

## СИМБІОТИЧНА АЗОТФІКСАЦІЯ

УДК 581.557:579.6

С. Я. КОЦЬ<sup>1</sup>, д. б. н., проф., чл.-кор. НАН України, заст. дир.,  
Л. М. МИХАЛКІВ<sup>1</sup>, к. б. н., ст. наук. співроб.,  
Н. А. ВОРОБЕЙ<sup>1</sup>, к. б. н., ст. наук. співроб.,  
О. В. ПАЦКО<sup>2</sup>, к. б. н., асист. каф. фізіології та екології рослин,  
В. І. СІЧКАР<sup>3</sup>, д. б. н., проф., пров. наук. співроб.

<sup>1</sup>Інститут фізіології рослин і генетики НАН України,

<sup>2</sup>Київський нац. ун-т ім. Тараса Шевченка,

<sup>3</sup>СГІ–НЦНС, Одеса

E-mail: kots@ifrg.kiev.ua

### ЕФЕКТИВНІСТЬ ІНОКУЛЯЦІЇ ЛЮЦЕРНИ НОВИМИ ШТАМАМИ *SINORHIZOBIUM MELILOTI* ЗА РІЗНОГО ВОЛОГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ҐРУНТУ

*Досліджена ефективність інокуляції люцерни сорту Ласка новими штамми бульбочкових бактерій, отриманими у результаті транспозонового мутагенезу (T17) і методом аналітичної селекції (AC08) в умовах оптимального (60 % ПВ) та недостатнього (30 % ПВ) водозабезпечення. Виявлений позитивний вплив нових ризобій на наростання маси кореневих бульбочок, їхню азотфіксувальну активність, надземну масу рослин і вміст у ній білка та амінокислот. Застосування *Sinorhizobium meliloti* T17 та AC08 підвищувало продуктивність симбіотичних систем люцерни у посушливих умовах.*

Ключові слова: люцерна, симбіоз, інокуляція, продуктивність.

**Вступ.** Використання бобових рослин у сівозмінах дозволяє підвищити родючість ґрунту за рахунок біологічного азоту, фіксованого симбіотичними системами, і знизити захворюваність рослин, розповсюдженість шкідників та бур'янів [1]. При цьому слід враховувати, що фізіологічні процеси, які відбуваються у представників даної родини, тісно пов'язані з формуванням і функціонуванням симбіотичних азотфіксувальних систем із ризобіями, дуже чутливих до зовнішніх впливів, відтак і реакція цих рослин на дію факторів зовнішнього середовища визначається їхньою здатністю в симбіозі з бульбочковими бактеріями засвоювати молекулярний азот атмосфери за певних умов.

Для бобово-ризобіального симбіозу важливе значення має здатність бактерій витримувати стрес, зокрема зниження водозабезпечення [2]. Ризобії можуть розвиватися за вологості ґрунту в межах 16–90 % повного водозабезпечення (ПВ), оптимальною вважають 60–70 % ПВ [3–5].

Межа критичної вологості для нодуляції залежить від самих партнерів симбіозу, показано існування генетичної мінливості за стійкістю до

більшості зовнішніх стресових факторів як у рослин-господарів, так і у відповідних їм штамів ризобій [6]. Водночас відомо, що ризобії стійкіші до зовнішніх стресів, ніж рослини, зокрема в посушливих умовах бактерії можуть виживати у водяній плівці навколо часточок ґрунту [7; 8].

