

## Вплив біопрепаратів бульбочкових бактерій із кармоїзином на формування та функціонування симбіотичних систем соя – *Bradyrhizobium japonicum*

К. П. Кукол\*, Н. А. Воробей, П. П. Пухтаєвич, С. Я. Коць

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, вул. Васильківська, 31/17, м. Київ, 03022, Україна,  
\*e-mail: katerinakukol@gmail.com

**Мета.** Установити особливості формування та функціонування симбіотичних систем сої за інокуляції насіння біопрепаратами на основі стійких до фунгіцидів штамів *Bradyrhizobium japonicum* PC07 та B78 з різними нормами синтетичного барвника кармоїзину. **Методи.** Фізіологічні, мікробіологічні, газова хроматографія, статистичні. **Результати.** Установлено, що внаслідок інокуляції сої [*Glycine max* (L.) Merr] сорту 'Алмаз' мікробними препаратами, виготовленими на основі *B. japonicum* PC07 та B78 з додаванням кармоїзину (0,25 та 0,5 г на 200 г препарату), кількість та маса сформованих на коренях бульбочок упродовж вегетації були на рівні показників контрольних рослин або перевищували їх. За інокуляції насіння обома штамми ризобій та додавання до біопрепаратів різних норм барвника найбільшу різницю за показниками кількості й маси кореневих бульбочок між рослинами контрольних і дослідних варіантів відзначено у фазі повного цвітіння. У результаті аналізу азотфіксувальної активності (АФА) сформованих симбіотичних систем відзначено відсутність негативного впливу синтетичного барвника на її рівень. За бактеризації насіння сої *B. japonicum* PC07 у фазі трьох справжніх листків АФА була вищою на 15,6–25,9%; у фазі бутонізації–початку цвітіння – на 7,4–29,5% порівняно з контрольними рослинами за додавання 0,25 та 0,5 г кармоїзину відповідно. На фоні бактеризації насіння сої штамом B78 до фази повного цвітіння інтенсивність асиміляції  $N_2$  за додавання до біопрепарату 0,25 г кармоїзину була на рівні контрольних рослин. У період повного цвітіння рослин цей показник перевищував контроль на 7,6 та 18,8% за внесення 0,25 та 0,5 г барвника відповідно. **Висновки.** Кармоїзин можна залучати до подальшого вивчення ефективності його застосування як барвника-ідентифікатора контролю рівномірності нанесення сипучих бактеріальних препаратів на насіння, додаючи 0,25 і 0,5 г на 200 г біопрепарату, оскільки при цьому не виявлено негативного впливу на формування та функціонування симбіотичних систем соя – *B. japonicum*.

**Ключові слова:** *Bradyrhizobium japonicum*; інокуляція; кармоїзин; кількість і маса бульбочок; азотфіксувальна активність.

### Вступ

Застосування бактеріальних добрив, виготовлених на основі азотфіксувальних мікроорганізмів, – це безальтернативний спосіб забезпечення рослин біологічним азотом, який має переваги господарського та екологічного характеру порівняно з використанням мінеральних добрив [1]. Інокуляція на-

сіння зернобобових культур високоефективними штамми бульбочкових бактерій, одержаними в процесі селекційного відбору, дає змогу реалізувати до 15–50% симбіотичного азотфіксувального потенціалу, а решта резерву може бути використана за оптимізації умов функціонування симбіозу [2].

Важливими завданнями під час виробництва бактеріальних добрив є максимальне накопичення бактеріальних клітин, підтримання їх життєздатності на всіх стадіях технологічного процесу та виготовлення на їхній основі різних форм препаратів зі збереженням активності впродовж гарантійного терміну зберігання [3, 4].

За препаративними формами бактеріальні добрива поділяють на рідкі, напіврідкі (суспензійні препарати, препарати зі згущува-

Ekaterina Kukol  
<https://orcid.org/0000-0002-2889-9957>  
Nadiya Vorobey  
<https://orcid.org/0000-0002-6039-5409>  
Petro Pukhtaievych  
<https://orcid.org/0000-0002-6179-6239>  
Sergii Kots  
<https://orcid.org/0000-0002-3477-793X>

