

MODIFIED CULTURE CONDITIONS AS AN INFLUENCE ON MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF HUMAN UMBILICAL CORD MESENCHYMAL CELLS

Research is devoted to standardization of procedure of culturing mesenchymal cells from human umbilical cords. The effects of platelet-rich plasma and synthetic protein kinase inhibitors on the culture of mesenchymal cells are described. It is shown that platelet-rich plasma may be a substitute for fetal calf serum and that effects of synthetic protein kinase inhibitors on cell culture depend on their chemical structure and concentration and on the period of culture growth.

Key words: umbilical cord, cell culture, mesenchymal cells, platelet rich plasma, protein kinase inhibitors.

УДК 581.557:579.22

Ю. Кондратюк, канд. біол. наук, П. Маменко, канд. біол. наук, С. Коць, д-р біол. наук
Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, Київ

ВПЛИВ РІЗНИХ ДОЗ МІНЕРАЛЬНОГО АЗОТУ НА ЗАГАЛЬНИЙ ВМІСТ БІЛКА КОРЕНІВ ТА БУЛЬБОЧОК СОЇ, ІНОКУЛЬОВАНОЇ ШТАМАМИ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* ІЗ КОНТРАСНИМИ СИМБІОТИЧНИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ

Дослідити динаміку змін загального вмісту білка коренів та бульбочок сої за інокуляції контрастними за симбіотичними характеристиками штамми *Bradyrhizobium japonicum* в умовах різного забезпечення мінеральним азотом. Насіння сої інокулювали активним та неактивним штамми ризобій. Рослини вирощували в умовах вегетаційного досліду. Для одержання білкових екстрактів корені та бульбочки відбирали у фази бутонізації, початку цвітіння та масового цвітіння рослин. Кількісний вміст сумарного білка в зразках визначали за методом Бредфорда. Показано відмінності у кількісному вмісті загального білка в коренях і бульбочках сої, інокульованої активним і неактивним штамми *B. japonicum*, залежно від фази росту рослин та дози внесення мінерального азоту. Висунуто припущення, що виявлені зміни вмісту білка пов'язані із процесами формування та функціонування бобово-ризобіального симбіозу.

Ключові слова: азотфіксація, ризобії, соя, симбіотичні системи, білки.

Вступ. Азот є одним із самих важливих органогенних елементів, якого потребують усі живі істоти для забезпечення своєї життєдіяльності [1, 2]. Проте багато різних процесів призводять до зменшення біологічної доступності азоту. Мобільність нітрогену спричиняє його вилучення з екосистем гідрологічними або атмосферними шляхами (вилузування, денітрифікація, ін.) [3]. Відносний дефіцит зв'язаного азоту на поверхні Землі при практично невичерпному його запасі в атмосфері передбачає наявність певного етапу, що лімітує швидкість кругообігу даного елемента. Промисловий синтез аміаку з азоту і водню становить не більше 5 % фіксованого азоту нашої планети [4, 5, 6].

Альтернативним джерелом зв'язаного азоту є мінеральні добрива. Проте високі ціни на енергоносії для виробництва мінеральних азотних добрив перешкоджають їх широкому застосуванню у рослинництві. А у зв'язку із нинішньої глобальної фінансовою кризою це є мотивацією до пошуку інших способів забезпечення важливих сільськогосподарських культур необхідними кількостями цього елемента.

З іншого боку відомо, що нітрати можуть накопичуватися в ґрунті і забруднювати навколишнє середовище. Крім цього збільшення концентрації нітратів у продуктивних частинах рослин має токсичний вплив на людей і тварин: у живих організмах вони перетворюються в нітрити, спричиняючи отруєння, розвиток раку та інших захворювань [7].

Одним із можливих шляхів одержання азоту є його біологічна фіксація з повітря мікроорганізмами, що здатні зв'язувати молекулярний азот атмосфери і перетворювати його в сполуки, доступні рослинам [8].

Соя є одним з основних джерел жирних кислот і білків для харчування людини і тварин. Вона також широко використовується у непродовольчих цілях, наприклад, у виробництві промислової сировини, палива, ін. [9, 10]. Після кукурудзи, пшениці та рису соя займає четверте місце в світі за обсягами виробництва зерна і одне з перших за точки зору біологічної фіксації азоту [11]. Вона здатна фіксувати 155–198 кг/га азоту в рік, забезпечувати свої потреби в азоті на 65–80 %, а значну частину своїх резервів залишати у ґрунті. Тобто кращих культур для сівозміни [12, 13].

