

РЕАКЦИЯ СОИ НА ИНОКУЛЯЦИЮ АЛЬГО-РИЗОБИАЛЬНЫМИ КОМПОЗИЦИЯМИ

Д. М. Сытников¹

Н. А. Воробей²

Е. В. Пацко³

¹Институт ботаники имени Н. Г. Холодного НАН Украины, Киев

²Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, Киев

³Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко

E-mail: sytnikov@list.ru

Изучена реакция сои *Glycine max* (L.) Merr. на инокуляцию альго-ризобияльными композициями на основе клубеньковых бактерий *Bradyrhizobium japonicum* и синезеленой водоросли *Nostoc punctiforme*. Показано, что инокуляция семян сои альго-ризобияльными композициями способствует повышению всхожести и положительно влияет на формирование проростков. Включение синезеленых водорослей в инокуляционную суспензию ризобий и их Tn5-мутантов в определенных сочетаниях может стимулировать рост и развитие сои, накопление фотосинтетических пигментов в листьях и содержание протеина в семенах, однако при этом не оказывать существенного влияния на азотфиксирующую активность клубеньков, а также продуктивность растений. Полученные данные указывают на необходимость поиска эффективных комплексных альго-ризобияльных композиций для инокуляции растений сои путем оптимального подбора штаммов бактерий и соотношения инокуляционных агентов. Также необходимо исследовать альго-ризобияльные композиции, созданные на основе микроорганизмов с генетически измененными свойствами.

Ключевые слова: бобово-ризобияльный симбиоз, альго-ризобияльные композиции.

Синезеленые водоросли являются перспективным объектом биотехнологии благодаря их способности к фотосинтезу, азотфиксации, синтезу комплекса биологически активных и ростактивирующих веществ, положительно влияющих на плодородие почв и активность почвенной биоты [1–3]. Цианобактерии тесно связаны с бактериями, обитающими в их слизи, например *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, и способны образовывать новые устойчивые ассоциации, что открывает перспективу для конструирования эффективных микробных консорциумов и препаратов на их основе [4–6]. Положительные результаты были получены при использовании в агrobiотехнологии искусственных альго-ризобияльных ассоциаций для инокуляции семян лядвенца, гороха и клевера [4, 7]. На сегодняшний день доказано усиление эффекта нитрогенизации бобовых растений под влиянием искусственных консорциумов на основе *Nostoc* и различных видов *Rhizobium* [5].

Применение биологических препаратов на основе азотфиксирующих микроорганизмов, в частности клубеньковых бактерий, — один из основных приемов повышения про-

дуктивности растений, позволяющий сохранять плодородие почв и экологическое равновесие окружающей среды [8]. В частности, совместная обработка семян люцерны азотфиксирующими бактериями и синезеленой водорослью *Nostoc punctiforme*, а также их бинарными композициями стимулирует рост и развитие растений. При этом установлено, что наиболее эффективна совместная инокуляция цианобактериями с отдельными Tn5-мутантами ризобий в сравнении с инокуляцией их монокультурами [9, 10].

Создание и подбор совместимых альго-ризобияльных ассоциаций, включающих аксенические культуры синезеленых водорослей и клубеньковых бактерий, а также их Tn5-мутантов, может стать одним из способов биологической стимуляции бобово-ризобияльного симбиоза, повышающего значимость взаимодействия ризобий с растениями и эффективность бактериальных препаратов на их основе.

Цель настоящей работы заключалась в изучении реакции сои, а также эффективности ее симбиотических систем на инокуляцию семян альго-ризобияльными композициями, состоящими из клубеньковых бактерий, их Tn5-мутантов и синезеленых водорослей.

Матеріали і методи

Семена сои *Glycine max* (L.) Merr. (сорт Марьяна) инокулювали альго-ризобіальними композиціями на основі клубенькових бактерій *Bradyrhizobium japonicum* із музейної колекції азотфіксуючих мікроорганізмів Інститута фізіології рослин і генетики НАН України (продуцентський штамп 6346, Tn5-мутанти штамма 646 — T66, T118 і 17-2) і синезеленої водорослі *Nostoc punctiforme* (Kutz) Hariot, отриманої з Інститута гідробіології НАН України. Роботу з мікроорганізмами проводили по общепринятым в мікробіології правилам.