чами – гелна форма), сипучі та гранульовані препарати [5]. Рідкі мікробні препарати містять у своєму складі культуральну рідину (бактерії та їхні метаболіти, залишки компонентів середовища). Вони зручні в застосуванні, особливо за механізованого оброблення насіння [4, 6]. Водночас у світовій практиці найпоширеніші тверді (сипучі) форми біопрепаратів на основі торфу, вермикуліту, каоліну та ін. [5]. Відомо, що в разі застосування інокулянтів на вермикуліті перехід бактерій з носія у ґрунт є більш тривалим, оскільки його частинки мають пористу будову й загальна площа поверхні в них є значно більшою. Імовірно, згодом, за появи дефіциту елементів живлення в рослин, цей процес може прискоритися, що позитивно позначиться на розвитку макросимбіонта. При цьому дослідники відзначали підвищення врожайності зерна сої на 21% порівняно з контролем. У варіанті зі стартовою дозою азоту ( $N_{30}$ ) урожайність була на 32% вище контрольної [7].

У багатьох країнах світу для забезпечення високої якості інокулянтів науковці досліджують життєздатність азотфіксувальних мікроорганізмів у різних сипучих носіях, за потреби коригують умови зберігання готових препаратів або кількість додаткових компонентів у їхньому складі [5, 6].

Для забезпечення візуального ефекту нанесення на насіння сої бактеріальних препаратів на сипучих носіях (зокрема вермикуліті) доцільно дослідити можливість застосування харчових барвників, асортимент яких є дуже широким. З літератури відомо, що спочатку для отримання барвників використовували продукти рослинного й тваринного походження, але із розвитком органічного синтезу місце натуральних барвників зайняли синтетичні. Найбільшим класом серед органічних синтетичних сполук є азобарвники [9]. Їх отримують поєднанням ароматичних діазоз'єднань із фенолами, ароматичними амінами або їхніми похідними [10, 11].

Синтетичні барвники, порівняно з натуральними, мають низку переваг: вони є стійкими до технологічної обробки, тривалого зберігання, надають яскравих кольорів, що легко відтворюються [12].

Нами попередньо досліджено вплив 0,5 та 1,0%-го розчинів синтетичного барвника кармоїзину (азорубіну) на енергію проростання та лабораторну схожість насіння сої сортів 'Алмаз' і 'Васильківська'. Установлено відсутність або слабкий рівень фітотоксичності цього барвника на посівні якості насіння сої вказаних сортів [13].

Сьогодні актуальним є поліпшення елементів технології застосування мікробних препаратів під сою, виготовлених на основі високоактивних і конкурентоздатних штамів бульбочкових бактерій. Оскільки захист рослин від фітопатогенів є невід'ємним елементом технології вирощування сої, як і інокуляція насіння біопрепаратами на основі мікроорганізмів-азотфіксаторів, доцільно залучати в дослідження контролю якості передпосівного оброблення штами ризобій, стійкі до впливу діючих речовин фунгіцидів.

**Мета досліджень** – установити особливості формування та функціонування симбіотичних систем сої за інокуляції насіння біопрепаратами на основі стійких до фунгіцидів штамів *V. japonicum* PC07 та B78 з різними нормами синтетичного барвника кармоїзину.

### Матеріали та методика досліджень

Вегетаційні досліди проводили у 2019–2020 рр. з рослинами сої [*G. max* (L.) Merrill] сорту 'Алмаз', що занесений до Державного реєстру сортів рослин, придатних до поширення в Україні з 2007 р., є ранньостиглим та рекомендований для вирощування у зоні Лісостепу [14].

Перед висіванням (на початку другої декади травня) насіння сої інокулювали впродовж 1 год бактеріальними препаратами на основі *V. japonicum* PC07 та B78. Одна порція біопрепарату бульбочкових бактерій (200 г) використовується для оброблення 120 кг насіння сої.

Схема досліду включала такі варіанти передпосівної інокуляції насіння:

- 1) *V. japonicum* B78 (контроль – без барвника);
- 2) *V. japonicum* B78 + кармоїзин (0,25 г/200 г біопрепарату);
- 3) *V. japonicum* B78 + кармоїзин (0,5 г/200 г біопрепарату);
- 4) *V. japonicum* PC07 (контроль – без барвника);
- 5) *V. japonicum* PC07 + кармоїзин (0,25 г/200 г біопрепарату);
- 6) *V. japonicum* PC07 + кармоїзин (0,5 г/200 г біопрепарату).

Залучені до роботи штами *V. japonicum* PC07 (аналітичної селекції) та B78 [Tn5-мутант штаму 646 (pSup5011::Tn5mob)] отримані у відділі симбіотичної азотфіксації ІФРГ НАН України і входять до складу колекції азотфіксувальних мікроорганізмів ІФРГ НАН України, яка має статус національного надбаня. За результатами проведених нами раніше лабораторних дослідів, зазначені штами

виявили стійкість до різних фунгіцидів у чистій культурі [15].

