

УДК 581.133.138.1

ФІЗИОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РОЗВИТКУ ЛЮЦЕРНИ ЗА ІНОКУЛЯЦІЇ ЗМІШАНИМИ КУЛЬТУРАМИ АЗОТФІКСУВАЛЬНИХ МИКРООРГАНІЗМІВ

Н.А.ВОРОБЕЙ,¹ О.В. ПАЦКО,² С.Я. КОЦЬ,¹ Т.В. ПАРШИКОВА²

¹Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка
01033 Київ, вул. Володимирська, 64

В умовах вегетаційного дослідження досліджували динаміку утворення бульбочок, інтенсивність азотфіксації, наростання надземної маси та ризогенез у люцерни, інокульованої моно- й бінарними композиціями на основі бульбочкових бактерій *Sinorhizobium meliloti* і синьозеленої водорості *Nostoc commune*. Показано, що *N. commune* у результаті сумісної інокуляції з бульбочковими бактеріями впливає на симбіотичні властивості ризобій залежно від їх генотипу. Зміна інтенсивності азотфіксації у симбіотичних системах люцерни засвідчує різну реакцію партнерів симбіозу на дію *N. commune*. Найефективнішою виявилась інокуляція люцерни альгоризобіальною сумішшю *S. meliloti* T17 + *N. commune*, яка стимулювала вегетативний ріст і сприяла підвищенню її продуктивності на 15,5 % порівняно з моноінокуляцією Tn5-мутантом T17 *S. meliloti*.

Ключові слова: *Sinorhizobium meliloti*, *Nostoc commune*, Tn5-мутанти, синьозелені водорості, симбіоз, люцерна, азотфіксація.

Фізіологічні особливості розвитку бобових культур у природних умовах залежать від виду і сорту бобової рослини, штаму ризобій, типу ґрунту, попередника, кліматичних умов, використаних добрив, пестицидів, агротехніки та багатьох інших чинників [16]. Ефективна взаємодія бульбочкових бактерій з бобовими рослинами забезпечує активацію низки метаболічних процесів їх життєдіяльності й насамперед фіксацію атмосферного азоту. У результаті цього поліпшується живлення рослин, підвищується їх продуктивність, зростає якість сільськогосподарської продукції [15].

Перспективними об'єктами біотехнології є синьозелені водорості (ціанобактерії), які здатні до оксигенного фотосинтезу, а окремі види — і до азотфіксації. Ціанобактерії містять комплекс речовин, що активують ріст, позитивно впливають на кореневу систему рослин [7, 18], підвищують родючість ґрунтів та вміст у них азоту [3, 13, 23], внаслідок накопичення органічних речовин [12] стимулюють активність ґрунтової біоти, чинять фітосанітарний ефект [20]. Позитивний поліфункціональний вплив різних генотипів азотфіксувальних мікроорганізмів (бульбочкових бактерій і синьозелених водоростей) на рослини спонукає до пошуку шляхів ефективного поєднання їхніх агрономічно корисних ознак і застосування цих біологічних чинників стимуляції розвитку рослин у практиці сільськогосподарського виробництва.

У природі синьозелені водорості існують в угрупованнях, які включають різноманітні хемоорганотрофні бактерії [11, 22]. Показано можливість заміни природних бактеріальних супутників синьозелених водоростей на попередньо запрограмовану мікрофлору спрямованої дії [7, 14]. Перспективним напрямом досліджень у сфері агроєкології є створення штучних симбіотичних асоціацій *Nostoc* із видами бактерій, які нині широко використовують в агробіопрепаратах: *Rhizobium leguminosarum*, *Rh. galegae*, *S. meliloti*, *Bradyrhizobium japonicum*, *Azospirillum lipoferum*, *Agrobacterium radiobacter*, *Pseudomonas fluorescens*.

Відомо, що в сумісній культурі водорості можуть як стимулювати ріст і розвиток бактерій, так і зменшувати їх чисельність, що пов'язано з виділенням метаболітів [12]. Серед причин також можуть бути: конкуренція за поживні речовини, високі значення рН, антибіотиків, продуктів розкладання старих клітин водоростей, високий окисно-відновний потенціал. Водночас бактерії, як і водорості, чинять двоякий вплив на своїх ценобіонтів — стимулювальний та інгібувальний — залежно від складу і стану змішаної культури [8].

