

УДК 581.1:581.557:579.6

## ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ ФІКСАЦІЇ АЗОТУ В ІНСТИТУТІ ФІЗИОЛОГІЇ РОСЛИН І ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ

**С.Я. КОЦЬ**

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

Наведено найважливіші результати досліджень біологічної фіксації атмосферного азоту, виконаних у відділі симбіотичної азотфіксації Інституту фізіології рослин і генетики НАН України протягом 1976—2016 рр. Значну увагу приділено результатам досліджень, отриманим протягом останніх 20 років.

*Ключові слова:* азотфіксація, симбіоз, асоціації, штами мікроорганізмів, нітрогеназа.

Відділ симбіотичної азотфіксації (до 1984 р. — відділ фізіології взаємовідносин рослин і нижчих організмів) створений у 1962 р. під керівництвом чл.-кор. АН УРСР А.В. Манорика на базі лабораторії застосування радіоізоотопів Українського науково-дослідного інституту фізіології рослин (з 1986 р. — Інститут фізіології рослин і генетики АН УРСР). У 1974 р. його очолив д-р біол. наук, професор, лауреат премії імені М.Г. Холодного НАН України Ю.П. Старченков, а з 1998 р. — чл.-кор. НАН України, д-р біол. наук, професор, лауреат Державної премії України в галузі науки і техніки, премій імені М.Г. Холодного та імені Д.К. Заболотного НАН України С.Я. Коць [14, 79]. Одним із основних напрямів наукової діяльності відділу було вивчення ролі та значення біологічно активних речовин органічних добрив у живленні сільськогосподарських культур. У результаті було з'ясовано дію складників цих добрив — вітамінів, ауксинів та деяких амінокислот на надходження в рослини основних елементів живлення й особливості їх використання в процесах метаболізму. Іншим важливим напрямом роботи відділу стало дослідження механізму біологічного зв'язування молекулярного азоту атмосфери за симбіотичних взаємовідносин бобових рослин і бульбочкових бактерій, пошук важелів інтенсифікації цього процесу, розробка заходів з оптимізації умов для максимальної реалізації генетично закладеного азотфіксувального потенціалу макро- і мікросимбіонтів — бобових рослин і бульбочкових бактерій.

Співробітники відділу встановили, що відповідальний за фіксацію молекулярного азоту фермент нітрогеназа складається з двох металовмісних білкових компонентів: залізо- й молібденозалізовмісного. Доведено, що нітрогеназа бактероїдів люпину за багатьма фізико-хімічними параметрами подібна до нітрогенази, виділеної з інших мікроорганізмів-азотфіксаторів. З'ясовано, що чисті культури бульбочкових бактерій здатні синтезувати нітрогеназу і фіксувати молекулярний азот.

Ефективність бобово-ризобіального симбіозу тісно пов'язана з особливостями азотного живлення рослин, а також із впливом інших

фізіологічних чинників, тому в роботі відділу важливе місце посідали дослідження стимулювальної та депресивної дії різних форм і доз мінерального азоту, впливу бактеризації різними за активністю штамми ризобій на перебіг основних метаболічних процесів — фіксацію молекулярного азоту, фотосинтез, дихання і, як наслідок, на продуктивність бобових культур.

Наукові дослідження співробітників відділу симбіотичної азотфіксації, виконані впродовж останніх 20 років, присвячені вивченню фізіолого-біохімічних та молекулярно-генетичних особливостей формування і функціонування азотфіксувальних систем бобові рослини—бульбочкові бактерії, злакові рослини—асоціативні бактерії, а також розробці заходів щодо активування біологічного зв'язування молекулярного азоту [41—44].

Первинна взаємодія мікроорганізмів і рослин під час формування симбіозу відбувається ще в період проростання насіння бобових, коли біологічно активні речовини, що інтенсивно секретуються насінням у навколишнє середовище [96], здатні змінювати властивості бульбочкових бактерій [73]. Зокрема показано, що екsudати насіння бобових культур можуть стимулювати ростову активність ризобій, впливати на здатність специфічних бульбочкових бактерій формувати симбіотичні взаємовідносини з рослинами [76]. Спрямованість дії екsudатів насіння залежить від їх концентрації, тривалості періоду проростання насіння, сорту рослин, симбіотичних характеристик штамів-інокулянтів [73, 106]. Велике значення для ризобій також мають кореневі виділення бобових рослин, які містять низку речовин [1], що можуть чинити істотний ефект на популяції симбіотичних азотфіксаторів у екотопі, стимулювати або пригнічувати їхню активність [41]. Було показано, що умови вирощування бобових, зокрема внесення у субстрат різних доз азотних добрив, значною мірою впливають на процес екsudації у рослин [40].

Формування симбіотичних і асоціативних фітобактеріальних систем починається з дистанційної взаємодії симбіонтів [16], яка здійснюється за рахунок молекулярного сигналіngu із залученням екзометаболітів як рослин, так і мікроорганізмів [94, 95]. Встановлено істотну роль хемотаксису ризобій до органічних речовин (амінокислот, органічних кислот, їхніх солей, вуглеводів). Поряд із речовинами, до яких бульбочкові бактерії, незалежно від їх симбіотичних властивостей, проявляють хемотаксисні реакції, існують речовини, що чинять специфічну дію відносно того чи іншого штаму [17]. Вибірність у хемотаксисних реакціях ризобій на речовини даної групи (амінокислоти, цукри, органічні кислоти, їхні солі) пов'язана з такою симбіотичною характеристикою бактерій, як конкурентоспроможність. Не виявлено істотної відмінності у хемотаксисних реакціях бульбочкових бактерій, які відрізняються за специфічністю до рослини-хазяїна та азотфіксувальною активністю, до цих речовин, що вказує на неспецифічний характер хемотаксису бактерій відносно молекул такого типу [32]. Встановлено, що за дії антропогенного стресора (високий фон мінерального азоту) хемотаксис ризобій змінюється [25], відбувається перерозподіл хемоефекторних функцій між речовинами корневих виділень рослини.

Відомо, що лектини виявляють специфічну біологічну активність щодо бульбочкових бактерій і мають важливе значення не лише в їх «розпізнаванні» рослиною, а й в адсорбції та зв'язуванні з коренями рос-

лини-хазяїна, формуванні й функціонуванні бульбочок. У результаті дослідження фізіологічних і функціональних особливостей лектинів бобових рослин і полісахаридів ризобій співробітники відділу встановили, що ці сполуки беруть безпосередню участь у процесах взаємного розпізнавання партнерами симбіозу один одного на первинних етапах утворення і розвитку симбіотичних взаємовідносин між рослиною-хазяїном та бульбочковими бактеріями.

Всі аспекти біологічної ролі лектинів, у тому числі лектинів бобових рослин, остаточно не з'ясовані. Зважаючи на те що лектини містяться в різних тканинах і органах рослин [57, 60, 82], вони, очевидно, мають важливе і водночас різнобічне значення для життєдіяльності останніх. Відповідальною стадією, яка передує ініціації інфекції, є адсорбція ризобіальних клітин на коренях рослини-хазяїна. Як перша стадія формування симбіозу вона не має чітко вираженої специфічності, тобто на коренях рослин можуть адсорбуватись і гомо-, і гетерологічні їм бульбочкові бактерії, проте гомологічні (специфічні) — у значно більшій кількості. Інкубація коренів проростків люпину перед інокуляцією *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) у розчині галактози — гаптену лектину люпину — призводила до зменшення на 60—80 % кількості адсорбованих на них бактерій, що вказує на фізіологічну роль і безпосередню участь цього білка на початковій стадії формування симбіотичних взаємовідносин між партнерами [19, 38, 55].

Роль лектинів у становленні симбіозу не обмежується лише їх зв'язуванням із глікополімерами мікросимбіонта на початкових етапах контакту з коренями рослин. Науковці відділу встановили специфічність модуляторного впливу цих білків на формування і подальше функціонування симбіозу, що виявляється у стимулюванні гомологічним лектином партнерів симбіозу та здебільшого нейтральній або супресорній дії лектину, невідповідного цим симбіонтам. Отже, отримані результати, а також літературні дані засвідчують, що лектини як рецепторні молекули беруть участь не лише на перших етапах взаємодії ризобій із коренями рослини-хазяїна, а й виконують роль сигнальних молекул і біологічно активних речовин у подальшому формуванні й функціонуванні азотфіксувальної симбіотичної системи [56, 61].

