

АЗОТФІКСУЮЧІ МІКРОБНО-РОСЛИННІ СИМБІОЗИ

Надкернична О.В.

Інститут сільськогосподарської мікробіології УААН
вул. Шевченка, 97, м. Чернігів, Україна, 14027

В огляді наведено сучасні відомості про важливу роль симбіотичних відносин в житті рослин. Коротко висвітлено особливості утворення та функціонування бобово-ризобіальних симбіозів, симбіозів небобових рослин і азотфіксуючих мікроорганізмів, формування штучних симбіозів за рахунок процесу паранодуляції на коренях небобових рослин. Розглядається перспективність підвищення продуктивності агробіоценозів шляхом використання діазотрофів.

Ключові слова: *симбіоз, бобові рослини, бульбочкові бактерії, азотфіксуючі мікроорганізми, штучні симбіози, паранодуляція.*

Симбіотичні відносини з мікроорганізмами відіграють важливу роль в житті рослин. Вони забезпечують мінеральне живлення, захист від патогенів і тварин, що живляться рослинами, адаптацію до стресів, а деякою мірою – і регуляцію розвитку рослин. Ці функції виконують різні внутрішньоклітинні симбіонти (бульбочкові бактерії, ендомікоризні гриби), ендofіти, які заселяють тканини надземних і підземних органів (азотфіксатори *Acetobacter* і *Azoarcus* або ріжкові гриби), а також ектосимбіонти, які заселяють поверхню рослин. Хоча симбіотичні відносини з мікроорганізмами для рослини не є обов'язковими, в реальних екологічних умовах, за дефіциту основних елементів живлення і постійних стресів, її виживання значною мірою залежить від утворення симбіозів з мікроорганізмами [1].

Симбіози бобових рослин і ризобій. Найбільш вивчені симбіози, які утворюються бобовими рослинами і бульбочковими бактеріями (ризобіями). Ризобії (бактерії родів *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*) є факультативними рослинними симбіонтами, які легко культивуються *ex planta* [2-4]. При взаємодії з рослиною-живителем ризобії індують нодуляційний процес, тісно пов'язаний з основними функціями рослин – цитодиференціюванням і органогенезом, азотним і вуглецевим обміном, захистом від патогенів і регулювання розвитку.

Бобово-ризобіальний симбіоз досить специфічний. Більшість рослин здатні формувати симбіоз тільки з певними формами ризобій

(*Medicago*, *Melilotus*, *Trigonella* – з *Rhizobium meliloti*; *Trifolium* – з *R. leguminosarum* *bv. trifoli*; *Pisum* і *Vicia* – з *R. leguminosarum. bv. viceae*) [5-8]. Утворення симбіозу обмежено майже виключно родиною бобових. Єдиною небобовою, яка здатна до симбіозу з ризобіями, є тропічна рослина *Parasponia* (род. *Ulmaceae*) [1].

При взаємодії з мікроорганізмами у рослини з'являються нові ознаки (наприклад, здатність використовувати молекулярний азот у бобових при симбіозі з ризобіями, або токсичність у злакових при симбіозі з різковими грибами). Поява цих ознак є результатом комплементарної взаємодії рослинних і мікробних генів, внаслідок якої відбувається їх перехресна регуляція, а іноді і перенос між партнерами окремих генів. Таким чином, утворення симбіозу можна розглядати як результат об'єднання генів-партнерів у стабільні функціональні одиниці, основними функціями яких є регуляторні (сигнальні) взаємодії, морфогенез симбіотичних структур і метаболічна інтеграція партнерів [1, 9].

Одним з найвагоміших результатів досліджень симбіотичної азотфіксації в останні роки стало виявлення сигналів, які регулюють специфіку мікробно-рослинної взаємодії. Молекулярний механізм цієї взаємодії можна поділити на два етапи: на першому – молекули-індуктори флавоноїдної природи викликають експресію відповідних генів бульбочкоутворення рослини-живителя. Продуктом цих генів є бактеріальний фактор (Nod-фактор), здатний активно впливати на рослину-донора. Ці сигнальні молекули є похідними олігосахаридів і, в більшості, копіюють дію добре відомих рослинних гормонів, таких як ауксини і цитокініни. Вони здатні викликати численні зміни корневих волосків і індукувати диференціацію деяких клітин всередині кореня, що призводить до виникнення меристематичної тканини, яка дає початок утворенню нових бульбочок. При цьому є суттєва відмінність в дії Nod-факторів та рослинних гормонів: тільки сигнали від комплементарного мікросимбіонта здатні викликати індукцію бульбочкоутворення, тобто кожний штам ризобій продукує певний набір Nod-факторів. Специфічність штамів ризобій стосовно тієї чи іншої рослини залежить як від якісного складу Nod-факторів, так і від їх співвідношення [10, 11, 12].

Важливою стадією утворення симбіозу є адсорбція клітин ризобій на поверхні корневих волосків. Вона визначається здатністю рослини синтезувати глікопротеїни, що отримали назву лектинів, які зв'язуються з полісахаридами на поверхні бактерій. На початку 80-х років було висунуто “лектинову гіпотезу”, згідно з якою специфічність утворення бульбочок є результатом комплементарної взаємодії поверхневих структур

бактеріальних і рослинних клітин по типу антиген-антитіло. Потім було показано можливість прикріплення до корневих волосків не тільки специфічних (тобто тих, що утворюють бульбочки), але й неспецифічних штамів. Тільки наприкінці 80-х років вдалося довести участь лектинів у специфічній бобово-ризобіальній взаємодії. З використанням штамів агробактерій було здійснено перенос в корені конюшини гена PSL, який кодував синтез лектину гороху. В результаті конюшина отримала здатність синтезувати гороховий лектин і формувати бульбочки з ризобіями гороху [13].

Таким чином, на даний час встановлено існування двох типів сигнальної взаємодії при бобово-ризобіальному симбіозі: це дистанційна взаємодія (флавоноїди – Nod-фактори) і контактна взаємодія (лектини-полісахариди). Спроби довести, що існує єдиний механізм визначення специфічності, тобто, що лектини виконують роль рецептора Nod-факторів, успіху не мали [14, 15].

Після обміну молекулярними сигналами (флавоноїдами і Nod-факторами) і попереднього поверхневого контакту, у рослини починає формуватися структурна основа симбіозу – бульбочка за рахунок морфо-фізіологічного диференціювання клітин. При цьому сигнальна взаємодія партнерів переходить в нову стадію, яка пов'язана з регуляцією рослиною швидкості розмноження і чисельності клітин симбіонта. Така регуляція дуже важлива тому, що потенційна швидкість розмноження у бактеріальних клітин набагато вища, ніж у рослинних. Неконтрольоване розмноження ендосимбіотичних мікроорганізмів часто може бути шкідливим для рослини і її здатність строго контролювати розмноження симбіонта відрізняє мутуалістичний симбіоз від паразитизму [16].

На початку 90-х років було показано, що при утворенні бобово-ризобіального симбіозу у рослини індукується низка процесів, які нагадують захисні реакції при інфікуванні патогенними мікроорганізмами. Це синтез флавоноїдів, фенолів, хітиназ, калози і пероксидаз. Однак, в бульбочках ці реакції виражені не настільки сильно, як при інфікуванні патогенами, і їх результатом є не інактивація мікроорганізму, а регуляція його розмноження і метаболічної активності. Така тонка регуляція мікросимбіотом захисних систем рослини можлива завдяки наявності у ризобій відповідних генів. Мутації в цих генах блокують розвиток симбіозу і замість нормальних бульбочок утворюються псевдобульбочки, які не містять інфекційних ниток з бактеріальними клітинами і заповнені недиференційованою тканиною. Функцією вказаних генів є синтез різних компонентів клітинної поверхні бактерій: кислих екзополісахаридів (ехо-

гени), нейтральних екзополісахаридів (exr-гени), ліпополісахаридів (lps-гени) і циклічних глюканів (ndv-гени) [17].

