



МОРГУН

Володимир Васильович — академік НАН України, академік-секретар Відділення загальної біології НАН України, директор Інституту фізіології рослин і генетики НАН України



КОЦЬ Сергій Ярославович — член-кореспондент НАН України, заступник директора Інституту фізіології рослин і генетики НАН України

РОЛЬ БІОЛОГІЧНОГО АЗОТУ В АЗОТНОМУ ЖИВЛЕННІ РОСЛИН

У статті розглянуто значення біологічного азоту в підвищенні продуктивності сільськогосподарських рослин і родючості ґрунтів. Охарактеризовано стан та перспективи розвитку фундаментальних досліджень у галузі біологічної фіксації атмосферного азоту, показано переваги мікробних азотфіксувальних препаратів порівняно з азотними добривами.

Ключові слова: біологічна азотфіксація, симбіоз, транспозоновий мутагенез, штами, бульбочкові бактерії, вільноіснуючі азотфіксувальні бактерії, асоціативні мікроорганізми, мінеральні добрива, мікробні препарати, продуктивність рослин.

Яким би високим не було виробництво мінеральних добрив, годі й думати, що азотне питання можна вирішити лише за допомогою хімічної промисловості. Значною мірою воно має бути вирішене за допомогою азотозбирачів, тобто біологічним шляхом.

Д.М. Прянишников (1865–1948)

Оптимальне забезпечення населення планети продуктами харчування є однією з найдавніших і найактуальніших проблем. Із самого початку історія людства була історією боротьби за виживання, щоденної боротьби за шматок хліба. Незнання біологічних, хімічних, фізичних умов, необхідних для росту рослин, призводило у минулому до катастрофічних наслідків: загибелі врожаїв, голоду, поширення епідемій, смерті людей і тварин. У стародавні часи відставання темпів зростання виробництва їжі від збільшення чисельності населення часто ставало причиною зникнення цивілізацій. Навіть сьогодні зростання народонаселення подекуди значно випереджає виробництво продуктів харчування, проте всі бажають вживати якісні й різноманітні харчі.

Люди здавна намагалися виростити два колоси там, де раніше ріс один. З часом вони зрозуміли, що однією з важливих причин поганих врожаїв є недостатнє забезпечення ґрунтів поживними для рослин речовинами. На початку XIX ст., коли при вирощуванні сільськогосподарських культур застосовували переважно трипільну систему землеробства, врожаї зернових у країнах Європи не перевищували 10 ц/га. Введення у сівозміни просапних культур і насичення їх посівами конюшини

збільшило врожайність до 15 ц/га, а після того, як наприкінці XIX ст. почали масово використовувати мінеральні добрива, врожаї зернових подвоїлися. У XIX ст. вчені довели, що за допомогою добрив можна не лише вдвічі збільшити врожай, а й підвищити стійкість рослин до несприятливих кліматичних чинників (холод, спека, посуха) та до хвороб.

У XX ст. завдяки селекції і використанню нових продуктивних сортів основних сільськогосподарських культур, зокрема напівкарликових, а також застосуванню цілого комплексу заходів, спрямованих на збільшення валового збору сільськогосподарської продукції, вдалося здійснити «зелену революцію» і врожайність вирощуваних культур загалом зросла вдвічі. Особливо значним був приріст виробництва продуктів харчування в деяких країнах Азії і Латинської Америки. У минулому столітті населення Землі зросло приблизно в 4 рази. За розрахунками експертів ООН, у зв'язку з подальшим збільшенням населення нашої планети потреби в продовольчих ресурсах до 2050 р. мають зрости як мінімум на 75%. Тому ключовою проблемою аграрного сектору економіки є виробництво продуктів харчування [1–3].

