

УДК 581.1:581.557:579.6

ФОРМУВАННЯ СИМБІОТИЧНИХ СИСТЕМ І БІЛКОВИЙ СКЛАД КОРЕНІВ СОЇ, ІНОКУЛЬОВАНОЇ ШТАМАМИ *BRADYRHIZOBIUM* *JAPONICUM*, ЗА РІЗНОГО ВОДОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ

П.М. МАМЕНКО

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17
e-mail: p_tamenko@ukr.net*

Досліджували особливості білкових профілів коренів сої під впливом різних рівнів водозабезпечення та інокуляції насіння штамми з контрастними симбіотичними властивостями. Показано, що незалежно від активності штаму-інокулянта обробка насіння ризобіями знижувала негативний вплив дефіциту вологи на формування симбіотичних систем. Відмічено, що за умов оптимального водозабезпечення у коренях сої, інфікованої активними й неактивними ризобіями, синтезуються поліпептиди з молекулярними масами 50, 60, 90 та 140 кД, які утворюються також в неінокульованих рослинах під впливом посухи. Отримані результати підтвердили припущення про подібність реакцій рослин на дію стресу та важливість інокуляції в підвищенні стійкості бобових до несприятливих чинників довкілля.

Ключові слова: *Bradyrhizobium japonicum*, соя, білки, азотфіксувальна активність, водний стрес.

Глобальні зміни клімату, збільшення антропогенного навантаження на довкілля та інтенсивне використання хімічних засобів захисту рослин спричиняють серйозні зміни у структурі й діяльності екосистем, посилюють вплив стресових чинників на взаємодію мікроорганізмів і рослин, що призводить до порушення її ефективності і, в кінцевому підсумку, до зниження продуктивності симбіозів. У зв'язку з цим актуальними є дослідження специфічної реакції компонентів симбіотичних азотфіксувальних систем на стрес та розробка на їх основі стратегій і технологій для підвищення стійкості цих систем до несприятливих чинників.

Як відомо, фізіологічною відповіддю рослин на дію подразників є серія неспецифічних (зміна проникності мембран, активування каскаду реакцій антиоксидантної системи тощо) і специфічних реакцій [12]. Специфічні реакції полягають у порушенні енергообміну і структури мембран, підвищенні гідролітичної активності ферментів, деградації біополімерів і формування на їх основі сигнальних олігомерних молекул, які беруть участь у реакціях посттранскрипційного процесингу РНК і посттрансляційної модифікації білків. Утворені нові сполуки можуть виконувати роль вторинних посередників і активувати фосфорилування білків, задіяних у захисті рослини від дії стресового чинника.

Разом із тим аналогічно патогенезу інвазії ризобій у клітини кореневих волосків бобових інтенсифікує окиснювальні процеси в рослинних клітинах, що супроводжується підвищенням вмісту активних форм

кисню [13], які, у свою чергу, істотно впливають на проникнення бактерій в рослинні тканини. На думку багатьох авторів [10, 12], окиснювальний «вибух» на початкових стадіях формування бобово-ризобіального симбіозу може виконувати подвійну роль: гальмувати захисні реакції організму при проникненні ризобій та активувати механізм захисту за несприятливих умов для симбіозу.

Відомо [17, 20], що Nod-фактори стимулюють окиснювальний вибух, щоб блокувати індукцію генів нодуляції у рослин за несумісної взаємодії. Протеомний аналіз корневих волосків сої, інокульованих *V. jarrowii*, також показав, що у відповідь на інфікування ризобіями рослина реагує збільшеним синтезом окисно-відновних ферментів — пероксидаз та фенілаланінаміакліази [22]. Варто зазначити, що на пізніших стадіях формування симбіотичних систем бобових, коли кількість ризобій у коренях досягає певного рівня, рослина-хазяїн може вмикати механізм генерування активних форм кисню й активувати антиоксидантну систему з метою регуляції процесу бульбочкоутворення [12].

Проаналізувавши зміни складу протеїнів, ізолюваних з інфікованих корневих волосків сої, Вон та співавт. [22] показали диференціальну експресію 133 рослинних білків на початковій стадії розвитку бульбочок, пов'язаних із такими важливими процесами, як реорганізація цитоскелета, ліпідний сигналінг, регулювання цукрозв'язувальної активності. Секвенуванням ідентифіковано білки, що беруть участь у реорганізації цитоскелета, розпізнаванні цукрів і з'єднанні білків [14, 21].

