

УДК 576.871.1.155.557

ПРОДУКЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС ЛЮЦЕРНЫ ПРИ ИНОКУЛЯЦИИ БИНАРНОЙ КОМПОЗИЦИЕЙ *SINORHIZOBIUM MELILOTI*—*NOSTOC*

С.Я. КОЦЬ¹, Н.А. ВОРОБЕЙ¹, Д.А. КИРИЗИЙ¹, Е.В. КАРАУШУ²

¹Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины
03022 Киев, ул. Васильковская, 31/17
e-mail: n-vorobey@ukr.net

²Учебно-научный центр «Институт биологии» Киевского национального
университета имени Тараса Шевченко
01601 Киев, ул. Владимирская, 64

В условиях вегетационного опыта в песчаной культуре изучали физиолого-биохимические показатели растений люцерны (*Medicago sativa* L.) при инокуляции моно- и бинарными композициями азотфиксирующих микроорганизмов. Показано, что применение консорциума микроорганизмов *Sinorhizobium meliloti* T17 + *Nostoc* PTV более эффективно по сравнению с моноинокуляцией клубеньковыми бактериями, обеспечивает интенсификацию процессов азотфиксации, фотосинтеза, роста надземной массы и ризогенеза, что повышает продуктивность люцерны, способствует увеличению содержания белка в листьях, улучшению его качества.

Ключевые слова: *Medicago sativa* L., *Sinorhizobium meliloti*, *Nostoc* PTV, люцерна, азотфиксация, фотосинтез, продуктивность.

В связи с усиливающейся антропогенной нагрузкой на окружающую среду, применением в сельском хозяйстве различных химических препаратов — минеральных удобрений, гербицидов, средств защиты растений, регуляторов роста и др., актуальным становится поиск путей альтернативного ведения аграрного производства, базирующихся на биологической основе. Важная роль в этом плане отводится максимальному использованию деятельности почвенной микрофлоры.

Сегодня в мире для повышения продуктивности сельскохозяйственных растений исследуют и все чаще применяют на практике композиции, состоящие как из симбиотических, так и несимбиотических азотфиксирующих микроорганизмов. Среди широкого спектра diaзотрофных микроорганизмов наиболее перспективными считаются синезеленые водоросли (Cyanophyta, цианобактерии), поскольку в отличие от гетеротрофных азотфиксаторов они не требуют для усвоения молекулярного азота наличия в почве уже готового органического вещества.

В настоящее время хорошо известна экологическая роль цианобактерий в почве в качестве азотфиксаторов, накопителей органического вещества, центров микрокосмов как автотрофных организмов с широким спектром способностей к симбиотрофным взаимоотношениям [10, 22]. Последнее свойство цианобактерий особенно важно в связи с использованием в биотехнологии не монокультур микроорганизмов, а их

консорциумов [6]. В природе синезеленые водоросли никогда не встречаются в виде популяций клеток одного вида. Они находятся в тесных взаимоотношениях с микрофлорой, содержащейся в окружающей их клетки слизи.

Исследования показали, что состав видов микроорганизмов, сопутствующих синезеленым водорослям, очень лабилен и зависит от изменения условий местообитания. Аксеничные культуры синезеленых водорослей существуют только в лабораторных условиях. В природе они находятся в сообществах и, являясь эдификаторами этих микросообществ, могут изменять их состав [7]. Изучение природных ассоциаций позволяет конструировать искусственные микроконсорциумы, в первую очередь на основе микрофлоры, уже применяющейся на данный момент для изготовления биопрепаратов.

Способность к азотфиксации таких композиций почвенных diaзотрофов может стать эффективным путем дополнительного обеспечения сельскохозяйственных растений экологически безопасным биологическим азотом. Новое направление требует глубокого изучения взаимоотношений между бактериями, синезелеными водорослями и растениями, совместимости микроорганизмов-партнеров в созданных искусственных ассоциациях, скрининга наиболее подходящих штаммов микроорганизмов. Для создания условий эффективного функционирования симбиотических консорциумов необходимо подобрать оптимальные видовые и количественные соотношения микроорганизмов, способы их внесения в почву.