Підвищення врожайності сільськогосподарських культур неможливе без глибокого наукового розкриття всіх таємниць рослинного організму і розроблення на основі цих знань нових агротехнологій. Для реалізації всіх потенційних можливостей сучасних інтенсивних сортів сільськогосподарських культур необхідні значні дози органічних та мінеральних добрив. Однак на рубежі століть стало зрозумілим, що людство, надмірно застосовуючи хімічні сполуки у сільському господарстві, йде шляхом самознищення, — наявність у продуктах харчування нітратів, нітритів, пестицидів тощо негативно позначається на здоров'ї населення. Надлишкове використання мінеральних добрив призводить до нагромадження у ґрунті хімічних сполук, різкого погіршення його родючості, зниження урожаїв сільськогосподарських рослин, забруднення довкілля.

Разом з тим, науково обґрунтоване застосування мінеральних добрив — найефективні-

ший засіб впливу на продуктивність рослин, здатний забезпечити до 50% приросту врожаю. Проте, за влучним висловом видатного агрохіміка і фізіолога рослин Д.М. Прянишникова, «надлишком добрив не можна замінити нестачу знань».

Правильне застосування традиційних технологій, які забезпечують отримання максимального врожаю, не завжди дає змогу виростити екологічно безпечну і чисту рослинну продукцію, тому посилене насичення технологій вирощування сільськогосподарських культур хімічними засобами є неперспективним і не сприятиме істотному збільшенню врожайності [4].

Отже, постає необхідність підвищення продуктивності вирощування культур без надмірного застосування синтетичних агрохімікатів. Сьогодні все більшого значення набувають науково-технічні розробки, спрямовані на пошук альтернативних засобів, завдяки яким без зниження досягнутого рівня сільськогосподарського виробництва можна зменшити його собівартість та шкідливий вплив на навколишнє середовище і водночас досягти екологічної чистоти продукції. Індустріально розвинені країни, незважаючи на значні можливості щодо застосування мінеральних добрив (30–40% прибавки сільськогосподарської продукції в країнах Західної Європи та США отримують завдяки використанню добрив [5]), особливого значення надають біологізації аграрного виробництва. Слід зауважити, що біологічне землеробство в жодному разі не означає повну відмову від мінеральних добрив, оскільки воно за своєю суттю є розумним та збалансованим застосуванням агротехнічних, агрохімічних і біологічних заходів у комплексі з системою інтегрованого захисту рослин.

У світовій практиці спостерігається тенденція до зниження доз застосовуваних добрив і підвищення ролі їх використання (з економічних та екологічних міркувань) у поєднанні з агротехнічними прийомами, метою яких є підтримання природної родючості ґрунтів. Це і науково обґрунтовані сівозміни, і заходи, спрямовані на підвищення біорізноманіття корисної ґрунтової мікрофлори, і використання

агротехніки, яка не допускає масового ураження рослин патогенними мікроорганізмами і обмежує розвиток та масове поширення комах. Зокрема, до них належать: вибір високопродуктивних і стійких до хвороб сортів сільськогосподарських рослин, своєчасний посів якісним насінням, правильне чергування культур у сівозмінах, внесення необхідної кількості добрив, особливо органічних, вирощування сидеральних культур. Як відомо, створення сприятливих умов для росту і розвитку рослин підвищує їх продуктивність і стійкість до різноманітних несприятливих чинників довкілля, в тому числі фітопатогенів і комах-шкідників.

Слід зауважити, що за посушливих умов однобічне азотне живлення має негативний ефект. Це пояснюється енергійнішим використанням запасів вологи через посилення транспірації вегетативною масою, що, відповідно, й зумовлює зниження врожайності [7].

З-поміж основних елементів живлення рослин азоту належить одне з чільних місць. Невичерпним його джерелом є атмосфера, 78% якої припадає саме на цей елемент. Варто лише сказати, що в повітрі над 1 га земної поверхні міститься понад 80 тис. т (над 1 м² ґрунту — близько 8 т) молекулярного азоту, який є єдиним джерелом поповнення запасів зв'язаного азоту в ґрунті, а загальний вміст азоту в земній корі (переважно у складі солей амонію, нітритів і нітратів) становить лише 0,01% [6].

