

УДК 631.461.5:579.262:633.31/37

ОСОБЛИВОСТІ ВЗАЄМОДІЇ *RHIZOBIUM GALEGAE* З КОЗЛЯТНИКОМ СХІДНИМ

Ю. О. Воробей, В. С. Воробей, О. В. Пиріг

Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН
вул. Шевченка, 97; м. Чернігів, 14027, Україна; e-mail: yugb@rambler.ru

Селекціоновано штамп Rhizobium galegae K-3 — активний симбіонт козлятника східного. Показано позитивний вплив даного штаму на формування та функціонування симбіотичного апарату впродовж першого та другого років вирощування рослин козлятника. Встановлено, що R. galegae K-3 сприяє формуванню на коренях рослин великої кількості бульбочок недетермінованого типу, підвищенню активності симбіотичної азотфіксації та урожайності козлятника східного.

Ключові слова: *Rhizobium galegae*, козлятник східний, бобово-ризобіальний симбіоз.

Сьогодні значна увага приділяється введенню в культуру нетрадиційних видів бобових рослин з господарсько цінними ознаками. За літературними даними саме нові, малоокультурені види рослин, які за фізіологічними властивостями близькі до своїх диких родичів, відзначаються високим симбіотичним потенціалом [1]. Використання в сільськогосподарському виробництві козлятника східного обумовлено його високою зимостійкістю та продуктивністю, інтенсивним ростом та довговічністю, раннім весняним відростанням надземної маси, можливістю використання на одному місці впродовж 10–12 років, а також високою якістю корму, отриманого без застосування азотних добрив — за рахунок симбіотичної азотфіксації [2; 3]. Підвищена здатність козлятника східного до фіксації атмосферного азоту, перевага симбіотрофного живлення над автотрофним, висока чутливість до інокуляції специфічними штамми бульбочкових бактерій визначають позитивний вплив бактеризації на продуктивність культури та якість сировини.

Вирощування козлятника східного на ґрунтах, де відсутні активні штами специфічних бульбочкових бактерій, потребує застосування біопрепаратів для передпосівної бактеризації насіння, що в свою чергу обумовлює всебічне дослідження особливостей формування бобово-ризобіального симбіозу.

Метою даної роботи було вивчення особливості взаємовідносин *Rhizobium galegae* з рослинами козлятника східного.

Матеріали й методи. Дослідження ефективності інокуляції козлятника східного (сорту Кавказький бранець) штамми *R. galegae* проводили в умовах польового дослідження на дерново-підзолистому супіщаному ґрунті (рН — 6,47; вміст гумусу — 0,8–1,1 %; азоту, що легко гідролізується (за Тюрнімом і Коновою) — 56,0–57,0 мг; P₂O₅ — 160,0–170,0 мг і K₂O (за Кірсановим) — 100–110 мг на 1 кг ґрунту). Посів проводили широкорядним способом, ширина міжрядь — 40 см. Норма висіву насіння — 10 кг/га. Перед посівом насіння скарифікували та інокулювали штамми ризобій із розрахунку 200–300 тис. клітин / насінину. Для бактеризації використовували стандартний штам *R. galegae* 0703, отриманий з колекції корисних ґрунтових мікроорганізмів [4] та штам *R. galegae* K-3, ізольований з бульбочок козлятника східного.

З коренів козлятника східного для цитологічних досліджень відбирали бульбочки, відмивали від залишків ґрунту та фіксували розчином ФОС (формалін, 16 %-ий — 1 частина; оцтова кислота (концентрована) — 1 частина; спирт, 96 %-ий — 5 частин). Для фіксації бульбочок використовували також глутаровий альдегід. Відмивали від фіксатора у 80 %-у розчині спирту. Зневоднювали фіксований матеріал шляхом чотириразового

відмивання у спирті (від 96 % до 100 %), витримували в розчині, що складається зі спирту та толуолу, з поступовою заміною спирту на толуол. Потім проводили заміщення толуолу на парафін. З фіксованого матеріалу методом парафінових блоків отримували позовжні мікротомні зрізи [5]. Частину отриманих зрізів залишали незабарвленими, іншу частину зрізів забарвлювали гематоксиліном.

Для електронно-мікроскопічних досліджень відокремлювали бульбочки рослин, інокульованих *R. galegae* К-3, розрізали на шари товщиною до 1 мм, фіксували 6 %-им розчином глютаральдегіду і 1 % OsO_4 [6]. Зневоднення фіксованого матеріалу проводили 50, 70, 76 і 100 %-ими спиртами і заливали в Епон-812. Ультратонкі зрізи одержували на ультрамікротомі BS 490А, підфарбовували уранілацетатом, проглядали на електронному мікроскопі BS-540 «Tesla».

