рецесивні гени *e1-e3* за бактеризації у порівнянні з контролем показує зниження вмісту хлорофілу В. В усіх інших лініях – за бактеризації спостерігаємо істотне підвищення вмісту хлорофілу В. Розрахунок сили дії фактору свідчить про те, що на такий результат має вплив генотип ($h_2 = 48,1\%$) та його взаємодія із бактеризацією ($h_2 = 33,9\%$). Бактеризація окремо істотної дії не має. Схожу тенденцію спостерігали і з показником вмісту хлорофілу А. За дії короткого дня у фазу розвитку V5 в усіх лініях, окрім L 63-3117, за бактеризації у порівнянні з контролем відмічали істотне збільшення вмісту пігменту. За дії довгого дня спостерігали іншу тенденцію: фотоперіодично нейтральні лінії за бактеризації демонструють істотне зменшення вмісту пігменту, у той час як серед КД ліній тільки у L 80-5879 значущо підвищується вміст хлорофілу В. Розрахунок сили дії показує, що за дії короткого дня фактори мають приблизно однакові показники: генотип – 36,6%, бактеризація – 31,2%, а їхня взаємодія – 30,8%. У той час, за дії довгого дня найбільший вплив має взаємодія факторів – 72,7%, значно менше генотип лінії – 16,8% та бактеризація – 6,7%.

Очевидно, що дія коротким днем зменшує загальний потік випромінювання, тому для компенсації втрат енергії рослині потрібно адаптуватись. Одночасно рослини за бактеризації знаходяться у симбіотичних відносинах, що потребує більше енергетичних та асиміляційних витрат. Таким чином, є виправданим збільшення кількості пігментів для інтенсифікації енергетичного та асиміляційного метаболізму. Припускаємо, що саме тому за дії короткого дня у варіанті з бактеризацією спостерігали значне збільшення обох пігментів майже в усіх лініях. Аналіз співвідношення кількості хлорофілу А до кількості хлорофілу В показує, що за бактеризації рослини сорту Clark збільшують частку хлорофілу В у порівнянні з контрольним варіантом. У той час, як інші лінії – збільшують частку хлорофілу А.

Водночас, кількість пігментів залежить і від генотипу ліній. Закономірним є те, що лінія, яка має домінуючий ген *E1* за бактеризації збільшує кількість пігментів незалежно від дії фотоперіоду.

Отже, за отриманими даними бактеризація штамом *Bradyrhizobium japonicum 634b* має різноспрямований вплив на вміст фотосинтетичних пігментів, який залежить від фотоперіоду та генетичної детермінованості чутливості рослини до нього.

Література:

1. Diagne N., Ndour M., Djighaly P. et al. Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on salt stress Tolerance of *Casuarina obesa* (Miq.). *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 2020. Vol. 4.
2. Esteban R., Barrutia O., Artetxe U. et al. Internal and external factors affecting photosynthetic pigment composition in plants: a meta-analytical approach. *New Phytologist*. 2014. Vol. 206, № 1. P. 268–280.
3. Kaymaz N., Cetin A. The effect of photoperiod on growth, and protein, lipid and chlorophyll content in *Scenedesmus acutus*. *Turkish Journal of Science & Technology*. 2020. Vol. 15, № 2. P. 79–84.
4. Lichtenthaler H. K., Wellburn A. R. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*. 1983. Vol. 11, № 5. P. 591–592.
5. Xu Y., Yang M., Cheng F. et al. Effects of LED photoperiods and light qualities on in vitro growth and chlorophyll fluorescence of *Cunninghamia lanceolata*. *BMC Plant Biology*. 2020. Vol. 20, № 1. P. 269.