Проте, ні люди, ні тварини, ні більшість рослин не здатні його засвоювати в такій формі. Для задоволення потреб рослин у цьому елементі живлення їх слід забезпечувати хімічними сполуками азоту. Проте для синтезу мінеральних азотних добрив промисловим шляхом потрібні величезні обсяги високовартісних і дефіцитних енергоресурсів, через що їх виробництво останніми роками скоротилося, а ціна значно підвищилася. Так, середньорічне зростання споживання мінеральних добрив у світі у 2010–2014 рр. становило 2,6%.

Загалом можна констатувати, що епоха швидкого зростання споживання добрив відходить у минуле. Різке збільшення цін на мінеральні добрива в Україні у 2013–2015 рр.

(за даними Мінагрополітики, азотні добрива подорожчали від 3420 до 11 502 грн/т, тобто більш ніж у 3,4 раза, калійні від 2600 до 5300 грн/т — більш як удвічі) призводить до все більшого зниження рівня їх використання у сільськогосподарських підприємствах [5].

Важливу роль у збагаченні ґрунтів зв'язаним азотом відіграє процес біологічної фіксації молекулярного азоту ґрунтовими мікроорганізмами — азотфіксаторами. До фіксації азоту здатні лише прокаріоти — організми, які не мають сформованого ядра (бактерії, ціанобактерії), їм притаманний високий коефіцієнт розмноження та адаптації до умов середовища, а ферментативні системи можуть відновлювати азот до різноманітних сполук. Вищі рослини не здатні використовувати молекулярний азот як джерело азотного живлення. Біологічна фіксація азоту відбувається за нормальних температури і тиску в нейтральних водних розчинах під дією дуже слабких відновників.

Найбільше практичне значення у збагаченні ґрунтів азотом завдяки засвоєнню його з повітря мають такі групи ґрунтових мікроорганізмів, як бульбочкові бактерії, які фіксують молекулярний азот у симбіозі з бобовими рослинами; різноманітні вільноіснуючі азотфіксувальні бактерії, поширені у ґрунтах; асоціативні мікроорганізми, здатні засвоювати молекулярний азот в асоціаціях із кореневою системою небобових рослин.

Азотфіксувальні мікроорганізми можуть засвоювати з повітря від 40 до понад 300 кг азоту на гектар за рік. Цей процес не забруднює довкілля і не потребує значних енергетичних витрат. Про значущість біологічної азотфіксації свідчить той факт, що у світовій практиці сільськогосподарства щороку в ґрунт із мінеральними добривами вноситься 35 млн т азоту, тоді як за цей самий час рослини поглинають із ґрунту приблизно 75 млн т цього елемента. Різниця між цими кількостями покривається завдяки діяльності мікробів-азотфіксаторів, насамперед бульбочкових бактерій, які зв'язують молекулярний азот у легкозасвоювані для рослин форми. Бульбочкові бактерії селяться на корінні бобових рослин, ініціюють утворення

кореневих бульбочок, після чого між рослиною і бактеріями виникає симбіоз (рис. 1): бактерії зв'язують молекулярний азот атмосфери, передають його рослині, яка, в свою чергу, забезпечує їх іншими поживними речовинами.

Значні перспективи має використання так званих асоціативних бактерій при вирощуванні пшениці, ячменю, тритикале, проса, сорго. Ці мікроорганізми також фіксують азот і тим самим поліпшують мінеральне живлення, забезпечують рослину-хазяїна фізіологічно активними речовинами (фітогормонами, вітамінами та ін.).