Після зберігання в умовах музею при температурі 4 °С фізіологічну активність медленнорослих клубенькових бактерій сої відновлювали в реактиваційній середі. Для цього культуру ризобій вирощували на маннітно-дрожжевому агарі (МДА) [11] при 28 °С в течение 7–8 сут після чого масу кліток смивали фізіологічним розчином (0,9% NaCl), перенесли в рідку маннітно-дрожжеву середу [11] і утримували при постійній аерації і 28 °С на качалці до 7 сут.

Культуру синезеленої водорослі *N. punctiforme* вирощували до стаціонарної фази росту на поживній середі Фітцджеральда (Fitzgerald) в модифікації Zender і Gorham [12]. Водорослі культивували в колбах Ерленмейера при температурі 22 ± 2 °С і освітленості 4,5–5,0 тис. люкс. Концентрацію хлорофілла ($C_{\text{хл}}$) в клітках водорослей визначали методом диференціальної флуориметрії (Planctofluorometer FL300 3M, Росія) [13]. Паралельно визначали ступінь життєспроможності водорослей по різниці інтенсивності флуоресценції (ΔF) до і після внесення симазіна — інгібітора електронного транспорту фотосинтезуючих кліток. Показатель ΔF характеризує ступінь життєспроможності водорослей по величині їх потенціальної фотосинтезуючої активності [14].

Інокуляти для насіння готували шляхом змішування бактеріальних суспензій, складених із клубенькових бактерій ($1 \cdot 10^9$ кліток/мл) і синезеленої водорослі ($C_{\text{хл}} = 1506,6 \pm 13,4$ мкг/мл, $\Delta F = 0,088$) в співвідношенні 1 : 1.

В лабораторному досвіді з проростками сої насіння пророщували в стерильних чашках Петри по 50 штук на фільтрувальній папері, змоченій стерильною водопровідною водою. Перед пророщуванням насіння підвер-

гали поверхневою стерилізацією 70%-м етанолом в течение 20 мин, після чого декілька разів промивали стерильною водопровідною водою в течение 30 мин і инокулювали бактеріями або їх композиціями. Повторність досвідів — чотириразова.

Енергія проростання насіння — спроможність насіння культур к швидкому одночасному проростанню, як і всхожість, визначається числом пророщених насіння (в %) в течение визначеного для кожної культури строку.

Зняття показань енергії проростання і всхожості насіння виробляли в відповідності з ГОСТ 12038–84 [15].

Дослідження також проводили в умовах модельних досвідів на вегетаційній площадці при природному освітленні і вологості субстрату 60%. В досвідах використовували посуд Вагнера на 15 кг піску, в яких вирощували по 6 рослин сої. Посуди попередньо стерилізували 20%-м розчином H_2O_2 . В качестве субстрату використовували промытый річковий пісок з додаванням мінеральної поживної суміші по Гельригелю, що містить «стартовий» кількість азоту — 0,25 норми (1 норма відповідає $708 \text{ мг Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4 \text{ H}_2\text{O}$ на 1 кг піску). Перед висівом насіння стерилізували 70%-м етанолом в течение 15 мин, а потім промивали проточною водою в течение 30 мин. Продовжителість бактерізації насіння композиціями мікроорганізмів складала 60 мин. Рослини для аналізу відбирали в фазах бутонізації (39-е дні після появи сходів), цвітіння (53-і дні) і початку плодоутворення (57-е дні). Після обліку врожаю в насінні сої визначали загальне вміст білка [16].

Визначення вмісту фотосинтезуючих пігментів виробляли по методиці Wellburn [17]. Хлорофілл екстрагували диметилсульфоксидом (на 0,1 г рослинного матеріалу 10 мл ДМСО) із висічених листків, після чого вимірювали оптичну густина розчину на спектрофотометрі Smart Spec Plus (Biorad, США) при 665 і 649 нм в кюветі товщиною 1 см. Для вимірювань брали проби середніх долей трійчатих листків, завершивши ріст і без видимих ознак старіння. Листки відбирали із середніх ярусів п'яти рандомізованих рослин одного варіанта. Вимірювання виконували в трікратній повторності.