Одним із важливих шляхів підвищення продуктивності бобових рослин є використання ефективних інокулянтів, що зумовлює необхідність пошуку і створення штамів із покращеними симбіотичними характеристиками та здатністю до виживання у стресових умовах [9–11]. У зв'язку з цим при залученні бобово-ризобіальних симбіозів у агроєкосистеми з недостатнім водозабезпеченням важливо враховувати особливості реакції симбіонтів на нестачу ґрунтової вологи, їхню здатність адаптуватись до несприятливих умов та забезпечувати оптимальну продуктивність. Тому **метою** наших досліджень було вивчити ефективність інокуляції люцерни бактеріями *Sinorhizobium meliloti*, отриманими в результаті аналітичної селекції та транспозонового мутагенезу, в умовах оптимального (60 % ПВ) та недостатнього (30 % ПВ) водозабезпечення, зокрема дослідити особливості формування та функціонування азотфіксувального апарату рослин, динаміку наростання вегетативної маси люцерни, а також вміст амінокислот та білка в надземній масі рослин, бактеризованих ризобіями.

**Методика.** Дослідження проводили у вегетаційних умовах на базі Інституту фізіології рослин і генетики НАН України. Рослини люцерни сорту Ласка (заявник — Селекційно-генетичний інститут — Національний центр насіннезнавства та сортовивчення НААН України) вирощували в піщаній культурі на промитому річковому піску вологістю 60 % ПВ за природних освітлення, температури та вологості повітря. Джерелом мінерального живлення була суміш Гельрігеля, що містила 0,25 норми азоту з додаванням мікроелементів В, Мо і Fe. Перед висівом насіння стерилізували концентрованою сірчаною кислотою упродовж 5 хв, промивали у проточній водопровідній воді та інокулювали бульбочковими бактеріями *Sinorhizobium meliloti* штаму 425a (контроль), а також ризобіями Т17, отриманими методом транспозонового мутагенезу зі штаму 425a і аналітично селекціонованими ризобіями АС08. Тривалість інокуляції насіння — 1 год. Штами мікроорганізмів отримано з колекції азотфіксувальних мікроорганізмів Інституту фізіології рослин і генетики НАН України.

У фазі початок стеблуння для рослин відповідних варіантів створювали режим посухи (30 % ПВ) контрольованим поливом, який тривав 2 тижні, після чого його відновлювали на рівні оптимальної вологості субстрату (60 % ПВ). Відбори зразків для аналізу здійснювали у період стеблуння — початок цвітіння: I — 1-тижнева посуха (стеблуння), II — 2-тижнева посуха (початок бутонізації), III — тиждень після поновлення поливу (початок цвітіння).

Азотфіксувальну активність кореневих бульбочок визначали ацетиленовим методом [12]. Газову суміш аналізували на хроматографі

«Agilent 6850», США. Визначення проводили у 5-кратній біологічній повторності. Біометричні показники — масу надземної частини рослин, кореня і бульбочок — вимірювали в 10–15-кратній біологічній повторності.

Вміст протеїну в листках люцерни визначали методом Лоурі [13], кількісний і якісний вміст амінокислот у надземній масі люцерни — методом іонообмінної рідинно-колончастої хроматографії з використанням автоматичного аналізатора [14].

Зразки для аналізу відбирали у фазу бутонізація — початок цвітіння.

Усі результати обраховували статистично за загальноприйнятою методикою [15] та з застосуванням програми Microsoft Excel 2010, у таблицях і на рисунках представлені середні арифметичні та їхнє стандартне відхилення.

**Результати.** У дослідженнях було виявлено, що формування і функціонування симбіотичних систем люцерни із досліджуваними штамми суттєво залежить від рівня водозабезпечення. Зниження норми поливу рослин із 60 до 30 % ПВ призвело до утворення меншої маси бульбочок на коренях за інокуляції штамом 425а, тоді як на фоні використання *S. meliloti* T17 і AC08 маса бульбочок була вищою, ніж за оптимального водозабезпечення (табл. 1). І якщо за 60 % ПВ суттєвої різниці за даним показником між варіантами не спостерігали, то за 30 % ПВ виявлено у 3–3,5 раза більшу масу бульбочок у дослідних варіантах порівняно з контролем. Із продовженням періоду посухи (2 тижні, фаза початок бутонізації) було виявлено негативний вплив нестачі вологи на наростання маси бульбочок уже у всіх варіантах. При цьому за інокуляції T17 і AC08 маса бульбочок була нижчою в 1,6 і 4,9 раза відповідно, а на фоні інокуляції 425а — у 3,3 раза порівняно до відповідних варіантів за оптимального водозабезпечення. На фоні недостатнього водозабезпечення показник маси бульбочок, утворених за участю *S. meliloti* T17, перевищував у 2,0–2,6 раза показник у варіантах із використанням 425а та AC08.