У відділі вперше встановлено пряму залежність між лектиною та азотфіксувальною активністю бульбочок люпину і сої, що вказує на безпосередню участь лектинів у роботі азотфіксувального апарату. Зазначено, що симбіотичні властивості ризобій, від яких залежить рівень азотфіксувальної активності бобових, істотно впливають на лектинову активність не лише утворених ними бульбочок, а й інших органів цих рослин [57, 82]. Виявлено, що зміна показників інтенсивності фотосинтезу в умовах різного забезпечення сої мінеральним і біологічним азотом супроводжується зміною гемаглютинувальної активності білків у листках, а це може підтверджувати гіпотезу щодо участі лектинів у функціонуванні асиміляційної системи бульбочок і фотосинтетичного апарату [81].

Біохімічні та імунохімічні дослідження лектину насіння безбульбочкової ізоляції сої, виконані співробітниками відділу, дали змогу встановити деякі відмінності цього білка від лектину насіння сої, здатної формувати бобово-ризобіальний симбіоз, зокрема щодо гемаглютинувальної активності, амінокислотного складу, вуглеводної специфічності [67, 72]. В екстракті білка насіння безбульбочкової сої методом гель-

фільтрації виявлено дві лектинові фракції з різною вуглеводною специфічністю [68]. Встановлено, що насіння безбульбочкової ізолінії сої за кількісним співвідношенням високомолекулярних білків відрізняється від насіння звичайної сої, здатної формувати бульбочки [32]. Експериментально доведено, що білок безбульбочкової сої слабо взаємодіє лише з гетерологічними ліпополісахаридами окремих штамів бульбочкових бактерій люпину [104]. Лектин насіння генетично зміненої сої у певних концентраціях може активувати проростання насіння і формування проростків звичайної сої [69], а також утворення й функціонування бобово-ризобіального симбіозу цими рослинами. Серед численних наукових робіт у галузі лектинології [101, 105] чільне місце посідають дослідження біологічної активності лектинів, отриманих із різних сортів бобових рослин, що належать до однієї групи вуглеводної специфічності й таких, що мають певні відмінності щодо ступеня їх взаємодії з окремими вуглеводами. Вивчення особливостей ефекторної дії таких лектинів показало, що гемаглютиніни дещо відрізняються щодо впливу на формування бульбочок на головному і бічних коренях рослин, а також на активність розвитку симбіозу на ранніх етапах його становлення [44, 74]. Слід зазначити, що концентрація лектину великою мірою визначає характер його впливу на формування і функціонування симбіотичних систем [44, 71]. Активність азотфіксації, бульбочкоутворення та формування надземної маси рослин сої збільшується або зменшується у випадку внесення бінарних композицій лектинів насіння сої та гороху в культуру ризобій [75].

Виявлено, що фітолектини як рослинні метаболіти не лише зумовлюють контактну взаємодію симбіонтів на ранніх етапах утворення симбіозу, яка здійснюється за рахунок вуглевод-протеїнового і протеїн-протеїнового рецептингу [18, 22], а й корегують баланс рослинно-мікробних взаємодій за екзогенної дії на компоненти системи рослина—грунт—мікроорганізм за рахунок регуляторної функції, яка пов'язана з полівекторним спектром біологічної активності цих протеїнів (біоефекторної, рістрегуляторної, адаптогенної, фунгітоксичної, комунікативної) [20] щодо рослин [23, 48], азотфіксувальних мікроорганізмів [21] і фітопатогенних грибів [24] *in vitro* та *in situ*. На основі отриманих результатів теоретично та експериментально обґрунтовано створення нового класу лектин-бактеріальних композицій [15, 42], доведено ефективність їхньої дії за передпосівної обробки насіння сільськогосподарських рослин як біотехнологічних елементів екологічного землеробства.

Із застосуванням інгібіторного аналізу й використанням гаптену лектину пшениці N-ацетил-D-глюкозаміну доведено [102], що внаслідок блокування активних центрів протеїну гаптен частково пригнічує біоефекти аглютиніну на компоненти системи рослина—грунт—мікроорганізми, що є одним із доказів лектинової природи їх прояву на всіх рівнях організації фітобактеріальної асоціації.

Важливим напрямом досліджень є вивчення реакції рослинно-бактеріальних систем на дію різноманітних чинників довкілля, зокрема недостатнього водозабезпечення, і пошук шляхів оптимізації їх функціонування за несприятливих умов.

З використанням рослинно-мікробних систем люцерна—*Sinorhizobium meliloti* було виявлено, що пригнічення активності засвоєння молекулярного азоту кореневими бульбочками під впливом нестачі вологи передуює зниженню фотосинтетичної активності рослин [78], чим підтверджено літературні дані про те, що дефіцит ґрунтової вологи

має чітко виражений вплив на азотфіксацію, оскільки ініціація бульбочок, їх ріст і активність чутливіші до водного стресу, ніж загальний метаболізм у рослинах [93, 107]. Показано [62], що незалежно від активності штаму-інокулянта обробка насіння ризобіями знижує негативний вплив дефіциту вологи на формування симбіотичних систем. За умов оптимального водозабезпечення у коренях сої, інфікованої активними й неактивними ризобіями, синтезуються поліпептиди з молекулярними масами 50, 60, 90 та 140 кД, які утворюються також у неінокульованих рослинах під впливом посухи, а це підтверджує припущення про подібність реакцій рослин на дію стресів різної природи (бактеризація і недостатнє водозабезпечення) та важливість інокуляції в підвищенні стійкості бобових до несприятливих чинників довкілля.

Експериментально доведено можливість підвищення продуктивності бобових за посушливих умов унаслідок регуляції процесів становлення симбіотичних взаємовідносин між рослинами та мікроорганізмами, а також функціонування азотфіксувальних систем. Зокрема показано, що обробка люцерни розчинами регуляторів росту рослин цитокінінової (ПС-К) і ауксинової (ПС-А-6) дії та комплексного препарату ПТМБ сприяє істотному підвищенню азотфіксувального потенціалу рослини-хазяїна в результаті збільшення кількості й маси кореневих бульбочок та їх нітрогеназної активності як за оптимального, так і недостатнього водозабезпечення [36], а за нестачі вологи забезпечує підвищення активності відновлення нітратів у коренях люцерни, при цьому застосування ПС-К і ПТМБ подовжує період активної азотфіксації, а відтак — забезпечує істотніше накопичення азоту в надземній масі рослин. Підтверджено, що комплексне застосування інокуляції активними штамми та обробки люцерни у фазі прихованої бутонізації ПС-К сприяє збільшенню надземної маси рослин першого й другого укосів, а також урожаю насіння люцерни як за оптимального, так і недостатнього водозабезпечення, що дало підставу рекомендувати цей прийом як спосіб підвищення азотфіксувальної активності та продуктивності симбіотичних систем люцерна—*S. meliloti* [92].

Використання природних біологічно активних речовин, які входять до складу рослинно-мікробних систем, забезпечує посилення стійкості симбіотичних систем до нестачі вологи. Зазначено [31], що ризобіальний глюкан діє на рослину як екзогенний біоефектор, однак не «чужий» їй і, можливо, такий, що нею «розпізнається». Обробка насіння люцерни периплазматичним глюканом із наступною бактеризацією ризобіями стимулює ріст рослин, збільшує пероксидазну активність у коренях і листках. За недостатнього водозабезпечення застосування розчину глюкану та інокуляції *S. meliloti* поліпшує формування і функціонування азотфіксувального апарату, сприяє наростанню надземної маси люцерни [100].

Експериментально доведено, що інкубація синоризобій із білками з гемаглютинувальною активністю стимулює ріст вегетативної маси бактеризованих рослин, підвищує стійкість симбіотичної системи люцерни до нестачі вологи, а також доведено можливість використання соєвого лектину для активування процесу відновлення молекулярного азоту симбіотичною системою люцерна—*S. meliloti* за недостатнього водозабезпечення [39]. Зазначено, що використання лектину насіння сої для передпосівної обробки насіння рослин із наступною інокуляцією або ж для інкубування з бактеріальною культурою, що використовується для інокуляції, забезпечує формування симбіотичних систем, функціональна

активність яких ефективна як за оптимального, так і недостатнього водозабезпечення, що гарантує підвищення продуктивності рослин люцерни й сої при вирощуванні за нормального зволоження ґрунту та за посушливих умов. При цьому внаслідок змін фізіологічних процесів на фоні використання лектину спостерігається приріст урожаю насіння люцерни і сої, а також збільшення урожаю зеленої маси люцерни у першій та другій роки вегетації [89, 97, 99].