Сою вирощували по 10 рослин у 10-кілограмових посудинах, попередньо простерилізованих 20%-м розчином  $H_2O_2$ , на річковому піску зі внесенням поживної суміші Гельрігеля [16], збагаченої мікроелементами молібдену, бором і міддю та збідненої на азот – 0,25 норми [одна норма відповідає 708 мг  $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$  на 1 кг піску], за природного освітлення та оптимального (60% ПВ) водо-забезпечення, на спеціально обладнаному майданчику ІФРГ НАН України. Повторюваність у варіантах досліду п'ятиразова.

Кармоїзин (азорубін) – синтетичний азобарвник червоного кольору, є діазотованим похідним сульфонафталінів; кристалічна речовина із кристалами розміром від 1 до 50 мкм та з температурою плавлення понад 300 °C, добре розчинний у воді та етиловому спирті [12]. За додавання цього барвника до сипучих біопрепаратів бульбочкових бактерій для оброблення насіння сої червоний колір візуально помітніший, що дає змогу відрізнити інокульоване насіння від неінокульованого за таких умов використання.

Як субстрат-носіє для приготування бактеріального препарату використовували вермикуліт, що є мінералом класу алюмосилікатів та має постійний хімічний склад, завдяки чому виключається необхідність перевірки кожної його партії [7]. У складі вермикуліту відзначено наявність оксидів таких елементів, як кальцій, магній, калій, алюміній, залізо і кремній, тому він є ефективним біостимулятором росту рослин. Характеризується високими сорбційними й аераційними властивостями, не є токсичним, не піддається гниттю, перешкоджає поширенню плісняви [17].

Для приготування бактеріального препарату (200 г) на твердому носії у пакети з вермикулітом (130 г) вводили стерильно 50 мл бактеріальної суспензії з вихідним титром  $5 \times 10^9$  КУО/мл (попередньо вирощеної на манітно-дріжджовому середовищі в колбах на качалці), 0,25 або 0,5 г кармоїзину (згідно зі схемою досліду), а також поживні добавки: мелясу, кукурудзяний екстракт, глюкозу у співвідношенні 1:1, які готували з розрахунку на 130 г сухого вермикуліту, добре перемішували. Препарат витримували (дорощували) за кімнатної температури (18–23 °C) 7 діб. Насіння сої інокульовали в асептичних умовах.

Відбори рослин здійснювали у фазі трьох листків, бутонізації–початку цвітіння та повного цвітіння. Азотфіксувальну активність

кореневих бульбочок сої визначали ацетиленовим методом [18] і виражали в мікромолях етилену, який утворився бульбочками однієї рослини за 1 год. Газову суміш аналізували на газовому хроматографі «Agilent Technologies 6850» (США) Network GC System з полум'яно-іонізаційним детектором. Гази розділяли на колонці (Supelco Porapak N) за температури термостата 55 °C і детектора 150 °C. Газовим носієм був азот (50 мл за 1 хв), визначення проводили у чотирикратній повторності.

Отримані дані обробляли статистично. У таблицях наведено середньоарифметичні значення. Достовірність відмінностей між вибірками оцінювали методом однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Відмінності вважали достовірними за  $P \leq 0,05$ .

### Результати досліджень

Установлено, що за додавання різної кількості кармоїзину в сипучий бактеріальний препарат на основі стійких до фунгіцидів штамів ризобій загальна кількість сформованих на коренях бульбочок упродовж вегетації була на рівні контрольних рослин або перевищувала їх. Зокрема, за бактеризації насіння біопрепаратом на основі *B. japonicum* В78 і додаванням 0,25 та 0,5 г кармоїзину кількість бульбочок була вищою порівняно з рослинами контрольного варіанту відповідно на 10,4 і 16,0% (фаза трьох справжніх листків), 13,8% (бутонізації–початку цвітіння) та 29,2 і 33,3% (повного цвітіння).

За інокуляції насіння сої біопрепаратом на основі *B. japonicum* РС07 із фарбувальним агентом (0,25 та 0,5 г кармоїзину) також не відзначено негативного впливу на загальну кількість утворених бульбочок на коренях рослин. Зазначений показник був вищим у дослідних рослин порівняно з контрольними за інокуляції аналітично селекціонованими ризобіями штаму РС07 відповідно на 9,0 і 19,4% (фаза трьох справжніх листків), 3,9 і 20,8% (фаза бутонізації–початку цвітіння) та на 16,9 і 28,9% (фаза повного цвітіння) (табл. 1).