Таблиця 1

Маса (мг сухої речовини/рослину) бульбочок на коренях люцерни, інокульованої *S. meliloti* різної активності

Варіант	Фаза розвитку рослин		
	стеблування (1 тиждень посухи)	початок бутонізації (2 тижні посухи)	початок цвітіння (1 тиждень поновлення поливу)
60 % ПВ			
<i>S. meliloti</i> 425а	5,79 ± 0,87	9,83 ± 1,83	7,62 ± 1,04
<i>S. meliloti</i> T17	5,67 ± 0,78	10,10 ± 1,58	14,00 ± 0,95
<i>S. meliloti</i> AC08	5,52 ± 0,51	11,98 ± 1,85	14,51 ± 1,35
30 % ПВ			
<i>S. meliloti</i> 425а	2,1 ± 0,25	2,99 ± 0,53	14,08 ± 1,78
<i>S. meliloti</i> T17	6,59 ± 0,97	6,41 ± 0,64	8,17 ± 1,61
<i>S. meliloti</i> AC08	7,43 ± 0,72	2,45 ± 0,61	15,69 ± 2,51

Через тиждень після поновлення поливу відзначено наростання маси бульбочок на рослинах, що зазнали впливу посухи. Особливо інтенсивно цей процес відбувався на фоні інокуляції 425а та АС08 — збільшення в 4,7 і 6,4 раза відповідно порівняно з попередньою фазою. За оптимального водозабезпечення у цей період знижується маса бульбочок на контрольних рослинах, а на дослідних — продовжує наростати. Таким чином зауважено, що у післястресовий період найшвидше відновлюється ріст корневих бульбочок, утворених за участю ризобій АС08.

Виявлено (рис.), що інокуляція люцерни ризобіями Т17 і АС08 сприяла збільшенню азотфіксувальної активності бульбочок на коренях рослин у фазу стеблуння як за оптимального водозабезпечення (відповідно, у 2,7 і 5,5 раза), так і за недостатнього (відповідно у 5,1 і 5,7 раза). При цьому за дії посухи спостерігали дещо менші показники у контрольному варіанті (на 24 %) та за використання АС08 (на 21 %) порівняно до оптимального водозабезпечення.

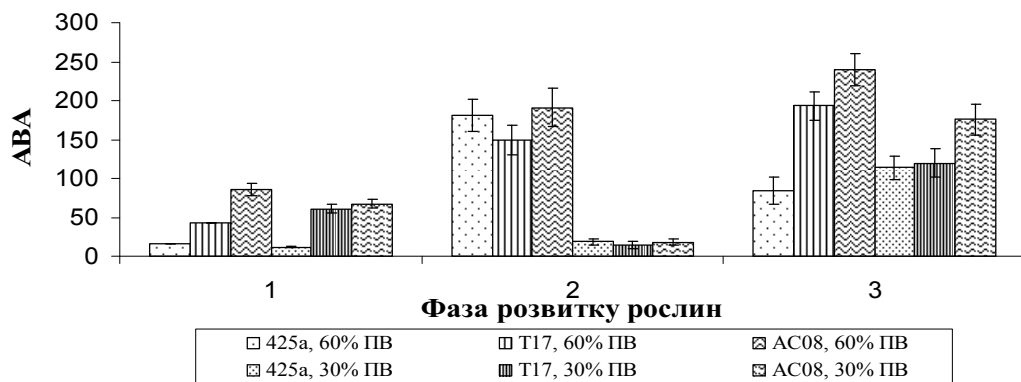


Рис. Азотфіксувальна активність (АВА, ммоль  $C_2H_4$ /(год · рослину)) люцерни, інокульованої *S. meliloti*. 1 — стеблуння (1 тиждень поливу), 2 — початок бутонізації (2 тижні посухи), 3 — початок цвітіння (1 тиждень поновлення поливу)