Целью данной работы было изучение возможности формирования искусственного микробного консорциума на основе Tn5-мутанта клубеньковых бактерий *Sinorhizobium meliloti* T17 и азотфиксирующей цианобактерии *Nostoc* PTV, а также влияния инокуляции этим консорциумом на физиолого-биохимические показатели и продуктивность люцерны.

Методика

В экспериментах использовали растения люцерны *Medicago sativa* (L.) сорта Ярославна селекции Института земледелия НААН Украины. Для инокуляции семян люцерны применяли штамм клубеньковых бактерий *Sinorhizobium meliloti* T17 [1, 8] из коллекции азотфиксирующих микроорганизмов Института физиологии растений и генетики НАН Украины [17]. Штамм T17 *S. meliloti* получен в результате межродовой конъюгации *Escherichia coli* S17-1(pSUP2021::Tn5) и *S. meliloti* 425a на агаризованной среде TY [11] по методике [13], он имеет улучшенные симбиотические свойства. Клубеньковые бактерии выращивали при температуре +28 °C в течение 3 сут на агаризованной среде [18] с добавлением канамицина (200 мкг/мл) в качестве селективного агента.

Для создания бинарных композиций азотфиксирующих микроорганизмов использовали культуру синезеленой водоросли *Nostoc punctiforme* из коллекции Института гидробиологии НАН Украины. Молекулярное типирование данного штамма *Nostoc* было проведено д-ром биол. наук О.А. Кокшаровой (МГУ им. М.В. Ломоносова). После типирования штамм получил название *Nostoc* PTV. Цианобактерии культивировали на среде Фитцджеральда [15] в колбах Эрленмейера при 22±2 °C и освещении 4,5–5,0 клк до стационарной фазы роста. Концентрацию хлорофилл-

ла ($C_{\text{хл}}$) в суспензии клеток определяли методом дифференциальной флуорометрии [3, 12]. Параллельно оценивали степень жизнеспособности клеток синезеленых водорослей по разнице интенсивности флуоресценции (ΔF) до и после внесения симазина — ингибитора транспорта электронов в хлоропластах [14].

Бинарную композицию микроорганизмов получали путем смешивания бактериальных суспензий, состоящих из клубеньковых бактерий (10^9 кл/мл) и цианобактерий ($C_{\text{хл}} = 1506,6 \pm 13,4$ мкг/л, $\Delta F = 0,088$) в соотношении 1 : 1.

Исследования проводили в условиях вегетационных опытов на площадке Института физиологии растений и генетики НАН Украины. Люцерну выращивали в сосудах на 10 кг субстрата (по 12 растений в сосуде) при естественном освещении и влажности субстрата 60 % полной влагоемкости. Сосуды предварительно стерилизовали 20 %-м раствором H_2O_2 . В качестве субстрата использовали промытый речной песок с добавлением минеральной питательной смеси Гельригеля [4], содержащей «стартовое» количество азота — 0,25 нормы (1 норма соответствует 708 мг $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ на 1 кг песка). Перед посевом семена стерилизовали концентрированной серной кислотой в течение 5 мин и промывали проточной водой в течение 1 ч. Продолжительность бактериализации семян суспензиями микроорганизмов *S. meliloti* T17, *N. PTV* и их бинарной композицией составляла 60 мин. Абсолютный контроль — семена люцерны, смоченные водопроводной водой. Повторность опытов семикратная. Растения для анализа отбирали в фазу стеблевания (32-е сутки после появления всходов), бутонизации (40-е сутки) и цветения (50-е сутки).

Азотфиксирующую (нитрогеназную) активность (АФА) определяли ацетиленовым методом по уровню ацетиленовосстанавливающей активности корневых клубеньков и выражали в микромолях этилена, образуемого клубеньками одного растения за 1 ч [19]. Корни с клубеньками помещали в герметически закрывающиеся стеклянные флаконы объемом 75 см³, куда через резиновую мембрану вводили шприцом 10 % ацетилена от общего объема флакона, предварительно удалив такой же объем воздуха. Продолжительность инкубации одного образца составляла 1 ч. Газовую смесь анализировали на газовом хроматографе Agilent Technologies 6855 Network GC System (USA). Повторность опытов пятикратная.

