

ГЛУШАЧ Д. В.[✉], АВКСЕНТЬЄВА О. О.

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна,

Україна, 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4, ORCID: 0000-0002-8085-0640, 0000-0002-3274-3410

[✉] hlushach2019pg@student.karazin.ua

ВПЛИВ БАКТЕРИЗАЦІЇ НА ФОРМУВАННЯ СТРУКТУРИ ВРОЖАЮ ІЗОГЕННИХ ЗА Е-ГЕНАМИ ЛІНІЙ СОЇ В УМОВАХ РІЗНОГО ФОТОПЕРІОДУ

Мета. Дослідити вплив попередньої бактеризації штамом *Bradyrhizobium japonicum* 634b на формування структури врожаю ізогенних за генами контролю фотоперіодичної чутливості лінії сої, за умови довгого та короткого дня. **Методи.** Дослід проводили у польових умовах. Після стерилізації насіння бактеризували суспензією *Bradyrhizobium japonicum* 634b та висаджували у ґрунт, контролем слугувало насіння оброблене дистильованою водою. Рослини вирощували в умовах природного довгого дня (16 год), у фазу V3 дослідні рослини піддавали дії (штучно створеного) короткого дня (9 год) протягом двох тижнів. Аналізували елементи структури врожаю. **Результати.** На короткому дні за умови бактеризації відмічене істотне зменшення довжини пагона, кількість бобів та насіння на рослину у короткоденних ліній; і, водночас – істотне збільшення у фотоперіодично нечутливих ліній. На довгому дні спостерігаємо більш складні закономірності, які, припускаємо, пов'язані з більш тісною та специфічною взаємодією генотипу рослин та мікроорганізмів. **Висновки.** Встановлено, що генотип та його взаємодія з фактором бактеризації має найбільший вплив на досліджені показники, як за умов короткого дня, так і довгого дня.

Ключові слова: *Glycine max* (L.) Merr, Е-гени, фотоперіодична реакція, структура врожаю, бактеризація, *Bradyrhizobium japonicum*.

На сьогоднішній день соя культурна (*Glycine max* (L.) Merr.) займає важливе місце у структурі посівів в Україні. За інформацією Держстату у 2022 році посів сої культурної проведено на площі 1212,6 тис. га (це близько 5,8 % від усіх засіяних площ) [1]. Враховуючи агрономічну цінність культури, важливо вивчати чинники, що є передумовою формування якісного врожаю. Одним із таких чинників є фотоперіод, який визначає тривалість вегетативного та генеративного періоду, поширеність по зонах вирощування. Фенологічно чутливість до фото-

періоду проявляється у затримці цвітіння (збільшення тривалості вегетативної стадії) або затримці формування плодів (збільшення тривалості генеративної стадії). Соя є факультативно короткоденною рослиною, тобто здатна зацвітати як на короткому дні, так і на довгому дні, але з затримкою у розвитку. Чутливість до фотоперіоду *Glycine max* (L.) Merr. детермінується генами Е-серії, що впливають на ріст та розвиток опосередковано шляхом зміни фітогормонального та метаболічного статусу рослин. До системи Е-генів відносять гени від Е1 до Е9. Для деяких з них вже відомі функції, які вони виконують [2]. Так, визначено, що Е9 це – ген *GmFT2a*, що кодує специфічний транскрипційний фактор, який індукує цвітіння. Xia et al. [3] виявили від'ємну кореляцію між експресією домінантного стану алелі гена Е1 та гену *GmFT2a* за умов дії довгого фотоперіоду. Це свідчить про репресію гена *GmFT2a*, що фенологічно проявляється у затримці цвітіння на довгому дні [4]. Специфічний вплив гена Е1 на довгому дні пояснюється контролем генів Е3 та Е4, які кодують ізоформи фоторецептора – фітохрому А (*GmPHYA3* і *GmPHYA2* відповідно). У сої домінантний стан генів Е3 та Е4 призводить до збільшення тривалості вегетативної фази [2]. Ген Е2 (*GmGla*) – є гомологом гена *GIGANTEA Arabidopsis thaliana*. З'ясовано, що домінантний стан Е2 призводить до репресії *GmFT2a*, що фенологічно виявляється у затримці цвітіння на довгому дні [5]. Незалежно від фотоперіодичної реакції рослини знаходяться у взаємодії з факторами навколишнього середовища, у тому числі та з ґрунтовими мікроорганізмами. Деякі мікроорганізми завдяки своїм фізіологічно-біохімічним особливостям можуть вступати у взаємодію з рослинами, забезпечуючи їх мінеральними речовинами, підвищуючи їх стійкість до патогенів, позитивно впливаючи на їх ріст та розвиток. Ці бактерії належать до групи рістстимулюючих – PGPR [6]. Найбільш активний вплив спостерігається під час взаємодії сої з симбіотичними діазотрофами (до яких нале-