На фоні бактеризації рослин *S. meliloti* Т17 засвоєння молекулярного азоту було інтенсивніше, ніж у відповідному варіанті за оптимального водозабезпечення.

Проте вже у фазу початку бутонізації, при 2-тижневій посузі, спостерігали значно нижчу (приблизно в 10 разів) азотфіксувальну активність бульбочок у всіх варіантах. У цей період за обох рівнів водозабезпечення достовірної різниці за досліджуванним показником між варіантами не виявлено.

У фазу початок цвітіння (1 тиждень поновлення поливу) на фоні оптимального водозабезпечення за інокуляції *S. meliloti* Т17 і АС08 зауважено підвищену активність азотфіксації корневих бульбочок порівняно з контролем. Для симбіотичних систем, що зазнали впливу посухи, достовірне зростання даного показника порівняно з контролем спостерігали лише при використанні ризобій АС08 — в 1,5 раза. Отже, показана

здатність до відновлення функціональної активності симбіотичного апарату в післястресовий період для всіх досліджуваних систем люцерни — *S. meliloti*, але найвищу активність азотфіксації забезпечували бактерії AC08, що може бути зумовлено їхнім високим потенціалом адаптації до стресових умов і, як наслідок, інтенсивним наростанням маси бульбочок у цей період (табл. 1).

Дослідження динаміки наростання маси кореня люцерни показали (табл. 2), що у фазу стеблуння на фоні оптимального водозабезпечення інокуляція ризобіями T17 і AC08 сприяла збільшенню даного показника у порівнянні з контролем, достовірно — на 63 % у варіанті з *S. meliloti* T17, тоді як за нестачі вологи (1 тиждень впливу посухи) суттєвих змін у порівнянні з відповідним контролем не виявлено. Водночас зниження водозабезпечення призводило до утворення більшої маси коренів у всіх варіантах у порівнянні з аналогічними за 60 %, що свідчить про адаптацію рослин люцерни до посушливих умов.

Таблиця 2

Маса (мг сухої речовини/рослину) кореня люцерни, інокульованої *S. meliloti* різної активності

Варіант	Фаза розвитку рослин		
	стеблуння (1 тиждень посухи)	початок бутонізації (2 тижні посухи)	початок цвітіння (1 тиждень поновлення поливу)
60 % ПВ			
<i>S. meliloti</i> 425a	51,38±4,90	115,56±9,56	205,83±16,94
<i>S. meliloti</i> T17	83,57±5,89	132,92±10,56	290,00±17,28
<i>S. meliloti</i> AC08	60,00±4,80	95,62±5,97	288,33±19,73
30 % ПВ			
<i>S. meliloti</i> 425a	101,90±5,81	107,50±7,70	113,98±7,45
<i>S. meliloti</i> T17	106,02±6,02	158,33±13,08	180,93±14,78
<i>S. meliloti</i> AC08	94,59±5,70	124,29±9,92	170,83±11,71

Із розвитком рослин спостерігали збільшення маси кореня люцерни на фоні бактеризації *S. meliloti* T17 і AC08 у порівнянні з використанням штаму 425a, за винятком варіанту інокуляції AC08 за оптимального водозабезпечення у фазі початок бутонізації, коли маса кореня була нижчою на 17 %, ніж у відповідному контролі.