В основні фази розвитку рослин першого та другого років вирощування визначали кількість бульбочок на коренях рослин та активність симбіотичної азотфіксації, яку вимірювали ацетиленовим методом [7]. З ґрунтово-рослинних монолітів, розміром 22×22×27 см, відбирали корені, обережно відділяючи від ґрунту, відмивали та поміщали їх у флакони, в які вводили ацетилен. Тривалість інкубації — 1 година. Кількість відновленого етилену визначали на газовому хроматографі Chrom-4. Після цього корені виймали з флаконів та підраховували кількість бульбочок.

У першій та другій роки вегетації козлятника у фазі цвітіння проводили скошу-

вання рослин та визначали їх повітряно сухою надземну масу.

Статистичну обробку експериментальних даних проводили за Б. О. Доспеховим [8] за використання комп'ютерної програми Statistica 6.0.

Результати та їх обговорення. З метою селекції нових штамів бульбочкових бактерій, здатних формувати ефективний симбіоз з рослинами козлятника східного, проводили виділення з бульбочок цих рослин відповідних культур мікроорганізмів. Так, з рожевих кореневих бульбочок козлятника східного різних сортів та гібридних форм, що вирощувалися на дослідних ділянках Національного ботанічного саду ім. Гришка, ННЦ «Інститут землеробства НААН», а також Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН виділено 17 ізолятів бактерій. За морфолого-культуральними та фізіолого-біохімічними ознаками їх віднесено до бульбочкових бактерій виду *R. galegae*.

Вивчення активності та ефективності бобово-ризобіального симбіозу в умовах вегетаційних та польових дослідів дозволило відібрати ефективний штам *R. galegae* К-3, специфічний щодо козлятника східного [9]. Більшість бульбочок, утворених у перший рік вегетації за інокуляції козлятника східного специфічним штамом К-3, були видовженої форми, мали рожевий колір (рис. 1).

Результати світлової мікроскопії на постійних препаратах мікротомних позовжних зрізів активних бульбочок представлено на рис. 2.



Рис. 1. Бульбочки на коренях козлятника східного (за передпосівної інокуляції насіння *R. galegae* К-3).

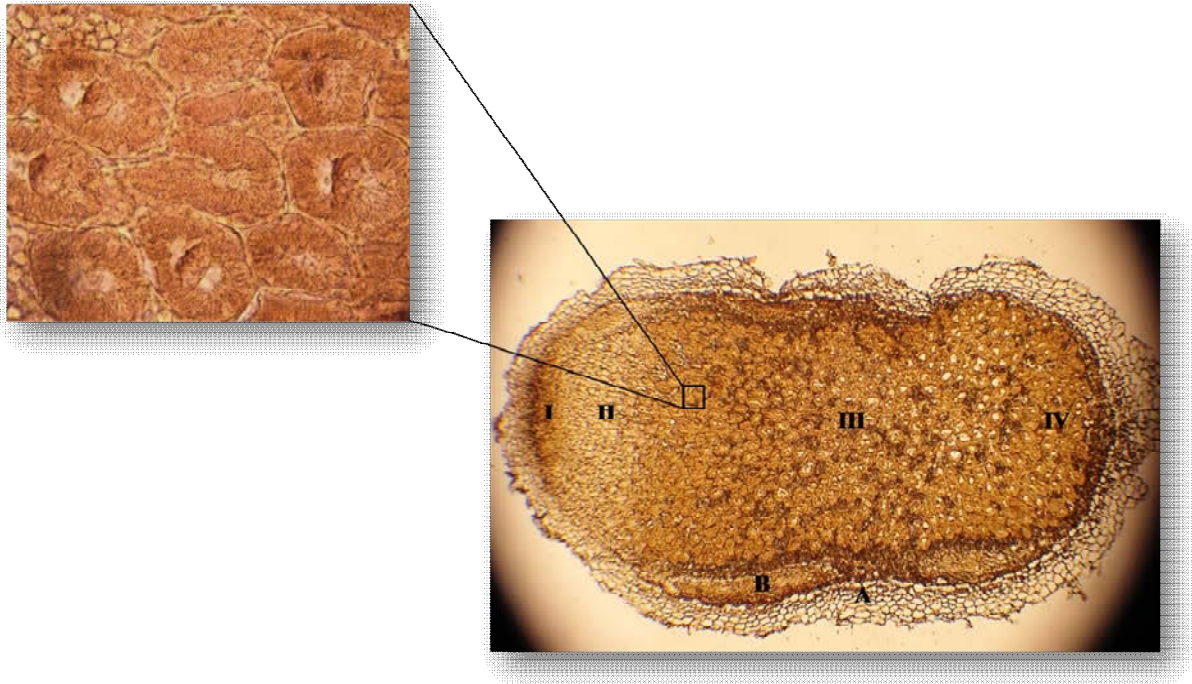


Рис. 2. Поздовжній зріз активної бульбочки козлятника східного (I — меристема, II — зона інфекції, III — зона азотфіксації, IV — зона старіння, А — кора бульбочки, В — судини)

Бульбочки козлятника східного мають характерну для недетермінованого типу структуру: чітко прослідковуються шари коркової паренхіми, в якій знаходяться провідні судини, клітини меристеми бульбочки, зона інфекції, зона активної азотфіксації, яка представлена бактероїдною тканиною зі щільним розташуванням інфікованих клітин. Слід підкреслити, що бактероїдна тканина займає основний об'єм бульбочки, що свідчить про її здатність до активної азотфіксації. Незначний простір базальної частини бульбочки займає зона старіння.

