

••• МІКРОБІОЛОГІЯ ••• MICROBIOLOGY •••

DOI: 10.26565/2075-5457-2021-37-8
УДК: 633.34:58.035.2:631.461:58.035.2

Вплив тривалості фотоперіоду на біологічні властивості бактерій групи PGPR ризосфери сої культурної (*Glycine max* (L.) Merr.)

Д.В. Глушач, В.В. Жмурко

У роботі представлені результати дослідження фізіолого-біохімічних властивостей бактерій групи PGPR, виділених із ризосфери сої культурної (*Glycine max* (L.) Merr.), вирощеної за умов різної тривалості фотоперіоду. Рослинним матеріалом у дослідженні слугував короткоденний сорт сої Clark, який піддавали дії природнього довгого дня (16 годин – контроль) та короткого дня (9 годин – дослід). Короткий день створювали впродовж трьох тижнів шляхом затемнення рослин світлонепроникними камерами з 17.00 до 9.00 наступного дня. Польовий дослід проводили на експериментальній ділянці кафедри фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів ХНУ імені В.Н. Каразіна, яка розташована на території ботанічного саду університету. Відбір проб ґрунту з ризосфери сої проводили у фазу бутонізації та виділяли ізоляти на азот-збідненому середовищі. Досліджували культуральні властивості, такі як забарвлення за Грамом, морфологію клітин, рухливість, тип дихання, оксидазо- та каталазопозитивність, а також фізіолого-біохімічні властивості – здатність до протеолізу та нітратредукції. Більшу різноманітність ізолятів за культуральними властивостями було виявлено з ризосфери сої, що вирощена за умов довгого дня. Вірогідно, це пов'язано з більшою інтенсивністю виділення корневих ексудатів (хемоатрагуючих факторів) рослинами на довгому дні, що обумовлено різною інтенсивністю метаболічних процесів за різної тривалості фотоперіоду. Найбільшу кількість ізолятів з протеолітичною активністю спостерігали у бактерій за умов довгого дня. Можливо, ця властивість може істотно впливати на мінеральне живлення рослин. Так, аналіз літературних даних показав, що саме на довгому дні спостерігається більша кількість білку в листках сої. Це може бути наслідком інтенсифікації живлення азотом, що забезпечується бактеріями, здатними до протеолізу. За умов короткого дня спостерігається більша кількість ізолятів, здатних до нітратредукції. Зниження кількості ізолятів, здатних до нітратредукції на довгому дні, можна пояснити можливою репресією асиміляційної нітратредуктази більшою кількістю амонію, що утворюється при амоніфікації органічних речовин. Таким чином, одержані результати дозволяють припустити, що тривалість фотоперіоду може визначати фізіолого-біохімічні властивості ризосферної мікробіоти у фотоперіодично чутливих рослин.

Ключові слова: фотоперіодизм, соя (*Glycine max* (L.) Merr.), PGPR-бактерії, мінеральне живлення, фізіолого-біохімічні властивості, ризосфера.

Цитування: Глушач Д.В., Жмурко В.В. Вплив тривалості фотоперіоду на біологічні властивості бактерій групи PGPR ризосфери сої культурної (*Glycine max* (L.) Merr.). Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія «Біологія», 2021, 37, 87–94. <https://doi.org/10.26565/2075-5457-2021-37-8>

Про авторів:

Д.В. Глушач – Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, м. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, vdmax94@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8085-0640>

В.В. Жмурко – Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, м. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, zhmurko@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0002-3898-3087>

Подано до редакції: 10.10.2021 / Прорецензовано: 14.10.2021 / Прийнято до друку: 29.10.2021

Вступ

Фотоперіодична реакція – одна з головних адаптивних властивостей рослин. Вона визначає поширеність рослин по зонах вирощування, а також адаптивність та продуктивність. Чутливість до фотоперіоду у сої детермінується системою генів *E*-серії (Жмурко та ін., 2017). Показано, що ефекти цих генів на ріст і розвиток сої за різної тривалості фотоперіоду реалізуються опосередковано, через їх участь у регуляції вуглеводного обміну (Жмурко та ін., 2017), фітогормонального статусу (Юхно, Жмурко, 2014) та асиміляційних процесів (Yukhno, Zhmurko, 2021).