Содержание фотосинтетических пигментов определяли в фазу бутонизации по методике [23]. Отбирали листья среднего яруса пяти рендомизированных растений одного варианта. Измерения проводили в трехкратной повторности. Интенсивность фотосинтеза определяли в контролируемых условиях с помощью установки, смонтированной на базе оптико-акустического инфракрасного газоанализатора ГИАМ-5М. Сосуд с растениями помещали в герметическую камеру из оргстекла объемом 50 л, через которую продували атмосферный воздух со скоростью 15 л/мин. На выходе из камеры отбирали 1 л/мин в газоанализатор, остальной воздух сбрасывался в атмосферу. Камеру освещали лампой накаливания КГ-2000 через водяной фильтр. Освещенность на уровне субстрата составляла 250 Вт/м² ФАР, температура — 25 ± 2 °С. После адаптации растений к условиям измерения (30—40 мин после герметизации камеры) регистрировали скорость поглощения CO_2 целыми растениями (видимый фотосинтез), затем камеру открывали, растения срезали, камеру снова закрывали и определяли интенсивность дыхания

почвы с корнями для внесения соответствующей поправки в интенсивность поглощения CO_2 надземной частью растений. Параметры газообмена рассчитывали по общепринятой методике [16].

Содержание белка в листьях люцерны определяли по методу Лоури [21] в фазу бутонизации; количественный и качественный составы аминокислот — методом ионообменной жидкостно-коллончатой хроматографии с использованием автоматического анализатора [9].

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли по общепринятым методикам [5] с привлечением пакета программ Microsoft Excel. Достоверность различий между вариантами оценивали по критерию Стьюдента при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Ранее при лабораторном исследовании чистых культур *N. PTV* и *S. meliloti* нами выявлена зона стимуляции роста клеток клубеньковых бактерий вокруг колоний синезеленой водоросли *N. PTV* на поверхности агаризированной среды 79 [2, 14]. Полученные результаты согласовывались с литературными данными. Известно, что цианобактерии являются продуцентами широкого спектра биологически активных веществ, среди которых есть группа ростстимулирующих — аналогов фитогормонов [7]. При изучении проблемы создания высокоэффективных ассоциаций азотфиксирующих микроорганизмов в прикорневой зоне люцерны нами установлено, что наиболее совместимыми партнерами для цианобактерий *Nostoc PTV* являются некоторые Tn5-мутанты клубеньковых бактерий *S. meliloti*, поскольку их использование в оптимальных соотношениях в инокуляционных смесях свидетельствовало об отсутствии антагонизма между микроорганизмами.

В вегетационных опытах выяснилось, что инокуляция люцерны бинарной смесью *S. meliloti* T17 + *N. PTV* стимулирует рост вегетативной массы растений (табл. 1). Надземная масса растений люцерны при применении консорциума *S. meliloti* T17 + *N. PTV* в фазу стеблевания была на 15,4 % больше по сравнению с моноинокуляцией T17 и на 21 % больше по сравнению с моноинокуляцией *N. PTV*; в фазу бутонизации — соответственно на 13,8 и 10,4 %; в фазу бутонизации—начала цветения — на 5 и 13 %. Известно, что за счет выделения клетками азотфиксирующих синезеленых водорослей полипептидов, аминокислот, полисахаридов и витаминов в слизистом окружении этих клеток создается

ТАБЛИЦА 1. Динамика накопления сырого вещества растениями люцерны, инокулированной моно- и бинарной суспензиями микроорганизмов (г/растение)

Вариант	Фаза развития растений					
	Стеблевание		Бутонизация		Бутонизация—начало цветения	
	Надземная часть	Корни	Надземная часть	Корни	Надземная часть	Корни
Без инокуляции	0,42±0,02	0,12±0,01	1,17±0,06	1,12±0,1	1,25±0,02	2,25±0,16
<i>N. PTV</i>	0,62±0,02	0,18±0,01	1,64±0,09	1,79±0,09	1,70±0,07	2,11±0,15
<i>S. meliloti</i> T17	0,65±0,04	0,15±0,01	1,59±0,13	1,22±0,11	1,83±0,04	2,59±0,24
<i>S. meliloti</i> T17 + + <i>N. PTV</i>	0,75±0,08	0,22±0,01	1,81±0,18	1,82±0,10	1,92±0,03	2,95±0,29