© ГЛУШАЧ Д. В., АВКСЕНТЬЄВА О. О.

жить *Bradyrhizobium japonicum* (Kirchner)) здатних до фіксації азоту, тим самим регулюючи забезпечення рослини азотом. Важливим біологічним впливом бактерій групи PGPR – є виділення у середовище фітогормонів, які можуть бути задіяні у регуляції процесів росту та розвитку рослин та формування врожаю. Так, представники р. *Rhizobium* та *Bradyrhizobium* виділяють у середовище ауксини, ІОК-подібні речовини, АБК [6]. Тобто, взаємодія рослин з мікроорганізмами – також є важливим фактором формування якісного врожаю. Дослідження з приводу взаємодії генів фотоперіодичної чутливості та генотипу бактерій і їх впливу на показники якості врожаю нечисленні. Але, відомо, що за розвиток взаємодії «рослина-мікроорганізм» відповідають гени, як рослини, так і бактерій. Так, з'ясовано, що у геномі сої культурної в групі зчеплення С2 існують локуси кількісних ознак (QTLs), які асоціюють з чутливістю до фотоперіоду та ефектами інокуляції представниками пор. *Rizobiales* (зміна довжини, об'єму і площі коренів та кількості й маси сформованих бульбашок). Також, визначено, що відстані QTLs, які асоціюють з ефектами інокуляції та чутливістю до фотоперіоду перехрещуються, тому можна припускати взаємодію генів, що знаходяться в цих локусах [7, 8]. Припускаємо, що різні фактори, в тому числі та фотоперіод, можуть певним чином впливати на експресію тих чи інших генів, які можуть позначатися на відносинах «рослина-мікроорганізм», що, в свою чергу, впливає на розвиток рослин та формування врожаю.

Отже, метою дослідження є визначення впливу попередньої бактеризації штамом *Bradyrhizobium japonicum* 634b на формування структури врожаю ізогених за генами контролю фотоперіодичної чутливості ліній сої за умови довгого та короткого дня.

Матеріали і методи

Об'єкти дослідження. У роботі використовували майже ізогенні лінії (NILs) за генами

фотоперіодичної чутливості (*E*-серії) сої культурної (*Glycine max* (L.) Merr), що були створені на базі сорту Clark. Лінії були надані Національним центром генетичних ресурсів рослин України. Ізогенні лінії мають однаковий генотип, але відрізняються станом одного або більше локусів, тому вони є зручним модельним об'єктом для вивчення контролю генів *E*-серії фізіолого-біохімічних процесів у відповідь на фотоперіод. Для експерименту були вибрані лінії, у яких гени *E1*, *E2* та *E3* знаходяться в різному аallelному стані (табл. 1).

Інокуляцію проводили штамом *Bradyrhizobium japonicum* (Kirchner) 634b, який був наданий Інститутом сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН України, м. Чернігів. Цей штам є активним, вірулентним та є об'єктом багатьох досліджень [9].

Проведення досліду. Бактерії вирощували на середовищі для повільнорослих бульбочкових бактерій на гороховому відварі. Для бактеризації отримували суспензію клітин шляхом відмивки розчином NaCl (0,8 %) накопичувальної культури на твердому середовищі. Насіння сої стерилізували розчином 10 % перекису водню протягом 30 хв. Після чого насіння інокулювали суспензією бактерій кількістю 10^8 клітин/мл з розрахунку 300 тисяч клітин на насінину. Кількість клітин визначали фотометрично на КФК-2МП, вимірюючи оптичну щільність розчину при 600 нм. Для побудови калібрувального графіка, кількість клітин підраховували за методом Виноградського-Шульгіна-Бріда.