Нитрогеназну активність (азотфіксацію) визначали по рівню ацетиленовідновлюючої активності корневих клубеньків

ацетиленовым методом [18] и выражали в микромолях этилена, образованного клубеньками одного растения за 1 ч. Газовую смесь анализировали на газовом хроматографе Chromatograf-504 (Mera Elwro, Польша). Определения проводили в пятикратной повторности.

Полученные результаты обрабатывали статистически. В таблицах приведены средние арифметические из 3–5 биологических повторностей и их стандартные ошибки. В обсуждении результатов привлекали данные, стандартная ошибка которых превышала 10%. Для главного показателя — урожайности — был применен показатель НСР (наименьшая существенная разница).

Результаты и обсуждение

Показано, что при обработке семян сои монокультурой *N. punctiforme* увеличиваются энергия прорастания семян, их всхожесть, а также длина и масса сформировавшихся проростков (табл. 1). При инокуляции семян ризобиями или их активными Tn5-мутантами (6346, T66 и T118) изучаемые показатели существенно не отличались от контрольных. Применение альго-ризобияльных композиций на основе *N. punctiforme* и *B. japonicum* приводило к увеличению изучаемых показателей (табл. 1). При этом в вариантах с обработкой композициями *N. punctiforme* + Tn5-мутант показатели всхожести превосходили не только контроль, но и показатели всхожести в вариантах с монокультурой *N. punctiforme*.

Известно, что критериями эффективности комплементарного взаимодействия макро- и микросимбионтов являются количество

и масса корневых клубеньков, которые, в основном, коррелируют с интенсивностью фиксации атмосферного азота [19]. В ходе вегетационного эксперимента мы определяли вирулентность ризобий и массу клубеньков, образовавшихся при инокуляции семян штаммами и Tn5-мутантами *B. japonicum*, а также композициями на основе ризобий и *N. punctiforme* (табл. 2). Максимальное количество клубеньков образовывал активный Tn5-мутант T66. Применение бинарной инокуляции (ризобии + водоросли) не приводило к существенному изменению количества и массы клубеньков, индуцированных штаммом 6346 и Tn5-мутантом 17-2 в фазе бутонизации, при этом угнетало клубенькообразование Tn5-мутанта T66. Обращает на себя внимание тот факт, что в фазе цветения инокуляция альго-ризобияльными композициями приводила к усилению вирулентности Tn5-мутанта T66 и, напротив, к ее снижению у штамма 17-2. Таким образом, совместная инокуляция клубеньковыми бактериями и синезелеными водорослями существенно не влияет на клубенькообразование производственного штамма 6346, полученного методом аналитической селекции, и может оказывать как стимулирующее, так и ингибирующее влияние на количество и массу клубеньков, индуцированных Tn5-мутантами штамма 646.

Известно, что симбиотические свойства клубеньковых бактерий могут влиять на содержание пигментов в листьях бобовых растений [20]. Предполагают, что содержание фотосинтетических пигментов в листьях инокулированных растений является одним из косвенных показателей эффективности симбиоза. Инокуляция семян ризобиями и их активными Tn5-мутантами, а также

Таблица 1. Формирование проростков сои при инокуляции семян альго-ризобияльными композициями

Вариант	Энергия прорастания		Всхожесть		Длина проростков		Масса проростков	
	количество проросших семян				мм	% к контролю	мг	% к контролю
	шт	%	шт	%				
Контроль (вода)	29,5±1,22	59	37,5±1,57	75	47,8±3,8	100	95,6±1,76	100
<i>Nostoc punctiforme</i>	33,0±0,58	66	42,0±0,82	84	57,9±4,1	121	117,2±2,9	123
<i>B. japonicum</i> 6346	31,5±0,74	63	40,0±2,08	80	45,1±3,7	94	106,9±7,7	112
6346 + <i>N. punctiforme</i>	32,5±1,65	65	41,5±2,11	83	56,6±3,0	118	106,8±3,3	112
Tn5-мутант T66	31,5±2,70	63	37,0±1,35	74	46,8±2,9	98	98,7±3,4	103
T66+ <i>N. punctiforme</i>	33,0±1,63	66	44,0±1,73	88	56,8±4,1	119	106,8±3,3	112
Tn5-мутант T118	28,5±1,70	57	33,5±2,26	67	43,2±3,01	90	98,7±3,0	103
T118+ <i>N. punctiforme</i>	31,0±1,80	62	42,0±0,58	84	51,3±3,7	107	115,1±5,8	120

Примечание. Шт. — число проросших семян в штучках.