При відборі ефективних у тих чи тих умовах симбіотичних систем важливим інтегральним показником є урожайність рослин. Для люцерни, що вирощується на зеленій корм, важливо визначити приріст надземної маси рослин. Виявлено (табл. 3), що зниження водозабезпечення з 60 до 30 % ПВ спричинило зменшення надземної маси рослин на 57–85 % залежно від застосування штаму-інокулянта та тривалості дії посухи.

Після поновлення поливу різниця між показниками надземної маси люцерни, яку вирощували за 60 і 30 % ПВ, дещо зменшилась і становила

Таблиця 3

Надземна маса (мг сухої речовини/рослину) люцерни, інокульованої *S. meliloti* різної активності

Варіант	Фаза розвитку рослин		
	стеблуння (1 тиждень посухи)	початок бутонізації (2 тижні посухи)	початок цвітіння (1 тиждень поновлення поливу)
60 % ПВ			
<i>S. meliloti</i> 425a	50,41±4,81	120,00±11,55	249,03±21,01
<i>S. meliloti</i> T17	87,86±5,36	177,08±14,24	302,50±19,23
<i>S. meliloti</i> AC08	76,94±5,87	136,98±9,94	303,33±23,50
30 % ПВ			
<i>S. meliloti</i> 425a	64,63±4,87	85,00±7,12	98,57±6,70
<i>S. meliloti</i> T17	72,67±5,56	101,02±8,28	166,67±14,37
<i>S. meliloti</i> AC08	65,20±5,71	78,37±6,77	149,17±13,62

40–55 % залежно від інокулянта. Отже, упродовж усього періоду спостережень за 60 % ПВ рослини дослідних варіантів перевищували контроль за надземною масою на 22–74 % при використанні *S. meliloti* T17 і 14–22 % при використанні *S. meliloti* AC08, що свідчить про вищу ефективність ризобій T17, отриманих методом транспозонового мутагенезу, у порівнянні не лише з контролем (425a), але і з аналітично селекціонованими ризобіями AC08. За 30 % ПВ достовірний приріст маси рослин у порівнянні з контролем виявлено лише у фазі початку бутонізації при використанні ризобій T17 (19 % ПВ), а також у фазі початку цвітіння у варіантах із бактеризацією рослин T17 і AC08 — 69 і 51 % відповідно. Отже, на початку цвітіння (період скошування люцерни на зелену масу) рослини у варіантах із використанням *S. meliloti* T17 і AC08 перевищували контрольні за показником надземної маси, але достовірно не відрізнялись один від одного. При цьому рослини, що зазнали впливу посухи, на фоні інокуляції T17 інтенсивніше нарощували надземну масу, ніж за інокуляції AC08 (різниця в межах похибки дослідження), що може бути пов'язано з відповідним розподілом фотоасимілятів на процеси росту люцерни (варіант із використанням T17) чи формування та функціонування бульбочок (варіант із застосуванням AC08).

Одним із головних критеріїв господарської цінності рослин є рівень вмісту у них білкових речовин, а інокуляція активними штамми бульбочкових бактерій є одним із засобів підвищення урожаю зеленої маси бобових трав і вмісту в ній білка [16]. Як свідчать результати проведених нами досліджень, за інокуляції бульбочковими бактеріями вміст протеїну в надземній масі люцерни, а також її амінокислотний склад, коливалися в залежності від азотфіксуючої активності мікросимбіонта та водозабезпечення люцерни. Передпосівна інокуляція насіння активними штамми ризобій T17 і AC08 зумовлювала збільшення вмісту протеїну у надземній масі рослин за оптимального водозабезпечення на 0,47 і 0,70

абс. %, а за недостатнього водозабезпечення — на 0,76 і 1,12 % відповідно у порівнянні із застосуванням штаму 425a (табл. 4). За недостатнього водозабезпечення різниця між варіантами за вмістом білка була більш відчутна і зростала залежно від активності мікросимбіонта, що дає можливість розглядати інокуляцію бульбочковими бактеріями як анти-стресовий фактор при дії депресивних чинників довкілля.