Водночас показано, що характер і ступінь модуляторного впливу лектину залежить від способу його використання, рівня водозабезпечення та симбіотичних характеристик штаму-інокулянта [5]. Зокрема доведено, що використання лектину як компонента інокуляційної суспензії є ефективнішим для пом'якшення негативного впливу недостатнього водозабезпечення на симбіотичні системи *Glycine max—Bradyrhizobium japonicum* і підвищення продуктивності рослин сої за посушливих умов порівняно з обробкою ним насіння [6, 26]. Внесення лектину сої в інокуляційну суспензію впливає на відновлення нітратів у листках рослини-хазяїна та визначає специфіку реакції цього процесу на дію водного стресу, що зумовлено особливостями формування і функціонування симбіотичної системи. Застосування лектину сумісно з ефективним штамом ризобій зменшує інгібувальний вплив посухи на активність нітратредуктази [33].

Показано підвищення інтенсивності  $\text{CO}_2$ -газообміну та вмісту фотосинтетичних пігментів у рослинах сої, вирощеної в посушливих умовах за використання лектину, причому максимальний ефект цей білок виявляв як компонент інокуляційної суспензії [37]. Експериментально доведено, що застосування лектину при інокуляції активним штамом стимулює асиміляційну активність рослин сої як за умов оптимального водозабезпечення, так і за посухи, про що свідчить збільшення продигової провідності листків [26].

Вперше встановлено [6], що при бактеризації сої ризобіями, модифікованими лектином, зростає вміст фітогормонів цитокінінової природи в листках, коренях і бульбочках сої, що, будучи важливою ланкою в механізмі швидкої дистанційної сигналізації про стрес, може свідчити про підвищення стійкості симбіотичної системи до посухи. Водночас виявлені зміни активності аскорбат- і гваяколпероксидаз, а також каталази у рослинах сої під впливом екзогенного лектину на фоні оптимального і недостатнього водозабезпечення можуть підтверджувати значення лектину в регуляції процесів формування і функціонування симбіозу та в реакції інокульованих рослин сої на посуху.

Взаємодія рослин із мікроорганізмами у бобово-ризобіальному симбіозі супроводжується генеруванням активних форм кисню і посиленням роботи окисно-відновних ферментів (пероксидази, каталази, поліфенолоксидази, супероксиддисмутази), які активуються в процесі захисних реакцій рослини-хазяїна на інфікування бульбочковими бактеріями і дію різних біотичних чи абіотичних стресових чинників. Науковці Інституту довели специфічну роль пероксидази на ранніх етапах формування симбіозу: у коренях неінокульованих рослин сої пероксидазна активність, як з'ясувалось, удвічі менша, ніж у коренях бактеризованих рослин [41, 47]. Зазначено, що активність цього ферменту в листках, коренях та бульбочках залежить від ефективності симбіозу [2, 42, 46]. На думку дослідників, зміни активності пероксидази можуть опосередковано свідчити про зміни фітогормонального статусу симбіотичних систем у

відповідь на інфікування бульбочковими бактеріями. Продемонстровано також позитивний зв'язок між активністю каталази корневих бульбочок та їх азотфіксувальною активністю [41, 46, 63].

Виявлено, що активність поліфенолоксидази в бульбочках сої, інкульованої різними за ефективністю Tn5-мутантами, збільшується протягом вегетації рослин і пов'язана з вірулентністю ризобій [41, 45]. Це вказує на важливу роль фенольних сполук у бобово-ризобіальному симбіозі, які слугують не лише сигналами-посередниками при перерозподілі ауксинів, що впливає на процес формування бульбочок, а й регулюють фізіологічний стан симбіотичної системи як на стадіях активної азотфіксації, так і старіння бульбочок.

Доведено, що при симбіотичній взаємодії фізіолого-біохімічні властивості мікросимбіонта визначають особливості функціонування й інших окисно-відновних ферментів у коренях рослини-хазяїна: активність гваяколпероксидази пов'язана з вірулентністю мікросимбіонта, а аскорбатпероксидази — з інтенсивністю азотфіксації корневих бульбочок [11].

Встановлено, що інгібування процесів формування і функціонування симбіотичного апарату сої у бобово-ризобіальних системах різної ефективності за дії недостатнього водозабезпечення супроводжується інтенсифікацією гваяколпероксидази у коренях та аскорбатпероксидази в бульбочках, зниженням активності каталази у бульбочках залежно від симбіотичних властивостей мікроорганізмів [65, 66], що підтверджує роль цих ферментів у регулюванні механізмів азотфіксації та адаптації до стресових умов [61].

На сьогодні, на жаль, недостатньо вивченим залишається важливе питання гормональної регуляції процесів становлення і функціонування симбіотичних систем. У результаті проведених із використанням комплексного підходу досліджень встановлено, що фітогормональний статус систем *Glycine max*—*B. japonicum* різної ефективності залежить від особливостей формування та функціонування взаємовідносин у симбіотичних системах рослина—мікроорганізми і пов'язаний із властивостями бульбочкових бактерій [7, 9, 10, 34]. У ці експерименти були залучені нові мікроорганізми, створені за допомогою Tn5-мутагенезу штаму *B. japonicum* 646, які зберігають здатність до синтезу фітогормонів ауксинової, цитокінінової, гіберелінової природи та АБК. При цьому виявлено прямий зв'язок між кількістю зеатинрибозиду, утвореного ризобіями *in vitro*, та азотфіксувальною активністю сформованого за їх участю симбіозу, що свідчить про можливість використання показника вмісту цього гормону в чистій культурі як маркерної ознаки при доборі ефективних у симбіозі штамів роду *Bradyrhizobium*.

Доведено, що на ранніх етапах становлення симбіотичних взаємовідносин вміст фітогормонів у корневих бульбочках істотно вищий, ніж у коренях сої, що підтверджує можливий внесок мікросимбіонта в гормональний баланс рослини і значущість синтезованих ним гормонів для формування симбіозу. Водночас виявлено прямий зв'язок між вмістом зеатину в корневих бульбочках сої та ефективністю штаму-інокулянта у фазі першого трійчастого листка та бутонізації. Помічено чітку кореляцію між азотфіксувальною активністю бульбочок, утворених високоактивними штамми й Tn5-мутантами, та вмістом ІОК у коренях (пряма залежність,  $R^2 = 0,75$ ) і бульбочках (обернена залежність,  $R^2 = 0,98$ ) сої на ранніх етапах розвитку рослин. Показано, що динаміка вмісту

гіберелінів у бульбочках сої пов'язана із симбіотичними характеристиками (вірулентністю та азотфіксувальною активністю) штаму-інокулянта.

Вказано на тісну взаємодію АБК з ауксинами (пряма залежність,  $R^2 = 0,74$ ), цитокінінами (пряма залежність,  $R^2 = 0,80$ ) та гіберелінами (обернена залежність,  $R^2 = 0,72$ ) у фазу двох трійчастих листків, що свідчить про її важливу роль у гормональній регуляції процесу формування симбіотичних систем.

Виявлено прямий зв'язок між співвідношенням ІОК/зеатин у коренях та інтенсивністю засвоєння біологічного азоту бульбочками у фазу цвітіння, що доводить вагомість чинника азотфіксації для балансу ауксинів у симбіотичних системах соя—*V. japonicum*.

Разом із традиційними напрямками дослідження бобово-ризобіального симбіозу співробітники відділу приділяють значну увагу вивченню молекулярних основ взаємодії рослин та мікроорганізмів на рівні протейому, без чого неможливо створити цілісну картину формування й функціонування симбіотичних структур для з'ясування механізмів взаємодії макро- та мікросимбіонтів.

Співробітники відділу оптимізували й запропонували низку ефективних методів екстракції протеїнів із коренів та бульбочок сої при формуванні нею симбіозу з ризобіями [29, 59]. За допомогою цих методів досліджено протеїнові профілі коренів сої, бульбочок загалом та окремо в рослинній і бактерійній їх частинах за оптимальних умов росту рослин та за дії стресових чинників.

Науковці відділу отримали результати з дослідження складу білків ризобій у чистій культурі, які вказують на певні їх відмінності залежно від активності штамів бактерій, що уможливило застосування електрофоретичного розділення білків ризобій для оцінювання активності нітрогеназного комплексу бульбочкових бактерій без залучення їх до симбіозу [12].

Дослідження білкового вмісту симбіотичних структур сої показали, що кількісний вміст протеїнів коренів залежить від наявності сформованого азотфіксувального апарату, а бульбочок — від симбіотичних характеристик ризобій. За інокуляції ризобіями у коренях сої виявлено зміни синтезу низки білків, що можуть вказувати на наявність неспецифічної та специфічної відповіді рослини на бактеріальну інфекцію [28, 97].