Нітрагінізація (інокуляція — обробка насіння перед посівом бульбочковими бактеріями) підвищує продуктивність бобових у середньому на 10—25%. Рівень прибавки урожаю залежить від особливостей культури, стану ґрунтів і погодних умов. Додаткове накопичення протеїну в урожаї інокульованих рослин істотно підвищується і становить 20—35% для зернобобових і 30—45% — для багаторічних бобових трав. Збільшення накопичення біологічного азоту в урожаї при інтродукції ефективних штамів бульбочкових бактерій становить 30—50% для зернобобових і досягає 60—80% для бобових трав [8, 9]. Крім того, після збирання цих культур у ґрунті залишається 50—100 кг азоту на гектар і пригнічується активність фітопатогенних мікроорганізмів.

Оптимальна науково обґрунтована частка бобових культур у сівозмінах становить 20—40%, що дозволяє на чверть скоротити обсяги внесення мінерального азоту під зернові культури сівозміни без суттєвого зниження їх продуктивності [10].

На 68-му засіданні Генеральної Асамблеї ООН 2016 рік було проголошено Міжнародним роком зернобобових. Цим кроком представники Генеральної Асамблеї намагалися привернути увагу населення планети до раціонального використання зернобобових культур, а також підкреслити їх важливість у сучасному раціоні людини [11].

Зернобобові (сочевиця, горох, нут і квасоля) вважаються необхідною складовою продуктового кошика будь-якої людини. Вони є життєво



Рис. 1. Кореневі бульбочки сої (*Glycine max* (Merr.))

важливим джерелом амінокислот і рослинного білка, а тому мають входити до складу здорового раціону. Зернобобові рекомендовані до вживання для вирішення проблеми ожиріння, а також для профілактики серцево-судинних захворювань, діабету і раку. Крім того, ці культури є незамінним джерелом одержання рослинного білка для багатьох тварин.

Міжнародний рік зернобобових стимулював зростання світового виробництва зернобобових, а також оптимізацію використання одержуваних із них рослинних білків [11].

На сьогодні в Україні зернобобові культури вирощують на площі понад 2,5 млн га, а багаторічні трави, в тому числі бобові, яким належить провідна роль у відновленні ґрунтової родючості, займають близько 1 млн га, що набагато нижче оптимуму. Нагальним стратегічним завданням у вирішенні проблеми харчового та кормового білка і відновлення колишньої родючості українських ґрунтів є розширення площі посівів традиційних і нетрадиційних бобових культур до оптимальних значень. Вагомою проблемою також є забезпечення ефективного симбіозу рослин з відповідними активними штамми бульбочкових бактерій.

Тому сьогодні в усьому світі спостерігається підвищений інтерес до біологічних препа-

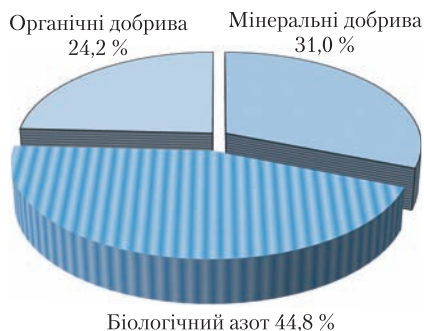


Рис. 2. Джерела збагачення ґрунтів азотом в аграрному секторі США

ратів для сільського господарства на основі бактерій-азотфіксаторів. У розвинених країнах, незважаючи на їхні більші можливості щодо застосування мінеральних добрив, біологізація сільськогосподарського виробництва має виняткове значення. Про це свідчать обсяги виробництва препаратів на основі азотфіксувальних мікроорганізмів [6, 12]: в Угорщині — понад 200 тис. гектарних порцій, у Великій Британії і Польщі — більш як 500 тис., Румунії — понад 1 млн, Індії — 3 млн, Канаді — 4 млн, Австралії — 6 млн.

Незважаючи на важливість цього питання, в Україні лише 30–35 % насіння бобових культур (здебільшого сої) інокулюється препаратами бульбочкових бактерій.