Вивчення впливу асоціацій бульбочкових бактерій *S. meliloti* і синьозелених водоростей на формування і функціонування бобово-ризобіального симбіозу та продуктивність люцерни є новим етапом на шляху створення біопрепаратів для підвищення продуктивності багаторічних бобових трав. Проте потрібно вирішити низку питань: сумісність мікроорганізмів-партнерів у штучних асоціаціях, спосіб їх внесення у ризосферу бобових рослин, кількісне співвідношення азотфіксувальних мікроорганізмів та якісний склад у консортах тощо.

У результаті лабораторних досліджень, проведених нами раніше, встановлено, що альгоризобіальні композиції стимулюють енергію проростання, схожість насіння, сприяють збільшенню довжини та кількості нормально сформованих проростків рослин люцерни [17].

Метою роботи було дослідження впливу композицій на основі синьозеленої водорості *Nostoc commune* і бульбочкових бактерій *Sinorhizobium meliloti* на фізіологічні особливості росту, розвитку та симбіотичної азотфіксації люцерни.

Методика

Вегетаційні досліди проводили з люцерною (*Medicago sativa* L.) сорту Ярославна селекції Інституту землеробства УААН. Рослини вирощували у 10-кілограмових пластикових посудинах по 12 у кожній на промитому річковому піску, збагаченому сумішшю Гельрігеля із 0,25 норми азоту за вологості субстрату 60 % і природного освітлення (1 норма відповідає 708 мг $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ на 1 кг піску). Насіння люцерни поверхнево стерилізували концентрованою сірчаною кислотою упродовж 5 хв, промивали проточною водопровідною водою і протягом 60 хв інокулювали моно- й бінарними суспензіями, виготовленими на основі бульбочкових бактерій *S. meliloti* та синьозеленої водорості *N. commune*.

Культури бульбочкових бактерій *S. meliloti*: 425a (виробничий), AC08 (реізолят) і Tn5-мутанти I-7 і T17 взяті з колекції азотфіксувальних мікроорганізмів Інституту фізіології рослин і генетики НАН України. Tn5-мутанти отримані внаслідок міжродової кон'югації між *Escherichia coli* (pSUP2021::Tn5) і *S. meliloti* за методикою, описаною в праці Новикової та співавт. [10], і відібрані за поліпшеними симбіотичними властивос-

тями з-поміж інших генетично змінених бульбочкових бактерій. Штами *S. meliloti* 425a та AC08 вирощували на агаризованому середовищі 79 [21], Tn5-мутанти — на цьому ж середовищі з канаміцином (200 мкг/мл) за 28 °С. Колби з рідким середовищем 79 засівали водними суспензіями бактерій (змив з одного косяка) і культивували на качалці за температури 27–28 °С упродовж 3 діб. Синьозелену водорість *N. commune* (із колекції Інституту гідробіології НАН України) культивували на середовищі Фітцджеральда в модифікації Цендера й Горем (N 11) [19] у колбах Ерленмейера за 22 ± 2 °С й освітленості 4500–5000 лк до стаціонарної фази росту. Бінарні композиції мікроорганізмів отримували змішуванням монокультур бульбочкових бактерій (10^9 клітин/мл) і синьозеленої водорості ($C_{\text{хл}} = 1506,6 \pm 13,4$ мкг/л, $\Delta F = 0,088$) в об'ємному співвідношенні 1:1. Концентрацію хлорофілу ($C_{\text{хл}}$) в клітинах водорості визначали методом диференціальної флуориметрії з використанням Planctofluometer FL300-3M розробки Красноярського університету [4, 9]. Ступінь (показник) життєздатності клітин, або їх потенційну фотосинтетичну активність (ΔF), встановлювали за різницею інтенсивностей флуоресценції до і після внесення симазину як інгібітора електронного транспорту фотосинтезуючих клітин [4, 9]. Контролями у досліді слугували варіанти з обробкою насіння монокультурою *S. meliloti* і *N. commune*. Абсолютний контроль — варіант зі зволоженням насіння люцерни водопровідною водою. Повторність досліду — семиразова. Протягом вегетаційного періоду рослини люцерни відбирали тричі у фази: стеблуння (32-а доба після сходів насіння), бутонізації (40-а доба) і цвітіння (50-а доба). Ацетиленвідновлювальну активність бульбочок люцерни визначали за методом Харді [24] на газовому хроматографі й обчислювали у мікромолях утвореного етилену на 1 рослину за 1 год. Ефективність інокуляції альгоризобіальними композиціями оцінювали за формуванням симбіотичного апарату, інтенсивністю азотфіксації, вегетативним ростом і продуктивністю люцерни. Результати оброблено статистично за методикою Доспехова [6] та програмою Excel.