Електронно-мікроскопічні дослідження бульбочок козлятника східного показали, що в інфікованих клітинах міститься велика кількість бактероїдів. Як видно з рис. 3, бактероїди паличковидної, овальної форми, не розгалужені, заповнюють більшу частину рослинної клітини.

Бульбочки на корнях багаторічних видів родини бобових можуть існувати впродовж кількох років. Проте сьогодні питання, як змінюється кількість бульбочок та їх здатність до фіксації азоту з року в рік, є недостатньо вивченим.

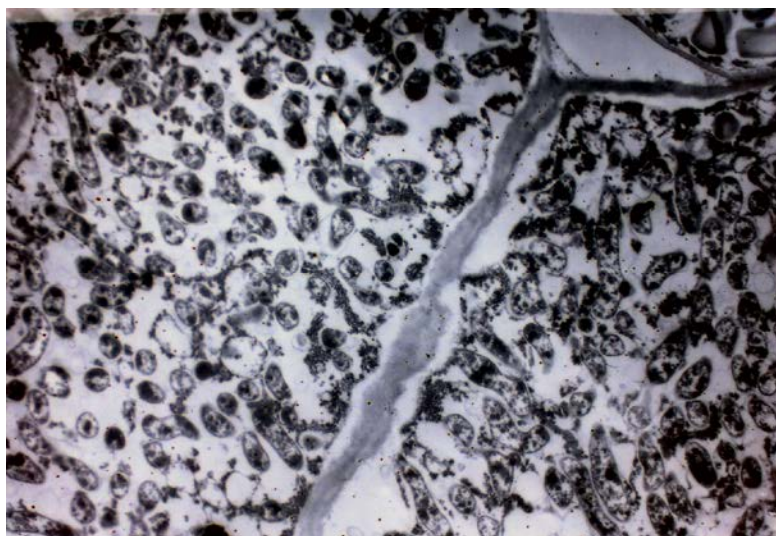


Рис. 3. Клітини бактероїдної зони бульбочок козлятника східного, заповнені бульбочковими бактеріями, $\times 5000$.

Нами показано, що наростання чисельності бульбочок козлятника східного та підвищення їх нітрогеназної активності відбувається впродовж двох років. Причому, динаміка розвитку симбіозу козлятника з представниками природної популяції та з активним штамом була схожою. За результатами відборів зразків козлятника східного першого року вегетації побудовано онтогенетичні профілі наростання бульбочок на коренях рослин та їх нітрогеназної активності.

Як видно з рис. 4, впродовж усього вегетаційного періоду в контрольному варіанті досліджуваної максимальна кількість бульбочок не перевищувала 3–4 од./рослину. Це свідчить про те, що в даному ґрунті природна популяція ризобій козлятника не поширена.

Масова поява сходів козлятника східного припадає на 30-у добу і характеризується утворенням перших справжніх листків. З 45-ї по 75-у добу після посіву, що відповідає фазі стеблуння козлятника, кількість бульбочок істотно не змінилася. Лише під кінець даної фази (90-а доба після посіву) чисельність бульбочок досягла максимуму як в контрольному варіанті, так і у варіанті з передпосівною інокуляцією насіння козлятника східного активним штамом *R. galegae* К-3. Проте наростання бульбочок на коренях інокульованих рослин відбувалося значно інтенсивніше в порівнянні з неінокульованими рослинами.

У першому відборі зразків інокульованих рослин (фаза масових сходів) виявлено в середньому 2 бульбочки на рослину, що свідчить про дуже ранню активізацію процесу бульбочкоутворення. З переходом рослин у фазу стеблуння інтенсивність цього процесу зросла приблизно у 8 раз. До середини цієї фази відбувалося подальше наростання чисельності бульбочок, і на 60-у добу після посіву їх утворилося в середньому 25 од./рослину. За подальші 15 діб кількість бульбочок суттєво не змінилася. По завершенню фази стеблуння інокульованих рослин спостерігали стрімку активізацію нодуляційних процесів. Так, у цей період кількість бульбочок становила 86 од./рослину, що в 3,6 рази перевищує даний показник попереднього відбору.

З переходом рослин у фазу бутонізації кількість бульбочок продовжувала зростати. Наростання їх чисельності продовжувалося до фази поодинокого цвітіння, проте інтенсивність утворення згасала. У фазі поодинокого цвітіння відмічено максимальну кількість бульбочок за весь вегетаційний період — 134 од./рослину.

Таким чином, можна виділити два періоди, в які спостерігається різка активізація нодуляційних процесів: 1 — при переході рослин від фази масових сходів до фази стеблуння, 2 — від завершення фази стеблуння до фази бутонізації – поодинокого цвітіння.