Вивчивши вплив посухи на процеси становлення і функціонування бобово-ризобіального симбіозу, співробітники відділу виявили відмінності загального вмісту й складу білків коренів та бульбочок сої за умов водного дефіциту, які свідчили про адаптаційні зміни в них, що сприяють відновленню нормального перебігу метаболічних процесів і забезпечують регуляцію взаємодії рослини з ризобіями за умов посухи. Встановлено, що дефіцит вологи призводить до зниження загального вмісту білка як у коренях сої, так і в сформованих на них бульбочках. Утворення бобово-ризобіального симбіозу сприяє деякому зменшенню негативних наслідків нестачі вологи та швидшому відновленню інтенсивності процесу біосинтезу білка за поновлення поливу [30].

Склад білків коренів сої за інокуляції штамми ризобій з різними симбіотичними властивостями та за різного забезпечення мінеральним азотом загалом є доволі сталим. Особливості білкового пулу бактероїдів сої, інокульованої різними за симбіотичними особливостями штамми *V. japonicum*, за різного забезпечення рослин азотом підтвердили відмінності між штамми на рівні симбіозу, проте не дали змоги виявити чітку різницю в складі білків залежно від кількості внесеного у ростовий субстрат мінерального азоту. Виявлені особливості білкового складу рослинної частини буль-



бочок сої підтвердили подібність їхніх білкових профілів із коренями і водночас вказали на вплив ризобій та дози внесеного мінерального азоту на відносний вміст поліпептидів у екстрактах [27, 97].

Метаболічні перетворення, що відбуваються під час взаємодії макро- та мікросимбіонтів, включають реорганізацію цитоскелета, зміну гормонального статусу рослини, активування низки ферментів та синтез багатьох сполук, необхідних для нормального функціонування нітрогеназного комплексу, а також підтримання гомеостазу бульбочки у процесі її онтогенезу.

Питання щодо перебігу біохімічних реакцій при фіксації азоту та їх регуляції залишається маловивченим, оскільки потребує створення модельних систем із контрастною азотфіксувальною активністю. Такий підхід дає змогу не лише ідентифікувати сполуки, залучені до функціонування симбіотичних структур, та шляхи їх синтезу, а й виявити тонкі механізми регуляції ефективності взаємодії партнерів симбіозу, що в подальшому може стати основою для створення високопродуктивних симбіозів. Зважаючи на це, співробітники відділу симбіотичної азотфіксації вивчили динаміку основних груп біохімічних сполук (амінокислот, спиртів, цукрів, органічних кислот) коренів сої при формуванні нею симбіотичних систем різної активності й установили, що в процесі формування симбіозу активуються синтез і накопичення моно- та олігосахаридів у коренях інфікованих рослин, які є джерелом енергії й попередниками синтезу основних структурних біополімерів [50—52, 103]. Крім того, у відповідь на інокуляцію синтезується низка сполук, які є відомими активними компонентами систем захисту рослин на дію стресу. Так, інокуляція як активними, так і неактивними штамми *B. japonicum*, сприяє синтезу органічних сполук, які не лише беруть участь у функціонуванні симбіозу, а й здатні створювати передумови для підвищення стійкості рослин до стресових чинників [49]. Водночас реакція рослин на інфікування не залежить від властивостей штаму формувати активний чи неактивний симбіоз. Функціонування симбіотичного апарату не чинить значного впливу на біосинтез сполук у рослин сої і не викликає значних метаболічних перетворень. Єдиною особливістю активного симбіозу є вищий рівень вмісту вільних амінокислот, які є основними продуктами депонування зв'язаного біологічного азоту [53]. Отже, лише в період формування симбіотичного апарату (на відміну від активно функціонуючих бульбочок) у коренях бобових активується синтез органічних сполук, задіяних у депонуванні енергії та, ймовірно, підвищенні стійкості рослин до несприятливих чинників довкілля.

Широке застосування інокуляції бульбочковими бактеріями бобових культур для підвищення їх урожаю та поліпшення його якості спонукає до систематичної роботи над удосконаленням симбіотичних властивостей цих бактерій, й отже, ефективності бобово-ризобіального симбіозу.

У відділі симбіотичної азотфіксації методами аналітичної селекції отримано високоактивні конкурентоспроможні штами бульбочкових бактерій люпину *Rhizobium lupini* 387a, гороху *Rhizobium leguminosarum* 2636, козлятнику східного *Rhizobium* sp. (Galega) 159 та Л2, сої *B. japonicum* PC08, люцерни *S. meliloti* AC 08 [80, 84, 85, 88, 90, 91].

Методом міжродової кон'югації створено високоефективні штами бульбочкових бактерій люцерни *S. meliloti* M4 [83], M12 [87] та конюшини *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* BN9 [86]. Їх особливістю є те, що вони менш чутливі до несприятливих екологічних умов — низьких тем-

ператур, нестачі вологи, надлишку азоту в ґрунті. Застосування зазначених штамів *S. meliloti* істотно активує перебіг найважливіших фізіологічних процесів — азотфіксацію, фотосинтез, дихання, а також значно підвищує (на 20—25 %) продуктивність люцерни, збільшує в урожаї вміст білка, вільних і зв'язаних амінокислот. Науково обґрунтовано й експериментально доведено позитивну роль нових штамів бульбочкових бактерій у формуванні генеративних органів люцерни, що полягає в інтенсифікації утворення в них лімітуючих синтез білка амінокислот — метіоніну, лізину, гістидину, тирозину та ін. [35, 38].

В Інституті фізіології рослин і генетики НАН України методом неспецифічного транспозонового мутагенезу з використанням плазміди pSUP2021:Tn5 створено високоефективні конкурентоспроможні штами бульбочкових бактерій гороху, люцерни і конюшини [8, 64]. Вперше доведено можливість застосування цієї плазміди для транспозонового мутагенезу штамів *B. japonicum* 646, 614a, 71т із частотою транспозиції  $10^{-6}$ — $10^{-7}$  [4, 54]. Встановлено, що використання плазміди pSUP5011:Tn5 ефективніше для інсерції Tn5-транспозону в геном повільнорослих бактерій *B. japonicum* 646, M6346 і дає змогу отримати широкий спектр Tn5-мутантів.

За допомогою векторної плазміди pSUP2021:Tn5, що несе транспозон Tn5, було отримано низку мутантів різних штамів бульбочкових бактерій люпину, зокрема штамів 10, 168, 359a, при цьому частота утворення канаміциностійких клонів становила  $10^{-7}$ — $10^{-9}$  [3]. Виявлено, що більшість нових мутантів характеризується низькою азотфіксувальною активністю. В умовах ґрунтової культури характер бульбочкоутворення й азотфіксувальна активність симбіотичних систем люпину з транспозоновими мутантами штаму *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) 168 відрізнялися від встановлених у дослідках із використанням піщаного субстрату [70].

Перевірено й проаналізовано нові штами, отримані методами аналітичної селекції та транспозонового мутагенезу, стосовно здатності формувати з люцерною стійкі до водного стресу симбіотичні системи. В результаті вивчення нітрогеназної активності бульбочок люцерни, інокульованої різними ризобіями, отримано експериментальне підтвердження високого азотфіксувального потенціалу симбіотичних систем люцерни, утворених за участю штамів *S. meliloti* T17, AC08 та AC88, а також їх здатності до швидкого відновлення функціональної активності після дії посухи. Як перспективні для використання в умовах недостатнього водозабезпечення обрано аналітично селекціоновані бактерії штамів AC08 і AC88, а також транспозоновий мутант T17 [77].

Створена й підтримується у життєдіяльному стані одна з найбільших в Україні Колекція штамів симбіотичних та асоціативних азотфіксувальних мікроорганізмів, яка має статус національного надбаня. До складу колекції входять різні за активністю штами та Tn5-мутанти повільно- і швидко-рослих симбіотичних азотфіксаторів — представників родів *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mezorhizobium*, селекціоновані як ученими Інституту, так і працівниками інших наукових установ України й світу. Крім того, у колекційному фонді зберігається низка штамів та ізолятів асоціативних і вільноіснуючих азотфіксувальних мікроорганізмів. Авторство окремих із них належить нашим науковцям [43].