Отже, фізіологічна взаємодія партнерів симбіозу активує каскад біохімічних реакцій, спрямованих на подолання захисних реакцій рослинного організму на інвазію бактерій та формування ефективних механізмів обміну метаболітами між макро- і мікросимбіонтами, а також активування захисних механізмів симбіотичних систем до несприятливих умов.

Разом із тим питання впливу ризобій із контрастними симбіотичними властивостями на характер фізіологічної відповіді рослини-хазяїна на інокуляцію в умовах дії додаткових стресових чинників та особливості функціонування таких симбіотичних систем залишається маловивченим.

Тому метою цієї роботи було вивчення змін білкового складу коренів сої, які в період активної фіксації азоту зазнали впливу водного дефіциту.

Методика

У роботі використано активний (646) та неактивний (604к) штами *V. jarrowii* із музейної колекції азотфіксувальних мікроорганізмів Інституту фізіології рослин і генетики НАН України. Культуру повільнорослих бульбочкових бактерій вирощували на манітно-дріжджовому середовищі протягом 9 діб за 26–28 °С [2]. Культуру змивали фізіологічним розчином (0,9 %-й NaCl). Кінцева концентрація бактерій становила 10^7 клітин у 1 мл суспензії.

Вегетаційні дослідження проводили на спеціально обладнаному майданчику. Сою (*Glycine max* (L.) Merr.) сорту Васильківська вирощували по 6–8 рослин на промитому річковому піску за 60 і 30 % повної вологості (ПВ) за умов природного освітлення у 7-кілограмових посудинах, які попередньо стерилізували 20 %-м розчином H_2O_2 . Джерелом мінерального живлення була суміш Гельригеля [1], збіднена на азот —

0,2 норми. Перед посівом простерилізоване 70 %-м етанолом і промите під проточною водою протягом 1 год насіння інокулювали суспензіями бульбочкових бактерій різної ефективності. Час інкубації насіння з бактеріями перед висівом становив 1 год. Повторність досліду семиразова.

Посуху моделювали у фазу початку бутонізації (I відбір) зниженням об'єму води для поливу до рівня 30 % ПВ протягом 7 діб (II відбір) із відновленням поливу у фазу цвітіння (III відбір).

Азотфіксувальну активність (АФА) визначали ацетиленовим методом [9] на газовому хроматографі «Agilent GC system 6850» (США) з полуменево-іонізаційним детектором. Гази розділяли на колонці (Supelco Porapak N) за температури термостата 55 °С і детектора — 150 °С. Газом-носієм слугував гелій (20 мл/хв). Об'єм аналізованої проби газової суміші становив 1 см³. Як стандарт використовували чистий етилен («Sigma-Aldrich», США). Повторність визначень п'ятиразова.

Білкові екстракти отримували за методом [18]. Із цією метою корені заморожували в рідкому азоті, розтирали у фарфоровій ступці й екстрагували білки протягом 10 хв за кімнатної температури буферним розчином такого складу: 75 мМ *трис*-HCl (рН 8,0), 10 мМ EDTA, 1 мМ PMSF, 10 % SDS та 0,3 % β-меркаптоетанолу. Отриманий білковий екстракт осаджували ацетоном з додаванням 10 % трихлороцтової кислоти за -18 °С протягом 2 год. Після цього суміш центрифугували, надосадову рідину відкидали, а осад двічі промивали ацетоном. Потім осад висушували від решток ацетону під вакуумом і добавляли буфер для зразків такого складу: 0,5 М *трис*-HCl (рН 6,8), 10 % SDS, 0,2 % гліцерину, 0,04 % β-меркаптоетанолу, 0,01 % бромфенолового синього.

Вміст сумарного розчинного білка в екстрактах визначали за Бредфордом [4] на спектрофотометрі SmartSpec Plus («BIORAD», США). Повторність визначень п'ятиразова.