Маса утворених бульбочок на коренях сої, інокульованої біопрепаратом на основі *B. japonicum* В78 + 0,25 г кармоїзину, у фазі трьох справжніх листків була меншою порівняно з рослинами на контролі на 13,5%. Однак цей показник перевищував контрольні рослини в 1,4 раза у фазі бутонізації–початку цвітіння та у 2,4 раза у фазі повного цвітіння. У разі застосування препарату з більшою кількістю барвника (0,5 г) маса симбіотичних утворень у фазі трьох справж-

Таблиця 1

**Загальна кількість кореневих бульбочок (шт./рослину) на рослинах сої сорту 'Алмаз' за оброблення біопрепаратами на основі штамів *B. japonicum* із додаванням різних норм кармоїзину**

Варіант	Штам-інокулянт	Фаза розвитку рослин		
		три листки	бутонізація–початок цвітіння	повне цвітіння
Контроль – без барвника	<i>B. japonicum</i> PC07	7,0	11,4	19,0
0,25 г кармоїзину / 200 г біопрепарату		7,6	11,8	22,2
0,5 г кармоїзину / 200 г біопрепарату		8,4	13,8	24,5
НІР <sub>0,05</sub>		0,5	0,4	0,9
Контроль – без барвника	<i>B. japonicum</i> B78	4,5	8,8	16,1
0,25 г кармоїзину / 200 г біопрепарату		5,0	10,0	20,8
0,5 г кармоїзину / 200 г біопрепарату		5,2	9,0	21,5
НІР <sub>0,05</sub>		0,1	0,5	0,6

ніх листків була на рівні рослин контролю, а в наступні фази росту й розвитку в 1,6–2,3 раза перевищувала їх.

Аналогічну тенденцію відзначено також у рослин варіантів з обробленням насіння препаратами на основі бульбочкових бактерій

*B. japonicum* PC07. При цьому максимальне перевищення показників у контрольних рослин встановлено у фазі повного цвітіння сої – в 1,2 і 1,4 раза відповідно за внесення 0,25 та 0,5 г кармоїзину на одноктарну норму біопрепарату (табл. 2).

Таблиця 2

**Загальна маса кореневих бульбочок (г/рослину) на рослинах сої сорту 'Алмаз' за оброблення біопрепаратами на основі штамів *B. japonicum* із додаванням різних норм кармоїзину**

Варіант	Штам-інокулянт	Фаза розвитку рослин		
		три листки	бутонізація–початок цвітіння	повне цвітіння
Контроль – без барвника	<i>B. japonicum</i> PC07	0,176	0,208	0,693
0,25 г кармоїзину / 200 г біопрепарату		0,157	0,229	0,807
0,5 г кармоїзину / 200 г біопрепарату		0,189	0,303	0,999
НІР <sub>0,05</sub>		0,011	0,018	0,112
Контроль – без барвника	<i>B. japonicum</i> B78	0,052	0,114	0,249
0,25 г кармоїзину / 200 г біопрепарату		0,045	0,157	0,596
0,5 г кармоїзину / 200 г біопрепарату		0,055	0,189	0,576
НІР <sub>0,05</sub>		0,006	0,028	0,120

У результаті вивчення функціональної активності сформованих симбіотичних систем у більшості варіантів дослідження виявлено підвищення інтенсивності азотфіксації кореневих бульбочок сої за використання біопрепаратів з кармоїзином. Зокрема, за інокуляції насіння сої *B. japonicum* PC07 у фазі трьох справжніх листків АФА була вищою на 15,6–25,9% ; у фазі бутонізації–початку цвітіння на 7,4–29,5% порівняно з контрольними рослинами за додавання 0,25 та 0,5 г кармоїзину відповідно. У фазі повного цвітіння сої рівень АФА симбіотичних систем,

сформованих за участю бульбочкових бактерій штаму *B. japonicum* PC07, істотно не відрізнявся в контрольних та дослідних рослин.

За бактеризації насіння сої біопрепаратом *B. japonicum* B78 + 0,25 г кармоїзину активність азотфіксації кореневих бульбочок була на рівні рослин контрольного варіанту аж до фази повного цвітіння. У період повного цвітіння рослин відзначено збільшення цього показника відповідно на 7,6 та 18,8% у варіантах із застосуванням біопрепарату з 0,25 та 0,5 г кармоїзину (табл. 3).