Таблиця 2. Количество (шт/растение) и масса (г/растение) клубеньков сои, образовавшихся при инокуляции семян штаммами и Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum*, а также композициями на основе ризобий и *Nostoc punctiforme*

Вариант	Фаза развития			
	Бутонизация		Цветение	
	шт/растение	г/растение	шт/растение	г/растение
Контроль (без инокуляции)	0	0	0	0
<i>Nostoc punctiforme</i>	0	0	0	0
Штамм 6346	74,25 ± 5,86	0,34 ± 0,04	73,00 ± 7,82	0,85 ± 0,09
Штамм T66	96,75 ± 6,06	0,47 ± 0,02	109,25 ± 10,35	1,12 ± 0,06
Tn5-мутант 17-2	89,25 ± 8,32	0,43 ± 0,04	105,00 ± 5,58	1,12 ± 0,10
Штамм 6346 + <i>N. punctiforme</i>	72,75 ± 4,64	0,34 ± 0,01	79,75 ± 2,29	0,82 ± 0,09
Штамм T66 + <i>N. punctiforme</i>	69,00 ± 6,36	0,26 ± 0,02	121,67 ± 9,60	1,29 ± 0,12
Tn5-мутант 17-2 + <i>N. punctiforme</i>	95,75 ± 5,57	0,49 ± 0,04	91,50 ± 6,24	1,04 ± 0,10

синезеленой водорослью приводила к увеличению содержания в листьях хлорофилла *a* и *b* в сравнении с контролем без инокуляции (табл. 3). Применение альго-ризобияльных композиций на основе этих бактерий дополнительно повышало содержание фотосинтетических пигментов, в сравнении как с контролем без инокуляции, так и с вариантами инокуляции монокультурами.

Таблиця 3. Содержание хлорофилла *a* и *b* в листьях растений сои, инокулированной *Nostoc punctiforme*, штаммами и Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum*, а также композициями на их основе (фаза цветения)

Вариант	Хлорофилл <i>a</i> (мг/г сырого вещества)	Хлорофилл <i>b</i> (мг/г сырого вещества)
Контроль (без инокуляции)	1,65 ± 0,02	0,72 ± 0,07
<i>Nostoc punctiforme</i>	1,78 ± 0,04	0,64 ± 0,03
Штамм 6346	2,25 ± 0,01	0,86 ± 0,02
Штамм T66	2,71 ± 0,07	1,04 ± 0,03
Tn5-мутант 17-2	2,39 ± 0,15	0,96 ± 0,04
Штамм 6346 + <i>N. punctiforme</i>	2,34 ± 0,08	0,95 ± 0,05
Штамм T66 + <i>N. punctiforme</i>	2,93 ± 0,08	1,18 ± 0,08
Tn5-мутант 17-2 + <i>N. punctiforme</i>	2,67 ± 0,11	1,05 ± 0,06

Инокуляция семян монокультурами синезеленой водоросли и клубеньковых бактерий положительно влияла также на накопление вегетативной массы растений сои в онтогенезе (табл. 4). Применение бинарной инокуляции стимулировало рост расте-

ний, однако только в фазе бутонизации эти растения достоверно опережали в росте растения вариантов с использованием монокультур ризобий. В период цветения и плодообразования показатели надземной массы и массы корней существенно не зависели от сочетания инокуляционных агентов.

На поздних этапах становления бобово-ризобияльного симбиоза проявляются такие важные признаки, как азотфиксирующая активность (скорость восстановления N₂ в NH₃) и симбиотическая эффективность (способность растений интенсивно развиваться, используя симбиотрофное питание азотом). Симбиотическая эффективность в решающей степени определяется азотфиксирующей активностью клубеньков, особенно в условиях дефицита связанного азота. При этом эффективность симбиоза может зависеть и от ряда факторов, не связанных непосредственно с азотфиксацией. Важную роль в определении продуктивности симбиоза играет совместимость метаболических систем партнеров (например, путей транспорта азота и углерода), а также отсутствие активных защитных реакций у растений в ответ на присутствие микроорганизмов [21].