може бути джерелом екологічно чистої продукції: біологічна особливість фіксувати значні кількості атмосферного азоту у симбіозі з бульбочковими бактеріями дозволяє вирощувати її без застосування мінеральних добрив або при їх дуже мінімальних кількостях [14].

Проте між кількістю наявного в ґрунті біологічно доступного нітрогену та інтенсивністю процесу симбіотичної азотфіксації є пряма залежність [15, 16]. Відомо, що азотні сполуки впливають на бобово-ризобіальні комплекси на всіх етапах формування і функціонування симбіозу, починаючи з утворення ризосфери і бульбочок та закінчуючи процесом активної азотфіксації [9]. У той же час встановлено, що високі дози азоту можуть пригнічувати азотфіксацію [17, 18]. Однак на фоні оптимальних доз азотних добрив для деяких культур азотфіксація на 30–45 % була вищою, ніж без них. Відповідно при раціональному поєднанні застосування мінерального та симбіотрофного азоту зростає і загальний вміст білка в надземній біомасі та насінні [19]. Саме тому в даний час велика увага приділяється питанню оптимізації співвідношення мінерального і біологічного азоту для створення ефективного бобово-ризобіального симбіозу, для чого у першу чергу потрібно мати глибокі знання про перебіг біосинтетичних процесів у симбіотичних системах.

Незважаючи на значні досягнення у вивченні проблеми симбіотичної азотфіксації, питання про механізми її регуляції при застосуванні різних доз мінеральних азотних добрив, що вносяться у ґрунт, залишається відкритим. Тому результати досліджень контрастних модельних систем на основі рослин сої та штамів *Bradyrhizobium japonicum* різної ефективності можуть наблизити нас до розуміння фізіологічних, біохімічних та молекулярних аспектів функціонування бобово-ризобіального симбіозу, а також можуть стати потенційним підґрунтям для корекції існуючих чи створення нових біотехнологічних прийомів підвищення врожайності важливих сільськогосподарських культур взагалі і сої зокрема.

Існує велика кількість даних про зміни вмісту білка у тих частинах рослин сої, які використовуються у сільсь-

© Кондратюк Ю., Маменко П., Коць С., 2014

різноманітних стресових чинників (посуха, засолення, забруднення важкими металами, ін.) [20], проте дослідження цього показника в органах, що безпосередньо залучаються до процесу фіксації молекулярного азоту (корені та бульбочки) і, тим самим, впливають на загальні біосинтетичні процеси, не є численними.

Тому метою нашої роботи було вивчення змін загального вмісту білка коренів і бульбочок сої сорту Васильківська, інокульованої контрастними за симбіотичними властивостями штамми *Bradyrhizobium ja-ponicum*, на різних фонах азотного живлення.

Матеріали і методи.

Вегетаційний досвід

Експерименти проводилися за природного освітлення та температури. Рослини сої (*Glycine max* (L.) Merr.) сорту Васильківська вирощували в пластикових посудинах, що містили 13,5 кг промитого річкового піску. Для виявлення впливу симбіотичних властивостей мікроорганізмів на загальний вміст білка коренів та бульбочок сої, що вирощувалась за різного забезпечення мінеральним азотом, нами було використано модельні системи, створені за інокуляції рослин ризобіями з контрастними властивостями: штам *Bradyrhizobium japonicum* 646 – вірулентний високоактивний та штам 604к – високовірулентний неактивний. Перед посівом насіння стерилізували 70 %-им етанолом, промивали під проточною водою та протягом 1 год. інокулювали штамми бактерій із музейної колекції азотфіксуючих мікроорганізмів Інституту фізіології рослин і генетики НАН України. Кількість бактерій становила 10^7 клітин у 1 мл. Контролем слугували рослини без інокуляції. Джерелом мінерального живлення була суміш Гельрігеля [21], збагачена мікроелементами (молібден, бор, марганець, мідь). Кількість азоту, внесена в субстрат, складала 1 і 0,25 норми (1 норма азоту становить $708 \text{ мг Ca(NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ на 1 кг піску). Зразки рослин відбирали у фазах бутонізації, початку цвітіння та повного цвітіння рослин. Відібрані зразки коренів та бульбочок заморожували в рідкому азоті, розтирали до порошкоподібного стану і зберігали до використання.