Співробітники відділу дослідили вплив передпосівної обробки насіння зернобобових культур бульбочковими бактеріями і сучасними фунгіцидами проти ґрибних хвороб на формування й функціонування

симбіотичних систем сої та нуту [13, 58]. Показано, що більшість досліджених фунгіцидів не пригнічує ріст бульбочкових бактерій у чистій культурі [58]. Ступінь зниження азотфіксувальної активності кореневих бульбочок та продуктивності рослин залежить від типу застосованого протруйника, терміну обробки, дози препарату, а також сорту рослин і штамів бульбочкових бактерій.

Співробітники Інституту в творчій співдружності з установами НААН України розробили і впровадили у виробництво біотехнологію отримання рослинного білка. Економічний ефект від її застосування становить понад 1 млрд грн за рік.

Розроблено і впроваджено у виробництво препарат нового покоління ризостим. Його унікальність забезпечує поєднання комплексу штамів азотфіксувальних мікроорганізмів, отриманих за допомогою останніх досягнень молекулярної біології й нанобіотехнології, та комплексу рослинних протеїнів, які пришвидшують формування симбіозу, активують нітрогеназний комплекс бактерій, підвищують стійкість рослин до несприятливих чинників довкілля. Крім того, препарат містить унікальний компонент, який поліпшує прилипання бактерій до насіння, забезпечує їх зберігання на його поверхні щонайменше протягом двох місяців.

Ще однією інноваційною розробкою Інституту є інокулянт для зернових культур — азолек. Препарат містить запатентований штам асоціативних азотфіксувальних мікроорганізмів і комплекс протеїнів зародків пшениці, які посилюють взаємодію рослин і мікроорганізмів, сприяють реалізації потенціалу продуктивності зернових культур. Багаторічними дослідженнями доведено ефективність препарату за його використання в сучасних технологіях вирощування пшениці.

Щорічно на основі створених у відділі ефективних конкурентоспроможних штамів бульбочкових бактерій виготовляються різні форми бактеріальних препаратів для інокуляції основних багаторічних бобових трав, зернобобових і зернових культур на площі 25—50 тис. га.

Роботи співробітників відділу отримали визнання наукової громадськості. Вони відзначені двома Державними преміями України в галузі науки і техніки, двома іменними преміями Національної академії наук України: премією імені М.Г. Холодного (1998 р.), премією імені Д.К. Заболотного (2005 р.), Премією Верховної Ради України (2009 р.), Премією Кабінету Міністрів України (2009 р.), почесною відзнакою УААН (2009 р.), медаллю, шістьма преміями НАН України для молодих учених (1994, 2000, 2005, 2006, 2010, 2015 рр.).

Відділ має тісні наукові зв'язки з Університетом Західної Угорщини, Інститутом кормових культур Болгарської АН, Дендропарком Млинані Словацької АН, Інститутом генетики і цитології НАН Білорусі та науковими установами інших країн. Відділ бере активну участь у виконанні міжнародних і державних науково-технічних проектів та грантів.

Співробітники відділу є авторами 14 монографій, 3 навчальних посібників, 32 патентів і авторських свідоцтв, низки статей у провідних фахових наукових виданнях. Із часу створення у відділі підготовлено 5 докторів і 29 кандидатів біологічних наук.

Хоча в дослідженні проблеми біологічної фіксації азоту досягнуто значних успіхів, ефективність цього процесу в умовах виробництва залишається значно нижчою від рівня, який спостерігається в дослідних контрольованих умовах, тобто біологічний потенціал азотфіксувальних мікроорганізмів реалізовано ще далеко не повністю. Вирішення багатьох

питань у цьому напрямі можливе лише за умови розширення і поглиблення фізіолого-біохімічних та молекулярно-генетичних досліджень.

1. Беліма Н.И., Манорик А.В. Содержание свободных аминокислот в пасоке, корнях и корневых выделениях некоторых растений // Физиолого-биохимические основы питания растений. — Киев: Наук. думка, 1967. — Вып. 2. — С. 63—71.
2. Василюк В.М., Кругова О.Д., Мандровська Н.М., Коць С.Я. Активність пероксидази і каталази у сої, інокульованої Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* // Физиология и биохимия культ. растений. — 2007. — **39**, № 4. — С. 334—342.
3. Василюк В.М., Мельникова Н.М., Михалків Л.М. та ін. Формування симбіотичних взаємовідносин рослин люпину з транспозоновими мутантами *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) // Там само. — № 3. — С. 233—241.
4. Василюк В.М. Фізіологічні особливості взаємодії сої та люпину з новими штамми повільнорослих бульбочкових бактерій (*Bradyrhizobium*), отриманими транспозоновим мутагенезом: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — Київ, 2008. — 21 с.
5. Веселовська Л.І., Михалків Л.М., Коць С.Я. Вплив екзогенного лектину на ефективність симбіозу *Glycine max*—*Bradyrhizobium japonicum* в умовах посухи // Физиология растений и генетика. — 2013. — **45**, № 4. — С. 319—326.
6. Веселовська Л.І. Роль лектину в адаптації бобово-ризобіального симбіозу сої до посухи: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — Київ, 2015. — 21 с.
7. Волкогон М.В., Маменко П.М., Коць С.Я. Баланс ІОК та зеатину в рослинах сої за інокуляції насіння різними штамми й мутантами *Bradyrhizobium japonicum* // Физиология и биохимия культ. растений. — 2009. — **41**, № 5. — С. 408—416.
8. Воробей Н.А., Коць С.Я., Бутницький І.М. Ефективність симбіотичних систем люцерни за інокуляції Tn5-мутантами *Sinorhizobium meliloti* // Там само. — 2007. — **39**, № 2. — С. 105—113.
9. Грищук О.О., Коць С.Я. Здатність штамів і Tn5-мутантів *Bradyrhizobium japonicum* до синтезу зеатину й гіберелінів *in vitro* // Там само. — 2013. — **45**, № 2. — С. 148—154.
10. Грищук О.О. Фітогормональний статус сої за використання штамів із різними симбіотичними характеристиками: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — Київ, 2014. — 21 с.
11. Дрозденко Г.М., Маменко П.М., Коць С.Я. Активність гваякол- і аскорбатпероксидази та білковий склад коренів сої у період формування і на початку функціонування симбіотичних систем *Glycine max*—*Bradyrhizobium japonicum* // Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. Сер. Біологія. — 2013. — Вип. 1. — С. 18—26.
12. Дрозденко Г.М., Маменко П.М., Маліченко С.М., Коць С.Я. Особливості білкового складу штамів та Tn5-мутантів *Bradyrhizobium japonicum* різної активності // Физиология и биохимия культ. растений. — 2009. — **41**, № 5. — С. 423—429.
13. Жемойда А.В., Омельчук С.В., Маліченко С.М., Коць С.Я. Дослідження токсичної дії фунгіцидів Ламардору та Максиму на ріст і розвиток *Bradyrhizobium japonicum* у чистій культурі // Матеріали наук.-метод. семінару «Фізіологія рослин у системі сучасних біологічних знань та наук» (Харків, 20 бер. 2013). — Харків: Б.В., 2013. — С. 74—76.
14. Институт физиологии растений АН УССР // Сост.: В.К. Мусяяка, Л.Л. Полякова. — Киев: Наук. думка, 1984. — 32 с.
15. Кириченко Е.В. Биотехнологии в растениеводстве. — Николаев: Иллион, 2014. — 436 с.
16. Кириченко Е.В. Взаимоотношения бобовых растений и клубеньковых бактерий на уровне доконтактных взаимодействий при формировании азотфиксирующих систем // Физиология и биохимия культ. растений. — 2002. — **34**, № 2. — С. 95—101.
17. Кириченко Е.В. Изучение хемотаксиса клубеньковых бактерий люпина к органическим веществам // Микробиол. журн. — 2005. — **67**, № 3. — С. 19—26.
18. Кириченко Е.В., Маліченко С.М. Лектин бобовых растений — молекулярный компонент углевод-белковой системы «узнавания» симбионтов // Физиология и биохимия культ. растений. — 1995. — **27**, № 5—6. — С. 315—323.
19. Кириченко Е.В., Титова Л.В., Жемойда А.В., Омельчук С.В. Влияние лектинов бобовых растений разной специфичности на развитие проростков сельскохозяйственных культур // Там же. — 2004. — **36**, № 5. — С. 390—397.
20. Кириченко О.В. Біологічна активність екзогенних рослинних лектинів при утворенні та функціонуванні фітобактеріальних асоціацій // Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. — 2011. — Вип. 2 (23). — С. 46—59.
21. Кириченко О.В., Жемойда А.В. Екологічні аспекти застосування рослинних лектинів для передпосівної обробки насіння сої та пшениці // Агрокол. журн. — 2006. — № 3. — С. 42—48.
22. Кириченко О.В., Маліченко С.М., Косенко Л.В. Екзополісахариди бульбочкових бактерій люпину та сої і їх роль у встановленні симбіотичних зв'язків між ризобіями та бобовими рослинами // Физиология и биохими культ. растений. — 2001. — **33**, № 6. — С. 539—544.