Таблиця 3

**Загальна азотфіксувальна активність бульбочок  
на коренях сої [мкмоль  $C_2H_4$  / (росл\*год)] за оброблення біопрепаратами  
на основі штамів *V. japonicum* із додаванням різних норм кармоїзину**

Варіант	Штам-інокулянт	Фаза розвитку рослин		
		три листки	бутонізація– початок цвітіння	повне цвітіння
Контроль – без барвника	<i>V. japonicum</i> PC07	3,97	4,98	10,68
0,25 г кармоїзину / 200 г біопрепарату		4,59	5,35	9,41
0,5 г кармоїзину / 200 г біопрепарату		5,01	6,45	10,48
НІР <sub>0,05</sub>		0,33	0,35	1,15
Контроль – без барвника	<i>V. japonicum</i> B78	1,56	2,80	7,81
0,25 г кармоїзину / 200 г біопрепарату		1,54	2,56	8,40
0,5 г кармоїзину / 200 г біопрепарату		2,56	3,07	9,28
НІР <sub>0,05</sub>		0,39	0,26	0,57

Отже, отримані в цій роботі результати відкривають перспективу подальшого ґрунтового дослідження можливості застосування кармоїзину як барвника – добавки до вермикуліту, яка слугуватиме ідентифікатором візуального контролю якості рівномірного нанесення на насіння сої сипучих біопрепаратів на основі бульбочкових бактерій *V. japonicum*.

У літературі досить обмежена кількість робіт (публікацій) про вплив кармоїзину (азорубіну) на рослини. Однак, є дані щодо застосування розчинів кармоїзину для більш детального вивчення біологічних властивостей фітопаразитичних нематод *Meloidogyne javanica* (Treub) та *M. incognita* (Kofold & White) на поверхні коренів та в тканинах рослин і розроблення протинематодних заходів [19].

Також відомо, що інтенсивність впливу синтетичних азобарвників на бактерії та рослини залежить від їх концентрації в середовищі культивування мікроорганізмів та вмісту фарбувального агента в розчині, яким обробляють насіння або поливають проростки. Зокрема, досліджуючи фітотоксичний вплив кармоїзину на проростання насіння пшениці, науковці відзначали пригнічення ростових процесів та зміни антиоксидантної активності в клітинах *Triticum aestivum* L. зі збільшенням (до 0,25%) концентрації барвника у розчині та тривалості періоду дії синтетичної сполуки на проростки [12]. Виявлено також зростання активності каталази у 2,5 раза в рослин кропу пахучого (*Anethum graveolens* L.) за впливу іншого барвника – понсо (E124) у концентрації 0,01% порівняно з 0,001%-м розчином. За використання для поливу E124 у концентрації понад 10 мг/л у рослин виникає окислювальний стрес [20]. На підставі вище за-

значеного, перспективним у подальшій нашій роботі може бути визначення впливу кармоїзину на ферментативну активність макросимбіонта, за передпосівного оброблення насіння бактеріальними добривами на вермикуліті з додаванням барвника.

На цьому етапі нашої роботи, використавши кармоїзин як фарбувальний агент у складі біопрепарату, ми досягли візуалізації нанесення вермикулітного препарату бульбочкових бактерій на насіння сої, при цьому наявність барвника (у досліджуваних концентраціях) не зашкодила формуванню та функціонуванню бобово-ризобіальної симбіотичної системи, а навпаки привела до поліпшення цих показників.

### Висновки

Кармоїзин можна залучати до подальшого вивчення ефективності його застосування як барвника-ідентифікатора контролю рівномірності нанесення сипучих бактеріальних препаратів на насіння, додаючи 0,25 і 0,5 г на 200 г біопрепарату, оскільки при цьому не виявлено негативного впливу на формування й функціонування симбіотичних систем соя – *V. japonicum*.

### Використана література

- Bhat T. A., Ahmad L., Ganai M. A. et al. Nitrogen fixing biofertilizers; mechanism and growth promotion: a review. *J. Pure Appl. Microbiol.* 2015. Vol. 9, Iss. 2. P. 1675–1690.
- Патика В. П., Гнатюк Т. Т., Булеца Н. М., Кириленко Л. В. Біологічний азот у системі землеробства. *Землеробство.* 2015. № 2. С. 12–20.
- Mahmud K., Makaju S., Ibrahim R., Missaoui A. Current progress in nitrogen fixing plants and microbiome research. *Plants.* 2020. Vol. 9, Iss. 2. 97. doi: 10.3390/plants9010097
- Коць С. Я., Воробей Н. А., Кириченко О. В. та ін. Мікробіологічні препарати для сільського господарства. Київ : Логос, 2016. 48 с.