Якісний склад протеїнів досліджували методом градієнтного електрофорезу в 12—20 %-му поліакриламідному гелі з SDS за методикою Леммлі [11]. У кожну ямку вносили 50 мкл зразка, а також маркер молекулярних мас («Fermentas», Литва). Використовували пластинки розміром 200 × 200 × 2 мм для вертикального електрофорезу («Cleaver Scientific», Нідерланди). Сила струму в концентрувальному гелі становила 25 мА, у розділювальному — 80 мА. Гелі фіксували в суміші етанол : оцтова кислота : дистильована вода (5 : 4 : 1 за об'ємом). Цю суміш використовували як розчин для відмивання гелю після фарбування. Гелі аналізували за допомогою програми Total Lab версії 2.1. Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали методом дисперсійного аналізу з використанням ПЕОМ і залученням пакетів спеціальних програм Microsoft Excel'10 та Statgraphics Plus 3.0. На графіках представлено середні значення отриманих результатів та середньоквадратичне відхилення.

Результати та обговорення

Дослідження динаміки наростання вегетативної маси (табл. 1) показало, що до початку водного стресу у фазу початку бутонізації (I відбір) будь-який з інокульованих варіантів мав вірогідно вищу суху надземну масу порівняно з контрольним (неінокульованим) варіантом. Проте, якщо інокуляція неактивним штамом 604к приводила до збільшення надземної маси на 24 %, то інокуляція активним штамом 646 — на 45 %.

ТАБЛИЦЯ 1. Динаміка наростання маси сухої речовини надземної частини сої (г/рослину), інокульованої штамами *V. jarrowii* різної ефективності, за різних рівнів водозабезпечення

Варіант	Рівень водозабезпечення, % ПВ	I відбір	II відбір	III відбір
Контроль	60	2,12±0,15	2,53±0,17	3,09±0,14
	30	—	2,38±0,12	2,27±0,27
Штам 646	60	3,08±0,29	4,90±0,04	5,46±0,33
	30	—	4,67±0,19	4,16±0,31
Штам 604к	60	2,63±0,21	2,84±0,26	2,93±0,13
	30	—	2,62±0,20	2,34±0,14

Примітка. Тут і в табл. 2—4: «—» показник не визначали.

Аналіз динаміки наростання маси рослин під час посухи (II відбір) показав, що за оптимального водозабезпечення (60 % ПВ) та за умов посухи (30 % ПВ) ефективність інокуляції вихідним штамом 646 була значно вищою порівняно з обробкою неактивним штамом 604к. Вегетативна маса рослин у варіантах з активним штамом 646 перевищувала рівень відповідного контролю на 94 % за умов оптимального і на 96 % — за недостатнього водозабезпечення. Ефективність цього штаму порівняно з неактивним 604к становила 73 і 78 % відповідно за 60 і 30 % ПВ.

Надземна маса рослин, оброблених ризобіями з низькою азотфіксувальною активністю, залишалася вищою порівняно з контрольним варіантом. Проте різниця була значно меншою, ніж у фазу бутонізації, і становила 12 % за оптимального водозабезпечення і 10 % — за умов посухи.

Після поновлення поливу у фазу цвітіння (III відбір) для активного штаму тенденція збереглась. У варіанті з обробкою штамом 604к надземна маса рослин виявилась дещо меншою порівняно з контрольним варіантом як за оптимального, так і недостатнього водозабезпечення, проте різниця не була статистично вірогідною.

На нашу думку, значні відмінності у наростанні вегетативної маси між варіантами з інокуляцією і контрольним є наслідком швидкого вичерпання запасу мінерального азоту, внесеного в субстрат у контрольному варіанті. За наявності сполук азоту інокуляція рослин малоактивним штамом 604к позитивно впливала на їх ріст.

Динаміка формування симбіотичного апарату (табл. 2, 3) показала, що до початку посухи (I відбір) штами 646 і 604к сформували на коренях рослин у середньому по 28 бульбочок. Проте маса сформованих активним штамом бульбочок була майже вдвічі більшою. Починаючи з II відбору, ми спостерігали значне збільшення кількості бульбочок у варіанті з інокуляцією малоактивним штамом 604к за обох рівнів водозабезпечення. Разом із тим маса бульбочок у цьому варіанті значною мірою залежала від умов забезпечення вологою. Ми визначили, що в період поновлення поливу маса бульбочок сої, що зазнала водного стресу, була майже на 16 % меншою, ніж за оптимальної вологості субстрату (див. табл. 3).