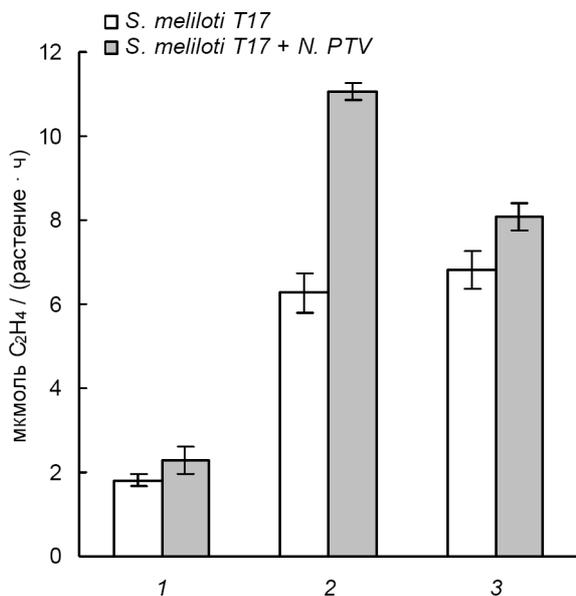


Рис. 1. Динамика азотфиксирующей активности люцерны, инокулированной моно- и бинарной суспензиями микроорганизмов, в фазы стеблевания (1), бутонизации (2), бутонизации—начала цветения (3)

нию с растениями с моноинокуляцией *S. meliloti* T17 и *Nostoc* PTV увеличилась соответственно на 46,6 и 22,2 %, в фазу бутонизации — на 49,2 и 13 %, в фазу начала цветения — на 13,9 и 39,8 %.

Эффективное взаимодействие между всеми партнерами симбиоза обеспечивает активизацию ряда метаболических процессов, прежде всего фиксации атмосферного азота. В результате этого улучшается питание растений, повышаются их урожайность и качество растительной продукции. Нами изучены особенности формирования и функционирования симбиотического аппарата люцерны, образовавшегося в условиях применения бинарной инокуляции (*S. meliloti* T17 + *N. PTV*). В начале вегетации, когда активность процесса азотфиксации еще невысокая, разница по АФА между вариантами моно- и бинарной инокуляции была несущественной (рис. 1). Однако в фазы бутонизации и бутонизации—начала цветения отмечена более интенсивная азотфиксация корневых клубеньков у растений, инокулированных смесью *S. meliloti* T17 + *N. PTV*. Эти результаты еще раз подтвердили положительную регуляторную роль *N. PTV*. У растений варианта с бинарной инокуляцией количество и масса образовавшихся клубеньков были существенно выше, чем в варианте с моноинокуляцией *S. meliloti* T17 (табл. 2).

Итак, применение консорциума *S. meliloti* T17 + *N. PTV* обеспечило повышение азотфиксирующей активности симбиотического аппарата люцерны в фазу бутонизации и сохранение ее относительно высокого уровня в фазу бутонизации—начала цветения, а также количества и массы клубеньков на растении. Из этого следует, что *N. PTV* стимулирует функционирование клубеньковых бактерий, в частности *S. meliloti* T17.

Известно, что применение активных штаммов клубеньковых бактерий, а также их ассоциаций с другими микроорганизмами влияет на формирование и функционирование фотосинтетического аппарата через

благоприятная среда для роста и размножения других микроорганизмов. Возможно, это способствовало более активному размножению клеток клубеньковых бактерий, ассоциированных с водорослями, в корневой зоне люцерны и образованию эффективного бобово-ризобиального симбиоза. У растений, семена которых были обработаны суспензиями микроорганизмов, усиливался также ризогенез (см. табл. 1). Наибольший прирост массы корней зафиксирован в варианте с применением бинарной инокуляции (*S. meliloti* T17 + *N. PTV*). Так, в фазу стеблевания масса корней по сравне-

ПРОДУКЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС ЛЮЦЕРНЫ ПРИ ИНОКУЛЯЦИИ

ТАБЛИЦА 2. Количество (шт/растение) и масса (г/растение) клубеньков на корнях люцерны, инокулированной моно- и бинарной суспензиями микроорганизмов