Результати та обговорення

Ефективність комплексної бактеризації люцерни зумовлюється низкою чинників, з-поміж яких сумісність культур бульбочкових бактерій і синьозелених водоростей в асоціації впливає на формування симбіотичного апарату рослин [2]. У лабораторних дослідях із чистими культурами *N. commune* і *S. meliloti* ми виявили, що синьозелені водорості пригнічують або стимулюють розмноження бульбочкових бактерій залежно від досліджуваного генотипу ризобій (рис. 1). Зокрема, якщо ризобіальний газон на поверхні агаризованого середовища 79 формувався бульбочковими бактеріями *S. meliloti* 425a або AC08, то наявність у його центральній частині *N. commune* з часом призводила до появи дисків пригнічення росту цих ризобій (див. рис. 1, а). В аналогічних дослідях із культурами Tn5-мутантів *S. meliloti* виявлено зону стимуляції репродукції клітин бульбочкових бактерій навколо колоній *N. commune* (див. рис. 1, б). Отримані нами результати узгоджуються з літературними даними, адже відомо, що синьозелені водорості є продуцентами не лише біологічно активних речовин, а й можуть чинити бактеріостатичний ефект внаслідок синтезу антибіотиків [5].

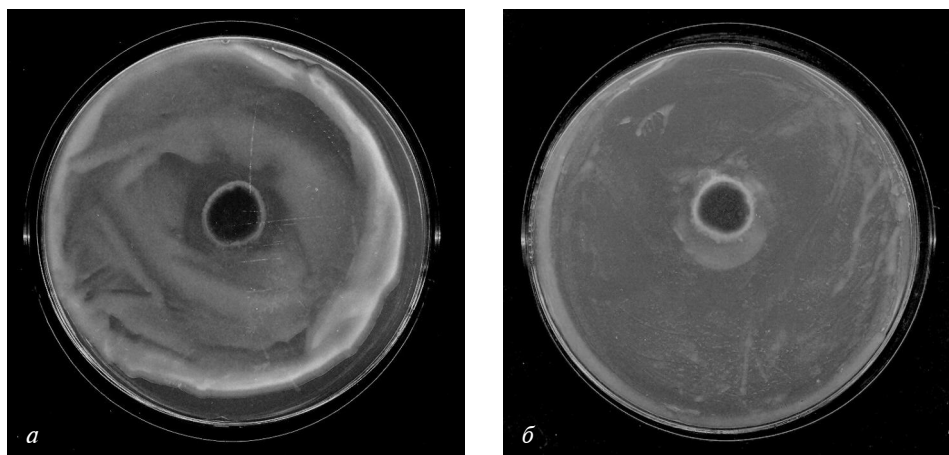


Рис. 1. Вплив *Nostoc commune* на ріст культур бульбочкових бактерій *S. meliloti*:
 а — зона пригнічення росту *S. meliloti* 425а; б — зона стимуляції росту Tn5-мутант Т17