Известно, что как находящиеся в клубеньках ризобии, так и другие бактерии, обитающие в ризосфере, могут синтезировать вещества, стимулирующие (фитогормоны, витамины) или угнетающие (ризобиотоксины, бактерицидные вещества, антибиотики с гербицидной активностью) развитие растения-хозяина [1, 2, 21]. В нашем случае включение водорослей в инокуляционную суспензию совместно с клубеньковыми бактериями сои приводило к снижению азотфиксирующей активности образовавшихся клубеньков или же, на более поздних этапах развития растений, не оказывало существенного влияния

Таблица 4. Влияние инокуляции *Nostoc punctiforme*, штаммами и Тп5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum*, а также их совместными композициями на формирование вегетативной массы растений сои (г/растение)

Вариант	Фаза развития					
	Бутонизация		Цветение		Начало плодообразования	
	Надземная масса	Масса корня	Надземная масса	Масса корня	Надземная масса	Масса корня
Контроль (без инокуляции)	4,88±0,44	2,86±0,26	11,89±0,33	7,56±0,40	13,50±0,95	8,91±0,84
<i>Nostoc punctiforme</i>	7,43±0,41	4,62±0,19	13,47±0,53	8,77±0,49	18,25±1,37	10,12±0,62
Штамм 6346	7,56±0,61	3,49±0,29	14,48±0,92	8,65±0,63	20,12±1,64	9,43±0,91
Штамм Т66	8,47±0,68	4,03±0,27	15,87±0,72	8,74±0,60	20,84±1,84	10,49±0,85
Тп5-мутант 17-2	7,10±0,64	3,70±0,33	19,50±1,34	8,56±0,37	19,52±1,12	10,33±0,61
Штамм 6346 + <i>N. punctiforme</i>	8,67±0,49	4,09±0,23	23,38±1,86	9,75±0,88	23,70±2,15	11,34±1,07
Штамм Т66 + <i>N. punctiforme</i>	10,01±0,92	5,17±0,37	17,20±0,71	8,97±0,59	23,45±1,78	11,44±0,88
Тп5-мутант 17-2 + <i>N. punctiforme</i>	8,77±0,84	4,71±0,29	19,75±1,21	8,02±0,63	20,45±1,14	10,90±0,62

на изменение данного показателя (табл. 5). Из представленных в табл. 5 показателей урожая следует, что применение альго-ризобиальных композиций для инокуляции семян сои не приводило к существенному изменению интегрального показателя эффективности взаимодействия партнеров симбиоза — зерновой продуктивности растений (НСР_{0,05} — 2,26 г/сосуд). В то же время при обработке семян сои бинарными композициями микроорганизмов (Т66 + *N. punctiforme* и Т17-2 + *N. punctiforme*) отмечено повышение содержания протеина в семенах соответственно на 10,2 и 13,0% в сравнении с вариантами моноризобиальной инокуляции (табл. 5).

Таким образом, включение синезеленых водорослей в инокуляционную суспензию ризобий и их Тп5-мутантов в определенных сочетаниях может стимулировать рост и развитие сои, накопление фотосинтетических пигментов в листьях и содержание протеина в семенах, однако при этом не оказывать существенного влияния на азотфиксирующую активность клубеньков, а также продуктивность растений. Полученные данные не исключают возможности поиска эффективных комплексных альго-ризобиальных композиций путем оптимального подбора штаммов бактерий и соотношения инокуляционных агентов. Также необходимо исследовать альго-ризобиальные композиции, созданные на основе микроорганизмов с генетически измененными свойствами.