Вариант	Фаза развития растений					
	Стеблевание		Бутонизация		Бутонизация—начало цветения	
	Количество	Масса	Количество	Масса	Количество	Масса
Без инокуляции	0	—	0	—	0	—
<i>N. PTV</i>	0	—	0	—	0	—
<i>S. meliloti</i> T17	12,0±1,0	0,010±0,001	30,0±8,5	0,115±0,002	45,0±0,5	0,135±0,015
<i>S. meliloti</i> T17 + <i>N. PTV</i>	14,0±0,6	0,017±0,004	57,0±8,0	0,130±0,001	70,0±7,5	0,160±0,015

азотный обмен растения-хозяина. Именно наличие доступного растением азота определяет мощность развития фотосинтетического аппарата вследствие необходимости этого элемента для синтеза различных структурных и ферментных белков хлоропластов [20].

В наших опытах с применением моно- и бинарной суспензий микроорганизмов для инокуляции семян отмечено их положительное влияние на накопление фотосинтетических пигментов в листьях люцерны по сравнению с абсолютным контролем (рис. 2). Наибольший эффект наблюдался у растений, семена которых были инокулированы консорциумом азотфиксирующих микроорганизмов *S. meliloti* T17 + *N. PTV* (содержание хлорофиллов *a* и *b* увеличилось соответственно на 115 и 83 % по сравнению с вариантом моноинокуляции штаммом T17). Несомненно, что такое увеличение содержания хлорофилла в листьях произошло вследствие повышения функциональной активности ризобий, которая напрямую сопряжена с интенсивностью азотфиксации, благодаря положительному влиянию *N. PTV*.

Доступные формы азота как минеральная, так и симбиотрофная, положительно влияют не только на формирование, но и на функционирование фотосинтетического аппарата растений [20]. Об эффективности применения бинарной композиции *S. meliloti* T17 + *N. PTV* свидетельствуют также результаты определения интенсивности фотосинтеза. В частности, в фазу бутонизации у растений этого варианта интенсивность поглощения CO₂ надземной частью превышала соответствующий показатель при использовании моноиноку-

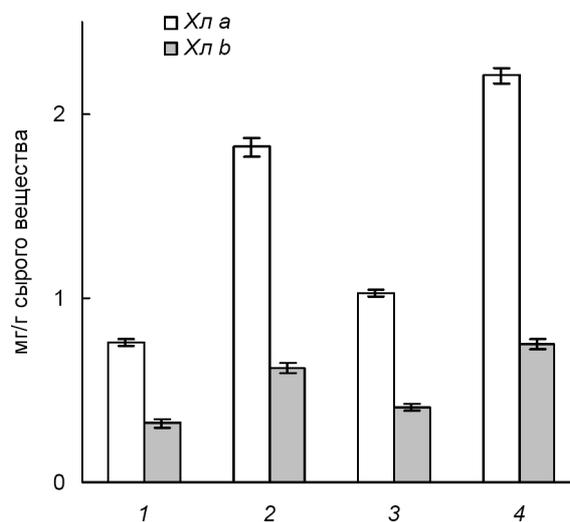


Рис. 2. Содержание хлорофилла при моно- и бинарной инокуляции клубеньковыми бактериями *S. meliloti* T17 и цианобактерией *N. PTV*:

1 — контроль (без инокуляции); 2 — инокуляция *N. PTV*; 3 — инокуляция *S. meliloti* T17; 4 — инокуляция консорциумом *S. meliloti* T17 + *N. PTV*

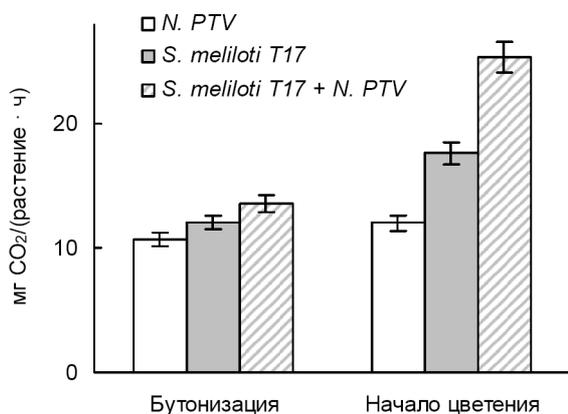


Рис. 3. Интенсивность фотосинтеза люцерны при моно- и бинарной инокуляции клубеньковыми бактериями *S. meliloti* T17 и цианобактерией *N. PTV*