У США поряд із застосуванням мінеральних добрив азотний дефіцит ґрунту значною мірою покривається активізацією біологічних процесів. Сільське господарство США, яке має близько 140 млн га ріллі, забезпечує надходження азоту в ґрунти (загалом 29 млн т на рік) із таких джерел (рис. 2) [6, 13, 14]:

- мінеральні добрива — близько 9 млн т, що становить 31,0 %;
- біологічний азот — близько 13 млн т, що становить 44,8 %;
- органічні добрива — 7 млн т, що становить 24,2 %.

Біопрепаратами в США обробляють понад 65 % площ бобових культур. Для власних потреб і на експорт виробляють від 14 до 20 млн гектарних порцій азотфіксувальних препара-

тів. Найпоширенішими у світі є такі види бактеріальних добрив:

- вологий торф'яний порошок;
- рідкий інокулянт;
- ліофілізовані бульбочкові бактерії в тальку;
- бактерії, висушені в технічній олії і змішані з вермікулітом;
- агарові культури;
- добрива на твердих носіях (стерильний вермікуліт, перліт, торф);
- гранульовані торф'яні інокулянти для прямого внесення в ґрунт;
- торф'яні препарати з додаванням полісахаридів.

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

Щоб цілеспрямовано керувати процесом азотфіксації бобових рослин, створюючи ефективний симбіоз, необхідно всебічно розуміти перебіг цього процесу, складність якого полягає в тому, що будь-яка генетична ознака бобово-ризобіального симбіозу — це результат взаємодії двох геномів, один з яких належить рослині, а другий — бактерії.

Ці бактерії мають бути здатними, з одного боку, утворювати на корінні бобових оптимальну кількість бульбочок і забезпечувати високий рівень азотфіксації, а з іншого — успішно конкурувати з низькоактивними місцевими расами ризобій та іншою ґрунтовою мікрофлорою, зберігаючи при цьому активність за несприятливих умов довкілля. Слід зауважити, що окремі штами бульбочкових бактерій з часом можуть певною мірою втрачати агрономічно корисні властивості, що зумовлює необхідність постійного ведення селекції нових високоєфективних штамів, які за симбіотичними властивостями переважають уже відомі.

У відділі симбіотичної азотфіксації Інституту фізіології рослин і генетики НАН України методами аналітичної селекції отримано високоактивні конкурентоспроможні штами буль-

бочкових бактерій люпину *Rhizobium lupini* 387a, гороху *Rhizobium leguminosarum* 2636, козлятнику східного *Rhizobium* sp. (Galega) 159 та Л2, сої *Bradyrhizobium japonicum* PC08, люцерни *Sinorhizobium meliloti* AC08 [15–19].

Методом міжродової кон'югації створено високоефективні штами бульбочкових бактерій люцерни *S. meliloti* M4 [20], M12 [21] та конюшини *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* BN9 [22]. Їх особливістю є те, що вони менш чутливі до несприятливих екологічних умов — низьких температур, нестачі вологи, надлишку азоту в ґрунті. Застосування зазначених штамів *S. meliloti* активізує перебіг найважливіших фізіологічних процесів — азотфіксації, фотосинтезу, дихання, а також значно підвищує (на 20–25%) продуктивність люцерни, збільшує в урожаї вміст білка, вільних амінокислот. Науково обґрунтовано та експериментально доведено позитивну роль нових штамів бульбочкових бактерій у формуванні генеративних органів люцерни, яка полягає в інтенсифікації утворення в них лімітуючих синтез білка амінокислот — метіоніну, лізину, гістидину, тирозину та ін. [23].