Таблиця 4

Вміст білка (% / г сухої речовини) у надземній масі люцерни, інокульованої бульбочковими бактеріями *S. meliloti*, за оптимального та недостатнього водозабезпечення

Варіант	60 % ПВ		30 % ПВ	
		± до штаму 425a		± до штаму 425a
<i>S. meliloti</i> 425a	17,43±0,16		16,40±0,13	
<i>S. meliloti</i> T17	18,20±0,17	0,47	17,16±0,20	0,76
<i>S. meliloti</i> AC08	18,90±0,22	0,70	17,52±0,19	1,12

Головним критерієм біологічної цінності білків є їхній амінокислотний склад. За якістю білка і вмістом в ньому незамінних амінокислот люцерна переважає навіть конюшину, еспарцет і буркун [17], при цьому більша частина білків (81–91 %) представлена водорозчинною фракцією, яка має найвищу каталітичну активність. Вона містить усі незамінні амінокислоти. Ми зауважили, що у рослин люцерни, інокульованих виробничим штамом, при зниженні водозабезпечення до 30 % ПВ сумарний вміст замічних амінокислот зменшився на 3,8 %, а незамінних — на 5,5 % (табл. 5). Дещо інша тенденція спостерігалася у люцерни, інокульованої селекціонованими штамми T17 та AC08. Зокрема, у рослин, бактеризованих T17, вміст замічних амінокислот, навпаки, дещо збільшився (на 1,9 %), а незамінних — знизився лише на 2,5 %. Отже, у порівнянні із симбіотичними системами люцерни, створеними за участю штаму 425a, останні є більш ефективні, що засвідчує тенденція до зростання показника вмісту замічних амінокислот і менш значиме зниження незамінних.

Водночас використання для інокуляції аналітично селекціонованого штаму AC08 призводило до збільшення обох показників при зниженні водозабезпечення до 30 % ПВ. Відповідні показники склали 3,8 (замінні) та 0,79 % (незамінні амінокислоти). Аналізуючи отримані результати, ми дійшли висновку, що використання для інокуляції більш активного штаму (за здатністю до фіксації атмосферного азоту, а отже до спроможності інтенсифікувати процеси синтезу та обміну речовин) є ефективнішим в умовах недостатнього водозабезпечення. Слід зазначити, що штам AC08 виділений із природних біоценозів, а отже, вірогідно, має екологічну пластичність до дії різних чинників довкілля, що забезпечує йому переваги при формуванні симбіозу з люцерною в умовах посухи. Одним із багатьох підтверджень його адаптаційної спроможності активізувати

Таблиця 5

Вміст амінокислот (мг / 100 мг зразка) у сухій речовині надземної маси люцерни за різних умов водозабезпечення та інокуляції бульбочковими бактеріями *S. meliloti*

Варіант	Амінокислоти		Загальний вміст
	незамінні	замінні	
60 % ПВ			
<i>S. meliloti</i> 425a	3,610	3,575	7,185
<i>S. meliloti</i> T17	3,989	4,040	8,029
<i>S. meliloti</i> AC08	4,678	5,686	10,364
30 % ПВ			
<i>S. meliloti</i> 425a	3,411	3,440	6,851
<i>S. meliloti</i> T17	3,888	4,116	8,004
<i>S. meliloti</i> AC08	4,715	5,903	10,618

метаболічні процеси у рослини-господаря і є показники амінокислотного складу надземної маси люцерни не лише в умовах оптимального водозабезпечення, а також за дії зниженого водозабезпечення.

За показником загального вмісту амінокислот у надземній масі рослини, бактеризовані новими штамми T17 і AC08, перевищували люцерну, інокульовану виробничим штамом, за недостатнього водозабезпечення — на 17 та на 55 % відповідно, а за оптимального — на 11,7 та 44,2 % відповідно.