23. Кириченко О.В., Перковська Г.Ю. Вплив екзогенного лектину пшениці на вміст флавоноїдів та зміну лектинової активності у проростках пшениці за умов ультрафіолетового опромінення // Біополімери і клітина. — 2005. — 21, № 5. — С. 413—418.
24. Кириченко О.В., Сергієнко В.Г. Фунгітоксична активність рослинних лектинів // Физиология и биохимия культ. растений. — 2006. — 38, № 6. — С. 526—534.
25. Кириченко О.В. Хемотаксис ризобій люпину до амінокислот, цукрів, солей органічних кислот у присутності мінерального азоту // Там само. — 2005. — 37, № 4. — С. 333—340.
26. Кірізій Д.А., Веселовська Л.І., Коць С.Я. Вплив посухи на газообмін листків сої, інокульованої ризобіями із застосуванням насінневого лектину // Физиология растений и генетика. — 2014. — 46, № 6. — С. 498—506.
27. Кондратюк Ю., Маменко П., Коць С. Вплив різних доз мінерального азоту на загальний вміст білка коренів та бульбочок сої, інокульованої штаммами *Bradyrhizobium japonicum* із контрастними симбіотичними характеристиками // Вісн. Київ. нац. ун-ту імені Тараса Шевченка. Сер. Біологія. — 2014. — 1, № 66. — С. 37—41.
28. Кондратюк Ю.Ю., Маменко П.М., Жемойда А.В. Протеїнові профілі коренів сої, інокульованої штаммами *B. japonicum* різної ефективності, за оптимального і недостатнього водозабезпечення // Наук. зап. Тернопіл. нац. пед. ун-ту імені Володимира Гнатюка. Сер. Біологія. — 2014. — 60, № 3. — С. 106—109.
29. Кондратюк Ю.Ю., Маменко П.М., Левішко А.С. та ін. Порівняльний аналіз методів екстракції та розділення білків для протеомного дослідження білкових профілів коренів та бульбочок сої // Физиология и биохимия культ. растений. — 2013. — 45, № 3. — С. 222—229.
30. Кондратюк Ю.Ю., Рибаченко О.Р., Маменко П.М., Коць С.Я. Вплив посухи на вміст розчинного білка в коренях сої, інокульованої штаммами *Bradyrhizobium japonicum* з різними симбіотичними властивостями // Физиология растений и генетика. — 2015. — 47, № 4. — С. 361—366.
31. Косенко Л.В., Михалків Л.М., Кругова Е.Д. и др. Биологическая активность глюкана *Sinorhizobium meliloti* // Микробиология. — 2003. — № 5. — С. 633—638.
32. Коць С.Я., Береговенко С.К., Кириченко Е.В., Мельникова Н.Н. Особенности взаимодействия растений и азотфиксирующих микроорганизмов. — Киев: Наук. думка, 2007. — 315 с.
33. Коць С.Я., Веселовська Л.І., Михалків Л.М. Нітратредуктазна активність у листках сої, інокульованої *Bradyrhizobium japonicum*, на фоні різного водозабезпечення та використання лектину // Наук. зап. Тернопіл. нац. пед. ун-ту імені Володимира Гнатюка. Сер. Біологія. — 2014. — № 3 (60). — С. 114—117.
34. Коць С.Я., Волкогон Н.В., Гришук О.О. Способность штаммов и Tn5-мутантов *Bradyrhizobium japonicum* к синтезу ИУК и АБК in vitro // Физиология и биохимия культ. растений. — 2010. — 42, № 6. — С. 491—496.
35. Коць С.Я. Вплив різних доз мінерального азоту та штамів *Rhizobium meliloti* на синтез вільних амінокислот у надземній масі люцерни // Там само. — 1997. — 29, № 4. — С. 310—316.
36. Коць С.Я., Григорюк І.А., Михалків Л.М. и др. Влияние природных и синтетических регуляторов роста на азотфиксирующую активность и интенсивность фотосинтеза люцерны при разном водообеспечении // Агробиохимия. — 2006. — № 5. — С. 41—48.
37. Коць С.Я., Кірізій Д.А., Веселовська Л.І. Інтенсивність фотосинтезу симбіотичних систем соя—*Bradyrhizobium japonicum* за дії екзогенного лектину // Доп. НАН України. — 2013. — № 11. — С. 157—162.
38. Коць С.Я., Маліченко С.М., Кругова О.Д. та ін. Фізіолого-біохімічні особливості живлення рослин біологічним азотом. — К.: Логос, 2001. — 271 с.
39. Коць С.Я., Михалків Л.М., Веселовська Л.І., Береговенко С.К. Азотфіксувальна активність і продуктивність люцерни, інокульованої *Sinorhizobium meliloti*, за різного водозабезпечення та використання білків із гемаглютинуючою активністю // Вісн. Харків. нац. ун-ту ім. В.Н.Каразіна. Сер. Біологія. — 2014. — Вип. 23, № 1129. — С. 59—64.
40. Коць С.Я., Михалків Л.М. Фізіологія симбіозу та азотне живлення люцерни. — К.: Логос, 2005. — 300 с.
41. Коць С.Я., Моргуєв В.В., Патыка В.Ф. и др. Биологическая фиксация азота: бобово-ризобиальный симбиоз: [Монография в 4 т.]. Т. 1. — Киев: Логос, 2010. — 508 с.
42. Коць С.Я., Моргуєв В.В., Патыка В.Ф. и др. Биологическая фиксация азота: бобово-ризобиальный симбиоз: [Монография в 4 т.]. Т. 2. — Киев: Логос, 2011. — 523 с.
43. Коць С.Я., Моргуєв В.В., Патыка В.Ф. и др. Биологическая фиксация азота: ассоциативная азотфиксация: [Монография в 4 т.]. Т. 4. — Киев: Логос, 2014. — 412 с.
44. Коць С.Я., Моргуєв В.В., Тихонович І.А. и др. Биологическая фиксация азота: генетика азотфиксации, генетическая инженерия штаммов: [Монография в 4 т.]. Т. 3. — Киев: Логос, 2011. — 404 с.