Одержання білкових екстрактів

Зразки коренів та бульбочок (наважки по 100 мг) ресуспендували у буфері, що містив 0,175 M Тріс-НCl, 5 % SDS, 15 % гліцерину, 0,3 M DTT [22]. Білки екстрагували протягом 1 год за 4 °C та осаджували протягом 1 год за – 20 °C з чотирма об'ємами попередньо охолодженого ацетону. Осад двічі промивали попередньо охолодженим 80 %-им ацетоном. Одержані білкові осадки підсушували і розчиняли в 30 mM Тріс-НCl (pH 8,5).

Визначення кількості сумарного білка

Кількість сумарного білка в одержаних екстрактах визначали за методом Бредфорда [23], використовуючи бичачий сироватковий альбумін для побудови стандартної калібрувальної кривої.

Статистична обробка одержаних результатів

Усі дослідження було проведено у трьох повторностях. Статистичний аналіз даних проводився за допомогою пакету STATISTICA 7.0. Вірогідність різниці між контрольними та дослідними варіантами оцінювали за t-критерієм Ст'юдента ($P \leq 0,05$). На рисунках представлені усереднені значення зі стандартним відхиленням.

Результати та обговорення.

Відсутність у ґрунті доступних форм азоту на ранніх етапах розвитку бобових рослин може призводити до зниження нодуляційної та азотфіксувальної активності їх симбіотичних систем і, як наслідок, – зменшення врожайності. У цей момент коренева система рослин

розвинена ще не достатньо для активного розвитку процесів бульбочкоутворення та фіксації молекулярного азоту з метою власного забезпечення цим елементом. У більшості ґрунтів кількості доступного азоту є достатніми для первинного задоволення рослинних потреб, проте кількість необхідної стартової дози мінерального азоту великою мірою визначається симбіотичними особливостями ризобій (вірулентність, нодуляційна активність) наявних у ґрунті або тих, яким інокулюється насіння [24]. Тому застосування модельних азотфіксуючих систем на основі штамів ризобій з контрастними симбіотичними характеристиками є необхідним інструментом для вивчення різних етапів формування та функціонування рослинно-мікробного симбіозу в умовах різного азотного забезпечення, зокрема, для вивчення білків, що беруть участь у цих процесах. Попередніми дослідженнями було показано відмінності симбіотичних характеристик штамів, що використовуються у даній роботі, та їх різний вплив на ріст і розвиток рослин сої [25].

У нашому дослідженні було проведено аналіз кількісного вмісту білків у коренях і бульбочках сої та виявлено його зміни залежно від симбіотичної ефективності ризобій та кількості внесеного в субстрат мінерального азоту.

Так, нами було показано відмінності кількісного вмісту загального білка в екстрактах як коренів (Рис. 1), так і бульбочок (Рис. 2). При чому слід зазначити, що між кореневими та бульбочковими зразками була виявлена суттєва різниця у кількісному розподілі сумарного білка протягом досліджуваного періоду вегетації рослин. При порівнянні білкових препаратів коренів та бульбочок між собою слід відмітити, що в екстрактах коренів, одержаних із рослин, що вирощувались на 0,25 норми азоту за інокуляції штамми 646 та 604к, у фазу бутонізації вміст сумарного білка був у чотири та п'ять разів вищим, ніж у бульбочках, інфікованих активним та неактивним штамми відповідно. На початку цвітіння у коренях ці показники значно знижувались, тоді як в бульбочках навпаки спостерігався суттєвий приріст кількості загального білка. У фазу масового цвітіння рослин вміст білка у коренях збільшувався, а в бульбочках – знижувався. Тобто, абсолютно протилежний кількісний розподіл сумарного білка у коренях та бульбочках, може бути підтвердженням різної спрямованості біологічних процесів, що протікають в цих органах.