При бобово-ризобіальному симбіозі спостерігається регуляція кількості бульбочок, що дозволяє рослині уникати надлишкового бульбочкоутворення і економити енергію. У бобових одержано мутації, які порушують регуляцію утворення бульбочок. Їх добір ведеться за фенотипом супербульбочкоутворення (Nod^{++}), коли кількість бульбочок підвищується в 2-10 разів у порівнянні з вихідними рослинами. Звичайно такі мутанти формують бульбочки за наявності високих доз нітратів, тоді, як у рослин “дикого” типу при цьому пригнічується розвиток симбіозу. У зазначених мутантів загальна нітрогеназна активність, яка обчислюється на одну рослину, підвищена, а питома нітрогеназна активність (на одиницю маси бульбочки) знижена. У більшості Nod^{++} -мутантів спостерігається зниження надземної маси рослин, що зумовлюється перевитратою енергії на утворення великої кількості азотфіксуючих бульбочок. Отже, на прикладі мутантів Nod^{++} видно, що контроль над кількістю ендосимбіонта є важливою умовою підтримки мутуалістичного характеру відносин партнерів. Послаблення цього контролю може привести до перетворення відносин з мутуалістичних у паразитичні, незважаючи навіть на те, що біохімічний процес, який лежить в основі симбіозу, а саме фіксація молекулярного азоту, не порушується [1, 17, 18].

Утворення рослиною-живителем спеціалізованих структур, що містять мікробні клітини, є характерною ознакою мутуалістичного симбіозу. Ці органи є екологічною нішею для симбіонта, структурною основою для обміну метаболітами, а також для контролю чисельності і фізіологічної активності симбіонта. Ці функції характерні для бульбочок бобових. По-перше, бульбочки є високоспеціалізованою екологічною нішею для ризобій: інші мікроорганізми проникають в них рідко. По-друге, в бульбочках створюються оптимальні умови для обміну між партнерами вуглецевими і азотними сполуками, а також мікроаерофільні умови, необхідні для функціонування нітрогенази. По-третє, завдяки локалізації бактерій в бульбочках їх чисельність і активність легко регулюються залежно від зовнішніх умов (освітлення, вологість, наявність зв'язаного азоту), в несприятливих умовах рослина може втрачати бульбочки, які стали непотрібними [1, 18, 19].

Інфікування бобових ризобіями відбувається через кореневі волоски. В місці найбільш різкого скручування волоска спостерігається локальне порушення клітинної стінки, в якому задіяні літичні ферменти обох партнерів. Плазматична мембрана рослинної клітини при цьому

впинається в цитоплазму, і бактерії проникають всередину кореневого волоска. В результаті, навколо бактеріальних клітин утворюється спеціальна порожнина – інфекційна нитка, стінки якої за структурою подібні стінкам рослинних клітин, а порожнина якої заповнюється полісахаридним матриксом, який синтезується як рослинною клітиною, так і ризобіями. Таким чином, даний процес є результатом не активного проникнення бактеріальних клітин в кореневі волоски, а скоріше, шляхом захоплення рослиною мікросимбіонта [1, 20].

Одночасно з інфікуванням відбувається закладання бульбочкової меристеми, яка пов'язана з індукцією проліферації клітин кортекса кореня.

Основною стадією симбіозу є перехід бактерій з інфекційної нитки в клітину рослини-донора, який здійснюється шляхом ендоцитозу. При цьому бактерії оточуються перибактероїдними мембранами, які утворюються з тілець апарата Гольджі і ендоплазматичного ретикулюма, і містять компоненти бактеріального походження. Число бактерій всередині перибактероїдного простору залежить від виду рослин: по одному у гороху, люцерни і конюшини, по 5-10 – у сої і квасолі. Ця різниця пов'язана з тим, що у одних бобових проліферація бактерій зупиняється одразу після їх ендоцитозу, в інших – бактерії ще кілька разів діляться поза інфекційною ниткою. Бактеріальна клітина (або декілька клітин) оточуються загальною перибактероїдною мембраною, яка є елементарною структурно-функціональною одиницею симбіозу, і має назву “симбіосома” [13, 15].

Деякий час після виходу з інфекційної нитки ризобії зберігають свої розміри і паличкоподібну форму, але потім поступово перетворюються в особливі симбіотичні форми – бактероїди, які в 3-5 разів крупніші, ніж бактерії. Диференціювання бактерій пов'язано з репресією багатьох генів, яка настільки глибока, що бактероїди після відмирання бульбочок не можуть знову перетворюватися в бактерії. В бактероїдах синтезується нітрогеназа, яка каталізує відновлення N_2 в NH_4^+ , а також низка інших ферментів, необхідних в нітрогеназній реакції, після чого в бульбочках починається процес фіксації азоту. Отже, бактероїди можна розглядати як тимчасові клітинні органели, функція яких полягає в постачанні рослині сполук азоту [9, 15, 21, 22]. Функції бактероїдів не з'ясовані остаточно. В 1989р. Д. Джимінез і Д. Казадесус [23] запропонували “альтруїстичну” модель, згідно з якою підтримка генів азотфіксації в популяціях ризобій здійснюється шляхом диференційованого розмноження в бульбочках і наступного виходу в ґрунт саме тих клонів, які фіксують азот *in planta*. У відповідності з цією моделлю диференціювання частини бактеріальних

клітин в бактероїди розглядається як “жертва” внутрішньобульбочкового клону, яка забезпечує розмноження недиференційованих бактеріальних клітин. Значна кількість таких клітин (до 10^6 - 10^7) зберігається в кожній азотфіксуючій бульбочці і після її відмирання переходять до складу ґрунтової популяції [24].

В 1996 р. Д. Гордон [25] запропонував модифікацію “альтруїстичної” моделі, згідно з якою, бактерії певного штаму, які є в азотфіксуючих бульбочках, синтезують живильні речовини (ризопіни), що є специфічними субстратами для клітин того ж самого штаму, який знаходиться в ризосфері рослин. Допускається, що саме здатність до синтезу таких факторів зумовлює еволюцію симбіотичної азотфіксації в бактеріальних популяціях. Модель, запропонована Д. Гордоном, базується на механізмах групового добору, який призводить до виникнення ознак, корисних не тільки для їх хазяїв, але й для групи родичів. У випадку бобово-ризобіального симбіозу “альтруїстичні” відносини спостерігаються між членами одного клону: диференційованими бактероїдами і недиференційованими клітинами, які є в бульбочках і ризосфері. В останні роки важливу роль групового добору показано для широкого кола симбіонтів [17, 26].

Бульбочка являє собою складний орган бобової рослини, основними структурами якого є інфікована бактеріями тканина, в якій відбувається фіксація азоту; провідні тканини, по яких надходять рослинні фотосинтати і виносяться продукти азотфіксації; меристема, за рахунок якої відбувається ріст бульбочки.

Бульбочки бобових зазвичай поділяються на детерміновані (в яких меристема існує лише протягом кількох днів, а після її зникнення ріст бульбочки і оновлення азотфіксуючої тканини припиняється) і недетерміновані (меристема функціонує кілька місяців, що забезпечує постійне оновлення азотфіксуючої тканини). Ці типи бульбочок розрізняються за морфолого-фізіологічними характеристиками. Недетерміновані бульбочки характеризуються вищим ступенем диференціації як рослинних, так і бактеріальних клітин. Детерміновані і недетерміновані бульбочки об'єднують центральне розташування азотфіксуючої тканини і периферійне розташування провідних судин, що дозволяє віднести їх до “стеблового” типу.