45. *Кругова Е.Д., Коць С.Я., Мандровская Н.М., Василюк В.Н.* Активність пероксидази и полифенолоксидазы в клубеньках и корнях сои, инокулированной Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* // Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. Сер. Біологія. — 2008. — Вип. 1. — С. 6—14.
46. *Кругова Е.Д.* Специфические стратегии клубеньковых и фитопатогенных бактерий при инфицировании растений // Физиология и биохимия культ. растений. — 2009. — **41**, № 1. — С. 3—15.
47. *Кругова О.Д.* Активність пероксидази і поліфенолоксидази у симбіотичних системах сої, утворених з участю мутантів *Bradyrhizobium japonicum* на ранніх етапах формування симбіозу // Физиология растений: проблемы та перспективи розвитку. У 2 т. / Гол. ред. В.В. Моргун. — К.: Логос, 2009. — С. 428—436.
48. *Кругова О.Д., Мандровська Н.М., Кириченко О.В.* Вплив екзогенного лектину на активність антиоксидантних ферментів, ендогенного лектину і вміст флавоноїдів у пшениці // Укр. біохім. журн. — 2006. — **78**, № 2. — С. 106—112.
49. *Левішко А.С., Маменко П.М., Коць С.Я.* Динаміка вмісту органічних кислот у коренях сої за інокуляції різними за ефективністю штамми *Bradyrhizobium japonicum* / Наук. зап. Тернопіл. нац. пед. ун-ту імені Володимира Гнатюка. Сер. Біологія. Спец. випуск: Біологічна фіксація азоту. — 2014. — С. 118—121.
50. *Левішко А.С., Маменко П.М., Коць С.Я.* Дослідження розподілу метаболітів бобово-ризобіального симбіозу різної ефективності // Матеріали наук.-метод. семінару «Физиология растений у системі сучасних біологічних знань та науки» (Харків, 20 бер. 2013). — Харків, 2013. — С. 84—85.
51. *Левішко А.С., Маменко П.М.* Metabolic changes in soybean roots inoculated by *Bradyrhizobium japonicum* strains with different symbiotic properties / III Міжнар. наук. конф. «Регуляція росту і розвитку рослин: фізіологічно-біохімічні і генетичні аспекти» (Харків, 11—12 лист. 2014). — Харків, 2014. — С. 93—94.
52. *Левішко А.С., Маменко П.М.* Особливості функціонування соєво-ризобіального симбіозу різної ефективності / Міжнар. наук. конф. «Мікробіологія та імунологія — перспективи розвитку в XXI столітті» (Київ, 10—11 квітня, 2014). — Київ, 2014. — С. 67—68.
53. *Левішко А.С., Хоменко Ю.О.* Динаміка розподілу метаболітів при функціонуванні соєво-ризобіального симбіозу різної ефективності // Наук. зап. екол. лаб. УДПУ. — Вип. 15. — К.: Наук. світ., 2012. — С. 57—61.
54. *Маліченко С.М., Даценко В.К., Василюк В.М., Коць С.Я.* Транспозонний мутагенез штамів *Bradyrhizobium japonicum* // Физиология и биохимия культ. растений. — 2007. — **39**, № 5. — С. 409—418.
55. *Маліченко С.М., Даценко В.К., Маменко П.М.* Адсорбція бульбочкових бактерій корінням специфічних та неспецифічних їм бобових рослин // Матеріали Міжнар. наук. конф. «Онтогенез рослин, біологічна фіксація молекулярного азоту та азотний метаболізм» (Тернопіль, 1—4 жов. 2001). — Тернопіль, 2001. — С. 95—98.
56. *Маліченко С.М., Даценко В.К., Маменко П.М., Коць С.Я.* Участь лектинів специфічних і неспецифічних до бульбочкових бактерій бобових рослин у формуванні і функціонуванні азотфіксувального комплексу // Наук. зап. Тернопіл. пед. ун-ту. Сер. Біологія. — 2002. — № 3 (18). — С. 49—57.
57. *Маліченко С.М., Маменко П.М., Коць С.Я.* Вплив різних за активністю штамів роду *Bradyrhizobium* на динаміку лектинової активності кореневих бульбочок та функціонування азотфіксувального апарату люпину // Физиология и биохимия культ. растений. — 2002. — **34**, № 6. — С. 511—516.
58. *Маліченко С.М., Омельчук С.В., Жемойда А.В. та ін.* Вплив протруйників на ріст бактерій *Mesorhizobium ciceri* та формування симбіозу у рослин нуту // Зб. тез доп. IV відкритого з'їзду фітобіологів Причорномор'я (Херсон, 19 січня 2012). — Херсон: ТОВ «Ай-лант», 2012. — С. 44.
59. *Маменко П.М., Коць С.Я., Дрозденко Г.М. та ін.* Білковий склад бульбочок сої, інокульованої штамми та Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* різної ефективності // Физиология и биохимия культ. растений. — 2008. — **40**, № 6. — С. 525—531.
60. *Маменко П.М., Коць С.Я., Якимчук Р.А.* Динаміка активності лектинів у різних органах люпину залежно від ефективності штаму-інокулянта // Там само. — 2004. — **36**, № 2. — С. 139—146.
61. *Маменко П.М., Маліченко С.М., Даценко В.К., Коць С.Я.* Симбіотичні властивості і продуктивність сої залежно від концентрації її лектину в інокуляційній суспензії // Там само. — 2003. — **35**, № 3. — С. 215—221.
62. *Маменко П.М.* Формування симбіотичних систем і білковий склад коренів сої, інокульованої штамми *Bradyrhizobium japonicum*, за різного водозабезпечення // Физиология растений и генетика. — 2014. — **46**, № 3. — С. 236—244.

63. Мандровська Н.М., Кругова О.Д., Василюк В.М., Коць С.Я. Активність каталази у коренях і бульбочках сої, інюкульованої Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* // Вісн. Укр. т-ва генетиків і селекціонерів. — 2008. — 6, № 1. — С. 73—81.
64. Мандровська Н.М., Кругова О.Д., Охріменко С.М. Симбіотичні властивості і культурально-біохімічні ознаки Tn5-мутантів бульбочкових бактерій гороху // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології. — К.: Логос, 2007. — Т. 1. — С. 360—366.
65. Мельник В.М., Огір А.Д. Активність гваяколпероксидази у коренях сої, інюкульованої *Bradyrhizobium japonicum*, за дії посухи // Матеріали Междунар. науч.-практ. конф. молодих учених «Проблеми и перспективы исследований растительного мира» (Ялта, 13—16 мая 2014). — Ялта, 2014. — С. 233.
66. Мельник В.М., Огір А.Д. Формування та функціонування симбіотичних систем соя—*Bradyrhizobium japonicum* в умовах водного стресу // Тези Міжнар. наук. конф. «Селекція та генетика бобових культур: сучасні аспекти та перспективи» (Одеса, 23—26 черв. 2014). — Одеса, 2014. — С. 259—261.
67. Мельникова Н.М. Біохімічні особливості лектинів безбульбочкової сої // Укр. біохім. журн. — 1997. — 69, № 5—6. — С. 158—162.
68. Мельникова Н.М., Маменко П.М., Коць С.Я. Дві гемаглютинуючі фракції білків насіння безбульбочкової сої з різною вуглеводною специфічністю // Доп. НАН України. — 2004. — № 11. — С. 167—171.
69. Мельникова Н.М., Маменко П.М., Омельчук С.В., Маліченко С.М. Формування проростків сої за дії лектинів насіння звичайної та безбульбочкової сої // Живлення рослин: теорія і практика. — К.: Логос, 2005. — С. 363—370.
70. Мельникова Н.М., Мельник В.М., Михалків Л.М. та ін. Формування симбіозу у люпину, інюкульованого Tn5-мутантами *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) у польових умовах // Вісн. Харків. аграр. ун-ту. Сер. Біологія. — 2009. — Вип. 1. — С. 52—57.
71. Мельникова Н.М., Михалків Л.М., Омельчук С.В. Азотфіксувальна активність симбіозу соя—*Bradyrhizobium japonicum* та вегетативна маса рослин за дії лектину насіння безбульбочкової сої // Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку. — К.: Логос, 2009. — Т. 1. — С. 492—496.
72. Мельникова Н.М. Особливості амінокислотного складу лектину безбульбочкової сої // Укр. біохім. журн. — 1997. — 69, № 5—6. — С. 200—202.
73. Мельникова Н.М. Формування бобово-ризобіального симбіозу за дії ексудатів насіння люпину // Наук. зап. Тернопіл. нац. пед. ун-ту імені Володимира Гнатюка. Сер. Біологія. — 2014. — 3, № 60. — С. 131—134.
74. Мельникова Н.Н., Ковальчук Н.В., Коць С.Я., Мусатенко Л.И. Влияние лектинов семян сои на формирование и функционирование бобово-ризобияльного симбиоза // Физиология и биохимия культ. растений. — 2009. — 41, № 5. — С. 439—446.
75. Мельникова Н.Н., Коць С.Я. Влияние бинарных композиций лектинов сои и гороха на формирование соево-ризобияльного симбиоза // Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. Сер. Біологія. — 2015. — Вип 2 (35). — С. 64—71.
76. Мельникова Н.Н., Омельчук С.В. Влияние семенных экссудатов бобовых растений на формирование бобово-ризобияльного симбиоза // Прикл. биохимия и микробиология. — 2009. — 45, № 3. — С. 331—337.
77. Михалків Л.М., Воробей Н.А., Коць С.Я., Січкач В.І. Ефективність симбіозу люцерни з бульбочковими бактеріями, отриманими різними методами // 36. тез Міжнар. наук. конф. «Селекція та генетика бобових культур: сучасні аспекти та перспективи» (Одеса, 23—26 черв. 2014). — Одеса: Астропринт, 2014. — С. 264—266.
78. Михалків Л.М., Коць С.Я., Кірізій Д.А., Григорюк І.П. Активність СО<sub>2</sub>-газообміну у люцерни синтетичними цитокінінами в умовах водного дефіциту // Доп. НАН України. — 2001. — № 12. — С. 141—146.
79. Моргун В.В. Наукові здобутки Інституту фізіології рослин і генетики Національної академії наук України // Физиология растений и генетика. — 2013. — 45, № 6. — С. 463—477.
80. Патица В.П., Коць С.Я., Волкогон В.В. та ін. Біологічний азот / За ред. В.П. Патики. — К.: Світ, 2003. — 424 с.
81. Сьтников Д.М., Коць С.Я., Маліченко С.М., Киризій Д.А. Интенсивность фотосинтеза и лектиновая активность листьев сои при инокуляции ризобиями совместно с гомологичным лектином // Физиология растений. — 2006. — 53, № 2. — С. 189—195.
82. Сьтников Д.М., Коць С.Я., Маліченко С.М. Лектиновая активность различных органов сои в условиях эффективного и неэффективного симбиоза // Физиология и биохимия культ. растений. — 2006. — 38, № 11. — С. 53—60.
83. Пат. 13298 Україна СО5F 11/08, С12№1/20. Штам бактерій *Rhizobium meliloti* для одержання бактеріального добрива під люцерну / Ю.П. Старченков, М.М. Нічик, Н.В. Петерсон та ін. — Опубл. 28.02.97, Бюл. № 1.