Вивченням динаміки утворення симбіотичних органів та азотфіксуральної активності (АФА) люцерни в умовах вегетаційного дослідження виявлено неоднозначний характер змін цих показників за участю у симбіозі різних штамів бульбочкових бактерій *S. meliloti*, які зазнали безпосереднього впливу альгологічно чистої (аксенічної) культури *N. commune*. Рослини, інокульовані моно- і бінарними суспензіями на основі штамів *S. meliloti* 425а і АС08, істотно різнились за кількістю утворених бульбочок у ранній період формування симбіотичного апарату люцерни (табл. 1, фаза стеблуння). Зменшення кількості і загальної маси бульбочок у люцерни, інокульованої сумішами *S. meliloti* 425а + *N. commune* або *S. meliloti* АС08 + *N. commune*, ослабило інтенсивність симбіотичної азотфіксації рослин цих варіантів порівняно з рослинами, обробленими відповідно штамми 425а і АС08 у фазу стеблуння (рис. 2). На підставі отриманих результатів ми дійшли висновку про наявність депресивного впливу ціанобактерій *N. commune* на штами 425а і АС08 *S. meliloti* у процесі сумісної інокуляції ними насіння люцерни. Вірогідно, *N. commune* відіграв роль чинника, який ослабив інтенсивність інвазії бульбочкових бактерій 425а і АС08 *S. meliloti* до коренів люцерни, внаслідок чого сповільнились процеси нодуляції. У подальшому в цих рослин загальна кількість бульбочок збільшилась, проте переважала частка дрібних, можливо через інтродукцію ризобій *S. meliloti* 425а і АС08 з насінням у субстрат, розмноження їх і вторинне інфікування люцерни (див. табл. 1). Механізм впливу *N. commune* на бульбочкові бактерії цілком не досліджений і потребує уточнення. Зі збільшенням кількості бульбочок (дрібних) у фазу бутонізації (див. табл. 1) у люцерни, інокульованої сумішами АС08 + *N. commune* або 425а + *N. commune*, її загальна АФА зростає, але це не забезпечило істотних переваг бінарної інокуляції за цим показником у цю (бутонізація) та наступну (бутонізація—початок цвітіння) фази вегетації рослин (див. рис. 2). Отже, рослини, бактеризовані монокультурами 425а або АС08 *S. meliloti* і відповідно їхніми сумішами із *N. commune*, за азотфіксуральною активністю з урахуванням похибки дослідження істотно не відрізнялись (див. рис. 2). Втім різниця за кількістю бульбочок між цими рослинами, яка нівелювалась у фазу бутонізації люцерни, в процесі вегетації рослин поступово набувала тенденції до збільшення

ТАБЛИЦЯ 1. Кількість бульбочок на коренях люцерни, інкульованої моно- й бінарними сумішами мікроорганізмів (бульбочкові бактерії + *Nostoc commune*, вегетативний дослід)

Інокулянт	Фаза розвитку					
	Стеблування		Бутонізація		Бутонізація—початок цвітіння	
	Моноінокуляція	Бінарна інокуляція	Моноінокуляція	Бінарна інокуляція	Моноінокуляція	Бінарна інокуляція
Без інокуляції	0	0	0	0	0	0
<i>N. commune</i>	0	0	0	0	0	0
АС08	9,5 ± 1,0	4,5 ± 0,8	24,0 ± 3,0	20,0 ± 2,0	50,0 ± 6,5	65,0 ± 6,8
425а	13,0 ± 0,7	5,0 ± 0,5	25,0 ± 0,8	21,5 ± 2,5	65,0 ± 0,8	46,0 ± 6,5
Тп5-мутант І-7	11,0 ± 1,5	16,0 ± 0,6	19,0 ± 0,3	44,2 ± 0,6	38,0 ± 4,0	51,0 ± 9,0
Тп5-мутант Т17	12,0 ± 1,0	14,0 ± 0,6	30,0 ± 8,5	57,0 ± 8,0	45,0 ± 0,5	70,0 ± 7,5

ТАБЛИЦЯ 2. Маса бульбочок на коренях люцерни, інкульованої моно- та бінарними сумішами азотфіксувальних мікроорганізмів (бульбочкові бактерії + *Nostoc commune*, вегетативний дослід)

Інокулянт	Фаза розвитку бутонізація — початок цвітіння	
	Маса бульбочок, г/рослину	
	Моноінокуляція	Бінарна інокуляція
Без інокуляції	0	0
<i>N. commune</i>	0	0
АС08	0,056 ± 0,01	0,063 ± 0,01
425а	0,062 ± 0,006	0,065 ± 0,001
Тп5-мутант І-7	0,123 ± 0,03	0,150 ± 0,014
Тп5-мутант Т17	0,135 ± 0,02	0,160 ± 0,02