В Інституті методом неспецифічного транспозонового мутагенезу з використанням плазмиди pSUP2021::Tn5 створено високоефективні конкурентоспроможні штами бульбочкових бактерій гороху, люцерни і конюшини. Вперше доведено можливість застосування цієї плазмиди для транспозонового мутагенезу штамів *B. japonicum* 646, 614a, 71т з частотою транспозиції 10^{-6} – 10^{-7} [24]. Встановлено, що

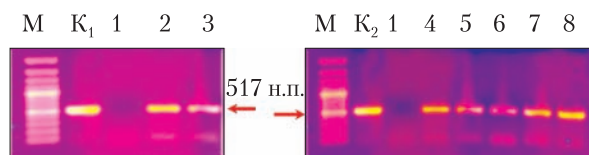


Рис. 3. Електрофорез в 0,7% агарозному гелі продуктів ампліфікації ДНК Tn5-мутантів бульбочкових бактерій сої з використанням праймерів до гена неомицинофосфотрансферази Tn5 (M — маркер молекулярних мас); K₁ — *E. coli* S17-1 (pSUP2021::Tn5); K₂ — *E. coli* S17-1 (pSUP5011::Tn5-mob); 1 — *B. japonicum* 646 (вихідний штам); 2–3 — Tn5-мутанти (pSUP2021::Tn5) штаму *B. japonicum* 646; 4–8 — Tn5-мутанти (pSUP5011::Tn5-mob) штаму *B. japonicum* 646

використання плазмиди pSUP5011::Tn5 ефективніше для інсерції Tn5-транспозону в геном повільнорослих бактерій *B. japonicum* 646, M6346 і дає змогу отримати широкий спектр Tn5-мутантів (табл. 1).

Встановлено наявність фрагменту гена неомицинофосфотрансферази у Tn5-мутантів *B. japonicum*, що підтверджує інтеграцію в їх геном транспозону Tn5 (рис. 3).

За допомогою векторної плазмиди 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} [25].

Перевірено і проаналізовано нові штами, одержані методами аналітичної селекції та транспозонового мутагенезу, стосовно здатності формувати з люцерною стійкі до водно-

Таблиця 1. Частота утворення Tn5-мутантів бульбочкових бактерій сої

Штам	Плазміда	Частота транспозиції	Кількість отриманих Km ^{R+} мутантів
<i>B. japonicum</i> 646	pSUP5011::Tn5-mob	$0,57 \cdot 10^{-5}$	568
	pSUP2021::Tn5	$0,32 \cdot 10^{-6}$	320
<i>B. japonicum</i> M6346	pSUP5011::Tn5-mob	$0,36 \cdot 10^{-7}$	450
	pSUP2021::Tn5	$0,30 \cdot 10^{-7}$	920
<i>B. japonicum</i> 71т	pSUP2021::Tn5	$0,40 \cdot 10^{-7}$	150
<i>B. japonicum</i> 614a	pSUP2021::Tn5	$0,20 \cdot 10^{-8}$	102

Примітка. Тривалість експозиції зі штамом-донором становила 20–30 год

го 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 [26].

У результаті проведених багаторічних досліджень ми відібрали високоефективні конкурентоспроможні штами бульбочкових бактерій сої (табл. 2), гороху, люпину, нуту, люцерни, конюшини та козлятника, які забезпечують прирост урожаю цих культур на 15–22% порівняно зі штамми-стандартами.

В інфраструктурі Інституту є два наукових об'єкти, які мають статус національного надбання:

1. «Колекція цінних зразків озимої пшениці та кукурудзи – сорти, популяції, унікальні мутантні та рекомбінантні лінії, інбредні лінії»;
2. «Колекція штамів симбіотичних та асоціативних азотфіксувальних мікроорганізмів».

Колекція цінних зразків основних злакових культур України – озимої пшениці та кукурудзи – це результат багаторічних наукових досліджень та міжнародних експедицій.

Зразки колекції унікальні за морфологічними, біологічними та біохімічними характеристиками, вони є джерелами цінної генетичної плазми для поліпшення наявних і створення нових сортів та гібридів, для вирішення фундаментальних проблем селекції, генетичної інженерії та біотехнології. На сьогодні колекція генофонду провідних злакових культур України – озимої пшениці та кукурудзи, налічує понад 6,5 тис. зразків.