фикация азотфиксации в бинарной композиции была главной причиной повышения интенсивности фотосинтеза растений. Вместе с тем не исключено, что более активный симбиотический аппарат, который формируется на корнях растений при бинарной инокуляции, усиливает «запрос» на ассимилянты со стороны корневой системы, стимулируя тем самым фотосинтетическую активность листьев. Физиологической основой такого «запроса» является интенсивная разгрузка окончаний элементов флоэмы в клубеньках, что создает концентрационный градиент транспортных форм углерода, прежде всего сахарозы, в проводящей системе и ускоряет их отток из листьев. В свою очередь, это снимает ограничения на фотосинтез, налагаемые его продуктами по принципу обратной связи, и дополнительно ускоряет фотосинтетическую ассимиляцию углерода.

Итак, эффективная работа симбиотического аппарата у инокулированных растений стимулирует накопление фотосинтетических пигментов и повышает интенсивность фотосинтеза. Накопление органических веществ способствует активному формированию биомассы растений, поскольку основой биологической продуктивности растительного организма, в том числе и способного к симбиотической азотфиксации, является фотосинтетическая ассимиляция углерода [8].

Вследствие бактеризации семян люцерны консорциумом азотфиксирующих микроорганизмов *S. meliloti* T17 + *N. PTV* сбор зеленой массы растений по сравнению с моноинокуляцией штаммом T17 увеличился на 17,9 %, а содержание белка в листьях — на 12 % (табл. 3).

Аминокислотный состав является одним из главных критериев биологической ценности растительной продукции. Суммарное содержание в листьях аминокислот, по которым проводился анализ, при использовании бинарной инокуляции увеличилось на 25,1 % по сравнению с вариантом моноинокуляции штаммом T17 (в частности, на 33,9 % возросло количество незаменимых и на 17,7 % — заменимых аминокислот) (рис. 4). При этом отмечено повышение уровней метионина, гистидина, аргинина и тирозина, содержащихся в небольших количествах в листьях растений и выступающих одним из факторов, ограничивающих скорость биосинтеза белка, особенно в генеративных органах. Повышалось также

ляции штаммом T17 на 12,7 %, а в фазу начала цветения — на 43,7 % (рис. 3).

Интенсивность фотосинтеза листьев растений, как правило, тесно коррелирует с содержанием в них азота, поскольку этот элемент в основном входит в состав аминокислот и белков, а более половины растворимого белка фотосинтезирующей клетки представлена главным ферментом ассимиляции CO₂ — РБФК/О [20]. Очевидно, интенсификация азотфиксации в бинарной композиции была главной причиной

ПРОДУКЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС ЛЮЦЕРНЫ ПРИ ИНОКУЛЯЦИИ

ТАБЛИЦА 3. Продуктивность и содержание белка в листьях люцерны, инокулированной моно- и бинарной смесями микроорганизмов

Вариант	Масса сырого вещества надземной части, г/сосуд			Содержание белка в листьях, % сухого вещества
	I укос	II укос	Суммарная масса	
Контроль	17,7±0,5	19,7±0,6	37,4	13,2
<i>N. PTV</i>	21,4±0,5	24,2±0,7	45,6	14,6
<i>S. meliloti</i> T17	21,8±0,4	25,2±0,3	47,0	18,3
<i>S. meliloti</i> T17 + <i>N. PTV</i>	26,3±0,3	29,2±0,1	55,5	20,5