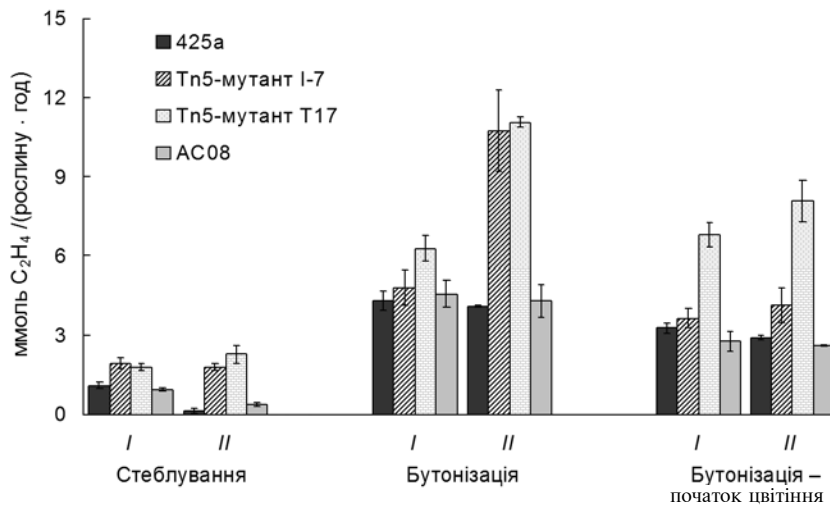


Рис. 2. Динаміка азотфіксуючої активності люцерни (ммоль С₂Н₄/(рослину · год)), інокульованої моно- й бінарними суспензіями мікроорганізмів (бульбочкові бактерії + *Nostoc commune*):

I – моноінокуляція (*S. meliloti*); II – сумісна інокуляція (*S. meliloti* + *N. commune*)

(див. табл. 1). У період формування генеративних органів (початок цвітіння) за цим показником з-поміж інших домінували рослини, інокульовані сумішами AC08 + *N. commune* і T17 + *N. commune*.

У результаті досліджень виявлено також особливості функціонування бобово-ризобіальних систем люцерни, сформованих внаслідок інокуляції її композиціями Tn5-мутант *S. meliloti* + *N. commune*. У фазу молодих бульбочок (у люцерни — фаза стеблування), коли процес азотфіксації ще малоактивний, відмінність за АфА між відповідними варіантами з моно- і бінарною інокуляцією за участю Tn5-мутантів T17 і I-7 (див. рис. 2) була неістотною. Однак у фази бутонізації і бутонізації—початку цвітіння за АфА значно переважали бульбочки рослин, інфікованих сумішами I-7 + *N. commune* і T17 + *N. commune*. У цьому разі рівень АфА мабуть залежав від сумісності партнерів у інокуляційній суспензії, генетично детермінованої активності нітрогеназного комплексу мікросимбіонта й модулювального впливу ціанобактерій. Доказом певної регуляторної ролі *N. commune* у формуванні бульбочок є їх більша маса в фазу бутонізації—початку цвітіння (табл. 2) у люцерни, інокульованої альгоризобіальними композиціями на основі *N. commune* і Tn5-мутантів T17 або I-7.

Слід зауважити, що Tn5-мутант T17 *S. meliloti* серед залучених штамів-інокулянтів характеризується найбільшою інтенсивністю асиміляції атмосферного азоту [1]. Використання його як складової інокуляційної суміші забезпечило збільшення азотфіксуючої активності бульбочок люцерни у фазу бутонізації й подовження періоду активної фіксації азоту в фазу бутонізації—початку цвітіння (див. рис. 2) порівняно з іншими інокульованими рослинами.

Передпосівна обробка насіння змішаними суспензіями посилювала ризогенез люцерни (табл. 3). Найбільший приріст маси коренів зафіксовано в рослин, інокульованих композиціями T17 + *N. commune* і AC08 + *N. commune* порівняно з моноризобіальною інокуляцією їх відповідно T17 і AC08 *S. meliloti*.