Але різноманіття морфологічних особливостей симбіозу не вичерпується детермінованим і недетермінованим типами бульбочок. Для деяких бобових (арахіс, цезальпінієві) характерна інша, “коренева” структура бульбочок: провідні пучки розташовані в центрі, а азотфіксуюча тка-

нина – на периферії. Подібним чином побудовані і бульбочки небобових рослин, які утворюють симбіоз з актиноміцетами *Frankia* (дерев’янисті дводольні) і з ризобіями (*Parasponia*). “Кореневі” бульбочки утворюються не з меристеми, яка інфікується *de novo* в кортексі кореня, а з примордіїв бокових коренів, і, таким чином, дані бульбочки можна розглядати як модифіковані корені. У тропічних бобових *Sesbania* і *Aeshynomene* бульбочки формуються не тільки на корені, але й на стеблі; в останньому випадку не відбувається утворення меристеми *de novo* і бульбочка утворюється із зачатку повітряного кореня [1].

Ще простіша організація симбіозу у деяких примітивних бобових з підродини цезальпінієвих. Багато з них взагалі не здатні формувати бульбочок, але утворюють дуже тісні асоціації з азотфіксаторами, що існують вільно і активно колонізують кортекс кореня і навіть можуть проникати всередину рослинних клітин. В тих випадках, коли бульбочки все ж утворюються, ризобії не виходять в рослинну цитоплазму, а азотфіксація відбувається в інфекційній нитці. Такі типи структурної організації симбіозу є, з еволюційної точки зору, вихідними стосовно механізму, при якому відбувається проникнення бактерій через кореневий волосок з наступним утворенням нової меристеми, бактероїдів і симбіосом [1].

Важливою умовою функціонування бульбочок є підтримка в них мікроаерофільних умов, тому що нітрогеназа, яка синтезується, швидко і незворотно інактивується молекулярним киснем. З другого боку, енергозатратний процес азотфіксації можливий лише за високої інтенсивності окислювального фосфорилування, для чого необхідно, щоб велика кількість кисню надходила до бактеріальних цитохромоксидаз. Для вирішення “кисневого парадоксу” рослина має два механізми. Перший – утворення дифузного бар’єру (шару клітин, які щільно прилягають одна до одної, що запобігає газообміну бульбочок з навколишнім середовищем). Другий – синтез гемоглобінподібного білка (легоглобіну), який зв’яже кисень і забезпечує його транспорт до симбіосом. Довгий час вважалося, що синтез легоглобіну є унікальною властивістю бобових, яка могла виникнути в результаті дуже обріднених генетичних подій, наприклад, горизонтального переносу генів з тварин до рослин, але, як виявилось, гемоглобінподібні білки в невеликій кількості синтезуються в усіх рослинах, виконуючи роль сенсорів кисню. Гемоглобінподібні білки синтезуються в бульбочках небобових рослин, які утворюють симбіоз з актиноміцетами *Frankia* (“актиноризні” рослини) і з ризобіями (*Parasponia*) [20].

Таким чином, взаємодія рослин і симбіотичних мікроорганізмів являє собою комплекс процесів, які реалізуються через молекулярні механізми. В процесі формування і функціонування симбіозів відбувається взаємодія генів партнерів, які на час існування симбіозу об'єднуються в надорганізову генетичну систему. Результатом дії цієї системи є тісна метаболічна інтеграція партнерів, регуляція рослиною-донором швидкості розмноження симбіонта і утворення спеціалізованих симбіотичних структур. Бобово-мікробні симбіози варіюють за ступенем складності своєї морфологічної організації. Але в усіх випадках розвиток структурної основи симбіозу контролюється рослинними генами, експресія яких відбувається тільки при взаємодії з мікроорганізмами. Формування симбіозу – це особлива стратегія розвитку рослин, яка еволюційно пов'язана із загальними морфологічними програмами, але сформувалася головним чином в процесі спільної еволюції з мікроорганізмами [1].

Симбіози небобових рослин і азотфіксуючих мікроорганізмів. Як понад 100 років тому було встановлено, що деякі небобові рослини також здатні утворювати на кореневій системі бульбочки. Дослідження останніх 30 років показали, що спонтанне утворення на небобових рослинах бульбочок пов'язане з проникненням у їх кореневу систему мікроорганізмів, здатних фіксувати молекулярний азот [27-29].

Найбільш вивченими системами біологічної фіксації атмосферного азоту серед небобових є симбіози квіткових дводольних рослин з актиноміцетами роду *Frankia* [20, 30-33] та папоротей роду *Azolla* з ціанобактеріями *Anabaena azolla* [34-36]. В цих системах азотфіксуючі бактерії розвиваються в спеціалізованих структурах (бульбочках), що забезпечує їм сприятливі умови існування.

Бактерії роду *Frankia* можуть інфікувати рослину-живителя двома способами: через кореневий волосок або проникаючи через міжклітинники епідермісу. Кожний із способів залежить від специфіки рослин. У випадку волоскового зараження гіфа *Frankia* проникає через деформований волосок, далі вона лізує клітинну стінку, і рослина у відповідь починає створювати додаткову клітинну стінку навколо місця лізису. Потім, в результаті розростання рослинної тканини, відбувається інкапсуляція і утворюється структура аналогічна інфекційній нитці. Мітотична активність в кортексі кореня зростає, що призводить до утворення пребульбочки, яка містить інкапсульовані гіфи *Frankia*. Потім *Frankia* починає формувати везикули, в яких нітрогеназа здійснює фіксацію азоту. При “актиноризному” симбіозі початок фіксації азоту пов'язують

з появою везикул в інфікованих кортикальних тканинах. Утворення везикул контролюється рослиною-живителем [20]. Слід зазначити, везикули *Frankia* можуть утворюватися і в чистих культурах при нестачі азоту в середовищі. Клітини *Frankia* поділяються на три типи: гіфи, везикули і спорангії. На відміну від ризобій, *Frankia* можуть фіксувати азот в чистих культурах при атмосферному парціальному тиску кисню шляхом формування специфічних везикул, де нітрогеназа захищається від кисню завдяки багат шаровій ліпідній оболонці [30].

“Актиноризні” рослини зустрічаються в природі дуже часто в різних кліматичних зонах. Нараховується 20 родів і до 200 видів цих рослин. В помірному кліматі це види родів *Alnus*, *Hippophae*, *Elaeagnus*, *Myrica*, в субтропічному - *Coriaria*, *Casuarina*, *Ceanothus* [37]. 41 представник роду *Alnus* здатен утворювати азотфіксуючі бульбочки в зоні помірного клімату. Знайдено також бульбочки з вираженою нітрогеназною активністю у ендемічного виду вільхи камчатської (*Deschekia sinuata ssp. Kamtschatica (RQL) Holub*) [38]. Всі досліджені рослини вільхи камчатської мали кореневі бульбочки *Alnus*-типу розміром 2-5мм. Крім бульбочок звичайної сферичної форми, для камчатської вільхи характерно утворення бульбочок пальцеподібної видовженої форми. Показано, що азотфіксуючі бульбочки на коренях камчатської вільхи утворені актиноміцетами роду *Frankia*. Результати досліджень свідчать, що характерною особливістю згаданих бульбочок, порівняно з бульбочками вільхи чорної, є низький вміст фенольних сполук в зоні префіксації і фіксації азоту [38]. На жаль, автори не пояснюють протиріччя між здатністю бульбочок камчатської вільхи фіксувати азот повітря в зоні вічної мерзлоти і тим фактом, що температурний оптимум функціонування нітрогеназного ферментного комплексу становить 26-28 °C [9,39].