Водночас, у регуляції росту та розвитку рослин вагомую роль відіграють мікроорганізми групи PGPR (plant growth promoting rhizobacteria), до яких належать, зокрема, і діазотрофи (Іутинська, 2006; Maheshwari et al., 2015). Ця регуляція здійснюється при взаємодії рослини з

мікроорганізмами. Під час розвитку таких взаємовідносин відбувається вплив бактерій на метаболічний статус рослини шляхом інтенсифікації мінерального живлення. Так, бактерії групи PGPR мають здатність до фіксації азоту (пор. *Rhizobiales*, р. *Azospirillum sp.*, р. *Azotobacter sp.*), мобілізації фосфату (*Paenibacillus polymyxa*), калію (р. *Bacillus sp.*), заліза (р. *Pseudomonas sp.*) та ін. Також бактерії цієї групи беруть участь у трансформації органічних та неорганічних речовин, продукти яких використовуються рослинним організмом у процесах життєдіяльності. Так, одним із механізмів фосфатмобілізації є виділення фосфатаз та фітаз, що відщеплюють ортофосфат-аніони від фосфатвмісних сполук. Відомо, що ґрунт є основним місцем трансформації азоту від молекулярної форми до амонію, нітратів, нітритів. Завдяки процесам фіксації азоту, амоніфікації, нітрифікації та денітрифікації, що забезпечується життєдіяльністю цих мікроорганізмів, відбувається азотне живлення рослин (Ahemad, Kibret, 2014; Nayat et al., 2012; Meena et al., 2016).

Крім того, до групи PGPR входять бактерії, яких належать до рістстимулюючих, бо вони здатні до синтезу деяких фітогормонів, що можуть бути задіяні у регуляції ростових процесів та розвитку рослин. Так, представники р. *Bacillus sp.*, *Microbacterium sp.*, *Methylophages sp.*, *Agromyces sp.*, *Paenibacillus sp.*, *Agrobacterium sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Pantoea sp.*, *Rhizobium sp.* і *Bradyrhizobium sp.* здатні до синтезу ІОК (Maheshwari et al., 2015), *Azospirillum brasilense* та *Bradyrhizobium japonicum* – до синтезу АБК (Castillo et al., 2015) та ІОК-подібних речовин (Самойлов, Жмурко, 2014), а представники р. *Agrobacterium sp.*, *Xanthomonas sp.* та *Klebsiella sp.* – до синтезу цитокінінів (Maheshwari et al., 2015). Таким чином, фізіолого-біохімічні властивості PGPR бактерій є одними з визначальних у функціонуванні взаємодії «рослина-мікроорганізм».

Загалом, дослідженню взаємовідносин між рослиною та мікроорганізмами присвячено багато праць, в яких вивчалися фізіолого-біохімічні, генетичні, молекулярно-біологічні механізми цих взаємодій. Досліджено також вплив різних чинників середовища на взаємодію рослинного організму з мікроорганізмами (Armada et al., 2018). Проте, в літературі недостатньо даних про вплив різної тривалості фотоперіоду на ці взаємодії. Тільки у окремих роботах показана залежність формування і функціонування симбіотичного апарату сої від тривалості фотоперіоду (Жмурко та ін., 2009; Попова, Жмурко, 2014). Проте такі дані мають вагоме значення для поглиблення існуючих уявлень про взаємодію рослина-мікроорганізм, тому що фотоперіод, поряд з температурою, є визначальним у продуктивності, якості урожаю та адаптивності рослин до чинників довкілля. Крім того, дослідження цього аспекту взаємодії рослина-мікроорганізм сприятиме поглибленню існуючих уявлень щодо біологічної природи фотоперіодизму рослин.

Викладене вище обумовлювало проведення наших досліджень. Метою роботи було визначити основні фізіолого-біохімічні властивості бактерій, що належать до PGPR-групи, виділених з ризосфери сої, вирощеної за впливу різної тривалості фотоперіоду.

Матеріал і методи дослідження

Рослинний матеріал. У роботі був використаний короткоденний сорт Clark (генотип – e1E2E3E4e5E7) сої культурної (*Glycine max* (L.) Merr.), що піддавали впливу різного фотоперіоду. Насіння для досліджень було отримане з колекції Національного центру генетичних ресурсів рослин України.

Дизайн дослідження. Польовий дослід проводили на експериментальній ділянці кафедри фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів ХНУ імені В.Н. Каразіна, яка знаходиться на території ботанічного саду. Сіяли вручну на ділянках площею 1 м² у дворазовій повторності. Добрива та бактеріальні препарати під сою не вносили. Після сходів і до формування третього справжнього листка всі рослини вирощували в умовах довгого природного дня (16 годин на широті м. Харкова – 50° п.ш.) На фазі третього справжнього листка половину рослин піддавали впливу короткого 9-годинного фотоперіоду (дослід), а другу половину продовжували вирощувати на довгому 16-годинному фотоперіоді (контроль). Короткий фотоперіод створювали штучно, затемнюючи рослини світлонепроникними камерами з 17 до 9 години впродовж трьох тижнів. Після припинення такого впливу рослини дослідного варіанту продовжували вирощувати на довгому фотоперіоді.