5. Zayed M. S. Advances in formulation development technologies. *Microbial inoculants in sustainable agricultural productivity* / D. Singh, H. Singh, R. Prabha (Eds.). New Delhi : Springer, 2016. P. 219–237. doi: 10.1007/978-81-322-2644-4\_14
6. Kaljeet S., Keyeo F., Amir H. G. Influence of carrier materials and storage temperature on survivability of rhizobial inoculants. *Asian J. Plant Sci.* 2011. Vol. 10, Iss. 6. P. 331–337. doi: 10.3923/ajps.2011.331.337
7. Sahu P. K., Brahma Prakash G. P. Formulations of biofertilizers—approaches and advances. In *Microbial inoculants in sustainable agricultural productivity* / D. Singh, H. Singh, R. Prabha (Eds.). New Delhi : Springer, 2016. P. 179–198. doi: 10.1007/978-81-322-2644-4\_12
8. Лактионов Ю. В., Попова Т. А., Андреев О. А. и др. Создание стабильной формы ростстимулирующих микробиологических препаратов и их эффективность. *Сельскохозяйственная биология*. 2011. № 3. С. 116–118.
9. Benkhaya S., Mrabet S., El Harfi A. Classifications, properties, recent synthesis and applications of azo dyes. *Heliyon*. 2020. Vol. 6, Iss. 1. e03271. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e03271
10. Aljamali N. M. Review in azo compounds and its biological activity. *Biochem. Anal. Biochem.* 2015. Vol. 4, Iss. 2. doi: 10.4172/2161-1009.1000169
11. Chaudhary B. Chemistry of synthetic dyes: a review. *J. Interdisc. Cycle Res.* 2020. Vol. 12, Iss. 11. P. 390–396.
12. Leulescu M., Rotaru A., Moana A. et al. Azorubine: physical, thermal and bioactive properties of the widely employed food, pharmaceutical and cosmetic red azo dye material. *J. Therm. Anal. Calorim.* 2021. Vol. 143, Iss. 6. P. 3945–3967. doi: 10.1007/s10973-021-10618-4
13. Кукол К. П., Воробей Н. А., Коць С. Я. Вплив кармоїзину на енергію проростання та лабораторну схожість насіння сої. *Наукові доповіді НУБіП України*. 2020. Т. 85, № 3. doi: 10.31548/dopovidi2020.03.003
14. Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні на 2021 рік. Київ, 2021. URL: <https://sops.gov.ua/reestr-sortiv-roslin>
15. Воробей Н. А., Кукол К. П., Коць С. Я. Оцінка токсичності впливу фунгіцидів на бульбичкові бактерії *Bradyrhizobium japonicum* у чистій культурі. *Мікробіол. журн.* 2020. Т. 82, № 3. С. 45–54. doi: 10.15407/microbiolj82.03.045
16. Mukhina I., Rizhiya E., Bankina T. Biochar effect on nutrients availability to barley. *Environ. Res. Eng. Manag.* 2020. Vol. 76, Iss. 2. P. 43–53. doi: 10.5755/j01.erem.76.2.21854
17. Овчинников А. С., Карпов А. В., Бородычев В. В., Колодницькая Н. В. Разработка мелиоранта на основе природного минерала для рекультивации почвенного покрова, загрязненного нефтепродуктами, в условиях Волгоградской области. *Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса*. 2013. Т. 30, № 2. С. 172–177.
18. Somasegaran P., Hoben H. J. Handbook for rhizobia: methods in legumes-rhizobium technology. New York, NY : Springer-Verlag, 1994. 450 p. doi: 10.1007/978-1-4613-8375-8
19. Kandouh B. H., Hasan A. E., Al-Hakeem A. M., Aridh Z. H. A complete safe and cost effective method for staining root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. *Plant Arch.* 2019. Vol. 19, Iss. 2. P. 3885–3888.
20. Стугарева С. С. Действие пищевых красителей на активность каталазы в растительных объектах. *Наука – образованию, производству, экономике* : матер. XIX Регион. научно-практ. конф. преподавателей, научных сотрудников и аспирантов (г. Витебск, 13–14 марта 2014 г.). Витебск, 2014. Т. 1. С. 121–122.
- (2015). Biological nitrogen in the farming system. *Zemlerobstvo* [Agriculture ], 2, 12–20. [in Ukrainian]
3. Mahmud, K., Makaju, S., Ibrahim, R., & Missaoui, A. (2020). Current progress in nitrogen fixing plants and microbiome research. *Plants*, 9(1), 97. doi: 10.3390/plants9010097