Таблица 5. Азотфиксирующая активность клубеньков (АФА), урожай и содержание протеина в семенах сои, инокулированной *Nostoc punctiforme*, штаммами и Тп5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum*, а также композициями на их основе

Вариант	АФА, мкмоль С ₂ Н ₄ /(растение ч)		Урожай, г/сосуд	Прирост урожая в сравнении с контролем без инокуляции, %	Содержание протеина в семенах, %
	бутонизация	начало плодообразования			
Контроль без инокуляции	0	0	25,21±0,41	0	30,2
<i>Nostoc punctiforme</i>	—	—	28,21±0,81	11,9	33,8
Штамм 6346	39,00±2,46	67,92±7,07	33,67±1,03	33,6	38,9
Штамм Т66	35,44±3,47	57,52±6,00	35,60±0,46	41,2	39,2
Тп5-мутант 17-2	22,93±2,66	44,46±5,82	33,55±0,89	33,1	38,48
Штамм 6346 + <i>N. punctiforme</i>	24,85±1,34	44,48±3,49	34,18±0,95	35,6	42,1
Штамм Т66 + <i>N. punctiforme</i>	23,23±0,92	55,94±3,63	33,03±0,89	31,0	43,2
Тп5-мутант 17-2 + <i>N. punctiforme</i>	16,17±0,84	37,71±2,33	32,00±0,44	26,9	43,5
НСР _{0,05}			2,26		1,54

ЛИТЕРАТУРА

1. Громов Б. В. Цианобактерии в биосфере // Сорос. образ. журн. — 1996. — № 9. — С. 33–39.
2. Патица В. П., Коць С. Я., Волкогон В. В. та ін. Біологічний азот. — К.: Світ, 2003. — 424 с.
3. Паршикова Т. В., Пацко Е. В., Сиренко Л. А. Использование микроскопических водорослей эвтрофных вод для поддержания плодородия почв и повышения урожайности сельскохозяйственных растений // Альгология. — 2007. — Т. 17, № 2. — С. 262–272.
4. Панкратова Е. М., Зяблых Р. Ю., Калинин А. А. и др. Конструирование микробных культур на основе синезеленой водоросли *Nostoc paludosum* Kutz // Там же. — 2004. — Т. 14, № 4. — С. 445–458.
5. Панкратова Е. М., Трефилова Л. В., Зяблых Р. Ю., Устюжанин И. А. Цианобактерия *Nostoc paludosum* Kutz как основа для создания агрономически полезных микробных ассоциаций на примере бактерий рода *Rhizobium* // Микробиология. — 2008. — Т. 77, № 2. — С. 266–272.
6. Трефилова Л. В. Использование цианобактерий в агробиотехнологии: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: спец. 03.00.07. «Микробиология», 03.00.23. «Биотехнология». — Саратов, 2008. — 26 с.
7. Пацко Е. В., Воробей Н. А., Паршикова Т. В., Коць С. Я. Перспективность использования ассоциаций азотфиксирующих микроорганизмов для повышения урожайности растений // Бюлл. Моск. общ. испыт. природы. — 2009. — Т. 114, Вып. 2. — С. 84–86.
8. Сытников Д. М., Коць С. Я., Даценко В. К. Эффективность биопрепаратов клубеньковых бактерий сои, модифицированных гомологичным лектином // Прикл. биохим. микробиол. — 2007. — Т. 43, № 3. — С. 304–310.
9. Пацко О. В., Воробей Н. А., Коць С. Я., Паршикова Т. В. Дослідження ефективності агроконсорціумів азотфіксуювальних мікроорганізмів // Физиол. биохим. культ. раст. — 2010. — Т. 42, № 2. — С. 137–145.
10. Sytnikov D. M., Vorobey N. A., Kots S. Ya. Physiological reaction of legume plants to inoculation with algal-rhizobial association // Acta Agron. Hungar. — 2009. — V. 57, N 2. — P. 239–244.
11. Child J. J. Nitrogen Fixation by a *Rhizobium* sp. Association with Non-Leguminous Plant Cell Cultures // Nature. — 1975. — V. 253. — P. 350(351).
12. Zender A., Gorham, P. R. Factors influencing the growth of *Microcystis aeruginosa* Kutz. emend. Elenkin // Can. J. Microbiol. — 1960. — V. 6. — P. 645–660.
13. Гольд В. М., Гаевский Н. А., Григорьев Ю. С. и др. Теоретические основы и методы изучения флуоресценции хлорофилла. — Красноярск: Изд-во Красноярск. ун-та, 1984. — 84 с.
14. Мусієнко М. М., Паршикова Т. В., Славний П. С. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. — К.: Фітосоціоцентр, 2001. — С. 99–101.
15. Справочник по семеноводству // Н. В. Лобода, Б. А. Весна, М. М. Сирота и др. — К.: Урожай, 1991. — 352 с.
16. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — V. 192. — P. 265–275.
17. 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. — V. 144, N 3. — P. 307–313.
18. 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. — V. 43. — P. 1185–1207.
19. Даценко В. К., Лагута С. К., Старченков Е. П. и др. Эффективность бобово-ризобияльного симбиоза различных сортов сои и штаммов *Bradyrhizobium japonicum* // Физиол. биохим. культ. растений. — 1997. — Т. 29. — С. 299–303.
20. Коць С. Я., Михалків Л. М. Физиология симбиозу та азотне живлення люцерни. — К.: Логос, 2005. — 300 с.
21. Генетика симбиотической азотфиксации с основами селекции / Под ред. Тихоновича И. А., Проворова Н. А. — СПб.: Наука, 1998. — 194 с.