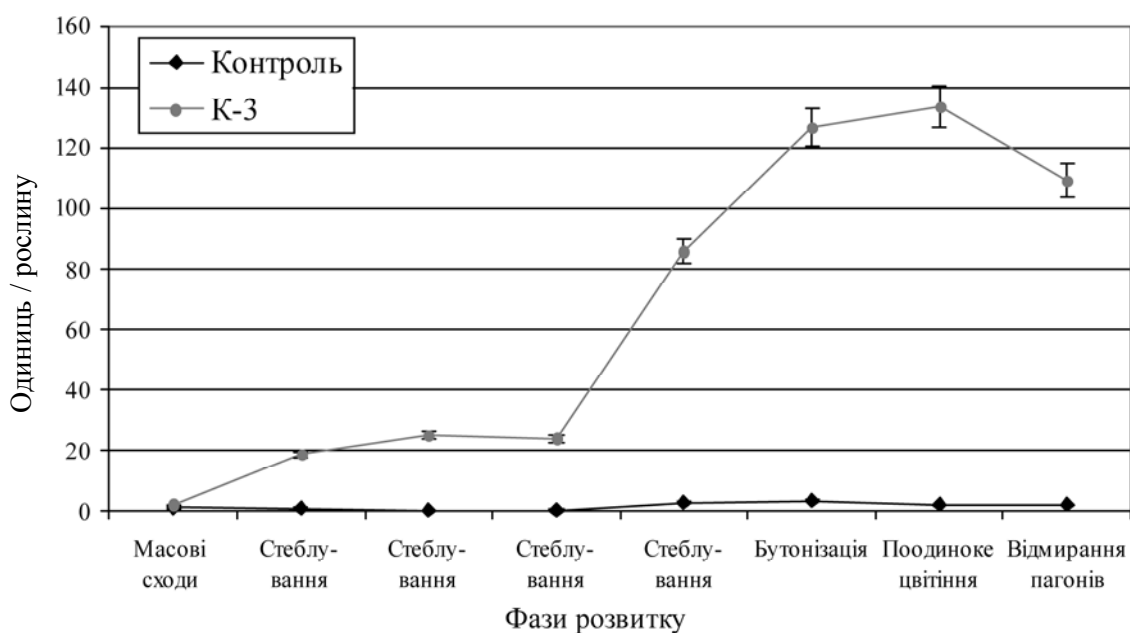


Рис. 4. Вплив передпосівної інокуляції насіння козлятника східного *R. galegae* К-3 на формування бульбочок (перший рік вирощування).

Активність симбіотичної азотфіксації у контрольному варіанті досліджу була незначною (рис. 5), що обумовлено невеликою кількістю бульбочок на коренях рослин. У фазі масових сходів нітрогеназна активність бульбочок складала 0,31 мкг N / рослину за годину. Зростання кількості бульбочок під кінець фази стеблуння (90-а доба після посіву) не супроводжувалося підвищенням нітрогеназної активності. Ймовірно, біохімічні процеси, спрямовані на формування структурно-функціональних одиниць азотфіксації, в даний період переважали над азотфіксувальними процесами.

Підвищення азотфіксувальної активності козлятника східного контрольного варіанту досліджу (2,72 мкг N / рослину за годину), що відбулося у фазі бутонізації, свідчить про те, що основні процеси, які протікають в бульбочках, максимально спрямовані на зв'язування атмосферного азоту. Зменшення рівня азотфіксації спостерігали у фазу поодинокого цвітіння і період відмирання пагонів.

Подібні закономірності перебігу процесу азотфіксації прослідковуються і у варіанті з інокуляцією активним штамом K-3 (рис. 5). Однак, за активністю азотфіксації бактеризовані рослини значно переважали контрольні показники.

З початку фази стеблуння інтенсивність азотфіксації збільшилася по відношенню до контролю майже в 2 рази. Зростання рівня даного показника відмічалось протя-

гом усіх відборів у фазі стеблуння (45–90-а доба після посіву). Підвищення рівня нітрогеназної активності пов'язане саме з кількісним нагромадженням бульбочок на коренях рослин, а не за рахунок підвищення інтенсивності роботи нітрогенази.

У фазі бутонізації рівень нітрогеназної активності підвищився в 4,9 рази порівняно з попередньою фазою, що обумовлено якісними змінами у функціонуванні бульбочок. Такі зміни є наслідком диференціації тканин бульбочок, розвитку бактероїдної тканини та підвищення інтенсивності роботи нітрогенази. У період поодинокого цвітіння рівень нітрогеназної активності бульбочок досяг максимуму і становив 45,4 мкг N / рослину за годину. По завершенню фази поодинокого цвітіння активність азотфіксації стрімко зменшувалася. Слід зазначити, що бульбочки на коренях рослин, інокульованих активним штамом, значно довше зберігали активність нітрогенази на високому рівні порівняно з рослинами контрольного варіанту досліджу.