ТАБЛИЦЯ 3. Маса коренів люцерни, інюльованої моно- й бінарними сумішами мікроорганізмів (бульбочкові бактерії + *Nostoc commune*, вегетативний дослід)

Інокулянт	Фаза розвитку							
	Стеблуння		Бутонізація		Бутонізація—початок цвітіння		Бінарна інокуляція	
	Моноінокуляція	Бінарна інокуляція	Моноінокуляція	Бінарна інокуляція	Моноінокуляція	Бінарна інокуляція	Моноінокуляція	Бінарна інокуляція
Без інокуляції	0,12 ± 0,007	—	1,12 ± 0,11	—	2,25 ± 0,16	—	0	—
<i>N. commune</i>	0,18 ± 0,09	—	1,79 ± 0,09	—	2,11 ± 0,15	—	—	—
425a	0,16 ± 0,01	0,22 ± 0,01	1,64 ± 0,13	1,82 ± 0,10	1,95 ± 0,16	1,95 ± 0,16	1,95 ± 0,64	3,13 ± 0,27
АС08	0,11 ± 0,04	0,27 ± 0,06	0,70 ± 0,06	1,35 ± 0,11	2,65 ± 0,24	2,65 ± 0,24	2,53 ± 0,23	2,53 ± 0,23
Тп5-мутант І-7	0,12 ± 0,06	0,19 ± 0,009	1,48 ± 0,07	1,69 ± 0,10	2,33 ± 0,16	2,33 ± 0,16	2,95 ± 0,29	2,95 ± 0,29
Тп5-мутант Т17	0,15 ± 0,07	0,22 ± 0,007	1,22 ± 0,11	1,82 ± 0,1	2,59 ± 0,24	2,59 ± 0,24	—	—

ТАБЛИЦЯ 4. Продуктивність люцерни сорту Ярославна, інюльованої змішаними суспензіями на основі синьозелених водоростей і бульбочкових бактерій (вегетативний дослід)

Інокулянт	Урожай, г/посудину				% до моноінокуляції
	І уквіс, 10.07.08	ІІ уквіс, 08.08.08	Сумарний урожай	Сумарний урожай	
Без інокуляції	19,45 ± 1,33	24,93 ± 1,29	44,38	44,38	
<i>N. commune</i>	24,90 ± 0,98	31,64 ± 2,06	56,54	56,54	
425a	22,52 ± 0,88	32,14 ± 0,70	54,66	54,66	
АС08	29,55 ± 2,26	31,59 ± 1,23	61,14	61,14	
Тп5-мутант І-7	22,50 ± 0,78	28,90 ± 1,83	51,40	51,40	
Тп5-мутант Т17	28,0 ± 0,88	36,50 ± 1,54	64,50	64,50	
425a + <i>N. commune</i>	23,0 ± 1,33	33,96 ± 1,13	56,96	56,96	104,2
АС08 + <i>N. commune</i>	26,12 ± 2,02	40,61 ± 0,70*	66,73	66,73	109,1
Тп5-мутант І-7 + <i>N. commune</i>	26,39 ± 0,58*	30,26 ± 1,62	56,65	56,65	110,2
Тп5-мутант Т17 + <i>N. commune</i>	30,08 ± 1,08	44,40 ± 0,95*	74,48	74,48	115,5
НП _{0,05}	3,46	4,14			

*Різниця вірогідна порівняно з аналогічним варіантом (моноінокуляція) без застосування *N. commune*.

Особенности взаимодействия симбиопартнеров за умов штучної бактеризації рослин змішаними суспензіями зумовили відмінності урожаю зеленої маси люцерни між варіантами з моно- та бінарною інокуляцією (табл. 4). В умовах вегетаційного дослідження люцерна сорту Ярославна, бактеризована суспензіями I-7 *N. commune* і T17 + *N. commune*, за продуктивністю (урожай надземної маси рослин за два укоси) перевищувала відповідно на 10,2 і 15,5 % варіанти з обробкою мутантами I-7 і T17. Про збільшення продуктивності люцерни, інокульованої суспензіями на основі 425a + + *N. commune* і AC08 + *N. commune*, може йтися лише як про тенденцію, оскільки різниця між варіантами за моно- й бінарної інокуляції з урахуванням похибки дослідження була недостовірною (див. табл. 4).