Вивчення мікроорганізмів, виділених з бульбочок “актиноризних” рослин, показало, що до їх складу поряд з франкіями входять також інші бактерії і актиноміцети. У різних рослинах співвідношення грибів, бактерій і актиноміцетів в бульбочках істотно розрізняються. Так у бульбочках лоху домінують актиноміцети, у бульбочках колетії і цеанотуса - бактерії, у бульбочках коріарії – гриби [37]. Результати, отримані при вивченні лисохвосту, показали, що його бульбочки містять мікоризоутворюючий гриб, бактерії, і в низці випадків – актиноміцети. Бактерії знаходяться і в середині везикули мікоризоутворюючого гриба. Нормальна ультраструктура бактеріальних клітин свідчить, що вони можуть співіснувати з грибом. Нестійкий рівень азотфіксуючої активності знайдених бульбочок протягом вегетаційного періоду може свідчити про вторинне проникнен-

ня азотфіксуючих бактерій в клітини бульбочок, які раніше були заселені мікоризоутворюючим грибом [40]). Вивчення вмісту мікроорганізмів у бульбочках різних видів “актиноризних” рослин показало, що в бульбочках 14 видів рослин (*Alnus barbata*, *A. firma*, *A. glutinosa*, *A. japonicum*, *A. nepalensis*, *A. pendula*, *A. tinctoria*, *Elaeagnus angurtifolia*, *E. viridis*, *Myrica cerifera*, *M. coralinensis*) переважають представники родів *Nocardia*, представники роду *Streptomyces* переважали в 7 видах “актиноризних” рослин (*A. glutinosa*, *A. incana*, *A. nepalensis*, *A. pendula*, *E. angustifolia*, *E. pungens*, *M. cerifera*) [41].

На коренях небобових рослин Західного Сибіру виявлені бульбочки, здатні фіксувати молекулярний азот. Клімат цієї зони різко континентальний, посушливий. Ґрунти мають низький вміст гумусу і азоту. Вказані фактори можуть стимулювати утворення на небобових рослинах симбіотичних систем. Біологічними нодуляційними агентами в цьому випадку виступають асоціації бактерій, які не були ідентифіковані [27].

Широке розповсюдження симбіозів ціанобактерій *Anabaena azolla* з папоротями роду *Azolla* можна пояснити високою пластичністю метаболізму згаданого мікроорганізму, що є основою формування адаптаційної стійкості. Ціанобактерії здатні здійснювати багатоканальні фізіолого-біохімічні реакції, переходячи з одного шляху метаболізму на інший. В аеробних умовах вони не мають здатності до азотфіксації, але виявляють її в анаеробних; переміщуючись в ризосферу рослин від фотосинтезу переходять на темновий спосіб життя, при зміні освітлення змінюють співвідношення аноксигенного і оксигенного фотосинтезу [42]. Вважається, що при утворенні симбіозів з рослинами у ціанобактерій активність глутамінсинтетази істотно знижується, що призводить до виділення мікросимбіонтом частини фіксованого азоту у вигляді NH_4^+ , який поглинається рослиною-донором. У всіх вивчених симбіотичних форм ціанобактерій активність глутамінсинтетази приблизно однакова і складає 25% від активності глутамінсинтетази штамів ціанобактерій, що існують поза симбіозом [43]. При переході від симбіозу до вільного існування вони завжди перебувають у більш або менш тісних консорціумах з іншими організмами, частіше всього з бактеріями. Природні консорціуми на основі ціанобактерій дуже різноманітні, нараховується більше 300 видів бактерій-супутників ціанобактерій. Це дає можливість створювати штучні консорціуми на основі ціанобактерій, вводячи в склад консорціуму бактерії родів *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*. Згадані консорціуми виявились стійкими й ефективними [44].

Таким чином, найефективнішим способом забезпечення рослин зв'язаним азотом є мутуалістичний симбіоз, коли рослина вступає в симбіоз з азотфіксуючими мікроорганізмами, що значно розширює екологічні можливості як мікросимбіонту (який відходить від конкуренції з сапрофітною мікрофлорою і отримує доступ до джерел живлення, що легко засвоюються), так і живителя (для якого відкривається можливість жити в умовах дефіциту або навіть повної відсутності зв'язаного азоту). Крім того, утворення таких симбіозів різко підвищує інтенсивність процесу фіксації азоту, тому що мікросимбіонт використовує метаболічні можливості рослини-живителя для покриття енергетичних витрат, які необхідні для розриву потрійного зв'язку в молекулі $N \equiv N$, а також отримує можливість швидко звільнюватися від амонію, що утворився. Тому найінтенсивніше азотфіксація відбувається при утворенні ендосимбіозів, коли мікроорганізм проникає всередину тканин, або навіть клітин рослини, забезпечуючи таким чином тісну метаболічну інтеграцію партнерів [17, 45, 46].

Штучне формування азотфіксуючого симбіозу у небобових рослин. В сучасній мікробіології широко обговорюються альтернативні способи забезпечення небобових рослин доступним азотом за рахунок використання потенціалу ґрунтових азотфіксуючих мікроорганізмів [47,48]. Розглядаються наступні шляхи підвищення активності азотфіксації:

- прямиий перенос піс-генів з бактеріальних клітин в рослині [9];
- інокуляція рослин генетично модифікованими по піф-гену штамми бактерій [17, 49, 50], а також бактеріями, які продукують ауксиноподібні речовини [51];
- створення асоціацій культурних рослин з ендofітними азотфіксуючими мікроорганізмами, які виділяються з природних симбіозів [52]
- створення рослин, які заселяються діазотрофами через стадію змішаного калуса (калусні клітини з діазотрофами) за рахунок використання явища тотипотентності рослинних клітин [53];
- формування штучних симбіозів за рахунок процесу паранодуляції на коренях небобових рослин [54-56].

Паранодуляція – це штучне індукування утворення псевдобульбочок на коренях небобових рослин під впливом різних хімічних агентів: гормонів рослин, літичних ферментів, гербіцидів і т.п. Такі агенти отримали назву абіогенні фактори нодуляції [57, 58]. Паранодуляція може здійснюватися при дії на рослини таких речовин, як ауксиноподібні

сполуки (2,4-діхлорфеноксиоцетова кислота, хлорамбен, хлорсульфон) [53, 59-61], а також ферменти (целюлаза и пектиназа) [62]. Саме таким шляхом були одержані бульбочки рослин пшениці, рису, кукурудзи, ріпаку [60, 63, 64]. Вплив абіогенних нодуляційних факторів на рослину можливий тільки у вузькому діапазоні концентрацій, що ускладнює їх застосування в польових умовах. Формування на коренях небобових рослин псевдобульбочок під впливом абіогенних факторів нодуляції призводить до порушень морфологічної організації кореня не тільки в зоні епідермісу і кортикальної паренхіми, але й центрального циліндра. Це сприяє проникненню ризосферних бактерій як в міжклітинники паренхіми коренів, так і в клітини провідних тканин, що може призвести до закупорки судин ксилеми і загибелі рослини в цілому [56].

Однак формування псевдобульбочок ще на гарантує посилення активності процесу азотфіксації, оскільки не завжди ці морфологічні структури заселяються бактеріями-діазотрофами. Тому з метою покращання азотного живлення рослин псевдобульбочки одночасно інокуються азотфіксуючими мікроорганізмами, які одержали назву “біологічні агенти нодуляції” [56].