Польовий дослід проводили на експериментальній ділянці кафедри фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Тип ґрунту – чорнозем опідзолений важкосуглинковий. Сівбу проводили вручну на ділянку площею 1 м² в кінці травня 2021 р. Добрива та бактеріальні препарати під сою не вносили. Контролем слугувало насіння, що було оброблено дистильованою водою.

Таблиця 1. Ізогенні за генами контролю фотоперіодичної чутливості лінії сої, створені у генотипі сорту Clark (NILs)

Лінія	Генотип	Фотоперіодична реакція
Сорт Clark	<i>e1E2E3(E4e5E7)</i>	КДР
L 80-5879	<i>E1e2e3(E4e5E7)</i>	КДР
L 63-3117	<i>e1e2E3(E4e5E7)</i>	ФПН
L 71-920	<i>e1e2e3(E4e5E7)</i>	ФПН

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.). У фазу третього справжнього листка (V3) половину рослин піддавали впливу короткого 9-годинного фотоперіоду, а другу половину продовжували вирощувати на довгому 16-годинному фотоперіоді. Короткий фотоперіод створювали штучно, затемнюючи рослини світлонепроникними камерами з 17 до 9 години впродовж двох тижнів. Аналізували структуру врожаю, враховуючи довжину пагону, кількість бобів та насіння на рослину, а також масу 1000 зерен. Останній показник розраховували за ДСТУ 4138-2002 «Насіння сільськогосподарських культур. Методи визначення якості».

Статистична обробка даних. Отримані дані перевіряли на нормальний розподіл шляхом розрахунку критерію Шапіро-Уїлка. Для з'ясування відмінностей між отриманими даними використовували двофакторний дисперсійний аналіз з розрахунком сили впливу факторів (генотип та бактеризація) на показники (h^2).

Результати та обговорення

Довжина пагона. Отримані нами результати (табл. 2) показують, що КДР-лінії (сорт Clark та L 80-5879) на короткому дні за умови бактеризації істотно зменшують довжину пагона, у той час, як ФПН-лінії (L 63-3117, L 71-920) – істотно збільшують. Водночас на довгому дні спостерігаємо іншу тенденцію – довжина пагону КДР-ліній за умови бактеризації істотно збільшується, а ФПН-ліній – істотно зменшується. Варто зазначити, що при порівнянні контрольних варіантів на короткому та довгому дні відзначається збільшення довжини пагона на довгому дні (окрім лінії L 80-5879). Вважаємо, що це пов'язано з генотиповими особливостями рослин та їх реакцією на дію довгого дня. Водночас різнонаправлену тенденцію на короткому та довгому дні можна пояснити специфічною взаємодією генотипів ліній та *Bradyrhizobium japonicum* (Kirchner) 634b.

З розрахованої сили дії факторів та їх взаємодії (табл. 3), можна зробити висновок, що на короткому дні найбільший вплив на довжину пагона має генотип ($h^2 = 59,1\%$, $p < 0,05$) та взаємодія генотипу та фактору бактеризації ($h^2 = 33,6\%$, $p < 0,05$).

Таблиця 2. Вплив попередньої бактеризації *Bradyrhizobium japonicum* 634b на формування структури врожаю ізогенних за генами контролю фотоперіодичної чутливості лінії сої (NILs) за умови довгого та короткого дня