**РЕАКЦІЯ СОЇ НА ІНОКУЛЯЦІЮ
АЛЬГО-РИЗОБІАЛЬНИМИ
КОМПОЗИЦІЯМИ**

Д. М. Ситніков¹
Н. А. Воробей²
О. В. Пацко³

¹Інститут ботаніки імені М. Г. Холодного
НАН України, Київ

²Інститут фізіології рослин і генетики
НАН України, Київ

³Київський національний університет
імені Тараса Шевченка

E-mail: sytnikov@list.ru

Досліджено реакцію сої *Glycine max* (L.) Merr. на інокуляцію альго-ризобіальними композиціями на основі бульбочкових бактерій *Bradyrhizobium japonicum* і синьозеленої водорості *Nostoc punctiforme*. Показано, що інокуляція насіння сої альго-ризобіальними композиціями сприяє підвищенню схожості та позитивно впливає на формування проростків. Включення синьозелених водоростей до інокуляційної суспензії ризобій та їхніх Tn5-мутантів за певних поєднань може стимулювати ріст та розвиток сої, накопичення фотосинтетичних пігментів в листках і вміст протеїну в насінні, однак при цьому не впливати суттєво на азотфіксуючу активність бульбочок, а також продуктивність рослин. Отримані дані вказують на необхідність пошуку ефективних комплексних альго-ризобіальних композицій для інокуляції рослин сої шляхом оптимального підбору штамів бактерій та співвідношення інокуляційних агентів. Необхідні також дослідження альго-ризобіальних композицій, створених на основі мікроорганізмів з генетично зміненими властивостями.

Ключові слова: бобово-ризобіальний симбіоз, альго-ризобіальні композиції.

**SOYBEAN REACTION ON INOCULATION
WITH ALGAL-RHIZOBIAL
COMPOSITIONS**

D. M. Sytnikov¹
N. A. Vorobey²
O. V. Patsko³

¹N. G. Kholodnyi Institute of Botany
of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

²Institute of Plant Physiology and Genetics
of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

³Taras Shevchenko Kyiv National University

E-mail: sytnikov@list.ru

The reaction of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) on inoculation with algal-rhizobial compositions based on *Bradyrhizobium japonicum* nodule bacteria and *Nostoc punctiforme* cyanobacteria was studied. It was shown that soybean seed inoculation with algal-rhizobial compositions promotes germination ability and influences positively on germ forming. Inclusion of cyanobacteria into inoculation suspension of rhizobia and their Tn5-mutants in some combination is able to stimulate soybean growth and development, accumulation of photosynthetic pigments in leaves and increase protein content in the seeds. However the algal-rhizobial compositions have no essential effect on nitrogen-fixing activity and plant productivity as well. The obtained data show that it needs to seek the efficient algal-rhizobial compositions for soybean inoculation by optimal selection of bacteria strains and correlation of inoculation agents. The algal-rhizobial compositions based on microorganisms with genetic modified properties are required for further investigation.

Key words: legume-rhizobial symbiosis, algal-rhizobial compositions.