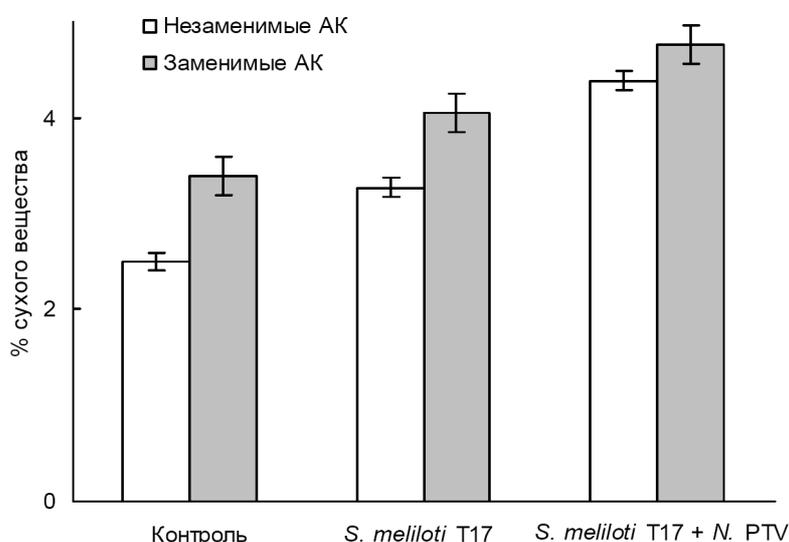


Рис. 4. Суммарное содержание незаменимых и заменимых аминокислот в листьях люцерны при моно- и бинарной инокуляции

содержание наиболее дефицитной из незаменимых для человека и животных аминокислот — лизина. Это свидетельствует о положительном влиянии цианобактериальной инокуляции на качество сельскохозяйственной продукции.

Таким образом, инокуляция семян люцерны консорциумом азотфиксирующих микроорганизмов *S. meliloti* T17 + *N. PTV* оптимизирует ее продукционный процесс благодаря увеличению нитрогеназной активности корневых клубеньков, усилению интенсивности фотосинтеза, что стимулирует нарастание вегетативной массы, повышает содержание в ней белка, улучшает его качество.

1. Воробей Н.А., Коць С.Я. Азотфіксувальна активність та ріст вегетативних органів люцерни за сумісної інокуляції суспензіями на основі активного і неактивного штамів *Sinorhizobium meliloti* // Физиология и биохимия культ. растений. — 2009. — 41, № 2. — С. 162—167.
2. Воробей Н.А., Пацко О.В., Коць С.Я., Паршикова Т.В. Фізіологічні особливості розвитку люцерни за інокуляції змішаними культурами азотфіксувальних мікроорганізмів // Там само. — № 4. — С. 344—352.
3. Гольд В.М., Гаевский Н.А., Григорьев Ю.С. и др. Теоретические основы и методы изучения флуоресценции хлорофилла. — Красноярск: Изд-во Красноярск. гос. ун-та. — 1984. — 84 с.