Спостереження за ростом та розвитком рослин другого року вегетації проводили за схемою, подібною до першого року. За вегетаційний період проводили 2 укоси зеленої маси: перший — у фазі цвітіння, другий — у фазі цвітіння – наливу бобів.

Слід відмітити, що на коренях рослин усіх варіантів досліджу кількість бульбочок та їх азотфіксувальна активність упродовж другого року вирощування значно підвищилися (рис. 6).

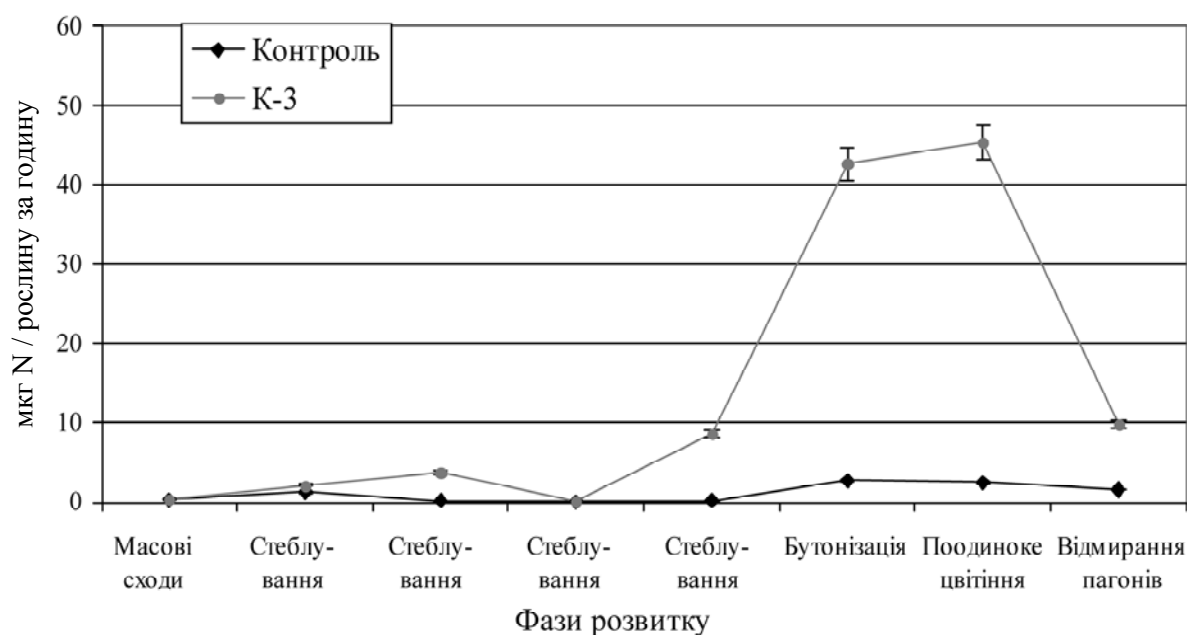


Рис. 5. Нітрогеназна активність кореневих бульбочок козлятника східного за інокуляції штамом *R. galegae* K-3 (перший рік вирощування).