При аналізі динаміки змін кількісного вмісту білків препаратів коренів нами було виявлено, що в екстрактах контрольованого варіанту (без інокуляції) спостерігали поступове збільшення кількості білка протягом всього періоду дослідження незалежно від кількості внесеного у ґрунт мінерального азоту (Рис. 1). При чому, якщо на початку дослідження рослини характеризувались більш низьким білковим приростом (на 78,7 % за 1 норми азоту, на 26,2 % за 0,25 норми азоту), то у фазу масового цвітіння спостерігали суттєве збільшення цих показників (на 209,6 % за 1 норми азоту, на 111,2 % за 0,25 норми азоту). На перших етапах росту рослин де-що менші кількості сумарного білка були виявлені за наявності у ґрунті 1 норми азоту, ніж за росту на 0,25 норми. Проте ця різниця не була суттєвою, у той час як у більш пізній фазі цвітіння загальний вміст білка був значно нижчим за росту рослин на 0,25 норми азоту, що можна пояснити поступовим вичерпанням рослинами цього важливого елементу, відсутністю альтернативного джерела його надходження і, як наслідок, зниженням біосинтетичних процесів.

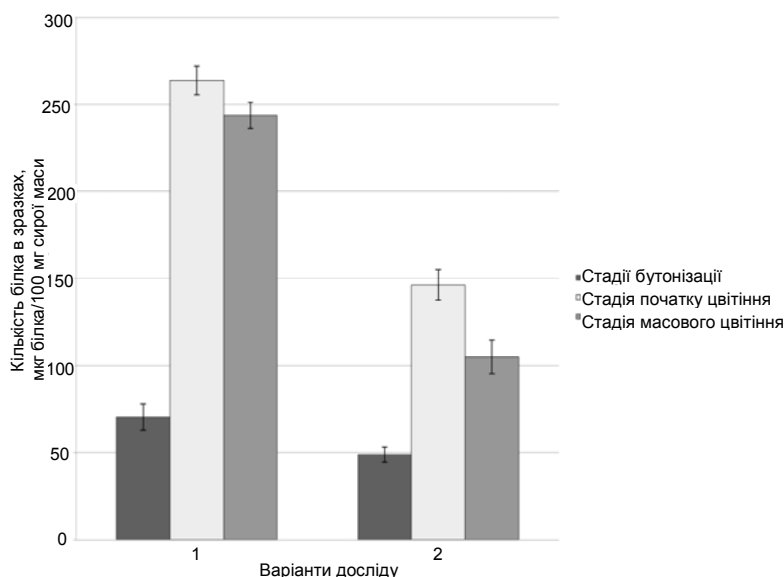


Рис. 1. Динаміка змін кількості сумарного білка в екстрактах коренів.

Варіанти дослідю: 1 – контроль; 1 норма азоту; 2 – контроль; 0,25 норми азоту; 3 – інокуляція активним штамом 646; 1 норма азоту; 4 – інокуляція активним штамом 646; 0,25 норми азоту; 5 – інокуляція неактивним штамом 604к; 1 норма азоту; 6 – інокуляція неактивним штамом 604к; 0,25 норми азоту

Всі варіанти бактеризованих рослин характеризувались дещо відмінними від контролю особливостями. Так, незалежно від активності штаму-інокулянта та кількості внесенного в ростовий субстрат мінерального азоту, спостерігали різке зниження кількості білка в екстрактах на початку цвітіння рослин відносно фази бутонізації та суттєве підвищення цього показника під час масового цвітіння сої. Можливо, таку динаміку змін кількості загального білка у коренях можна пояснити відповіддю сої на інокуляцію бактеріями, що є для рослин додатковим стресом. Відомо, що обробка насіння ризобіями хоч і є позитивним, але, все-таки, стресовим фактором, що може спричинити синтез додаткових стресових молекул, у тому числі і білків [7].

Порівнюючи між собою варіанти з інокуляцією контрастними штамами бактерій, слід відмітити, що за росту рослин на субстраті, який містив 1 норму азоту, загальна кількість білка була вищою у зразках з неактивним

штамом 604к. У той же час корені сої, вирощеної на 0,25 норми азоту, характеризувались практично однаковим вмістом білка незалежно від активності штаму бактерій. Тобто, можна припустити, що інокуляція рослин високовірulentним, але неактивним штамом 604к сприяє кращому засвоєнню коренями наявного мінерального азоту лише за повного його об'єму, необхідного для росту і розвитку рослини. Проте такий варіант культивування рослин виключає наявність альтернативного джерела азоту, так як за повного забезпечення рослин мінеральним азотом, вони не вступають у безпосередній симбіоз із ризобіями, на їх коренях не утворюються бульбочки і, відповідно, не відбувається одержання симбіотрофного азоту.

У той же час білкові екстракти бульбочок сої утворені різними азотфіксуючими мікроорганізмами мали свої особливості (Рис. 2).