**Висновки.** У результаті дослідження ефективності інокуляції люцерни сорту Ласка новими штамми бульбочкових бактерій *Sinorhizobium meliloti*, отриманими в результаті аналітичної селекції (AC08) та транспозонового мутагенезу (T17), в умовах оптимального (60 % ПВ) та недостатнього (30 % ПВ) водозабезпечення виявлено, що застосування ризобій знижує негативний вплив нестачі вологи на формування бульбочок, при цьому штам T17 є більш ефективним на початку бутонізації (2 тижні посухи), а AC08 — на початку цвітіння, у післястресовий період. Зауважено, що симбіотичні системи, створені застосуванням штамів T17 і AC08, характеризуються вищою у порівнянні з контролем стійкістю до посухи, при цьому використання AC08 забезпечує швидке відновлення функціональної активності симбіозу на початку цвітіння після відновлення поливу до оптимального рівня. Виявлено збільшення маси кореня у рослин люцерни, інокульованої бульбочковими бактеріями T17 і AC08, в умовах посухи у порівнянні з контролем, що може свідчити про кращу адаптацію даних симбіотичних систем до нестачі вологи.

Використання нових селекціонованих штамів-інокулянтів при вирощуванні люцерни в умовах дефіциту вологи сприяє формуванню ефективного симбіозу, збільшенню надземної маси рослин у період початку цвітіння і підвищенню вмісту в ній білка та незамінних амінокислот, що покращує якість зеленої маси люцерни. Штами *S. meliloti* AC08 та T17 ре-



комендовано використовувати у екологічно безпечних технологіях вирощування люцерни на зелену масу для створення продуктивних симбіозів як за оптимального, так і за недостатнього водозабезпечення.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Биологическая фиксация азота: бобово-ризобийный симбиоз / С. Я. Коць, В. В. Моргун, В. Ф. Патыка [и др.]. — К.: Логос, 2010. — Т. 1. — 508 с.
2. Streeter J. G. Effects of drought on nitrogen fixation in soybean root nodules / J. G. Streeter // *Plant Cell Environ.* — 2003. — 26 (8). — P. 1199–1204.
3. Каппушиев И. Н. Старение клубеньков бобовых / И. Н. Каппушиев, Г. М. Кожаринова, С. Ф. Измайлов // *Физиология растений.* — 1998. — 45, № 1. — С. 117–130.
4. Мишустин Е. Н. Клубеньковые бактерии и инокуляционный процесс / Е. Н. Мишустин, В. К. Шильникова. — М.: Наука, 1973. — 288 с.
5. Коць С. Я. Бобово-ризобийний симбіоз за водного стресу та способи підвищення його продуктивності в умовах посухи / С. Я. Коць, Л. М. Михалків // *Физиология и биохимия культ. растений.* — 2008. — 40, № 4. — С. 279–291.
6. Hungria M. Environmental factors affecting N<sub>2</sub> fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil / M. Hungria, M. A. T. Vargas // *Field Crops Res.* — 2000. — 65. — P. 151–164.
7. Serraj R. Role of symbiotic nitrogen fixation in the improvement of legume productivity under stressed environments / R. Serraj, J. Adu-Gyamfi // *West African Journal of Applied Biology.* — 2004. — Vol. 6. — P. 95–109.
8. Williams P. M. Effect of osmotically induced leaf moisture stress on nodulation and nitrogenase activity of *Glycine max* / P. M. Williams, S. M. de Mallorca // *Plant Soil.* — 1984. — 80. — P. 267–283.
9. Биологическая фиксация азота: бобово-ризобийный симбиоз / С. Я. Коць, В. В. Моргун, В. Ф. Патыка [и др.]. — К.: Логос, 2011. — Т. 2. — 523 с.
10. Ali S. F. Selection of stress-tolerant rhizobial isolates of wild legumes growing in dry regions of Rajasthan, India / S. F. Ali, L. S. Rawat, M. K. Meghvansi, S. K. Mahna // *Science.* — 2009. — 4, N1. — P. 13–18.
11. Zahran H. H. Diversity and environmental stress, responses of rhizobia bacteria from Egyptian grain legumes / H. H. Zahran, M. Abdel-Fattah, M. M. Yasser [et al.] // *Australian journal of basic and applied sciences.* — 2012. — 6 (10). — P. 571–583.
12. Hardy R. W. F. The acetylene — ethylene assay for N<sub>2</sub> fixation: laboratory and field evaluation / R. W. F. Hardy, R. D. Holsten, E. K. Jackson, R. C. Burns // *Plant Physiol.* — 1968. — 43, N 8. — P. 1185–1207.
13. Lowry O. H. Protein measurement with Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. Z. Rosenbrought, A. L. Farr, R. Z. Randall // *J. Biolog. Chem.* — 1951. — 153. — P. 265.
14. Kozarenko T. D. Ion exchange chromatography of amino acids / T. D. Kozarenko. — Novosibirsk: Nauka, 1975. — 284 p.
15. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта / Б. А. Доспехов. — М.: Агропромиздат, 1985. — 352 с.