Ґрунт з ризосфери відбирали у фазу бутонізації з глибини 20-25 см у двох повтореннях, і, відповідно, виділення бактерій та подальше визначення їх властивостей проводили на кожну пробу ґрунту. Для виділення мікробіоти до наважки ґрунту 10 г додавали 90 мл стерильної води, збовтували протягом 30 хв, фільтрували через стерильний паперовий фільтр і з фільтрату готували серію розведень від 10⁻¹ до 10⁻⁴.

З метою виділення діазотрофів, кожне розведення висівали у двох аналітичних повторах на твердому середовищі Доберейнера з конго червоним: макроелементи (г/л): K_2HPO_4 – 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,2; NaCl – 0,1; $CaCl_2$ – 0,2; Fe-ЕДТА (1,64% розчин) – 4 мл; яблучна кислота – 5 (попередньо нейтралізована KOH); мікроелементи (мг/л): $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ – 2,00; $MnSO_4 \cdot H_2O$ – 2,35; H_3BO_3 – 2,80; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ – 0,08; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,24; вітаміни (мг/л): біотин – 0,1; піридоксин – 0,2. Розчин біотину та конго червоного (0,03%) стерилізували за допомогою бактеріального фільтра (Millex-GS, 0,22 мкм) та додавали у стерильне середовище перед використанням. Кінцевий рН=7,2 (Винникова и др., 2011). Інкубацію проводили протягом 7 діб за температури 25 °С, після чого у кожному аналітичному повторі (чашці Петрі) визначали морфологічні характеристики культур і забарвлення за Грамом для виділення однакових (Винникова и др., 2011). Одночасно визначали форму бактеріальних клітин. Потім проводили доочистку таких культур методом виснажуючого посіву на середовищі маннітно-дріжджевого агару (МДА) такого складу(г/л): екстракт дріжджів – 1,0; манніт – 10,0; K_2HPO_4 – 0,5; $MgSO_4$ – 0,2; NaCl – 0,1; агар – 20; кінцевий рН=6,8 (Теппер и др., 2004).

Подальші дослідження проводили з чистими культурами бактерій.

Визначення рухливості проводили методом уколу в стовпчик напіврідкого середовища МДА (0,5%). Оцінювали характер росту за уколом: до нерухомих відносили ті бактерії, що росли за уколом без проникнення далі у середовище.

Визначення типу дихання. Для визначення відношення культур до кисню виявляли характер їх росту на рідкому маннітно-дріжджевому середовищі. Так, культури з поверхневим ростом відносили до аеробів, рівномірним – мікроаерофілів, а з придонним ростом - до анаеробів (Лабинская и др., 2004).

Визначення оксидазо- та каталазопозитивності. Для визначення здатності до розщеплення перекису водню використовували 3% H_2O_2 . Для цього бактеріальну культуру на петлі поміщали у краплю реактиву та спостерігали утворення бульбочок протягом 2-5 с. При наявності бульбочок культуру відносили до каталазопозитивної. Визначення оксидазопозитивності проводили згідно інструкції за допомогою комерційних тест-полосок OXItest для виявлення бактеріальної цитохромоксидази (Винникова и др., 2011).

Визначення протеолітичних властивостей. Ці властивості бактерій виявляли за їх здатністю розріджувати желатин. Для цього культури висівали у середовище наступного складу (г/л): NH_4NO_3 – 0,5; K_2HPO_4 – 1; KH_2PO_4 – 0,5; $MgSO_4$ – 1; NaCl – 0,25; желатин – 60 (Звягинцев, 1991). Результати враховували на п'яту добу, шляхом виявлення утворення рідкої консистенції середовища.

Визначення здатності до нітратредукції. Цю властивість виявляли за допомогою 1%-ного реактиву Гріса на 10% оцтовій кислоті. Бактерії висівали на м'ясо-пептоний агар (МПА) та інкубували при 37°C дві доби. Після цього до культури додавали 10% KNO_3 , що слугував субстратом для бактеріальних нітратредуктаз. Накопичення нітритів виявляли реактивом Гріса за утворенням червоно-малинового забарвлення (Винникова и др, 2011).

Статистичний аналіз. Отримані дані аналізували за допомогою дисперсійного аналізу, використовуючи програму Statistica 10.0. Значущість відмінностей між варіантами досліду визначали за допомогою НІР при $p \leq 0,05$. В таблиці та на рисунку наведена у відсотках кількість ізолятів від загальної кількості у кожному варіанті (середні значення та їх стандартні похибки).