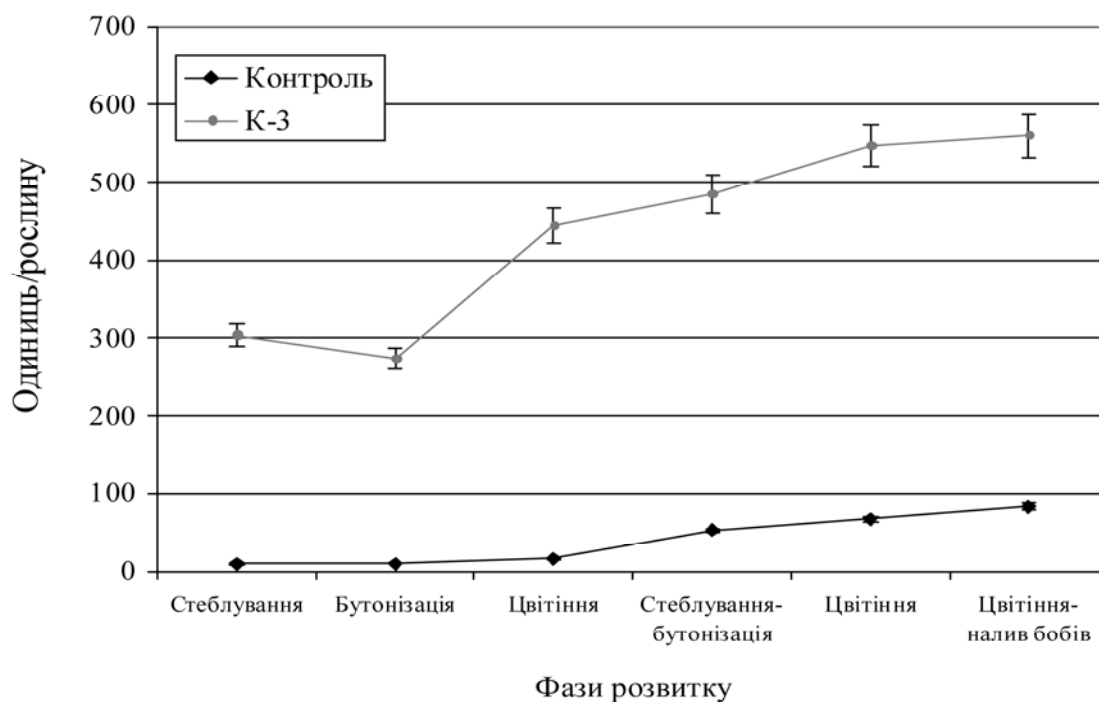


Рис. 6. Вплив передпосівної інокуляції насіння козлятника східного *R. galegae* К-3 на формування бульбочок (другий рік вирощування).

Динаміка наростання бульбочок на коренях неінокульованих рослин відображає поступове зростання їх кількості впродовж усього вегетаційного періоду. Після перезимівлі кількість бульбочок у фазі стеблування становила 9 од./рослину проти 2–3 бульбочок, сформованих у рік посіву. Розвиток рослин контрольного варіанту до фази бутонізації та цвітіння супроводжувався поступовим наростанням бульбочок. Стрімке зростання кількості бульбочок спостерігали після скошування рослин. У фазі стеблування-бутонізації інтенсивність бульбочкоутворення зростає в 3,3 рази порівняно з попередньою фазою цвітіння. У цей період кількість бульбочок становила 53 од./рослину. Активний темп формування симбіотичного апарату козлятника продовжувався до фази цвітіння – наливу бобів. Перед другим укосом, який проводили по завершенню цієї фази, спостерігали максимальну за вегетаційний період кількість бульбочок, яка становила в середньому 83 од./рослину.

Вивчення особливостей взаємодії козлятника східного з активним штамом бульбочкових бактерій упродовж другого року вегетації показало, що вже з початку відростання надземної маси (початок квітня) на рослинах, інокульованих штамом К-3, збільшилася кількість бульбочок у порівнянні з попереднім роком із 134 до 304 од./рослину.

Слід зазначити, що інтенсивне зростання кількості бульбочок на коренях козлятника даного варіанту дослідження, як і в контролі, відбувалося впродовж усього періоду вегетації. Проте в інокульованих рослин не спостерігали різкого підвищення активності нодуляції після скошування зеленої маси. Аналізуючи динаміку формування бульбочок, можна стверджувати, що з кожною фазою розвитку рослин утворення нових бульбочок відбувалося більш-менш рівномірно. Максимальна їх кількість сформувалася у фазі цвітіння – наливу бобів і складала 560 од./рослину.

Таким чином, як і в перший рік вирощування, інокульовані та не інокульовані рослини другого року вегетації мають подібні закономірності формування симбіозу. Різниця між цими варіантами полягає лише в ступені інфікування ризобіями та у кількості утворених бульбочок.

Вивчення динаміки симбіотичної азотфіксації впродовж другого року вегетації рослин всіх варіантів дослідження, показало суттєве підвищення рівня активності фіксації атмосферного азоту рослин порівняно з аналогічними показниками у перший рік вирощування.

Нітрогеназна активність бульбочок, утворених представниками природної популяції *Rhizobium galegae*, спостерігалася вже на початку квітня в період післязимового відростання.

тання рослин козлятника східного (рис. 7). Так, у фазі стеблуння рівень азотфіксувальної активності становив 2,87 мкг N / рослину за годину. Разом зі збільшенням приросту надземної маси та розвитком бульбочок на коренях рослин підвищувалася активність нітрогенази, яка у фазі бутонізації складала 5,34 мкг N / рослину за годину, у фазі цвітіння — 7,09 мкг N / рослину за годину. Проте скошування рослин у фазі цвітіння викликало різке зниження показників. Відбір зразків у період відростання отави, коли рослини перебували в фазі стеблуння-бутонізації, свідчить про зменшення інтенсивності азотфіксації до 1,85 мкг N / рослину за годину. В наступні фази розвитку рослин процес фіксації азоту відновлювався і протікав паралельно з бульбочкоутворенням. Найінтенсивніше азотфіксація відбувалася в фазі цвітіння – наливу бобів і становила 13,44 мкг N / рослину за годину.

Динаміка азотфіксувальної активності за інокуляції *Rhizobium galegae* K-3 дещо відрізнялася від аналогічного показника контролю.

Активність азотфіксації вже з перших фаз розвитку козлятника східного знаходилася на рівні 127,50 мкг N / рослину за годину, що значно переважає максимум цього

показника у перший рік вирощування. Порівняно до контролю, інтенсивність процесу у варіанті з інокуляцією рослин була вищою більш ніж у 44 рази. У фазі бутонізації нітрогеназна активність бульбочок зростає несуттєво. Однак, у фазі цвітіння рівень симбіотичної азотфіксації досяг максимальних за вегетаційний період показників і становив 210,0 мкг N / рослину за годину, що в 26,6 рази більше за аналогічний показник варіанту без інокуляції. Як і для контрольних рослин, нітрогеназна активність бульбочок, сформованих за участю активного штаму, після скошування стрімко зменшилась. У фазі стеблуння-бутонізації інтенсивність азотфіксації знизилась до 17,07 мкг N / рослину за годину. Майже на такому рівні вона залишалася до другого укосу надземної маси, що проводили у фазі цвітіння – наливу бобів.