16. Тильба В. А. Использование штаммов ризобий сои для стимулирования роста и оздоровления сельскохозяйственных культур / В. А. Тильба, С. А. Бегун, М. В. Якименко // Гл. агр. — 2005. — № 5. — С. 10–12.
17. Томмэ М. Ф. Аминокислотный состав кормов / М. Ф. Томмэ, Р. В. Мартыненко. — М.: Колос, 1972. — 288 с.

Надійшла 18.08.2015.

UDC 581.557:579.6

**<sup>1</sup>S. Ya. Kots, <sup>1</sup>L. M. Mykhalkiv, <sup>1</sup>N. A. Vorobey, <sup>2</sup>O. V. Patsko,  
<sup>3</sup>V. I. Sichkar**

<sup>1</sup>Institute of Plant Physiology and Genetics of NAS of Ukraine

<sup>2</sup>Taras Shevchenko National University of Kyiv

<sup>3</sup>Plant Breeding and Genetics Institute — National Center of Seed and Cultivar Investigations of NAAS of Ukraine

### **THE EFFICIENCY OF INOCULATION OF ALFALFA BY NEW *SINORHIZOBIUM MELILOTI* STRAINS UNDER DIFFERENT WATER SUPPLY CONDITIONS**

It was investigated the efficiency of inoculation of alfalfa of Laska variety by new strains of nodule bacteria obtained by transposon mutagenesis (T17) and analytic selection method (AC08) under optimal and insufficient water supply. It was shown the positive effect of new rhizobia on growth of root nodules, their nitrogen fixing activity, aboveground plant mass and content of protein and amino acid in alfalfa. It was note the increasing of alfalfa symbiotic system productivity under drought conditions by the use of *Sinorhizobium meliloti* T17 and AC08.

УДК 581.557:579.6

**Коць С. Я., Михалкив Л. М., Воробей Н. А., Пацко Е. В., Сичкар В. И.**

### **ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИНОКУЛЯЦИИ ЛЮЦЕРНЫ НОВЫМИ ШТАММАМИ *SINORHIZOBIUM MELILOTI* ПРИ РАЗНОМ ВЛАГООБЕСПЕЧЕНИИ ПОЧВЫ**

Исследована эффективность инокуляции люцерны сорта Ласка новыми штаммами клубеньковых бактерий, полученными в результате транспозонового мутагенеза (Т17) и методом аналитической селекции (АС08), в условиях оптимального (60 % ПВ) и недостаточного (30 % ПВ) водообеспечения. Показано положительное влияние новых ризобий на

нарастание массы корневых клубеньков, их азотфиксирующую активность, надземную массу растений и содержание в ней белка и аминокислот. Отмечено, что применение *Sinorhizobium meliloti* T17 и AC08 повышает продуктивность симбиотических систем люцерны в засушливых условиях.