Лінія	Короткий день (9 годин)		Довгий день (16 годин)	
	Контроль	Бактеризація	Контроль	Бактеризація
Довжина пагона, см ($X \pm Sd$, $n = 20$)				
Сорт Clark	59,59±3,93	47,98±2,42*	73,28±4,31	90,69±7,25*
L 80-5879	54,52±3,28	46,03±3,60*	51,76±3,64	67,86±4,31*
L 63-3117	54,52±3,21	82,00±5,29*	67,08±4,05	44,60±3,52*
L 71-920	36,22±2,67	42,95±3,01*	60,85±4,06	45,93±3,64*
Кількість бобів, шт ($X \pm Sd$, $n = 20$)				
Сорт Clark	16,77±1,53	8,55±0,68*	13,57±1,13	12,81±1,21
L 80-5879	14,89±0,98	10,92±0,84*	10,22±0,62	20,57±1,83*
L 63-3117	12,00±2,24	18,00±1,21*	8,74±0,59	8,22±1,03
L 71-920	6,29±0,83	10,53±0,61*	10,40±0,73	14,06±1,33*
Кількість насіння, шт/рослину ($X \pm Sd$, $n = 20$)				
Сорт Clark	39,52±1,24	18,48±0,99*	30,80±1,15	29,95±1,23
L 80-5879	30,75±2,30	22,50±0,97*	21,22±1,92	44,72±1,79*
L 63-3117	25,10±2,48	43,86±2,37*	19,53±1,12	16,73±0,83*
L 71-920	13,79±1,07	22,15±1,62*	35,46±1,12	21,53±2,06*
Маса 1000, г ($X \pm Sd$, $n = 10$)				
Сорт Clark	139,16±1,59	137,64±1,98	71,96±1,68	83,29±2,50*
L 80-5879	156,01±1,54	158,90±3,18	114,12±1,41	114,52±1,08
L 63-3117	166,80±2,08	174,98±1,86*	127,90±2,41	118,62±2,66*
L 71-920	165,56±2,00	174,12±0,78*	185,42±1,70	182,46±2,69

Примітка. * – різниця показника за умови бактеризації у порівнянні з контролем істотна при $p < 0,05$.

Таблиця 3. Розраховані сили дії факторів на визначені показники структури врожаю ізогених ліній сої культурної, %

Фактори	Довжина пагона		Кількість бобів		Кількість насіння (на рослину)		Маса 1000 зерен	
	КД	ДД	КД	ДД	КД	ДД	КД	ДД
Генотип	59,1	57,0	36,9	42,0	36,8	39,4	80,2	85,1
Бактеризація	– ¹	–	–	17,1	–	–	8,8	–
Генотип × Бактеризація	33,6	36,7	54,9	34,1	60,6	57,8	2,2	1,8

Примітка. ¹ – відсутність розрахованого впливу.

Майже не відмінні показники спостерігаємо і на довгому дні – сила дії генотипу склала 57,0 % ($p < 0,05$) та взаємодії факторів генотипу та бактеризації – 36,7 % ($p < 0,05$). Фактор бактеризації окремо істотної дії не чинить.

Кількість бобів. Нами було визначено, що за короткого дня бактеризація *Bradyrhizobium japonicum* (Kirchner) 634b призводить до істотного зменшення кількості бобів у КДР-ліній та збільшення кількості бобів у ФПН-ліній. У той час, як за довгого дня у ліній, що мають ген *E3* у домінантному стані (сорт Clark та L 63-3117), кількість бобів за умов бактеризації істотно не змінюється. Проте у короткоденній лінії L 80-5879 (ген *E1* – у домінантному стані) та фотоперіодично нечутливої лінії L 71-920 (гени *e1*, *e2*, *e3* – у рецесивному стані) за умов бактеризації спостерігається істотне збільшення кількості бобів.

Аналіз даних показав, що на кількість бобів на короткому дні істотний вплив мають генотип рослин ($h^2 = 36,9$ %, $p < 0,05$) та взаємодія генотипу та фактору бактеризації ($h^2 = 54,9$ %, $p < 0,05$). Фактор бактеризації окремо істотного впливу не має. Але на довгому дні спостерігаємо інші тенденції – на кількість бобів істотно впливає генотип рослин ($h^2 = 42,0$ %, $p < 0,05$), фактор бактеризації ($h^2 = 17,1$ %, $p < 0,05$) та взаємодія обох факторів ($h^2 = 34,1$ %, $p < 0,05$).

Кількість насіння на рослину. За короткого дня спостерігаємо схожу тенденцію з вже описаними показниками – КДР-лінії за умов попередньої бактеризації зменшують кількість насіння на рослину. У той час як за довгого дня та умов бактеризації у короткоденного сорту Clark не спостерігаємо істотних змін, а у короткоденній лінії, що має ген *E1* у домінантному стані, визначається істотне збільшення кількості насіння. У ФПН-лініях на довгому дні відмічаємо істотне зниження цього показника у порівнянні з контролем.