Результати та обговорення

Відомо, що інтенсивність виділення та кількість корневих ексудатів рослин залежить від метаболічного статусу, що визначається, у тому числі, взаємодією генотипу рослин з умовами навколишнього середовища. Так, за короткого та довгого фотоперіоду в органах рослин спостерігається різна інтенсивність накопичення та відтоку асимілятів (Цыбулько, 1998). У зв'язку з цим надходження асимілятів до кореневої системи також може відрізнятися. Саме це може впливати на інтенсивність виділення, кількість та різновид корневих ексудатів, що є хемоатрагуючими факторами для бактерій. Раніше було припущено, що у короткоденних рослин, вирощених за короткого дня, коренева система у меншій мірі забезпечується асимілятами, ніж у рослин, вирощених за довгого дня (Попова, Жмурко, 2014). Дотримуючись цієї точки зору, вірогідно, за довгого дня інтенсивність виділення корневих ексудатів та їх різновид більші, ніж за короткого дня, що впливає на їхні хемоатрагуючі властивості.

Результати наших дослідів показали, що кількість виділених ізолятів, які відрізняються за морфотипом, у кореневій зоні (ризосфері) рослин, вирощених на довгому дні більше на 35%, ніж у

рослин, вирощених на короткому дні. Серед виділених бактерій з ризосфери сої, що піддавали дії короткого дня, 55% – грампозитивні, у той час як за довгого дня до грампозитивних належать 91% виділених ізолятів (Таблиця). Варто зазначити, що ізоляти отримували на азотзбідненому середовищі, що привело до певної селективності виділення різних фізіологічних груп. Тому переважання грампозитивних бактерій в контролі та досліді не можуть однозначно суперечити літературним даним, що показують домінування грамнегативних бактерій у складі біоценозу ризосфери сої (Wang et al., 2019; Diaz-Garza et al., 2020). Спостерігаються істотні відмінності і за морфологічним складом бактеріальних клітин. Так, за умов довгого дня виділено 86% паличкоподібних бактерій та 14% кулястих, у той час як за умов короткого дня 60% та 40% відповідно. Різняться і кількість бактерій, здатних до рухливості. Так, серед тих, що виділені з кореневої зони рослин на короткому дні, до рухливих належить 55%, а за довгого дня – 27%. Ізоляти істотно різнилися за типом дихання залежно від того з кореневої зони яких рослин були виділені. Так, у кореневої зони рослин на короткому дні виявлено 58% мікроаерофілів та 42% анаеробів. У той час, як із ризосфери сої, що піддавали впливу довгого дня виділено 13% мікроаерофілів, 60% анаеробів та 27% аеробів.

Відмінність між культуральними характеристиками ізолятів з кореневої зони рослин, вирощених на довгому і короткому дні, може бути чинником різного рівня трансформації органічних та неорганічних складових ґрунту, що впливатиме на процес мінерального живлення. Виходячи з цього, ми визначали протеолітичні та нітратредукуючі властивості ізолятів. Саме вони відображають здатність до трансформації азоту, включеного до органічних та неорганічних сполук (Рисунок).

Таблиця. Вплив тривалості фотоперіоду на біологічні властивості бактерій ризосфери короткоденного сорту сої культурної (*Glycine max* (L.) Merr.) Clark
Table. The effect of the photoperiod duration on biological features of rhizosphere bacteria of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.), short-day cultivar Clark

Культуральні властивості		Кількість ізолятів (%) за тривалості фотоперіоду	
		16 годин	9 годин
Форма клітин	паличкоподібна	86±4,3	60±9,3*
	коки	14±3,2	40±7,1*
Позитивне забарвлення за Грамом		91±1,70	55±2,95*
Каталазопозитивність		74±2,58	64±2,02*
Оксидазопозитивність		21±1,47	20±1,08
Рухливість		27±1,31	55±2,02*
Дихання	аероби	27±3,12	0,08±0,08*
	мікроаерофіли	13±1,78	58±1,78*
	анаероби	60±1,58	42±1,55*

Примітка: * – різниця між варіантами істотна при $p \leq 0,05$

Note: * – the difference between the variant is significant at $p \leq 0.05$

Отримані результати показали, що у ризосфері рослин на довгому дні кількість ізолятів, які володіють протеолітичною активністю, на 26% більша за кількість таких ізолятів у кореневій зоні рослин на короткому дні (Рисунок). Відомо, що у ґрунті відбуваються процеси трансформації неорганічних та органічних речовин. Так, процеси амоніфікації забезпечують перетворення азоту, що міститься в органічних речовинах, у амоній, який може поглинатись, як бактеріями, так і рослиною. Процеси амоніфікації забезпечуються бактеріями шляхом виділення великого спектру гідролітичних ферментів, зокрема, протеаз та пептидаз. Саме вони забезпечують протеолітичні властивості мікроорганізмів. Виходячи з цього, бактерії з протеолітичними властивостями можуть забезпечувати рослини мінеральною формою азоту у вигляді NH_4^+ -іону.