Дослідження азотфіксувальної активності симбіотичних систем за оптимального й недостатнього водозабезпечення показало (табл. 4), що за умов 60 % ПВ динаміка фіксації азоту бульбочками, утвореними штамом

ТАБЛИЦЯ 2. Кількість бульбочок (шт/рослину) на коренях сої, інокульованої штамами *V. jarrowii* різної ефективності, за різних рівнів водозабезпечення

Варіант	Рівень водозабезпечення, % ПВ	Кількість бульбочок		
		I відбір	II відбір	III відбір
Контроль	60	—	—	—
	30	—	—	—
Штам 646	60	27,57±0,87	23,57±4,08	24,57±2,71
	30	—	22,85±0,59	24,28±1,31
Штам 604к	60	28,14±2,79	56,71±2,38	76,42±9,52
	30	—	53,71±3,01	69,57±1,04

ТАБЛИЦЯ 3. Маса бульбочок сої (мг/рослину), інокульованої штамами *V. jarrowii* різної ефективності, за різних рівнів водозабезпечення

Варіант	Рівень водозабезпечення, % ПВ	Маса бульбочок		
		I відбір	II відбір	III відбір
Контроль	60	—	—	—
	30	—	—	—
Штам 646	60	0,11±0,001	0,26±0,02	0,43±0,01
	30	—	0,24±0,003	0,37±0,007
Штам 604к	60	0,06±0,003	0,19±0,004	0,31±0,02
	30	—	0,12±0,01	0,26±0,004

646, мала активний позитивний приріст. Зниження рівня поливу до 30 % ПВ значною мірою гальмувало процес азотфіксації. Активність нітрогенази бульбочок знижувалась на 40 % порівняно з варіантом з оптимальним зволоженням. Після поновлення поливу ефективність азотфіксувального апарату дещо зростала, проте була нижчою на 56 % порівняно з варіантом з оптимальним водозабезпеченням. Незначна азотфіксувальна активність симбіотичних систем сої, утворених неактивним штамом, виявлена лише за оптимального водозабезпечення у фази бутонізації та цвітіння.

ТАБЛИЦЯ 4. Динаміка азотфіксувальної активності симбіотичних систем сої (мкмоль C_2H_4 /(рослину · год)), утворених за участю штамів *V. jarrowii* різної ефективності, за різних рівнів водозабезпечення

Варіант	Рівень водозабезпечення, % ПВ	Азотфіксувальна активність		
		I відбір	II відбір	III відбір
Контроль	60	—	—	—
	30	—	—	—
Штам 646	60	0,34±0,01	0,92±0,13	1,49±0,21
	30	—	0,55±0,08	0,66±0,03
Штам 604к	60	0	0,01±0,00	0,01±0,00
	30	—	0	0

Отримані результати підтвердили очевидний вплив недостатнього водозабезпечення на фізіологічний стан рослин. Ми припустили, що ефект дефіциту вологи має також позначитись і на білковому складі коренів сої.

Електрофоретичне розділення загального білкового пулу коренів сої у фазу початку бутонізації показало (рис. 1), що загальний вміст протеїнів у коренях контрольних рослин був значно нижчим, ніж за інокуляції рослин ризобіями. Крім того, корені контрольних рослин мали відмінний білковий профіль порівняно зі складом протеїнів інфікованих рослин. За умов оптимального водозабезпечення білковий екстракт коренів рослин дослідних варіантів містив поліпептиди з молекулярними масами 50, 60, 90 та 140 кД, які відсутні у коренях контрольних рослин.

Цілком очевидно, що формування бобово-ризобіального симбіозу супроводжувалось трансформацією партнерами симбіозу власних фізіолого-біохімічних процесів, насамперед складу протеїнів відповідно до потреб взаємовигідного співіснування.

У фазу бутонізації за умов недостатнього водозабезпечення у коренях інфікованих рослин загальний вміст білка зменшувався. При цьому білкові профілі коренів інокульованих варіантів мали спільні ознаки. В коренях рослин, інфікованих активним штамом, не виявлено поліпептиду з молекулярною масою 130 кД (рис. 2). Білкові екстракти коренів,