Таким чином, передпосівна обробка насіння композиціями азотфіксувальних мікроорганізмів (бульбочкові бактерії *S. meliloti* + синьозелені водорості *N. commune*) сприяє активізації процесів асиміляції атмосферного азоту і стимулює вегетативний ріст люцерни. Проте в окремих випадках вплив бінарних суспензій азотфіксувальних мікроорганізмів порівняно з моносуспензіями неістотний або ослаблює симбіотичні властивості ризобіопартнера на окремих етапах розвитку симбіозу. Отже, *N. commune* різноспрямовано впливає на симбіотичні властивості ризобіопартнерів симбіозу залежно від їх генотипу.

1. Воробей Н.А., Коць С.Я., Маменко П.М. Рівень активності азотфіксації симбіотичних систем люцерни в залежності від генетичних особливостей штаму // Тези наук. конф. молодих учених «Сучасні проблеми фізіології рослин і біотехнології» (Ужгород, 1—3 грудня, 2005). — Ужгород, 2005. — С. 34.
2. Воробей Н.А., Коць С.Я., Пацко О.В., Паршикова Т.В. Вплив інокуляції насіння азотфіксуючими мікроорганізмами на ріст та розвиток рослин люцерни // Вісн. Київ. нац. ун-ту імені Тараса Шевченка. Сер. Біологія. — 2005. — 45—46. — С. 31—33.
3. Гозотов И.Н. Биологическое взаимодействие в симбиозах азоллы с микроорганизмами // Материалы Всерос. конф. с междунар. участием (Саратов, 25—27 сентября, 2007). — Саратов, 2007. — С. 15.
4. Гольд В.М., Гаевский Н.А., Григорьев Ю.С. и др. Теоретические основы и методы изучения флуоресценции хлорофилла. — Красноярск: Изд-во Красноярск. ун-та, 1984. — 84 с.
5. Громов Б.В. Цианобактерии в биосфере // Соросовский образовательный журн. — 1996. — № 9. — С. 33—39.
6. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. — М.: Агропромиздат, 1985. — 352 с.
7. Калинин А.А. Цианобактерии как возможные компоненты diaзотрофных микробных ассоциаций и их влияние на растение: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Москва, 1995. — 23 с.
8. Максимова И.В. Биология автотрофных микроорганизмов. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1966. — 305 с.
9. Мусієнко М.М., Паршикова Т.В., Славний П.С. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. — К., 2001. — С. 99—101.
10. Новикова Н.И., Шарыпова Л.А., Симаров Б.В. Транспозонный мутагенез у штамма СХМ1-105 *Rhizobium meliloti* // Молекул. генетика, микробиология, вирусология. — 1986. — № 8. — С. 32—35.
11. Панкратова Е.М., Зяблых Р.Ю., Калинин А.А. и др. Конструирование микробных культур на основе синезеленой водоросли *Nostoc paludosum* Kutz. // Альгология. — 2004. — 14, № 6. — С. 445—458.
12. Панкратова Е.М., Мезенцева Г.В. Деструкция клеток синезеленых водорослей в почве // Биол. науки. — 1985. — № 3. — С. 95—100.
13. Панкратова Е.М. Участие цианобактерий в круговороте азота в почве и создании ее плодородия // Успехи микробиологии. — 1987. — 27. — С. 212—242.
14. Панкратова Е.М., Трефилова Л.В., Зяблых Р.Ю., Устюжанин И.А. Цианобактерии *Nostoc paludosum* Kutz. как основа для создания агрономически полезных микробных ассоциаций на примере бактерий р. *Rhizobium* // Микробиология. — 2008. — 77, № 2. — С. 266—272.
15. Патики В.П., Коць С.Я., Волкогон В.В. та ін. Біологічний азот / За ред. В.П. Патики. — К.: Світ, 2003. — 424 с.
16. Патыка В.Ф., Толкачев Н.З., Бутвина Ю.З. Основные направления оптимизации симбиотической азотфиксации в современной земледелии Украины // Физиология и биохимия культ. растений. — 2005. — 37, № 5. — С. 384—393.