Мікроорганізми, що використовуються як біологічні нодуляційні агенти, повинні відповідати наступним вимогам: синтезувати гормоноподібні речовини і ферменти, які порушують клітинну стінку рослин, а також адсорбуватися на поверхні коренів рослин. Адсорбція біологічних факторів нодуляції на поверхні коренів рослин, проникнення їх всередину тканин тільки кортикальної паренхіми і розповсюдження по системі міжклітинників сприяє формуванню на коренях калусоподібних структур – псевдобульбочок протягом усього періоду життя рослини [56].

Відомі роботи щодо одержання парабульбочок на коренях ячменю і кукурудзи під впливом 2,4-діхлорфеноксиоцетової кислоти (2,4-Д), яка у високих концентраціях (20-30кг/га) є гербіцидом, а в низьких (20г/га) – гормоном росту рослин. Одночасно з використанням 2,4-Д проводили інокуляцію рослин *Azospirillum lipoferum*. Показано, що рослина-донор здатна забезпечити необхідний азоспірилам субстрат для здійснення всередині бульбочок процесу фіксації атмосферного азоту. Цитологічні дослідження показали локалізацію азоспірил всередині бульбочок, які відзначаються високою нітрогеназною активністю [65].

Під впливом 2,4-Д на коренях капусти спостерігали утворення бульбочкоподібних структур при одночасному застосуванні штаму асоціативної азотфіксуючої бактерії *Pseudomonas caryophylli*, яка була виділена з ризосферного ґрунту рослин ячменю. Псевдобульбочки

утворилися на кореневих волосках на 4-5 добу після інокуляції і мали діаметр близько 1 мм. Кількість псевдобульбочок складала 20 шт. на одну рослину, вони формувалися у всіх інокульованих рослин. Нітрогеназна активність коренів з псевдобульбочками була в сім разів вищою, ніж коренів капусти, які також інокулювали *Pseudomonas caryophylli*, але не використовували 2,4-Д [66].

Використовуючи абіогенний нодуляційний агент 2,4-Д і бактерії родів *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Azospirillum*, *Azorhizobium* і *Alcaligenes* у пшениці, спостерігали утворення псевдобульбочок. При цитологічних дослідженнях псевдобульбочок виявлена внутрішньоклітинна локалізація бактерій і показано формування парабульбочок з примордіїв бокових коренів. Парабульбочки мали рожевий колір і містили структури, які нагадували інфекційні нитки бобових рослин. Ацетиленредуктазна активність парабульбочок в 4-7 разів перевищувала цей показник у інокульованих, але необроблених 2,4-Д рослин. Азотфіксуюча активність парабульбочок була підтверджена також при застосуванні прямого ізотопного ($^{15}\text{N}_2$)-методу [67].

Описані парабульбочки на коренях рису, які утворилися під впливом ауксинів та інокуляції бактерією *Azospirillum brasilense*. Показано, що азоспірили сприяють підвищенню активності полігалактуранази в коренях рису без їх морфологічних змін. Інокуляція рослин з одночасним застосуванням 2,4-Д або індоліоцтової кислоти супроводжується морфологічними змінами з утворенням бульбочок на коренях рису. Спостерігалася позитивна кореляція між активністю полігалактуранази, ступенем кореневого морфогенезу і ендоризосферною колонізацією *Azospirillum brasilense* коренів рослин і ця кореляція визначалася типом і концентрацією застосованого абіогенного фактора нодуляції (2,4-Д або індоліоцтової кислоти) [68].

Досліджували штучне утворення псевдобульбочок з високою нітрогеназною активністю на коренях озимого рапсу. Абіогенним агентом нодуляції слугував 2,4-Д. Як біогенний нодуляційний агент використовували природну асоціацію бактерій (*Micrococcus sp.* + *Rhodococcus sp.*), що характеризувалася стабільністю складу, але відрізнялася низьким рівнем азотфіксації. З метою посилення нітрогеназної активності рослини рапсу додатково інокулювали сумішню культур азотфіксуючих бактерій (*Azotobacter nigricans* + *Bacillus sp.*), яка забезпечувала стабільно високий рівень азотфіксуючої активності. В результаті на коренях рапсу на десяту добу спостерігалася утворення псевдобульбочок (9-15 на одну рослину), причому кількість бульбочок не

змінювалася протягом наступного вегетаційного періоду.

Методом електронної мікроскопії вивчали ультраструктуру утворених псевдобульбочок на коренях рапсу. Встановлено, що бактеріальні клітини локалізуються не тільки в міжклітинниках, але й колонізують трахеальні елементи первісної ксилеми, які в рослинах забезпечують транспорт води і мінеральних солей від коренів до листків. При цьому бактерії імобілізуються на сформованій специфічній вторинній оболонці. В центрі рослинних клітин з'являються гетероморфні бактеріальні клітини, від поверхні мембран яких клітин відокремлюється велика кількість пухирців-везикул, що може засвідчувати активний стан бактерій. Ці везикули є структурами специфічними для даного симбіозу, тому що вони відсутні як у макро-, так і мікросимбіонта і спостерігаються тільки у псевдобульбочках. Одержані результати засвідчили, що активність азотфіксації у небобових рослин посилюється внаслідок паранодуляції безпосередньо в ґрунті [53].

Отже, поширення процесу симбіотичної азотфіксації на рослини, які не здатні утворювати бульбочки природним шляхом, може бути важливим фактором підвищення ефективності біологічної фіксації азоту в агроєкосистемі.

Таким чином, як при бобово-ризобіального симбіозі, так і симбіозах небобових рослин з азотфіксуючими мікроорганізмами існує спільний контроль партнерами ефективності симбіозу [69]. Це свідчить про можливість розробки універсальної стратегії селекції рослин, яка дозволить створювати принципово нові сорти, які будуть здатні розвиватися не тільки за рахунок використання агрохімікатів, але й завдяки взаємодії з симбіотичними мікроорганізмами. Ця взаємодія уможливує розширення адаптивної амплітуди рослин, надаючи їй нові метаболічні функції, і на основі цього – одержання високоякісної і екологічно чистої сільськогосподарської продукції [17].

В останні роки в багатьох країнах почали створювати програми селекції бобових рослин з урахуванням ознак симбіозу. Описані гени деяких бобових (соя, червона конюшина, горох, люцерна), що визначають їх вступ в ефективний симбіоз з бульбочковими бактеріями. Координована селекція бобових рослин і бульбочкових бактерій приносить значні успіхи [17,70, 71].

Що стосується небобових сільськогосподарських культур, то підвищення ефективності функціонування асоціацій діазотрофи – небобова рослина проводиться здебільшого шляхом інтродукції в ризосферу рослин високоактивних штамів азотфіксуючих бактерій. Роль рослини-жи-

вителя недооцінюється, селекція на здатність рослини до фіксації азоту атмосфери не ведеться. Далі підвищувати ефективність асоціативних взаємодій, що базуються тільки на селекції азотфіксуючих мікроорганізмів, напевне, недоцільно. Тому стабільні позитивні результати при інтродукції високоактивних штамів діазотрофів у ризосферу небобових рослин можна одержати, проводячи координовану селекцію рослин і мікроорганізмів. Перший принцип такої стратегії базується на тому, що більшість сортів інтенсивного типу в процесі селекції втратили природну здатність взаємодіяти з мікроорганізмами для оптимізації свого розвитку. Другий принцип ґрунтується на тому, що ефективність асоціативних взаємодій в системі діазотрофи – небобова рослина не є функцією тільки рослинного, або тільки мікробного генотипу. Характер взаємодії залежить від сумісності генів партнерів, і тому селекція на підвищення асоціативного симбіозу повинна бути спрямована на створення висококомплементарних комбінацій генотипів мікро- і макросимбіонта.