4. Гродзинский А.М., Гродзинский Д.М. Краткий справочник по физиологии растений. — Киев: Наук. думка, 1973. — 592 с.
5. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). — М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.
6. Заварзин Г.А. Лекции по природоведческой микробиологии. — М.: Наука, 2003. — 348 с.
7. Зяблых Р.Ю. Консорциумы микроорганизмов на основе почвенных азотфиксирующих цианобактерий и их агробиотехнологический потенциал: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Киров, 2008. — 20 с.
8. Киризий Д.А., Воробей Н.А., Коць С.Я. Взаимосвязь азотфиксации и фотосинтеза как основных составляющих продукционного процесса у люцерны // Физиология растений. — 2007. — **54**, № 5. — С. 666—671.
9. Козаренко Т.Д. Ионообменная хроматография аминокислот. — Новосибирск: Наука, 1975. — 284 с.
10. Лобакова Е.С., Дольникова Г.А., Корженевская Т.Г. Особенности цианобактериально-бактериальных комплексов микросимбионтов растительных синцианозов // Микробиология. — 2001. — **70**, № 1. — С. 128—134.
11. Миллер Дж. Эксперименты в молекулярной генетике. — М.: Мир, 1976. — 395 с.
12. Мусієнко М.М., Паршикова Т.В., Славний П.С. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології і біохімії та екології рослин. — К.: Фітосоціоцентр, 2002. — 200 с.
13. Новикова Т.И., Шарыпова Л.А., Симаров Б.В. Транспозонный мутагенез у штамма СХМ1-105 *Rhizobium meliloti* // Молекул. генет., микробиология, вирусология. — 1986. — № 8. — С. 32—35.
14. Пацко О.В., Воробей Н.А., Коць С.Я., Паршикова Т.В. Дослідження ефективності агроконсорціумів азотфіксуєуючих мікроорганізмів // Физиология и биохимия культ. растений. — 2010. — **42**, № 2. — С. 322—331.
15. Сиренко Л.А., Рыбак Н.В., Паршикова Т.В., Пахомова М.Н. Коллекция живых культур микроскопических водорослей. — Киев: Фитосоциоцентр, 2005. — 54 с.
16. Фотосинтез и биопродуктивность: методы определения / Под ред. А.Т. Мокроносова, А.Г. Ковалева. — М.: Агропромиздат, 1989. — 460 с.
17. Пат. 55432 UA, МПК C05F 11/00 C12N 1/20. Штам бактерій *Sinorhizobium meliloti* T17 (ІМВ В-7282) для одержання бактеріального добрива під люцерну / С.Я. Коць, Н.А. Воробей, С.М. Маліченко, І.М. Бутницький. — Опубл. 10.12.2010, Бюл. № 23.
18. Allen O.N. Experiments in Soil Bacteriology. — Minneapolis: Burges Publ. Co, 1959. — 54 p.
19. Hardy R.W.F., Holsten R.D., Jackson E.K., Burns R.C. The acetylene-ethylene assay for N₂ fixation: laboratory and field evaluation // Plant Physiol. — 1968. — **42**, N 8. — P. 1185—1207.
20. Lawlor D.W. Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: mechanisms are the key to understanding production systems // J. Exp. Bot. — 2002. — **53**, N 370. — P. 773—787.
21. Lowry O.H., Rosenbrought N.Z., Farr A.L., Randall R.Z. Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — **153**. — P. 265.
22. Rai A.N., Soderback E., Bergman B. Cyanobacterium-plant symbioses // New Phytol. — 2000. — **147**. — P. 449—481.
23. Wellburn A.R. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolutions // J. Plant Physiol. — 1994. — **144**, N 3. — P. 307—313.

Получено 18.12.2015

ПРОДУКЦІЙНИЙ ПРОЦЕС ЛЮЦЕРНИ ЗА ІНОКУЛЯЦІЄЮ БІНАРНОЮ КОМПОЗИЦІЄЮ *SINORHIZOBIUM MELILOTI*—*NOSTOC*

С.Я. Коць¹, Н.А. Воробей¹, Д.А. Кірізієй¹, О.В. Карауш²¹Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України, Київ²Навчально-науковий центр «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка

В умовах вегетаційного дослідження в піщаній культурі вивчали фізіолого-біохімічні показники рослин люцерни (*Medicago sativa* L.) за інокуляції моно- і бінарними композиціями азотфіксувальних мікроорганізмів. Показано, що застосування консорціуму мікроорганізмів *Sinorhizobium meliloti* T17 + *Nostoc* PTV ефективніше порівняно з моноінокуляцією бульбочковими бактеріями, забезпечує інтенсифікацію процесів азотфіксації, фотосинтезу, росту надземної маси і ризогенезу, що підвищує продуктивність люцерни, сприяє збільшенню вмісту білка в листках, поліпшенню його якості.

PRODUCTIVITY OF ALFALFA UNDER INOCULATION WITH BINARY
COMPOSITION *SINORHIZOBIUM MELILOTI*–*NOSTOC*

S.Ya. Kots¹, N.A. Vorobey¹, D.A. Kiriziy¹, O.V. Karaushu²

¹Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylkivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

²Institute of Biology, Taras Shevchenko Kyiv National University
64 Volodymyrska St., Kyiv, 01601, Ukraine

Physiological and biochemical parameters of alfalfa plants (*Medicago sativa* L.) that were inoculated with mono- and binary compositions of nitrogen-fixing microorganisms were studied in the pot experiment. It is shown that the use of microbial consortium *Sinorhizobium meliloti* T17 together with *Nostoc* PTV was more efficient than use of the single rhizobium strain inoculation. This treatment provided an intensification of the processes of nitrogen fixation, photosynthesis and stimulated growth of aboveground plant mass and rhizogenesis, that increased productivity of alfalfa, promoted enlargement of protein content in leaves and improvement of its quality.

Key words: *Medicago sativa* L., *Sinorhizobium meliloti*, *Nostoc* PTV, alfalfa, nitrogen fixation, photosynthesis, productivity.