Раніше було показано, що рослини сої культурної (*Glycine max* (L.) Merr.), які були вирощені за природного довгого дня, мали більший вміст білку в листках, ніж вирощені за короткого дня незалежно від їхнього генотипу (Раєвська, Жмурко, 2020). Це може забезпечуватись декількома механізмами. По-перше, відомо, що в умовах довгого дня нітрогеназна активність корневих бульбочок сої більша, ніж умовах короткого дня (Попова, Жмурко, 2014). Вірогідно, що на довгому

дні рослини забезпечуються азотом інтенсивніше, що може призводити до більшого накопичення білку. Другим механізмом, на нашу думку, є забезпечення рослин азотом у вигляді амоній-іону, що утворився в ґрунті внаслідок протеолітичних властивостей бактерій групи PGPR.

Результати також показали, що кількість ізолятів, здатних до відновлення нітратів, у ризосфері рослин, вирощених на короткому дні становила 80%, а у ризосфері рослин, вирощених на довгому дні вона була значно меншою і становила 54% (Рисунок). Відновлення нітратів є важливою ланкою їх трансформації у амоній (асиміляційна нітратредукція) або молекулярний азот (дисиміляційна нітратредукція). Забезпечується цей процес ферментом нітратредуктазою, активність якого при асиміляційній нітратредукції може інгібуватись амонієм (Mogeno-Vivián et al., 1999). Виходячи з того, що протеолітична активність призводить до накопичення амонію, це може бути причиною того, що кількість ізолятів, здатних до нітратредукції, виділених за умов довгого дня менша, ніж за умов короткого дня.

Асиміляційна нітратредукція бактерій може мати фізіологічне значення для рослин. Відомо, що рослини здатні поглинути азот у двох біологічно доступних формах – нітрат-іону та амоній-іону. Поглинання амонію є процесом енергозалежним. У подальшому, шляхом прямого амінування, рослини його акумулюють у органічні речовини (Hao et al., 2020). Поглинання нітрат-іону відбувається за допомогою транспортерів, але для включення у метаболізм, його необхідно відновити до амонію, що забезпечується рослинними нітратредуктазами та потребує багато енергії (Nogueiro, Lacombe, 2016). Тому рослині вигідніше поглинання азоту у формі амонію, який може утворюватися бактеріями внаслідок асиміляційної нітратредукції, що впливає на інтенсифікацію мінерального живлення.

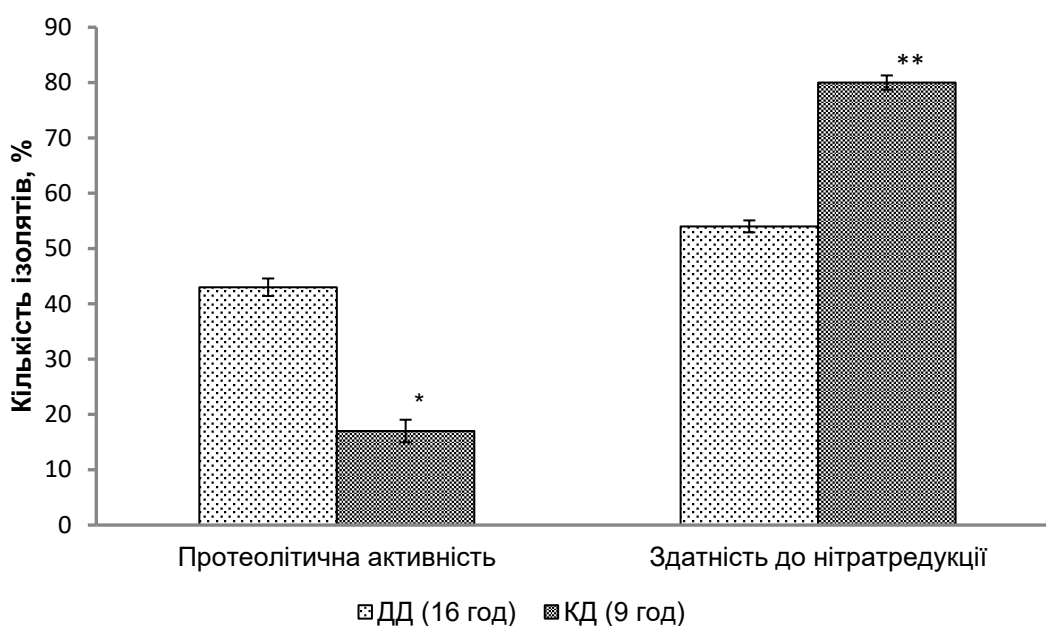


Рисунок. Вплив тривалості фотоперіоду на кількість ізолятів, здатних до протеолізу та нітратредукції, у ризосфері короткоденного сорту Clark сої культурної (*Glycine max* (L.) Merr.)
Figure. The effect of the photoperiod duration on the number of isolates capable of proteolysis and nitrate reduction in the rhizosphere of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.), short-day cultivar Clark