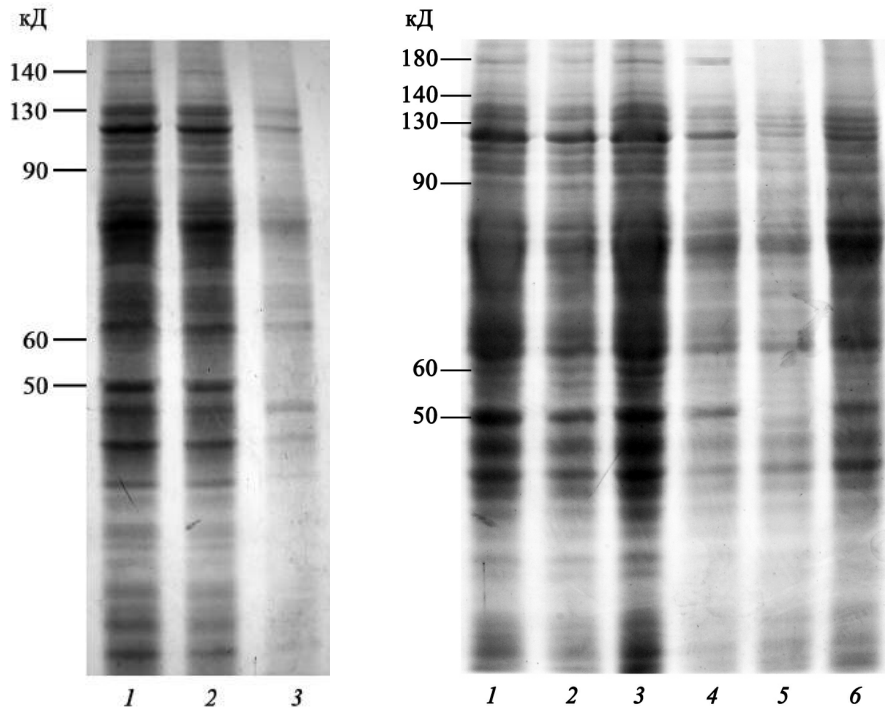


Рис. 1. Білковий склад коренів сої, інокульованої штамми *B. japonicum* із контрастними симбіотичними характеристиками (I відбір):

1 – штам 646 (60 % ПВ); 2 – штам 604к (60 % ПВ); 3 – контроль (без інокуляції) (60 % ПВ)

Рис. 2. Білковий склад коренів сої, інокульованої штамми *B. japonicum* із контрастними симбіотичними характеристиками, за різних рівнів водозабезпечення (II відбір):

1 – штам 646 (60 % ПВ); 2 – штам 646 (30 % ПВ); 3 – штам 604к (60 % ПВ); 4 – штам 604к (30 % ПВ); 5 – контроль (без інокуляції) (60 % ПВ); 6 – контроль (без інокуляції) (30 % ПВ)

інокульованих неактивним штамом, містили цей протеїн у слідових кількостях. Крім того, додатково на електрофоретичних смугах виявлено поліпептид масою 180 кД.

Попередні наші дослідження динаміки білкового складу бульбочок сої залежно від їх азотфіксувальної активності показали [3], що загальний вміст білка знижувався від фази бутонізації до фази цвітіння, що пов'язано із витратами енергетичних ресурсів рослини на підтримання процесу фіксації азоту. У цьому разі зниження загального вмісту протеїнів у коренях інокульованих рослин за дії посухи, на нашу думку, також було пов'язано з раціональним використанням енергетичних запасів рослиною за умов дії стресу.

Водночас у коренях контрольних рослин за дії стресу загальний вміст протеїну, навпаки, збільшувався. За дефіциту вологи серед білків коренів цього варіанта також виявлено протеїни з молекулярними масами 50, 60, 140 та 180 кД, які характерні для білкових профілів коренів інокульованих рослин. Ми припустили, що подібність якісного складу протеїнів коренів контрольних рослин, що зазнали стресу, й інокульованих варіантів є наслідком синтезу в контрольних рослинах стресових білків, які утворюються і в коренях інокульованих рослин під впливом інфікування ризобіями.

У низці літературних джерел показано підвищення у бульбочках рівня сполук, характерних для осмотичного стресу — маніту, сорбіту, амінокислоти проліну, поліамінів порівняно з іншими органами *Lotus japonicus* [5, 6]. Одним із пояснень цього явища може бути гіпоксія, яку викликає осмотичний стрес у клітинах рослин [16]. Це припущення підтверджено транскриптомними і протеомними дослідженнями бульбочок. Ген, що кодує транспортний білок для маніту, належить до тих, які експресуються в процесі розвитку бульбочок [5, 8, 15]. Крім того, протеомними дослідженнями симбіосомної мембрани *L. japonicus* [23] виявлено маніттранспортувальний білок, що вказує на можливість перенесення багатоатомних спиртів між рослиною і бактеріодом.