84. Пат. 21012 А Україна СО5F 11/08, С12R1:41. Штам бактерій *Rhizobium leguminosarum* бактеріального добрива під горох / Ю.П. Старченков, Н.М. Мандровська, М.М. Нічик та ін. — Опубл. 27.02.98, Бюл. № 1.
85. Пат. 21013 А Україна СО5F 11/08, С12R1:41. Штам бактерій *Rhizobium lupini* для одержання бактеріального добрива під люпин / Ю.П. Старченков, М.М. Нічик, Н.М. Мандровська та ін. — Опубл. 27.02.98, Бюл. № 1.
86. Пат. 21785 Україна С12№1/20. Штам бактерій *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* / Н.А. Воробей, С.Я. Коць. — Опубл. 10.04.07, Бюл. № 4.
87. Пат. 50851 Україна СО5F 11/08, С12№1/20. Штам бактерій *Rhizobium meliloti* для одержання бактеріального добрива під люцерну / С.Я. Коць, Н.А. Воробей, Ю.П. Старченков. — Опубл. 15.11.02, Бюл. № 11.
88. Пат. 51890 Україна СО5F 11/08, С12№1/29 // (С12№1/20, С12R1:41). Штам бактерій *Rhizobium* sp. (*Galega*) для одержання бактеріального добрива під козлятник / С.М. Маліченко, С.Я. Коць, Л.В. Титова та ін. — Опубл. 15.11.04, Бюл. № 11.
89. Пат. на корисну модель 102077 Україна МПК А01N 25/00, А01N 65/20. Застосування лектину насіння сої для регуляції формування і функціонування бобово-ризобіального симбіозу люцерни та сої за дії посухи / С.Я. Коць, Л.М. Михалків, П.М. Маменко, Л.І. Веселовська. — Опубл. 26.10.15, Бюл. № 20.
90. Пат. на корисну модель 78755 Україна МПК СО5F 11/00, С12№1/100. Штам бактерій *Bradyrhizobium japonicum* PC08 (В-7399) для одержання бактеріального добрива під сою / С.Я. Коць, С.М. Маліченко, П.М. Маменко та ін. — Опубл. 25.03.13, Бюл. № 6.
91. Пат. на корисну модель 95714 Україна МПК СО5F 11/08, С12№1/20, С12R 1/41A01 № 62/026 А01P 21/00. Штам бактерій *Rhizobium galegae* Л2 (колекція ІМВ НАН України) для одержання бактеріального добрива під козлятник східний / Л.В. Кириленко, С.Я. Коць, П.М. Маменко та ін. — Опубл. 12.01.15, Бюл. № 1.
92. Пат. на корисну модель 102763 Україна МПК 2015.01, А01 N 25/00 А01P 21/00. Спосіб підвищення азотфіксувальної активності та продуктивності симбіотичних систем люцерна—*Sinorhizobium meliloti* / С.Я. Коць, Л.М. Михалків, С.К. Береговенко. — Опубл. 25.11.15, Бюл. № 22.
93. Albrecht S.L., Bennet J.M., Quessenberry K.H. Growth and nitrogen fixation of *Aeschynomene* under water stressed conditions // Plant Soil. — 1981. — 60. — P. 113—133.
94. Atkins C.A., Smith P.M.C. Translocation in legumes: Assimilates, nutrients and signaling molecules // Plant Physiol. — 2007. — 144, N 2. — P. 550—561.
95. Cooper J.E. Early interactions between legumes and rhizobia: Dislosing complexity in a molecular dialogue // J. Appl. Microbiol. — 2007. — 103, N 5. — P. 1355—1365.
96. Hartwig U.A., Joseph C.M., Philips D.A. Flavonoids released naturally from alfalfa seeds enhance growth rate of *Rhizobium meliloti* // Plant Physiol. — 1991. — 95. — P. 797—803.
97. Kondratiuk Iu., Mamenko P., Kots S. Quantitative changes in protein content of symbiotic systems of soybean under inoculation by rhizobia with different effectiveness and varied nitrogen providing // Natura Montenegrina. — 2013. — 12, N 2. — P. 531—537.
98. Kots S., Mykhalkiv L., Mamenko P. The influence of legume lectin on alfalfa — *Sinorhizobium meliloti* symbiosis productivity // Book of Abstract 38<sup>th</sup> Ann. Meet. of the ESNA (Krakow, 27—31 Aug., 2008). — Krakow, 2008. — P. 125.
99. Kots S.Ya., Mykhalkiv L.M., Mamenko P.M., Volkogon M.V. The study of alfalfa — *Sinorhizobium meliloti* symbiosis productivity under different water conditions and the influence of the legume seed lectin // J. Agricult. Sci. Technol. B. 1. — 2011. — N 3. — P. 454—457.
100. Kots S.Y., Mykhalkiv L.M., Melnykova N.M. Improving lucerne productivity under water stress by treatment with periplasmic glucan // Grassland Science in Europe. — 2003. — 8. — P. 649—652.
101. Kovalchuk N.V., Melnykova N.M., Musatenko L.I. Role of phytolectin in the life cycle of plants // Biopolym. Cell. — 2012. — 28, N 3. — P. 171—180.
102. Kyrychenko O.V., Perkovska G.Yu. Effect of hapten, N-acetyl-D-glucosamin, on biological activity of the wheat lectin // Gen. Appl. Plant Physiol. — 2007. — 33, N 3—4. — P. 141—154.
103. Levisko A., Mamenko P., Kots S. Metabolic changes in soybean roots inoculated by *Bradyrhizobium japonicum* strains // FEBS J. Special Issue: FEBS EMBO 2014 Conf. (Paris, France, 30 Aug. — 4 Sept. 2014). — Paris, 2014. — P. 582.
104. Melnykova N.M., Malichenko S.M., Kots S.Ya. Protein composition and carbohydrate-binding activity of non-nodulating soybean root extract // Proc. 12<sup>th</sup> Intern. Congr. on Genes, Gene families, and Isozymes (Berlin, 2003) / Eds. C. Schnarrenberger, B. Wittmann-Liebold. — Medimond, 2003. — P. 261—264.
105. Melnykova N.M., Mykhalkiv L.M., Mamenko P.M., Kots S.Ya. The areas of application for plant lectins // Biopolym. Cell. — 2013. — 29, N 5. — P. 357—366.
106. Melnykova N., Mykhalkiv L., Omelchuk S., Kots S. Effect of soybean seed exudates on soybean — *Bradyrhizobium* symbiosis formation // Proc. of 36<sup>th</sup> Ann. Meet. of the ESNA (Iasi, Romania, 10—14 Sept. 2006). — Iasi: Ion Ionescu de la Brad, 2006. — P. 321—324.



107. *Zahran H.H., Sprent J.I.* Effect of sodium chloride and polyethyleneglycol on root hair infection and nodulation of *Vicia faba* L. plants *Rhizobium leguminosarum* // *Planta*. — 1986. — 167. — P. 303—307.

Отримано 23.02.2016

ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФИКСАЦИИ АЗОТА В ИНСТИТУТЕ  
ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ И ГЕНЕТИКИ НАН УКРАИНЫ

*С.Я. Коць*

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

Приведены важнейшие результаты исследований биологической фиксации атмосферного азота, выполненных в отделе симбиотической азотфиксации Института физиологии растений и генетики НАН Украины в течение 1976—2016 гг. Значительное внимание уделено результатам исследований, полученным на протяжении последних 20 лет.

THE STUDY OF BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION AT THE INSTITUTE OF PLANT  
PHYSIOLOGY AND GENETICS OF NAS OF UKRAINE

*S.Ya. Kots*

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

The most important results of the study of biological fixation of atmospheric nitrogen conducted at the Department of Symbiotic Nitrogen Fixation of the Institute of Plant Physiology and Genetics of NAS of Ukraine from 1976 to 2016 are reported. Much attention is paid to the results of the study obtained during the last twenty years.

*Key words:* nitrogen fixation, symbiosis, associations, strains of microorganisms, nitrogenase.