Примітка: * – різниця між варіантами істотна при $p \leq 0,05$
Note: * – the difference between the variant is significant at $p \leq 0.05$

Узагальнення

У результаті наших досліджень було виявлена більша різноманітність ізолятів за культуральними властивостями, виділених з ризосфери сої, вирощеної на довгому дні, ніж на короткому дні. Можливо це може бути пов'язано з більшою інтенсивністю виділення корневих

ексудатів на довгому дні, що є хемоатрагуючими факторами для бактерій різних фізіологічних груп. Різний рівень корневих ексудатів може бути обумовлений різною інтенсивністю метаболічних процесів у рослин за різної тривалості фотоперіоду.

Найбільшу кількість ізолятів, здатних до протеолізу виділено з ризосфери рослин сої, вирощених за умов довгого дня. Вірогідно, це може визначати збільшення поглинання амонійної форми азоту, яка безпосередньо залучається до білкового обміну. Побічно про це може свідчити той факт, що за умов дії довгого дня більше накопичується білку в листках сої, ніж в умовах короткого дня.

Більша кількість ізолятів, здатних до нітратредукції, виявлена у ризосфері рослин, вирощених за короткого дня, ніж за довгого. Відомо, що амоній є репресором асиміляційної нітратредуктази. Тому, вірогідно, що у ризосфері рослин на довгому дні за посиленої амоніфікації відбувається зменшення асиміляційної нітратредукції, про що свідчить менша кількість ізолятів з такою здатністю.

Таким чином одержані данні дають підставу припустити, що тривалість фотоперіоду, як вагомий зовнішній чинник перебігу метаболізму рослин, здатна визначати інтенсивність і, можливо, склад корневих виділень. Від рівня цих процесів залежить склад мікроорганізмів ризосфери з різними морфологічними та фізіолого-біохімічними властивостями. Ці властивості можуть опосередковано впливати на метаболічний статус рослин. Таким чином, фотоперіодична реакція рослин пов'язана з процесом взаємодії рослина-мікроорганізм.

Роботу виконано в рамках проекту фундаментального дослідження Міністерства освіти та науки України «Методологія дослідження біологічної природи фотоперіодичної чутливості рослин за використання комплексної системи генетичних, фізіологічних та біохімічних показників», номер держреєстрації 0121U111506.

Список використаних джерел / References

- Винникова О.И., Самойлов А.М., Попова Ю.В. (2011). Выделение и идентификация бактерий: методические рекомендации для студентов биологического факультета специализации «Микробиология и вирусология». Х.: ХНУ имени В.Н. Каразина. 60 с. [Vinnikova O.I., Samoilov A.M., Popova Y.V. (2011). *Isolation and identification of bacteria: methodical recommendations for students of biological faculty of specialty "Microbiology and Virology*. Kharkov: V.N. Karazin Kharkiv National University. 60 p. (In Russian)]
- Жмурко В.В. (2009). Фізіолого-біохімічні аспекти фотоперіодичного і яровизаційного контролю розвитку рослин: Автореф. дис... д-ра біол. наук: 03.00.12. Київ: Ін-т фізіології рослин і генетики НАН України, 40 с. [Zhmurko V.V. (2009). *Physiological and biochemical aspects of photoperiodic and vernalization control of plant development. Abstract of the thesis for the Degree of the Doctor of Biological Sciences*. Kyiv. 40 p. (In Ukrainian)]
- Жмурко В.В., Авксентьева О.О., Юхно Ю.Ю. та ін. (2017). Ефекти генів фотоперіодичної чутливості і потреби в яровизації у рослин пшениці м'якої та сої культурної. *Фізіологія рослин: досягнення та нові напрями розвитку*. Київ: Логос, 187–197. [Zhmurko V.V., Avksentyeva O.O., Yukhno Yu.Yu. et al. (2017). Effects of genes of photoperiodic sensitivity and the need for vernalization in soft wheat and soybean plants. *Plant physiology: achievements and new directions of development*. Kyiv: Logos, 2017, 187–197. (In Ukrainian)]
- Звягинцев Д.Г. (ред.) (1991). Методы почвенной микробиологии и биохимии. М.: Изд-во МГУ. 304 с. [Zviahyntsev D.H. (ed.) (1991). *Methods of soil microbiology and biochemistry*. Moscow: Publishing House of MSU. 304 p. (In Russian)]
- Іутинська Г.О. (2006). Грунтова мікробиологія. Навчальний посібник. Київ: Арістей. 284 с. [Iutinska H.O. (2006). *Soil microbiology. Tutorial*. Kyiv: Aristey. 284 p. (In Ukrainian)]
- Лабинская А.С., Блинкова Л.П., Ещина А.С. (2004). Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований. М.: Медицина. 576 с. [Labynskaia A.S., Blinkova L.P., Yescchina A.S. (2004). *General and sanitary microbiology with the technique of microbiological research*. Moscow: Medicine. 576 p. (In Russian)]
- Попова Ю., Жмурко В.В. (2014). Вплив тривалості фотоперіоду на азотфіксувальну активність ізогенних за генами Е ліній сої *Glycine max* (L.) Merr. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія: Біологія*, 23(1129), 21–28. [Popova Y.V., Zhmurko V.V. (2014). The nitrogen fixing activity of the soybean *Glycine max* (L.) Merr. near-isogenic by E-genes lines