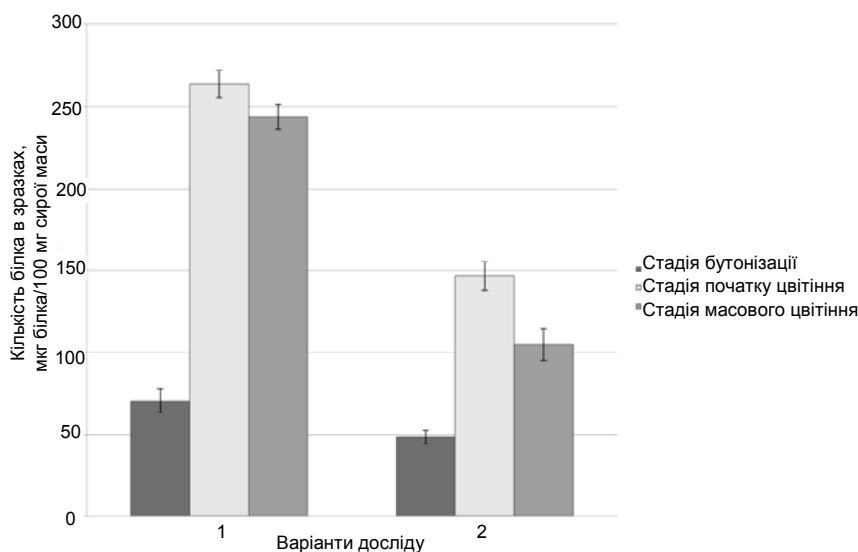


Рис. 2. Динаміка змін кількості сумарного білка в екстрактах бульбочок. Варіанти дослідю:

1 – інокуляція активним штамом 646; 0,25 норми азоту; 2 – інокуляція неактивним штамом 604к; 0,25 норми азоту

У першу чергу слід відмітити, що за інокуляції неактивним штамом 604к кількість сумарного білка в бульбочках була нижчою в середньому удвічі, ніж у варіантах, інокульованих активним штамом 646 на всіх фазах росту рослин. Проте загальна картина кількісного розподілу білків протягом всього періоду росту рослин була однаковою і за інокуляції активним, і неактивним штамми: різке збільшення кількості сумарного білка на початку цвітіння рослин, порівняно з фазою бутонізації (майже у чотири рази за інокуляції активним штамом і в три – неактивним) та зниження цього показника під час масового цвітіння сої (на 7,7 % у варіанті зі штамом 646 та на 28 % – зі штамом 604к). Імовірно, такі зміни можна пояснити посиленням біосинтетичних процесів під час формування азотфіксуючого апарату і зниженням їх інтенсивності під час активної фіксації молекулярного азоту в бульбочках. Одержані нами дані по загальній динаміці змін вмісту білка у коренях та бульбочках сої узгоджуються і з дослідженнями інших учених [26, 27]. Вони вказують на те, що процес фіксації азоту є дуже енергоємним і забирає більшу частину енергетичних ресурсів рослини. У таких умовах всі енергоємні процеси, включаючи біосинтез білка, що протікають в бактеріях повинні призупинятись на користь азотфіксації. Таким чином у бульбочках відбувається перерозподіл енергії, що забезпечує успішну фіксацію молекулярного азоту. Враховуючи ці особливості енергетичного забезпечення життєдіяльності рослинного організму, можна пояснити нерівномірність процесів білкового синтезу, деградації та фіксації азоту протягом онтогенезу рослин.

Виявити вплив дози мінерального азоту на загальний вміст білка в бульбочках нам не вдалося, так як за повного азотного забезпечення симбіотичний апарат у рослин не формувався через відсутність такої необхідності. Це зумовлює необхідність проведення додаткових досліджень, в яких будуть застосовані проміжні норми мінерального азоту.

Висновки. Таким чином, нами було показано кількісні зміни вмісту загального білка у препаратах як бульбочок, так і коренів сої за інокуляції різними за активністю штамми *V. japonicum* на фоні різного азотного забезпечення. При цьому слід зазначити, що кількісний розподіл білків у коренях та бульбочок протягом досліджуваного періоду росту рослин був оберненим, що може бути свідченням протилежної спрямованості процесів, що протікають у цих органах. У той же час очевидним є вплив на бобово-ризобіальні комплекси доз внесеного мінерального азоту: вони визначали необхідність утворення симбіотичних структур, впливали на кількість білка у коренях.