Отже, для того, щоб істотно підвищити інтенсивність асоціативної азотфіксації, необхідно об'єктом селекційної роботи зробити асоціативну систему діазотрофи – рослина як єдине ціле. Така стратегія, зважаючи на сучасний стан науки, є справою майбутнього тому, що вона вимагає значних коштів і зусиль селекціонерів, мікробіологів, генетиків, екологів, молекулярних біологів, фізіологів рослин тощо. Селекція асоціативних систем діазотрофи – небобова рослина може стати новим напрямом у селекції, який буде реалізовано шляхом паралельного поліпшення генотипів обох партнерів з наступним їх з'єднанням в оптимальних комбінаціях. Важливо, що вже є перші спроби провести спільний контроль партнерами ефективності симбіозу як для бобових, так і небобових культур [69]. Вищезазначене відкриває можливості розширення адаптивної амплітуди рослин, створення нових метаболічних функцій і на основі цього – одержання високоякісної і екологічно чистої сільськогосподарської продукції [17].

1. Лутова Л.А., Проворов Н.А., Тиходеєв О.Н. и др. Генетика развития растений. – С.-Пт.: Наука, 2000. – 539 с.

2. Margaret P., Goormachting S., Geelen D. et al. Early events in the Azorhizobium Caulinodans-sesbania rostrata symbiosis //Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications. Proc. of the 10th Inter. Congr. on Nitr. Fixation.(St. Peterburg, May 28 – June 3, 1995). – Dordrecht/Boston/London: Kluwer Acad. Publ., 1995. – P. 61-66.

3. Kaminski P.A., Michel-Reydellet N., Denoues N. et al. Regulation

of free-living and symbiotic nitrogen fixation in Azorhizobium caulinodans //Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications. Proc. of the 10-th Inter. Congr. on Nitr. Fixation.(St. Peterburg, May 28 - June 3, 1995). - Dordrecht/Boston/London: Kluwer Acad. Publ., 1995. - P.183-187.

4. Lindstrom K., Laguerre G., Normand P. et al. Taxonomy and phylogeny of diazotroph //Biological nitrogen fixation for the 21th century: Proc. of the 11th Intern. Congr. on nitrogen fixation.-Dordrecht/Boston/London: Kluwer Acad. Publ., 1997. – P. 559-570.

5. Vance C.P., Graham P.H. Nitrogen fixation in agriculture application and perspectives //Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications. Proc. of the 10th Inter. Congr. on Nitr. Fixation.(St. Peterburg, May 28 – June 3, 1995). – Dordrecht/Boston/London: Kluwer Acad. Publ., 1995. – P. 77-86.

6. De Bruijn F.J., Graham L., Milcamps A. et al. Use of the luciferase (TN5-LUX) reporter system to study Rhizobium meliloti genes responding to N/C/O2 limitation or plant factors and their role in the rhizosphere competition //Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications. Proc. of the 10th Inter. Congr. on Nitr. Fixation.(St. Peterburg, May 28 – June 3, 1995). – Dordrecht/Boston/London: Kluwer Acad. Publ., 1995. – P. 195-200.

7. Downie J.A., Sutton J.M., Dean G. et al. Determinants of nodulation efficiency in the symbiosis between Pisum Sativum and Rhizobium leguminosarum //Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications. Proc. of the 10th Inter. Congr. on Nitr. Fixation.(St. Peterburg, May 28 – June 3, 1995). – Dordrecht/Boston/London: Kluwer Acad. Publ., 1995. – P. 169-174.

8. Stacey G., Minami E., Kouchi H. et al. Signal exchange during soybean nodulation by Bradyrhizobium japonicum // Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications. Proc. of the 10th Inter. Congr. on Nitr. Fixation.(St. Peterburg, May 28 – June 3, 1995). – Dordrecht/Boston/London: Kluwer Acad. Publ., 1995. – P. 305-310.

9. Кретович В.А. Биохимия усвоения азота воздуха растениями. – М.: Наука, 1994. – 168с.

10. Lugtenberg B.J.J., Bloemberg G.V., Van Brussel A.A.N., Kune J.W., Thomas-Oates J.E., Spaink H.P. Signals involved in nodulation and nitrogen fixation //Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications. Proc. of the 10-th Inter. Congr. on Nitr. Fixation.(St. Peterburg, May 28 – June 3, 1995). – Dordrecht/Boston/London: Kluwer Acad. Publ., 1995. – P. 37-48.

11. Тихонович И.А. Обмен сигналами в процессе растительно-микробного взаимодействия // 9-й Баховский колоквиум по азотфиксации.(Москва, 24-26 января 1995): Тез. докл. - Пушкино: ОНТИ ПНЦ РАН, 1995. – С. 4.

12. Van Kammen A. The molecular development of nitrogen fixing root nodules //Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications. Proc. of the 10th Inter Congr. on Nitr. Fixation.(St. Peterburg, May 28 – June 3, 1995). – Dordrecht/Boston/London: Kluwer Acad. Publ., 1995. – P. 9-14.

13. Spaink M.P. The molecular basis of infection and nodulation by rhizobia: the ins and outs of symbiogenesis //Annu. Rev. Phytopathol. – 1995. – Vol. 33. – P. 345-368.

14. Симаров Б.В., Аронштам А.А., Новикова Н.И. и др. Генетические основы селекции клубеньковых бактерий. – Л.: Агропромиздат, 1990. – 192 с.

15. Douglas A.E. Symbiotic interactions. – Oxford etc., 1994. – 148 p.

16. Проворов Н.А. Эволюция генетических систем симбиоза у клубеньковых бактерий // Генетика, 1996. – Т. 32, № 8. – С. 1029-1040.

17. Генетика симбиотической азотфиксации с основами селекции /Под ред. Тихоновича И.А., Проворова Н.А. – СПб.: Наука, 1998. – 194 с.

18. Streeter J.G. Interaction of plant and bacterial metabolism in nitrogen fixing systems //Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications. Proc. of the 10-th Inter. Congr. on Nitr. Fixation.(St. Peterburg, May 28 – June 3, 1995). – Dordrecht/Boston/London: Kluwer Acad. Publ., 1995. – P. 67-76.

19. Debelle F., Roche P., Plazanet C. et al. The genetics of Rhizobium host range control: allelic and non-allelic variation //Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications. Proc. of the 10-th Inter. Congr. on Nitr. Fixation.(St. Peterburg, May 28 – June 3, 1995). – Dordrecht/Boston/London: Kluwer Acad. Publ., 1995. – P. 275-280.

20. Guan C., Pawlowski K., Bisseling T. Nodulation in legumes and actinorhizal plants // Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications. Proc. of the 10th Inter. Congr. on Nitr. Fixation.(St. Peterburg, May 28 – June 3, 1995). – Dordrecht/Boston/London: Kluwer Acad. Publ., 1995. – P. 49-60.

21. Smith B.E., Roe S.M., Yousafzai F.K. The Structures of the nitrogenase proteins – an overview //Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications. Proc. of the 10th Inter. Congr. on Nitr. Fixation. (St. Peterburg, May 28 – June 3, 1995). – Dordrecht/Boston/London: Kluwer Acad. Publ., 1995. – P. 19-28.

22. Измайлов С.Ф. Роль перибактероидного пространства и перибактероидной мембраны в симбиотических взаимоотношениях про- и эукариот в клубеньках бобовых //9-й Бахов. коллоквиум по азотфиксации (Москва, 24-26 янв. 1996): Тез. докл. – Пушкино: ОНТИ ПНЦ РАН., 1995. – С. 5.

23. Jiminez J., Casadesus J. An altruistic model of Rhizobium-legume

association // J. Hered, 1989. – Vol. 80. – P. 335-337.

24. Hirsch P. Population dynamics of indigenous and genetically modified rhizobia in the field // *New Phytol*, 1996. – Vol. 133. – P. 267-275.