under different photoperiod. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series: Biology*, 23 (1129), 21–28. (In Ukrainian)].

Раєвська І.М., Жмурко В.В. (2020). Вплив фотоперіоду на продуктивність та вміст білку у листках ізогенних за генами E ліній сої (*Glycine max* (L.) Merr.). *Сучасна біологія рослин: теоретичні та прикладні аспекти. V Міжнародна конференція: матеріали*. Харків: ХНУ ім. В.Н. Каразіна. 19–20. [Raievska I.M., Zhmurko V.V. (2020). The effect of the photoperiod on the productivity and protein content in leaves of soybean isogenic E lines (*Glycine max* (L.) Merr.). *Modern plant biology: theoretical and applied aspects. V International Scientific Conference: materials*. Kharkiv: V.N. Karazin KhNU. 19–20. (In Ukrainian)]

Самойлов А.М., Жмурко В.В. (2014). Ефекти кореневих виділень проростків ізогенних за генами Vrn ліній пшениці на динаміку росту, трофічний хемотаксис та синтез індолил-3-оцтової кислоти у специфічного діазотрофа *Azospirillum brasilense* 410. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія: Біологія*, 23(1129), 73–80. [Samoilov A.M., Zhmurko V.V. (2014). Effects of root exudates of wheat isogenic by Vrn loci lines on growth dynamics, trophic chemotaxis and indole-3-acetic biosynthesis of the specific diazotroph *Azospirillum brasilense* 410. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series: Biology*, 23(1129), 73–80. (In Ukrainian)]

Теппер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. (2004). Практикум по микробиологии. (Ред. В.К. Шильникова). Москва: Дрофа. 256 с. [Tepper E.Z., Shylnikova V.K., Pereverzeva H.I. (2004). *Workshop on Microbiology*. (Ed. V.K. Shylnikova). Moscow: Drofa. 256 p. (In Russian)]

Цыбулько В.С. (1998). Метаболические закономерности фотопериодической реакции растений. Киев: Аграрна наука. 181 с. [Tsybulko V.S. (1998). *Metabolic regularities of the plants photoperiodic reaction*. Kyiv: Agricultrual science. 181 p. (In Russian)]

Юхно Ю.Ю., Жмурко В.В. (2014). Динамика активности и содержания ИУК в листьях и апикальных меристемах стебля изогенных по генам E линий сои в процессе фотопериодической индукции. *Вестник Харьковского национального университета имени В.Н. Каразина. Серія: Біологія*, 23(1129), 36–43. [Yukhno Y.Y., Zhmurko V.V. (2014). The dynamics of IAA activity and content in leaves and shoot apical meristem (SAM) of isogenic by E genes soybean lines during photoperiodic induction. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series: Biology*, 23(1129), 36–43. (In Russian)]

Ahemad M., Kibret M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University – Science*, 26(1), 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>

Armada E., Leite M.F.A., Medina A. et al. (2018). Native bacteria promote plant growth under drought stress condition without impacting the rhizomicrobiome. *FEMS Microbiology Ecology*, 94(7). 92. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiy092>

Castillo P., Molina R., Andrade A. et al. (2015). Phytohormones and other plant growth regulators produced by PGPR: The Genus *Azospirillum*. *Handbook for Azospirillum: Technical Issues and Protocols*, 115–138. https://doi.org/10.1007/978-3-319-06542-7_7

Diaz-Garza A.M., Fierro-Rivera J.I., Pacheco A. et al. (2020). Temporal dynamics of rhizobacteria found in pequin pepper, soybean, and orange trees growing in a semi-arid ecosystem. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 602283. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.602283>