4. Kots, S. Ya., Vorobey, N. A., Kyrychenko, O. V., Melnykova, N. N., Mykhalkiv, L. M., & Pukhtayevych, P. P. (2016). *Mikrobiolohichni preparaty dlia silskoho hospodarstva* [Microbiological preparations for agriculture]. Kyiv: Logos. [in Ukrainian]
5. Zayed, M. S. (2016). Advances in formulation development technologies. In D. Singh, H. Singh, & R. Prabha (Eds.), *Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity* (pp. 219–237). New Delhi: Springer. doi: 10.1007/978-81-322-2644-4\_14
6. Kaljeet, S., Keyeo, F., & Amir, H. G. (2011). Influence of carrier materials and storage temperature on survivability of rhizobial inoculants. *Asian J. Plant Sci.*, 10(6), 331–337. doi: 10.3923/ajps.2011.331.337
7. Sahu, P. K., & Brahma Prakash, G. P. (2016). Formulations of biofertilizers—approaches and advances. In D. Singh, H. Singh, & R. Prabha (Eds.), *Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity* (pp. 179–198). New Delhi: Springer. doi: 10.1007/978-81-322-2644-4\_12
8. Laktionov, Yu. V., Popova, T. A., Andreev, O. A., Ibatullina, R. P., & Kozhemyakov, A. P. (2011). Creating new forms of growth-stimulating microbiological preparations and their effectiveness. *Sel'skokhozyaystvennaya Biologiya* [Agricultural Biology], 3, 116–118. [in Russian]
9. Benkhaya, S., Mrabet, S., & El Harfi, A. (2020). Classifications, properties, recent synthesis and applications of azo dyes. *Heliyon*, 6(1), e03271. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e03271
10. Aljamali, N. M. (2015). Review in azo compounds and its biological activity. *Biochem. Anal. Biochem.*, 4(2). doi: 10.4172/2161-1009.1000169
11. Chaudhary, B. (2020). Chemistry of synthetic dyes: a review. *J. Interdisc. Cycle Res.*, 12(11), 390–396.
12. Leulescu, M., Rotaru, A., Moanta, A., Iacobescu, G., Palarie, I., Cioatera, N., ... Rotaru, P. (2021). Azorubine: physical, thermal and bioactive properties of the widely employed food, pharmaceutical and cosmetic red azo dye material. *J. Therm. Anal. Calorim.*, 143(6), 3945–3967. doi: 10.1007/s10973-021-10618-4
13. Kukul, K. P., Vorobey, N. A., & Kots, S. Ya. (2020). The effect of carmoisine on germination energy and laboratory germination of soybean seeds. *Naukovi dopovidi NUBiP Ukraini* [Scientific reports NULES of Ukraine], 85(3). doi: 10.31548/dopovidi2020.03.003 [in Ukrainian]
14. *Derzhavnyi reiestr sortiv roslyn, prydatnykh dlia poshyrennia v Ukraini na 2021 rik* [State register of plant varieties suitable for dissemination in Ukraine in 2021]. (2021). Kyiv: N.p. Retrieved from <https://sops.gov.ua/reestr-sortiv-roslin> [in Ukrainian]
15. Vorobey, N. A., Kukul, K. P., & Kots, S. Ya. (2020). Fungicides toxicity assessment on *Bradyrhizobium japonicum* nodule bacteria in pure culture. *Mikrobiol. Z.*, 82(3), 45–54. doi: 10.15407/microbiolj82.03.045 [in Ukrainian]
16. Mukhina, I., Rizhiya, E., & Bankina, T. (2020). Biochar effect on nutrients availability to barley (2020). *Environ. Res. Eng., Manag.* 79(2), 43–53. doi: 10.5755/j01.erem.76.2.21854
17. Ovchinnikov, A. S., Karpov, A. V., Borodychev, V. V., & Kolodnitskaya, N. V. (2013). Development of ameliorant based on natural mineral for reclamation of soil cover contaminated with petroleum products in the Volgograd region. *Izvestia Niznevolzskogo agrouniversitetskogo kompleksa* [Proc. of the Lower Volga Agro-University Comp.], 2(30), 172–177. [in Russian]
18. Somasegaran, P., & Hoben, H. J. (1994). *Handbook for rhizobia: methods in legumes-rhizobium technology*. New York, NY: Springer-Verlag. doi: 10.1007/978-1-4613-8375-8
19. Kandouh, B. H., Hasan, A. E., Al-Hakeem, A. M., & Aridh, Z. H. (2019). A complete safe and cost effective method for stai-