25. Gordon D.M., Ryder M.H., Heinrich K. et al. An experimental test of the rhizopine concept in *Rhizobium meliloti* // *J. Bacteriol*, 1996. – Vol. 62. – P. 3991-3996.

26. Wilson D.S. Altruism and organism: disentangling the themes of multilevel selection theory // *The American Naturalist*, 1997. – Vol. 150. – P. 122-134.

27. Родынюк И.С., Клевенская И.Л. Симбиотическая фиксация азота травянистыми растениями Сибири // *Проблемы сибирского почвоведения*. – М., 1977. – С. 200-213.

28. Парийская А.Н., Новик С.Н., Агре Н.С. и др. Нокардия, выделенная из азотфиксирующих клубеньков на корнях серой и чёрной ольхи // *Микробиология*, 1982. – Т. 51. – С. 130-134.

29. Шарая Л.С., Парийская А.Н., Калакуцкий Л.В. Получение чистых культур актиномицетов рода *Frankia* из азотфиксирующих клубеньков лоха серебристого и облепихи крушиновидной // *Докл. АН СССР*. – 1981. – Т. 257, № 5. – С. 1017-1018

30. Ribeiro A., Akkermans A.D.L., Van Kammen et al. A gene encoding a subtilish-like protease is expressed in early stages of actinorhizal nodule development // *Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications. Proc. of the 10-th Inter. Congr. on Nitr. Fixation.*(St. Peterburg, May 28 – June 3, 1995). – Dordrecht/Boston/London: Kluwer Acad. Publ., 1995. – P. 509.

31. Mattsson U., Sellstedt A. Nitrogen fixation and hydrogenase in *Frankia* isolated from *Casuarina* // *Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications. Proc. of the 10th Inter. Congr. on Nitr. Fixation.* (St. Peterburg, May 28 – June 3, 1995). – Dordrecht/Boston/London: Kluwer Acad. Publ., 1995. – P. 612.

32. Myrold D.D., Martin K.J., Ritchie N.J. Use of PCR-RELP analysis to distinguish among *Frankia* strains in nodules of red alder // *Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications. Proc. of the 10-th Inter. Congr. on Nitr. Fixation.* (St. Peterburg, May 28 – June 3, 1995). – Dordrecht/Boston/London: Kluwer Acad. Publ., 1995. – P. 713.

33. Tiwari M., Tiwari A., Singh S.P. Facultative responses of dual inoculated *Coriaria nepalensis* on associated non-host species // *Molecular Plant-Microbe Interactions: New bridges between Past and Future. 11-th Int. Congr. on Molecular Plant-Microbe Interactions*, (St. Peterburg, July 18-26, 2003). Abstr. – St.-Petersburg, 2003. – P. 348.

34. Sof'in A.V., Komina O.V., Shatilov V.R. Effects of light duration and nitrogen source on the activity and composition of glutamine synthetase molecular forms in *Azolla-Anabaena* symbioses // Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications. Proc. of the 10-th Inter. Congr. on Nitr. Fixation. (St. Peterburg, May 28 – June 3, 1995). – Dordrecht/Boston/London: Kluwer Acad. Publ., 1995. – P. 595.

35. Rabeharisoa R.L. Added nitrogen interactions in ¹⁵N experiment with *Azolla* in flooded rice soil // Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications. Proc. of the 10-th Inter. Congr. on Nitr. Fixation. (St. Peterburg, May 28 – June 3, 1995). – Dordrecht/Boston/London: Kluwer Acad. Publ., 1995. – P. 727.

36. Shiomi N., Kiton S., Uheda E. et al. Growth characteristics of *Azolla-Anabaena* symbiosis in Osaka, Japan // Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications. Proc. of the 10-th Inter. Congr. on Nitr. Fixation. (St. Peterburg, May 28 – June 3, 1995). – Dordrecht/Boston/London: Kluwer Acad. Publ., 1995. – P. 735.

37. Иванушкина Н.Е., Кочкина Г.А., Ступарь О.С. и др. Специфика микромицетных комплексов прикорневой зоны и клубеньков актиноризных растений // Микробиология, 1994. – Т. 63, № 5. – С. 909-916.

38. Ступарь О.С., Парийская А.Н. Азотфиксирующие корневые клубеньки у эндемичного вида ольхи *Deschekia sinuata* ssp. *Kamtschatica* (RQL) Holub // Изв. АН СССР, сер. биол. – 1988. – № 1. – С. 147-150.

39. Мишустин Е.Н., Шильникова В.К. Клубеньковые бактерии и инокуляционный процесс. – М.: Наука, 1973. – 284 с.

40. Шапошников Г.Л., Проценко М.А., Калошина Г.С. Взаимодействие бактерий, грибов и клеток растения в клубеньках лисохвоста // 9-й Бахов. коллоквиум по азотфиксации (Москва, 24-26 янв. 1996): Тез. докл. – Пушкино: ОНТИ ПНЦ РАН., 1995. – С. 83.

41. Малишкайте Ю.Б., Таптыкова С.Д., Евтушенко В.М. и др. Родовая принадлежность актиномицетов, выделенных из кулбеньков ольхи и других небобовых растений // Ж. Биологические науки. – 1984. – № 4 (244). – С. 83-86.

42. Баулина О.И., Лобакова Е.С., Корженевская Т.Г. и др. Ультраструктура клеток женьшеня и цианобактерий *Chlorogloeopsis fritschii* в ассоциации при культивировании в темноте // Вестн. МГУ. Сер. Биология. – 1995. – № 2. – С. 3-16.

43. Соф'ин А.В., Комина О.В., Лосева Л.П. и др. Азотфиксирующие синцианозы: ферменты ассимиляции аммония у цианобионтов // 9-й Бахов. коллоквиум по азотфиксации (Москва, 24-26 янв. 1996): Тез. докл. – Пушкино: ОНТИ ПНЦ РАН, 1995. – С. 52.

44. Панкратова Е.М. Значение в эволюции, экологии и практическом использовании естественных и искусственных цианобактериальных консорциумов // Сельскохозяйственная микробиология в XIX-XXI веках. Всероссийская конференция (С.-Петербург, 14-19 июня 2001): Тез. докл. – С.-Пт, 2001. – С. 65-66.

45. Henecke H. Regulation of rhizobial life in symbiosis //Molecular Plant-Microbe Interactions: New bridges between Past and Future. 11-th Int. Congr. on Molecular Plant-Microbe Interactions,(St. Peterburg, July 18-26 2003): Abstr. – St.-Petersburg, 2003. – P. 24.

46. Tikhonovich I.A. Functional integration of plant and microbial genes in symbiosis // Molecular Plant-Microbe Interactions: New bridges between Past and Future. 11-th Int. Congr. on Molecular Plant-Microbe Interactions (St. Peterburg, July 18-26 2003): Abstr. – St.-Petersburg, 2003. – P. 25.

47. Gough C., Vasse J., Galera C., Webster G., Cocking E.C., Denaire J. Interactions between bacterial diazotrophs and non-legume dicots *Arabidopsis thaliana* as a model-plant // Plant Soil. – 1997. – Vol. 194, № 1-2. – P. 123-130.

48. Umarov M.M. Plant-microbe interactions and nitrogen transformation in biosphere // Molecular Plant-Microbe Interactions: New bridges between Past and Future. 11-th Int. Congr. on Molecular Plant-Microbe Interactions, (St. Peterburg, July 18-26 2003): – St.-Petersburg, 2003. – P. 356.

49. Умаров М.М., Бурлуцкая Т.Р., Давидович О.Г., Матвеева Н.Г. Влияние инокуляции бактериями рода *Pseudomonas* на процессы азотного цикла в ризосфере небобовых растений // Микробиология. – 1994. – Т. 63, № 2. – С. 326-333.