Hao D.L., Zhou J.Y., Yang S.Y. et al. (2020). Function and regulation of ammonium transporters in plants. *International journal of molecular sciences*, 21(10), 3557. <https://doi.org/10.3390/ijms21103557>

Hayat R., Ahmed I., Sheirdil R.A. (2012). An Overview of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) for Sustainable Agriculture. *Crop Production for Agricultural Improvement*, 557–579. https://doi.org/10.1007/978-94-007-4116-4_22

Maheshwari D.K., Dheeman S., Agarwal M. (2015). Phytohormone-producing PGPR for sustainable agriculture. *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem*, 1, 159–182. https://doi.org/10.1007/978-3-319-24654-3_7

Meena V.S., Bahadur I., Maurya B.R. et al. (2016). Potassium-solubilizing microorganism in evergreen agriculture: an overview. *Potassium Solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture*, 1, 1–20. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2776-2_1

Moreno-Vivián C., Cabello P., Martínez-Luque M. et al. (1999). Prokaryotic nitrate reduction: Molecular properties and functional distinction among bacterial nitrate reductases. *Journal of Bacteriology*, 181(21), 6573–6584. <https://doi.org/10.1128/JB.181.21.6573-6584.1999>

Noguero M., Lacombe B. (2016). Transporters involved in root nitrate uptake and sensing by Arabidopsis. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1391. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01391>

Wang L., Li Z., Liu R., Li L. et al. (2019). Bacterial diversity in soybean rhizosphere soil at seedling and mature stages. *Polish Journal of Microbiology*, 68(2), 281–284. <https://doi.org/10.33073/pjm-2019-023>

Yukhno Y., Zhmurko V. (2021). Effects of E-genes and photoperiod duration on assimilation processes in isogenic lines of soybean. *ScienceRise: Biological Science*. 1(26), 32-39. <https://doi.org/10.15587/2519-8025.2021.229512>

Influence of the photoperiod duration on the biological properties of PGPR-bacteria of the soybean rhizosphere (*Glycine max* (L.) Merr.)

D.V. Hlushach, V.V. Zhmurko

Physiological and biochemical properties of the PGPR-bacteria isolated from the rhizosphere of the soybean (*Glycine max* (L.) Merr), grown under different photoperiod duration were investigated. A short-day soybean cultivar Clark was selected for the study; it was exposed to a long natural day (16 hours – control) and a short day (9 hours – test). The short day was created by darkening the plants with light-tight chambers for three weeks from 5 p.m. to 9 a.m. the next day. The field experiment was carried out at the experimental site of the Department of Physiology and Biochemistry of Plants and Microorganisms of V.N. Karazin Kharkiv National University, located in the Botanical garden of the University. Soil samples from the soybean rhizosphere were taken at the budding phase; the bacteria were isolated in a nitrogen-depleted medium. We studied cultural characteristics of bacteria (Gram stain, bacterial morphology, mobility, type of respiration, oxidase and catalase positivity) and their physiological and biochemical properties (the capability of proteolysis and nitrate reduction). A greater variety of bacteria in terms of cultural properties was isolated from the rhizosphere of soybean grown under long-day conditions. Probably, this is due to the higher intensity of root exudate excretion (chemoattractive factors) during the long day which is caused by different metabolic intensities at various photoperiod lengths. The highest number of isolates with proteolytic activity was observed in bacteria under long-day conditions. This property is considered to have a significant impact on the mineral nutrition of plants. Analysis of literature data showed that the higher amount of protein is accumulated in soybean leaves during the long day as a result of intensification of nitrogen nutrition provided by bacteria capable of proteolysis. Under conditions of a short day, a higher number of isolates capable of nitrate reduction was observed. A decrease in the number of isolates capable of nitrate reduction under a long-day condition can be explained by the possible repression of assimilative nitrate reductase by a large amount of ammonium formed during the ammonification of organic substances. Thus, the obtained results suggest that the photoperiod duration can determine physiological and biochemical properties of the rhizosphere microbiota of the plants sensitive to this factor.

Key words: photoperiod, soybeans (*Glycine max* (L.) Merr.), PGPR bacteria, mineral nutrition, physiological and biochemical properties, rhizosphere.

Cite this article: Hlushach D.V., Zhmurko V.V. Influence of the photoperiod duration on the biological properties of PGPR-bacteria of the soybean rhizosphere (*Glycine max* (L.) Merr.). *The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University. Series "Biology"*, 2021, 37, 87–94. (In Ukrainian). <https://doi.org/10.26565/2075-5457-2021-37-8>

About the authors:

D.V. Hlushach – V.N. Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, vdmax94@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8085-0640>

V.V. Zhmurko – V.N. Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, zhmurko@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0002-3898-3087>

Received: 10.10.2021 / Revised: 14.10.2021 / Accepted: 29.10.2021