17. Пацко О.В., Воробей Н.А. Вплив комбінованої інокуляції азотфіксуєчими мікроорганізмами на формування проростків бобових рослин // Молодь і поступ біології: Зб. тез IV міжнар. наук. конф. студентів і аспірантів (Львів, 7—10 квітня, 2008 р.). — Львів, 2008. — С. 398—399.
18. Романова Н.Н., Селях И.О., Семенова Л.Р., Гусев М.В. Перспективы использования синезеленых водорослей для повышения продуктивности сельскохозяйственных растений // Микроорганизмы в сельском хозяйстве: Тез. докл. IV Всесоюз. науч. конф. (Пушино, 20—24 октября 1992). — Пушино, 1992. — С. 171.
19. Сиренко Л.А., Рыбак Н.В., Паршикова Т.В., Пахомова М.Н. Коллекция живых культур микроскопических водорослей. — Киев, 2005. — С. 54.
20. Трефилова Л.В., Пегушина О.А., Огородников О.Н. Фитосанитарный эффект цианобактерий // 60 лет высш. аграр. образ. северо-востока Нечерноземья: Материалы I Всерос. науч.-практ. конф. — Киров, 2004. — С. 161—163.
21. Allen O.N. Experiments in Soil Bacteriology. 3rd end. — Minneapolis: Burges Publ. Co., 1959. — 54 p.
22. Douglas A.E. Symbiotic interaction. — Oxford. etc.: Oxford Univ. Press, 1994. — 148 p.
23. Fogg G.E., Steuart W.D.P., Fay P., Walsby A.E. The blue-green algae. — London: Academy, 1973. — 459 p.
24. Hardy R.W.F., Holsten R.D., Jackson E.K., Burns R.C. The acetylene-ethylene assay for N₂ fixation: laboratory and field evaluation // Plant Physiol. — 1968. — 42, N 8. — P. 1185—1207.

Отримано 12.01.2009

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ЛЮЦЕРНЫ ПРИ ИНОКУЛЯЦИИ СМЕШАННЫМИ КУЛЬТУРАМИ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Н.А. Воробей,¹ О.В. Пацко,² С.Я. Коць,¹ Т.В. Паршикова²

¹Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

²Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко

В условиях вегетационного опыта исследовали динамику образования клубеньков, интенсивность азотфиксации, нарастание надземной массы и ризогенез у люцерны, инокулированной моно- и бинарными композициями на основе клубеньковых бактерий *Sinorhizobium meliloti* и синезеленой водоросли *Nostoc commune*. Показано, что *N. commune* вследствие совместной инокуляции с клубеньковыми бактериями влияет на симбиотические свойства ризобий в зависимости от их генотипа. Изменение интенсивности азотфиксации в симбиотических системах люцерны свидетельствует о разной реакции партнеров симбиоза на действие *N. commune*. Наиболее эффективной оказалась инокуляция люцерны альгоризобиальной смесью *S. meliloti* T17 + *N. commune*, которая стимулировала вегетативный рост и способствовала повышению ее продуктивности на 15,5 % по сравнению с моноинокуляцией Tn5-мутантом T17 *S. meliloti*.

PHYSIOLOGICAL TRAITS OF ALFALFA PLANTS DEVELOPMENT UNDER THE INOCULATION BY MIXED NITROGEN FIXING MICROORGANISMS CULTURES

Н.А. Vorobey,¹ О.В. Patsko,² С.Я. Kots,¹ Т.В. Parshikova²

¹Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine

31/17 Vasylykivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

²Kyiv National Taras Shevchenko University

64 Volodymyrska St., Kyiv, 01033, Ukraine

The dynamics of nodules formation, nitrogen fixation activity, accumulation of above-ground mass and rhizogenesis of alfalfa plants inoculated with various mono- and binary compositions on the basis of nodule bacteria *Sinorhizobium meliloti* and cyanobacteria *Nostoc commune* was studied in greenhouse experiments. It was shown that *N. commune* used together with nodule bacteria had affected symbiotic properties of rhizobia dependently to its genotype. Changes in nitrogen fixation activity of symbiotic systems of alfalfa had demonstrated different reaction of symbiosis partners on the action of *N. commune*. Plants inoculation with algorithobial composition of *S. meliloti* T17 + *N. commune* had appeared to be the most effective due to the growth stimulation effect and yield increase by 15.5 % as compared to the single application of Tn5-mutant T17 *S. meliloti*.

Key words: *Sinorhizobium meliloti*, *Nostoc commune*, Tn5-mutants, cyanobacteria, symbiosis, alfalfa, nitrogen fixation.