Розраховано, що більший вплив на короткому та довгому дні має взаємодія факторів

бактеризації та генотипу (КД: $h^2 = 60,6$ %, $p < 0,05$; ДД: $h^2 = 57,8$ %, $p < 0,05$), ніж фактор генотипу окремо (КД: $h^2 = 36,8$ %, $p < 0,05$; ДД: $h^2 = 39,4$ %, $p < 0,05$). Фактор бактеризації за розрахунками на цей показник істотно не впливає.

Маса 1000. Це один із найважливіших показників структури врожаю, що відображає крупність та виповненість насіння, а отже, і визначення напряму використання сої (фуражний, кормовий, технічний напрям).

Виявлено, що за умови передпосівної обробки *Bradyrhizobium japonicum* 634b на короткому дні маса 1000 зерен КДР-ліній не має істотних відмінностей від контролю. У той час як ФПН-лінії за бактеризації мають істотне збільшення цього показника.

За умови дії довгого дня, порівнюючи контрольні варіанти з коротким днем відмічаємо різке зниження маси 1000 у ліній, які мають хоч один ген – *E1*, *E2*, *E3* у домінантному стані, та збільшення цього показника у лінії L 71-920 (гени *e1*, *e2*, *e3* – у рецесивному стані) При цьому порівнюючи бактеризовані рослини з контролем за умов довгого дня спостерігаємо відсутність впливу у короткоденній лінії L 80-5879 (ген *E1* – домінантний) та фотоперіодично нечутливої лінії L 71-920. Інші лінії демонструють різноспрямовану тенденцію: спостерігаємо істотне збільшення маси 1000 у сорту Clark (має домінантні гени *E2*, *E3*), та істотне зменшення у L 63-3117 (ген *E3* – домінантний), причому середнє значення маси 1000, як за бактеризації, так і без неї, у L 63-3117 значно більше, ніж у сорту Clark.

Розрахунки свідчать, що за довгого дня отримані результати обумовлені дією генотипу ($h^2 = 85,1$ %, $p < 0,05$) та взаємодією генотипу та фактору бактеризації ($h^2 = 1,8$ %, $p < 0,05$). Водночас на короткому дні істотний вплив на цей показник має генотип ($h^2 = 80,2$ %, $p < 0,05$), фактор бактеризації ($h^2 = 8,8$ %, $p < 0,05$) та взаємодія цих факторів ($h^2 = 2,2$ %, $p < 0,05$).

Висновки

В експерименті було досліджено вплив попередньої бактеризації на формування структури врожаю ліній сої культурної, що належать до різних фотоперіодичних груп за умови дії довгого та короткого дня.

На короткому дні спостерігаємо однакові тенденції – за умови бактеризації відмічене істотне зменшення довжини пагона, кількість бобів та насіння на рослину у короткоденних ліній; і, водночас – істотне збільшення у фотоперіодично нечутливих ліній. Варто зазначити про відсутність за умов бактеризації істотних змін у КДР-ліній за показником маси 1000.

На довгому дні спостерігаємо більш складні закономірності, які, припускаємо, пов'язані з більш тісною та специфічною взаємодією генотипу рослин та мікроорганізмів. Так, за довгого дня спостерігаємо збільшення довжини пагона у КДР ліній, і навпаки – зменшення у ФПН-ліній. Кількість бобів за бактеризації істотно не змінюється у ліній, що мають ген *E3* у домінантному стані. Водночас, за тих же умов

та за домінантного стану гену *E1* і рецесивного стану генів *e1*, *e2*, *e3* – спостерігаємо істотне збільшення цього показника. За домінантного стану гена *E1* (при умові бактеризації) спостерігаємо також істотне збільшення кількості насіння на рослину. За домінантного гену *E3*, та рецесивного стану генів *e1*, *e2*, *e3* відмічаємо значуще зменшення кількості насіння на рослину у варіанті з бактеризацією у порівнянні з контролем. Збільшення маси 1000 за умови бактеризації спостерігаємо у лінії, що має ген *E2* у домінантному стану, і навпаки – зменшення у лінії, що має ген *E3* у домінантному стані.