Таким чином, у порівнянні з першим роком вже на початку післязимового відростання спостерігалася значно вища нітрогеназна активність кореневих бульбочок інокульованих рослин, яка сягала максимальних показників у фазі цвітіння.

Продуктивність козлятника східного, як один з головних показників ефективності інокуляції рослин, досліджували впродовж двох років вирощування рослин (рис. 1).

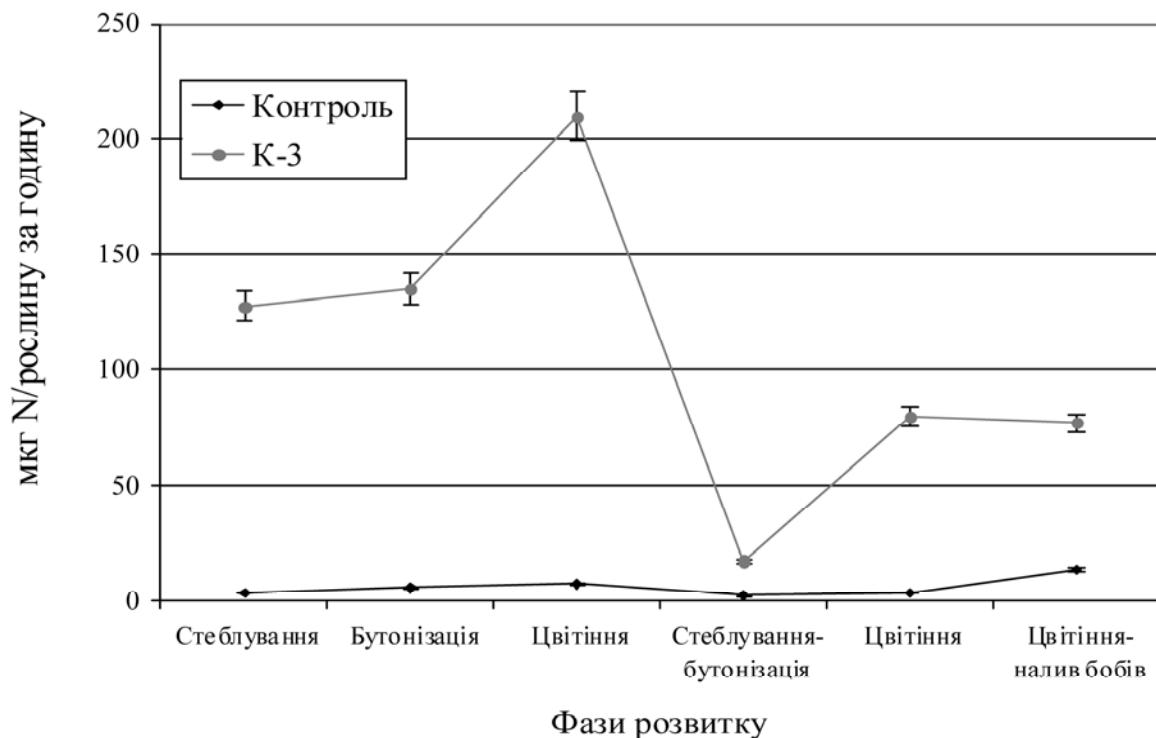


Рис. 7. Нітрогеназна активність кореневих бульбочок козлятника східного за інокуляції штамом *Rhizobium galegae* K-3 (другий рік вирощування).

Таблиця 1. Продуктивність козлятника східного першого та другого років вирощування

Варіанти досліду	Суша надземна маса, т/га (перший рік, 1 укіс)	Суша надземна маса, т/га (другий рік, 2 укоси)	Продуктивність у сумі за 2 роки, т/га
Контроль (без інокуляції)	2,83	8,61	11,44
Інокуляція <i>R. galegae</i> 0703	3,08	8,99	12,07
Інокуляція <i>R. galegae</i> К-3	3,78	9,94	13,72
НІР ₀₅	0,38	0,36	

Встановлено, що впродовж першого року вегетації штам *R. galegae* К-3 сприяв вірогідному збільшенню урожайності сухої надземної маси — на 0,95 т/га в порівнянні з контрольним варіантом та на 0,70 т/га в порівнянні з позитивним контролем (інокуляція стандартним штамом *Rhizobium galegae* 0703).

Слід відмітити, що на другий рік вирощування відбувається дуже раннє відростання рослин козлятника східного. За рахунок розгалуження кореневої системи з'являються додаткові пагони, що сприяє збільшенню урожайності культури. Так, приріст урожаю зеленої маси відносно контролю складав 15 %, відносно стандартного штаму — 11 %.