За допомогою методів протеоміки показано, що в бактеріодах синтезуються тіамін, вітамін В₆, а також необхідні біосинтетичні ферменти. Наявність стресових шаперонів і білків теплового шоку, а також стресових регуляторних протеїнів дає підставу припустити, що в разі інокуляції рослинам доводиться стикатися з кількома видами стресу [7], це, в свою чергу, підтвердив аналіз експресії генів [5]. У результаті досліджень взаємодії рослин сої і ризобій [19] в бактеріодах *B. japonicum* були виявлені й ідентифіковані кілька протеїнів, що беруть участь у захисті клітин від токсикантів, а також стресові та сигнальні пептиди.

Отже, за результатами електрофоретичного розділення білків коренів сої контрольного й інокульованих варіантів ми встановили, що обробка ризобіями рослин приводить до синтезу білків, характерних для рослин, які зазнали впливу стресу, і не залежить від ефективності штаму. Якісний білковий склад симбіотичних систем доволі стабільний і практично не залежить від забезпечення рослин вологою. Отримані результати підтвердили припущення про те, що специфіка відповіді на дію стресу для багатьох рослин є подібною, й отже, інокуляція бобових — важливий засіб підвищення стійкості рослин до несприятливих чинників довкілля. Дослідження особливостей складу біополімерів та інших метаболітів дасть змогу виявити їх роль та тонкі механізми регуляції стійкості рослин до дії стресових чинників.

1. Гродзинский А.М., Гродзинский Д.М. Краткий справочник по физиологии растений. — Киев: Наук. думка, 1964. — 388 с.
2. Коць С.Я., Моргун В.В., Патыка В.Ф. и др. Биологическая фиксация азота. Бобово-ризиобийный симбиоз. — Киев: Логос, 2011. — Т. 2. — 523 с.
3. Маменко П.М., Коць С.Я., Дрозденко Г.М. та ін. Білковий склад бульбочок сої, інокульованої штамами та Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* різної ефективності // Физиология и биохимия культ. растений. — 2008. — **40**, № 6. — С. 525—531.
4. Bradford M.M. A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. — 1976. — **72**. — P. 248—254.
5. Colebatch G., Desbrosses G., Ott T. et al. Global changes in transcription orchestrate metabolic differentiation during symbiotic nitrogen fixation in *Lotus japonicus* // Plant J. — 2004. — **39**. — P. 487—512.
6. Desbrosses G.G., Kopka J., Udvardi M.K. *Lotus japonicus* metabolic profiling: Development of gas chromatography-mass spectrometry resources for the study of plant-microbe interactions // Plant Physiol. — 2005. — **137**, N 6. — P. 1302—1318.
7. Djordjevic M.A. *Sinorhizobium meliloti* metabolism in the root nodule: A proteomic perspective // Proteomics. — 2004. — **4**. — P. 1859—1872.
8. Fedorova M., van de Mortel J., Matsumoto P.A. et al. Genome-wide identification of nodule-specific transcripts in the model legume *Medicago truncatula* // Plant Physiol. — 2002. — **130**, N 3. — P. 519—537.
9. Hardy R.W.F., Holsten R.D., Jackson E.K., Burns R.C. The acetylene-ethylene assay for N₂ fixation: laboratory and field evaluation // Ibid. — 1968. — **43**, N 8. — P. 1185—1207.
10. Herouart D., Baudouin E., Frendo P. Reactive oxygen species, nitric oxide and glutathione: a key role in the establishment of the legume-*Rhizobium* symbiosis? // Plant Physiol. Biochem. — 2002. — **40**. — P. 619—624.
11. Laemmly U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. — 1970. — **227**. — P. 680—685.
12. Matamoros M., Dalton D., Ramos J. et al. Biochemistry and molecular biology of antioxidants in the rhizobia-legume symbiosis // Plant Physiol. — 2003. — **133**, N 4. — P. 499—509.
13. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // Trends Plant Sci. — 2002. — **7**. — P. 405—410.
14. Morris A.C., Djordjevic M.A. Proteome analysis of cultivar specific interactions between *Rhizobium leguminosarum biovar trifolii* and subterranean clover cultivar Woogenellup // Electrophoresis. — 2001. — **22**. — P. 586—598.
15. Noiraud N., Maurousset L., Lemoine R. Identification of a mannitol transporter, AgMaT1, in celery phloem // Plant Cell. — 2001. — **13**. — P. 695—705.
16. Nuccio M.L., Thomas T.L. ATS1 and ATS3: Two novel embryo-specific genes in *Arabidopsis thaliana* // Plant Mol. Biol. — 1999. — **39**. — P. 1153—1163.
17. Ramu S.K., Peng H.M., Cook D.R. Nod factor induction of reactive oxygen species is correlated with expression of the early nodulin gene *rip1* in *Medicago truncatula* // Mol. Plant-Microbe Interact. — 2002. — **15**. — P. 522—528.
18. Saravanan R.S., Rose J.K. A critical evaluation of sample extraction techniques for enhanced proteomic analysis of recalcitrant plant tissues // Proteomics. — 2004. — **4**. — P. 2522—2532.
19. Sarma A.D., Emerich D.W. A comparative proteomic evaluation of culture grown vs nodule isolated *Bradyrhizobium japonicum* // Ibid. — 2006. — **6**. — P. 3008—3028.
20. Shaw S.L., Long S.R. Nod factor inhibition of reactive oxygen efflux in a host legume // Plant Physiol. — 2003. — **132**, N 12. — P. 2196—2204.
21. Streeter J.G. Recent developments in carbon transport and metabolism in symbiotic systems // Symbiosis. — 1995. — **19**. — P. 175—196.
22. Wan J., Torres M., Ganapathy A. et al. Proteomic analysis of soybean root hairs after infection by *Bradyrhizobium japonicum* // Mol. Plant-Microbe Interact. — 2005. — **18**. — P. 458—467.
23. Wienkoop S., Saalbach G. Proteome analysis. Novel proteins identified at the peribacteroid membrane from *Lotus japonicus* root nodules // Plant Physiol. — 2003. — **131**, N 5. — P. 1080—1090.