Таким чином, було визначено, що генотип та його взаємодія з фактором бактеризації має найбільший вплив на досліджувані показники.

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.

References

1. The 2022 sowing campaign has been completed in Ukraine. *Ministry of Agrarian Policy and Food of Ukraine*. Retrieved from: <https://minagro.gov.ua/news/v-ukrayini-zavershena-positivna-kampaniya-2022>. [in Ukrainian]
2. Tsubokura Y., Watanabe S., Xia Z. et al. Natural variation in the genes responsible for maturity loci E1, E2, E3 and E4 in soybean. *Ann. Bot.* Vol. 113 (3). P. 429–441. doi: 10.1093/aob/mct269.
3. Xia Z., Watanabe S., Yamada T. et al. Positional cloning and characterization reveal the molecular basis for soybean maturity locus E1 that regulates photoperiodic flowering. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Vol. 109, No. 32. doi: 10.1073/pnas.1117982109.
4. Zhao C., Takeshima R., Zhu J. et al. A recessive allele for delayed flowering at the soybean maturity locus E9 is a leaky allele of FT2a, a FLOWERING LOCUS T ortholog. *BMC Plant Biol.* Vol. 16 (1). P. 20. doi: 10.1186/s12870-016-0704-9.
5. Mishra P., Panigrahi K. C. GIGANTEA – an emerging story. *Frontiers in Plant Science*. Vol. 6. 26.01.2015. doi: 10.3389/fpls.2015.00008.
6. Hayat R., Ahmed I., Sheirdil R. A. An Overview of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) for Sustainable Agriculture. *Crop Production for Agricultural Improvement*. ed. M. Ashraf., M. Öztürk., M. S. A. Ahmad. et al. Dordrecht : Springer Netherlands, 2012. P. 557–579. doi: 10.1007/978-94-007-4116-4_22.
7. Yang Y., Zhao Q., Li X. et al. Characterization of Genetic Basis on Synergistic Interactions between Root Architecture and Biological Nitrogen Fixation in Soybean. *Front. Plant Sci.* Vol. 8. 23.08.2017. P. 1466. doi:10.3389/fpls.2017.01466
8. Integrating Genetics and Genomics to Advance Soybean Research. Retrieved from: <https://www.soybase.org>.
9. Melnykova N. M., Kots S. Ya. Effect of goat's-rue Rhizobia on the formation and functioning of the soybean – *Bradyrhizobium japonicum* 634b symbiosis. *Agricultural microbiology*. Vol. 29, 17.10.2019. P. 29–36. doi: 10.35868/1997-3004.29.29-36 [in Ukrainian].

HLUSHACH D. V., AVKSENTYEVA O. O.

V. N. Karazin Kharkiv National University,
Ukraine, Kharkiv

THE INFLUENCE OF BACTERIZATION ON THE FORMATION OF THE CROP STRUCTURE OF SOYBEAN ISOGENIC LINES BY E-GENES IN CONDITIONS OF DIFFERENT PHOTOPERIOD

Aim. To study the effect of treatment with the *Bradyrhizobium japonicum* 634b strain on the formation of the crop structure of soybean lines isogenic by photoperiodic sensitivity control genes, under conditions of long and short days.

Methods. The experiment was done in the field. After sterilization, the seeds were treated with *Bradyrhizobium japonicum* 634b and planted in the soil; control test - seeds treated with distilled water. Plants were grown under natural long day conditions (16 h), in phase V3 the experimental plants were exposed to (artificially created) short day (9 h) for two weeks. The elements of the crop structure were analyzed. **Results.** In the short day condition and bacterization, we ob-

serve a significant decrease in the shoot length, the number of pods and seeds in short-day lines, and at the same time a significant increase in the indicators in long-day lines. In the long day condition, we observe more complex regularities, which, we assume, are associated with a closer and more specific interaction between the plant genotype and microorganisms. **Conclusions.** It was revealed that the genotype and its interaction with the bacterization factor has the greatest influence on the studied indicators, both under short and long day conditions.

Keywords: *Glycine max* (L.) Merr, *E*-genes, photoperiodic response, crop structure, bacterization, *Bradyrhizobium japonicum*.