Подальші детальні дослідження динаміки змін білкового складу симбіотичних систем дозволять розширити уявлення про механізми азотного живлення бобових рослин, дадуть можливість виявити тонкі механізми регуляції взаємодії партнерів та з'ясувати роль біологічних молекул у їх функціонуванні за умов симбіозу або при мінеральному типі живлення азотом. Це, у свою чергу, дасть можливість впливати на ефективність рослинно-мікробного симбіозу, поліпшувати його продуктивність і скорочувати негативний вплив нітратного забруднення на навколишнє середовище.

Список використаних джерел

1. Коць С.Я., Моргунов В.В., Тихонович І.А., Проворов Н.А., Патыка В.Ф., Петриченко В.Ф., Мельникова Н.Н., Маменко П.Н. Биологическая фик-

сация азота: бобово-ризобийный симбиоз. – Киев: Логос, 2011. – Т. 1. – 404 с.

2. Peoples M.B., Herridge D.E., Ladha J.K. Biological nitrogen fixation: An efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production? // Plant and Soil. – 1995. – 174. – P. 3-28.

3. Vitousek P.M., Cassman K., Cleveland C., Crews T., Field C.B., Grimm N.B., Howarth R.W., Marino R., Martinelli L., Rastetter E.B., Sprent J.I. Towards an ecological understanding of biological nitrogen fixation // Biogeochemistry. – 2002. – 57/58. – P. 1-45.

4. Robson A. D. Mineral nutrition of legumes in tropical and subtropical soils. Proceedings of a workshop held at CSIRO Cunningham Laboratory, Brisbane, Australia, January 16-21, 1978, under the auspices of the U.S./Australia Co-operative Science Program. 1978 pp. 277-29.

5. Carroll B. J., Mathews A. Molecular biology of symbiotic nitrogen fixation. 1990 pp. 159-180.

6. Grahama P.H., Vanceb C.P. Nitrogen fixation in perspective: an overview of research and extension needs // Field Crops Research. – 2000. – 65. – P. 93-106.

7. Santamaria P. Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation // Journal of the Science of Food and Agriculture. – 2006. – Vol. 86. – P. 10-17.

8. Коць С.Я. Сучасний стан досліджень біологічної фіксації азоту // Физиология и биохимия культурных растений. – 2011. – Т. 43, № 3. – С. 212-225.

9. Khush G.S. Challenges for meeting the global food and nutrient needs in the new millennium // Proceedings of The Nutrition Society. – 2003. – Vol. 60. – P. 15-26.

10. Komatsu S., Ahsan N. Soybean proteomics and its application to functional analysis // Journal of proteomics. – 2009. – Vol. 72. – P. 325-336.

11. Бахмат О.М. Соя – культура майбутнього, особливості формування високого врожаю. – Кам'янець-Подільський, 2009. – 208 с.

12. Бабич А.О., Бабич-Побережна А.А. Світові та вітчизняні тенденції розміщення виробництва і використання сої для розв'язання проблеми білка // Корми і кормовиробництво. – 2012. – Т. 71. – С. 12-26.

13. Mallarino A.P., Ortis-Torres E., Pecinovskiy K.T. Effects of crop rotation and nitrogen fertilization on crop production // Iowa State Research Farm Progress Reports. – 2004. – Vol. 3. – P. 4-13.

14. Singh G. Soybean: botany, production and uses. – CAB International, 2010. – 494 pp.

15. Voisin A.-S., Salon C., Munier-Jolain N.G., Ney B. Quantitative effects of soil nitrate, growth potential and phenology on symbiotic nitrogen fixation of pea (*Pisum sativum* L.) // Plant and Soil. – 2002. – 243. – P. 31-42.

16. Юргина В.С. Роль мінерального азоту і асоціативних ризобактерій в формуванні продуктивності редьки масличної // Агро XXI. – 2010. – 4-6. – С. 20-21.

17. Петриченко В.Ф. Виробництво та використання сої в Україні // Вісник аграрної науки. – 2008. – № 6. – С. 24-27.

18. Коць С.Я., Маліченко С.М., Кругова О.Д., Мандровська Н.М., Кириченко О. В. Физиолого-біохімічні особливості живлення рослин біологічним азотом. – Київ: Логос, 2001. – 271 с.