Отримано 05.03.2014

ФОРМИРОВАНИЕ СИМБИОТИЧЕСКИХ СИСТЕМ И БЕЛКОВЫЙ СОСТАВ
КОРНЕЙ СОИ, ИНОКУЛИРОВАННОЙ ШТАММАМИ *BRADYRHIZOBIUM*
JAPONICUM, ПРИ РАЗЛИЧНОМ ВОДОБЕСПЕЧЕНИИ

П.Н. Маменко

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

Исследовали особенности белковых профилей корней сои под влиянием различных уровней водообеспечения и инокуляции семян штаммами с контрастными симбиотическими свойствами. Показано, что независимо от активности штамма-инокулянта обработка семян ризобиями снижала отрицательное влияние дефицита влаги на формирование симбиотических систем. Отмечено, что в условиях оптимального водообеспечения в корнях сои, инфицированной активными и неактивными ризобиями, синтезируются полипептиды с молекулярными массами 50, 60, 90 и 140 кД, которые образуются также в неинокулированных растениях под влиянием засухи. Полученные результаты подтвердили предположение о сходстве реакций растений на воздействие стресса и важность инокуляции в повышении устойчивости бобовых к неблагоприятным факторам окружающей среды.

SYMBIOTIC SYSTEM FORMATION AND PROTEIN COMPOSITION OF SOYBEAN
ROOTS INOCULATED WITH *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* STRAINS UNDER
DIFFERENT WATER SUPPLY

P.M. Mamenko

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylykivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

The peculiarities of the soybean root protein profiles under the influence of different levels of water supply and seed inoculation by strains with different symbiotic properties have been studied. It was shown that the treatment of seeds by rhizobia reduced negative effect of water deficit on symbiotic system formation regardless of strain-inoculant activity. It was established that under optimal water supply in the root of soybean plants infected with both active and inactive rhizobia, the peptides with molecular weights 50, 60, 90 and 140 kD, which are typical for non-inoculated plants affected by drought, are produced. These results confirm the assumption that plant response to stresses is similar and show the importance of inoculation of legumes in increasing resistance to unfavorable environmental factors.

Key words: *Bradyrhizobium japonicum*, soybean, proteins, nitrogen fixation activity, water stress.