У сумі за 2 роки штам *Rhizobium galegae* К-3 сприяв збільшенню продуктивності культури відносно контролю на 20 % і відносно показників, отриманих за використання стандартного штаму *R. galegae* 0703 — на 13,7 %.

Отже, селекціонований активний штам *Rhizobium galegae* К-3 формує ефективний азотфіксувальний симбіоз з рослинами козлятника східного і сприяє формуванню на коренях значної кількості бульбочок з чіткою гістологічною зональністю, що характерна для бульбочок недетермінованого типу. Встановлено, що симбіотичний апарат козлятника східного, сформований за перший рік, після перезимівлі зберігає свою структуру та функціональну активність. На другий рік вирощування рослин збільшення кількості бульбочок на коренях рослин та суттєве зростання рівня симбіотичної азотфіксації спостерігається вже з початку відростання надземної маси. Скошування козлят-

ника східного не впливає на інтенсивність бульбочкоутворення, проте суттєво знижує активність симбіотичної азотфіксації. Штам *Rhizobium galegae* К-3 сприяє підвищенню продуктивності козлятника східного у сумі за два роки вирощування на 20 % у порівнянні з контролем.

1. Проворов Н. А. Соотношение симбиотрофного и автотрофного питания азотом у бобовых растений: генетико-селекционные аспекты / Н. А. Проворов // Физиология растений. — 1996. — Т. 43, № 1. — С. 127–135.

2. Нові кормові, пряно смакові та овочеві інтродуценти в Лісостепу і Поліссі України / [Д. Б. Рахметов, Н. О. Стаднічук, О. А. Корабльова та ін.]. — К. : Фітосоціоцентр, 2004. — 263 с.

3. Утеуш Ю. А. Кормові ресурси флори України / Ю. А. Утеуш, М. Г. Лобас. — К. : Наук. думка, 1996. — 222 с.

4. Каталог культур мікроорганізмів / [наук. редкол. : В. В. Волкогон, Ю. О. Воробей, О. В. Надкернична]. — Чернігів : видавець Брагинець О. В., 2015. — 48 с.

5. Вплив глюкану *Sinorhizobium meliloti* на утворення та функціонування азотфіксувальних симбіотичних систем люцерни за різного водозабезпечення / [Коць С. Я., Михалків Л. М., Мандровська Н. М. та ін.] // Физиология и биохимия культ. растений. — 2002. — Т. 34, № 5. — С. 413–418.

6. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих / Б. Уикли. — М. : Мир, 1975. — 324 с.

7. Волкогон В. В. Методичні рекомендації по визначенню азотфіксації в ґрунті та кореневій зоні рослин ацетиленовим методом / Волкогон В. В. — Чернігів, 1997. — 14 с.

8. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта / Б. А. Доспехов. — М. : Агропромиздат,

1985. — 351 с.

9. Пат. 105942 Україна, МПК С 12 N 1/20, С 05 F 11/08. Штам бактерій *Rhizobium galegae* для підвищення урожаю козлятника східного та

поліпшення якості рослинної сировини / В. С. Воробей, Ю. О. Воробей, Т. М. Ковалевська. — u201509880, заявл. 12.10.2015 ; опубл. 11.04.2016, бюл. № 7. — 4 с.

ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ RHIZOBIUM GALEGAE С КОЗЛЯТНИКОМ ВОСТОЧНЫМ

Ю. А. Воробей, В. С. Воробей, А. В. Пирог

Институт сельскохозяйственной микробиологии и агропромышленного производства НААН, г. Чернигов

*Селекционировано штамм *Rhizobium galegae* K-3 — активный симбионт козлятника восточного. Показано положительное влияние данного штамма на формирование и функционирование симбиотического аппарата на протяжении первого и второго годов выращивания растений козлятника. *R. galegae* K-3 способствует образованию на корнях большого количества клубеньков недетерминированного типа, повышению активности симбиотической азотфиксации и урожайности козлятника восточного.*

Ключевые слова: *Rhizobium galegae*, козлятник восточный, бобово-ризобияльный симбиоз.

THE FEATURES OF INTERACTION RHIZOBIUM GALEGAE WITH GALEGA ORIENTALIS

Yu. O. Vorobei, V. S. Vorobei, O. V. Pyrih

Institute of Agricultural Microbiology and Agroindustrial Manufacture, NAAS, Chernihiv

*The strain of *Rhizobium galegae* K-3 — active symbionte of *Galega orientalis* has been received by means of selection. Positive influence of this strain on formation and functioning of symbiosis during the first and second years of cultivation of *Galega orientalis* plants is shown. *R. galegae* K-3 promotes to formation of generous amount of indeterminate nodules on the roots, increase of activity of symbiotic nitrogen fixation and increase in the yield of *Galega orientalis*.*

Key words: *Rhizobium galegae*, *Galega orientalis*, legume-rhizobial symbiosis.