19. Serraj R., Adu-Gyamfi J. Role of symbiotic nitrogen fixation in the improvement of legume productivity under stressed environments // West African Journal of Applied Ecology. – 2004. – 6. – P. 95-109.

20. Manavalan L.P., Guttikonda S.K., Tran L.-S.P., Nguyen H.T. Physiological and molecular approaches to improve drought resistance in soybean // Plant and Cell Physiology. – 2009. – Vol. 50 № 7. – P. 1260-1276.

21. Гродзинский А.М., Гродзинский Д.М. Краткий справочник по физиологии растений. – К.: Наукова думка, 1973. – 591с.

22. Кондратюк Ю.Ю., Маменко П.М., Левішко А.С., Дрозденко Г.М., Коць С.Я. Порівняльний аналіз методів екстракції та розділення білків для протеомного дослідження білкових профілів коренів та бульбочок сої // Физиология и биохимия культурных растений. – 2013. – Т. 45, № 3. – С. 222-229.

23. Bradford M. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Analytical Biochemistry. – 1976. – Vol. 72. – P. 248-254.

24. Kessel C., Hartley C. Agricultural management of grain legumes: has it led to an increase in nitrogen fixation? // Field Crops Research. – 2000. – Vol. 65. – P. 165-181.

25. Дрозденко Г.М., Маменко П.М., Маліченко С.М., Коць С.Я. Особливості білкового складу штамів і Tn5-мутантів *V. japonicum* різної активності // Физиология и биохимия культурных растений. – 2009. – Т. 41, № 5. – С. 423-429.

26. Маменко П.М., Коць С.Я., Дрозденко Г.М., Жемойда А.В. Білковий склад бульбочок сої, інокульованої штамми та Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* різної ефективності // Физиология и биохимия культурных растений. – 2008. – Т. 40, № 6. – С. 525-531.

27. Karr D.B., Emerich D.W. Protein synthesis by *Bradyrhizobium japonicum* bacteroids declines as function of nodule age // Applied Environmental Microbiology. – 1996. – Vol. 62, №10. – P. 3757-3761.

Надійшла до редколегії 04.12.13

Ю. Кондратюк, канд. биол. наук, П. Маменко, канд. биол. наук, С. Коць, д-р биол. наук
Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, Киев

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ МИНЕРАЛЬНОГО АЗОТА НА ОБЩЕЕ СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКА И КЛУБЕНЬКОВ СОИ, ИНОКУЛИРОВАННОЙ ШТАММАМИ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* С КОНТРАСТНЫМИ СИМБИОТИЧЕСКИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ

Исследовать динамику изменений общего содержания белка корней и клубеньков сои, инокулированной контрастными по симбиотическим характеристикам штаммами *Bradyrhizobium japonicum*, и в условиях различного содержания минерального азота. Семена сои инокулировали активным и неактивным штаммами ризобий. Растения выращивали в условиях вегетационного опыта. Для получения белковых экстрактов корни и клубеньки отбирали в фазы бутонизации, начала цветения и массового цветения растений. Количественное содержание суммарного белка в образцах определяли методом Брэдфорда. Показано различия в количественном содержании белка в корнях и клубеньках сои, инокулированной активным и неактивным штаммами *B. japonicum*, в зависимости от фазы роста растений и дозы внесенного минерального азота. Выдвинуто предположение, что обнаруженные изменения содержания белка связаны с процессами формирования и функционирования бобово-ризобияльного симбиоза.

Ключевые слова: азотфиксация, ризобии, соя, симбиотические системы, белки.

Iu. Kondratiuk, PhD., P. Mamenko, PhD., S. Kots, DSc
Institute of Plant Physiology and Genetics of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

THE INFLUENCE OF DIFFERENT DOSES OF MINERAL NITRIGEN ON TOTAL PROTEIN CONTENT OF ROOTS AND NODULES OF SOYBEAN, INOCULATED BY STRAINS OF *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* WITH CONTRASTING SYMBIOTIC FEATURES

To investigate the dynamics of changes in total protein content of soybeans roots and nodules under inoculation by *Bradyrhizobium japonicum* strains with contrasting symbiotic characteristics and under different providing of mineral nitrogen. Seeds were inoculated by active and inactive strains of rhizobia. Soybean plants were grown under conditions of vegetation experiment. To obtain protein extracts roots and nodules were collected at the stages of budding, beginning flowering and full flowering of plants. The total protein content in the samples was determined by the method of Bradford. It was shown the changes of total protein content in the soybean roots and nodules, depending on inoculation of strains of *B. japonicum*, the phase of plant growth and the amount of mineral nitrogen.