## References

1. Bhat, T. A., Ahmad, L., Ganai, M. A., Shams-Ul-Haq, & Khan, O. A. (2015). Nitrogen fixing biofertilizers; mechanism and growth promotion: a review. *J. Pure Appl. Microbiol.*, 9(2), 1675–1690.
2. Patyka, V. P., Gnatiuk, T. T., Buletsa, N. M., & Kyrylenko, L. V.

ning root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. *Plant Arch.*, 19(2), 3885–3888.

20. Stugareva, S. S. (2014). The effect of food colors on catalase activity in plant objects. In *Nauka – obrazovaniyu, proizvodstvu, ekonomike: materialy XIX Region. nauch.-prakt. konferentsii*

*prepodavateley, nauch. sotrudnikov i aspirantov*. [Science – education, production, economy: proceedings of the XIX Region. scientific-practical conference of teachers, scientific. staff and graduate students] (Vol. 1, pp. 121–122). March 13–14, 2014, Vitebsk, Belarus. [in Russian]

UDC 633.34:581.557: 631.847.21:581.133.1

**Kukol, K. P., Vorobey, N. A., Pukhtaievych, P. P., & Kots, S. Ya.** (2021). The effect of biopreparations of nodules bacteria with carmoisine on the formation and functioning of the soybean – *Bradyrhizobium japonicum* symbiotic systems. *Plant Varieties Studying and Protection*, 17(2), 123–129. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.17.2.2021.236517>

*Institute of Plant Physiology and Genetics, NAS of Ukraine, 31/17 Vasylykivska St., Kyiv, 03022, Ukraine, \*e-mail: katerinakukol@gmail.com*

**Purpose.** Investigate the formation and functioning of symbiotic systems of soybeans with nodule bacteria by inoculation of seeds with biological products based on fungicide-resistant strains of *Bradyrhizobium japonicum* PC07 and B78 with different rates of synthetic carmoisine colorant. **Methods.** Physiological, microbiological, gas chromatography, statistical. **Results.** It was found that as a result of inoculation of soybean [*Glycine max* (L.) Merr] variety 'Almaz' with microbial preparations based on *B. japonicum* PC07 and B78, with the addition of carmoisine (0.25 and 0.5 g per 200 g of the preparation), the amount and the weight of nodules formed on the roots during the growing season were at the level of the control plants or exceeded them. The greatest difference in indicators of quantity and weight of root nodules between plants of control and experimental variants is noted in a phase of full flowering at inoculation by both strains of rhizobia and addition to biological products of various norms of dye. Analysis of nitrogen-fixing activity (NFA) of the formed symbiotic systems showed the absence of a negative effect of the synthetic colorant on its level. When inoculated with soybean seeds

*B. japonicum* PC07 in the phase of three true leaves, NFA was higher by 15.6–25.9% and in the budding-beginning of flowering stage by 7.4–29.5% compared with control plants with the addition of 0.25 and 0.5 g of carmoisine, respectively. Against the background of bacterization of soybean seeds by strain B78 before the phase of full flowering of plants the level of N<sub>2</sub> assimilation by adding 0.25 g of carmoisine to the vermiculite preparation was at the level of the control plants. During the period of full flowering, this figure exceeded the indicators of control plants by 7.6 and 18.8% with the introduction of 0.25 and 0.5 g of the colorant. **Conclusions.** Carmoisine can be applied in the further study of the effectiveness of its use as a dye identifier for controlling the uniformity of marking of loose bacterial preparations on seeds by adding 0.25 and 0.5 g per 200 g of a biopreparation, since this did not show a negative impact on the formation and functioning of the soybean – *Bradyrhizobium japonicum* symbiotic systems.

**Keywords:** *Bradyrhizobium japonicum*; inoculation; carmoisine; number and weight of nodules; nitrogen-fixing activity.

*Надійшла / Received 24.05.2021*

*Погоджено до друку / Accepted 25.06.2021*