50. Elmerich C., Dezamaroczy M., Arsene F. et al. Regulation of *nif* gene-expression and nitrogen-metabolism in *Azospirillum* // Soil Biol. Biochem. – 1997. – Vol. 29, № 5-6. – P. 847-852.

51. Bashan Y. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture // Biotech. Adv. – 1998. – Vol. 16, № 4. – P. 729-770.

52. Webster G., Jain V., Davey M.R., Gough C., Vasse J., Denaire J., Cocking E.C. The flavonoid naringenin stimulates the intercellular colonization of wheat roots by *Azorhizobium caulinodans* // Plant Cell Environ. – 1998. – Vol. 21, № 4. – P. 373-383.

53. Ковальская Н.Ю., Лобакова Е.С., Умаров М.М. Формирование искусственного азотфиксирующего симбиоза у растений рапса (*Brassica napus* var. *napus*) в нестерильной почве // Микробиология. – 2001. – Т. 50, № 5. – С. 701-708.

54. `Nie Y.E., Vesk M., Kennedy I.R. et al. Structure of 2,4-D induced

paranodules with Rhizobium on wheat // *Phytochem. (Life Sci. Adv.)*. – 1992. – № 11. – P. 67-73.

55. James E.K., Olivares F.L. Infection and colonization of sugar-cane and other gramineous plants by endophytic diazotrophs // *Crit. Rev. Plant Sci.* – 1998. – Vol. 17, № 1. – P. 77-109.

56. Kovalskaya N.Y., Lobakova E.S., Umarov M.M. New approach to paranodulation // *Molecular Plant-Microbe Interactions: New bridges between Past and Future*. 11-th Int. Congr. on Molecular Plant-Microbe Interactions, (St. Peterburg, July 18-26 2003): Abstr. – St.-Petersburg, 2003. – P. 349.

57. Лобакова Е.С., Ковальская Н.Ю., Умаров М.М. Новые подходы в создании ассоциации растений с diaзотрофными микроорганизмами // *Сельскохозяйственная микробиология в XIX-XXI веках. Всероссийская конференция (С.-Петербург, 14-19 июня 2001 г): Тез. докл.* – С.-Пт, 2001. – С. 61-62.

58. Biabani A.H., Kovalskaya N.Y., Umarov M.M. Bacterial nodulation of wheat plants // *Molecular Plant-Microbe Interactions: New bridges between Past and Future*. 11-th Int. Congr. on Molecular Plant-Microbe Interactions, (St. Peterburg, July 18-26 2003): Abstr. – St.-Petersburg, 2003. – P. 350.

59. Chen W., Xie Y., Chen T. Studies on para-nodulation of wheat and nitrogen fixation // 10 Int. Congr. on Nitrogen fixation: Abst. – St.-Petersburg, 1995. – P. 358.

60. Glagoleva O.B., Kovalskaya N.U., Umarov M.M. Endosymbiosis formation between nitrogen-fixing bacteria *Pseudomonas caryophylli* and rape root cells // *Endosymbiosis Cell Res.* – 1996. – Vol. Abst. 11. – P. 147-158.

61. Глаголева О.Б., Ковальская Н.Ю., Киреев И.И., Лобакова Е.С., Умаров М.М. Паранодуляция рапса при инокуляции азотфиксирующими ризосферными бактериями // *Микробиология.* – 1997. – № 66. – С. 545-552.

62. Cocking E.C., Davey M.R. Nitrogen from the air for non-legume crop // *Chemistry and Industry.* – 1991. – P. 831-835.

63. Kennedy I.R., Pereggerk L.L., Wood C. et al. Biological nitrogen fixation in non-leguminous field crops facilitating the evolution of an effective association between *Azospirillum* and wheat // *Plant Soil.* – 1997. – Vol. 194, № 1-2. – P. 65-79.

64. Глаголева О.Б., Лобакова Е.С., Ковальская Н.Ю. и др. Формирование эндосимбиоза между корнями рапса и азотфиксирующими ризосферными бактериями // *Докл. РАН.* – 1998. – Т. 362. – С. 283-285.

65. Krol M.J., Kobus J., Fuk B. Wiazania azotu w parabradawkach korzeni zbraz przez *Azospirillum lipoferum* // *Zezz. Nauk. Pol. / AR Szczecin.*

– 1997. – № 68. – С. 153-161.

66. Glagoleva O.B., Kovalskaya N.U., Umarov M.M. Nodule-like structures formation by nitrogen fixing *Pseudomonas caryophylli* strain on rape roots // Intern. Workshop Assoc. Interactions Nitrogen-Fix. Bact. Plants. (Saratov, June 5-8, 1995): Abstr. – Saratov, 1995. – P. 18.

67. Nie Y.F. Nitrogen fixation in 2,4-D forced associative wheat-di-azotroph system // Intern. Workshop Assoc. Interactions Nitrogen-Fix. Bact. Plants. (Saratov, June 5-8, 1995): Abstr. – Saratov, 1995. – P. 32-34.

68. Sekar C., Prasad N.N., Sundaran M.D. Enhancement of polygalacturonase activity during auxing induced paranodulation and endorhizosphere colonization of *Azospirillum* in rice roots // Indian J. Exp. Biol. – 2000. – Vol. 38, № 1. – P. 80-83.

69. Tikhonovich I.A., Kozhemyakov A.P., Provorov N.A. et al. Genetic potential of plants for improving the beneficial microbe interactions // Biological Fixation of Nitrogen for Ecology and Sustainable Agriculture. – Berlin; Heidelberg, 1997. – P. 191-194.

70. Sichkar V.I., Patyuka V.F., Tolkachev N.Z., Knjazev A.V. Breeding soybean for improved nitrogen fixation // Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications. Proc. of the 10-th Inter. Congr. on Nitr. Fixation. (St. Peterburg, May 28 – June 3, 1995). – Dordrecht/Boston/London: Kluwer Acad. Publ., 1995. – P. 736.

71. Тихонович И.А. Повышение эффективности симбиотической азотфиксации у бобовых // Микробиол. журн. – 1997. – Т. 59, № 4. – С. 14-22.

АЗОТФИКСИРУЮЩИЕ МИКРОБНО-РАСТИТЕЛЬНЫЕ СИМБИОЗЫ

Надкерничная Е.В.

Институт сельскохозяйственной микробиологии УААН, г. Чернигов

В обзоре приведены современные данные о важном значении симбиотических взаимоотношений в жизни растений. Кратко освещены особенности образования и функционирования бобово-ризобийных симбиозов, симбиозов небобовых растений и азотфиксирующих микроорганизмов, формирования искусственных симбиозов за счёт паранодуляции на корнях небобовых растений. Рассматривается перспективность повышения продуктивности агробиоценозов путём использования диазотрофов.

Ключевые слова: симбиоз, бобовое растение, клубеньковые бактерии, азотфиксирующие микроорганизмы, искусственные симбиозы, паранодуляция.

NITROGEN-FIXING SYMBIOSIS BETWEEN BACTERIA AND PLANTS

Nankernichnaya O.V.

Institute of Agricultural Microbiology, UAAS, Chernihiv

The new contemporary data according to important part of symbiotic interactions among plants are given in this review. There are shortly covered the features of formation and functioning of nodule symbiosis, symbiosis between non-legume plants and nitrogen-fixing microorganisms, formation of artificial symbiosis owing to paranodulation process on roots of non-legume plants. It is considering the availability of promotion of agrobiocenosis productivity in the way of usage of nitrogen-fixing bacteria.

Key words: *symbiosis, legume plants, nodule bacteria, nitrogen-fixing bacteria, artificial symbiosis, paranodulation.*