Key words: nitrogen fixation, rhizobia, soybean, symbiotic systems, proteins.

УДК 581.93+502.75 (477.46)

В. Конограй, канд. біол. наук
Черкаський національний університет імені Б. Хмельницького, Черкаси

СИНТАКСОМІЯ РОСЛИННОСТІ КЛАСУ *LEMNETEA* КРЕМЕНЧУЦЬКОГО ВОДОСХОВИЩА

Проведені дослідження рослинності класу *Lemnetea*, яка на території Кременчуцького водосховища представлена 5 асоціаціями. Розроблена синтаксономічна схема за флористичною системою Браун-Бланке, проведений ценотичний аналіз та особливості поширення діагностованих угруповань.

Ключові слова: Кременчуцьке водосховище, синтаксономія, водна рослинність.

Вступ. Рослинність класу *Lemnetea* об'єднує угруповання вільноплаваючих на поверхні й у товщі води не укорінених рослин. Характерною особливістю класу є низьковидове насичення та поширення ценозів у слабопотокових водоймах з мулистопіщаними ґрунтами. На території водосховища угруповання класу поширені у верхній і середній частинах, у нижній зустрічаються значно рідше. Особливістю синтаксонів є переважання монодомінантних ценозів. Угруповання відіграють важливу екологічну функцію в екосистемах водосховища. Їм, зокрема, належить основна роль у формуванні рослинного покриву новостворених мілководних ділянок.

З огляду на важливу ресурсну, формуючу, біотопічну, екологічну та водоохоронну роль угруповань класу *Lemnetea*, дослідження його рослинності, зокрема синтаксономії є актуальним.

Матеріали та методи. Дослідження проводилися протягом 2005-2011 рр. маршрутным методом з використанням еколого-флористичних критеріїв опису рослинних угруповань. На основі 75 геоботанічних описів водної рослинності, складена її класифікаційна схема. Матеріали обробляли за методом перетворення фітоценотичних таблиць за допомогою програми FICEN2 [8].

Результати та обговорення. Рослинність класу *Lemnetea* в Україні є досить вивченою, але робіт проведених на водосховищах в цьому напрямку мало. Основні дослідження з синтаксономії угруповань, що відносяться до класу, після створення водосховищ та формування їх рослинного покриву, вивчалися І.Л. Кореляковою [7], Б.А. Барановським [1], Л.М. Зуб [6], Н.П. Гальченко [2,3]. З названих авторів лише Л.М. Зуб проводила досліджен-

ня рослинності Кременчуцького водосховища з використанням еколого-флористичних принципів, але нею не охоплено всього ценотичного різноманіття класу Кременчуцького водосховища [6]. Кременчуцьке водосховище було заповнене у 1961 р. Площа його території становить 2252 км², воно є найбільшим у Дніпровському каскаді. На основі морфологічних, морфометричних та гідрологічних характеристик І.Л. Кореляковою його територія була розділена на три частини [7]. Верхня частина відзначається переважанням мілководних ділянок до 70% та значними площами островних територій. Середня – відрізняється від попередньої, меншими за площами мілководдями та поступається за кількістю островів. Нижня частина характеризується, ще меншими площами мілководних ділянок та наявністю 5 островів, площа яких складає всього близько 900 га.

Синтаксономічна схема рослинності класу *Lemnetea*

Клас *Lemnetea minoris* R. Tx. 1955

Порядок *Lemnetalia* R. Tx. 1955

Союз *Lemnion minoris* R. Tx. 1955

1. *Lemnetum minoris* (Oberd. 1957) Th. Müller et Görs 1960

2. *Salvinio-Spirodeletum polyrrhizae* Slavnić 1956

3. *Spirodeletum polyrrhizae* W. Koch 1954

Союз *Lemnion trisulcae* Den Hartog et Segal 1964

4. *Lemnetum trisulcae* Soó 1927

Союз *Hydrocharition morsus-ranae* Rübel 1933

5. *Hydrocharito-Stratiotetum aloides* (Van Langend. 1935) Westhoff (1942) 1946

© Конограй В., 2014