Генотипи-донори господарсько-цінних ознак колекції успішно використовуються науковими установами з метою вивчення фундаментальних питань біології та створення високопродуктивних, високоякісних, стійких до абіотичних і біотичних чинників навколишнього середовища сортів пшениці та гібридів кукурудзи. На основі використання зразків колекції розроблено нові високоефективні методи селекції злаків. Створено і внесено у реєстри сортів рослин України та країн близького зарубіжжя понад 70 сортів пшениці та близько 20 гібридів кукурудзи, які визнані новим селекційним досягненням. Сорти, створені з використанням зразків колекції, вирощуються в Україні на площі понад 2,0 млн га, що є суттєвим внеском у забезпечення продовольчої безпеки України.

Колекція штамів симбіотичних та асоціативних азотфіксувальних мікроорганізмів (налічує понад 850 культур) – одна з найбільших в Україні і підтримується у життєздатному ста-

Таблиця 2. Конкурентоспроможність Tп5-мутантів бульбочкових бактерій *V. japonicum*

Варіант	Зелена маса, г/посудину		Конкурентоспроможність, %
	моно-інокуляція	інокуляція сумішню штамів (неактивний 604к+ активний)	
Без інокуляції	42,69 ± 3,24	—	—
<i>V. japonicum</i> 604к (неактивний)	41,72 ± 2,80	—	—
<i>V. japonicum</i> 634б (виробничий)	55,36 ± 2,29	53,21 ± 1,94	84
<i>V. japonicum</i> T66	56,21 ± 1,71	54,69 ± 2,35	89
<i>V. japonicum</i> T118	50,27 ± 1,04	47,77 ± 1,26	71
<i>V. japonicum</i> T3-11	53,29 ± 3,17	50,44 ± 1,85	75
<i>V. japonicum</i> T21-2	60,20 ± 1,56	59,23 ± 2,13	94

ні. До складу колекції входять різні за азотфіксувальною активністю штами та Tn-5-мутанти повільно- і швидкокорслих симбіотичних азотфіксаторів — представників родів *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mezorhizobium*, селекціоновані як ученими Інституту, так і фахівцями інших наукових установ України та світу. Крім того, в колекційному фонді зберігається низка штамів та ізолятів асоціативних і вільноіснуючих азотфіксувальних мікроорганізмів. Авторство окремих із них належить науковцям Інституту [27].

У цьому колекційному фонді зберігаються і підтримуються цінні біологічні об'єкти — азотфіксувальні мікроорганізми, які мають стратегічно важливе значення для економічного розвитку України, оскільки використовуються для виготовлення біологічних препаратів під бобові та зернові культури, що дозволяє зменшити використання мінеральних добрив та енергетичних ресурсів і знизити негативне навантаження на довкілля. Мікроорганізми з колекційного фонду постійно використовуються для наукових досліджень у галузі фізіології рослин, біотехнології, генетики, мікробіології. Щороку колекція поповнюється новими штамми, проводиться вивчення їх за культурально-морфологічними, симбіотичними властивостями та здійснюється їх оцінка за господарсько-цінними ознаками.

За розроблення наукових основ і формування Банку генетичних ресурсів польових культур України, частиною якого є зазначені наукові об'єкти, що становлять національне надбання, у 2013 р. двом співробітникам Інституту у складі авторського колективу присуджено Державну премію України в галузі науки і техніки.

Співробітники Інституту у творчій співдружності з установами НААН України розробили і впровадили у виробництво екологічно чисту технологію отримання рослинного білка на основі використання симбіотичної взаємодії вискоєфективних мікроорганізмів із сучасними сортами бобових рослин. Економічний ефект від її застосування становить понад 1 млрд грн на рік. С.Я. Коця і С.М. Малі-

ченко у складі авторського колективу за роботу «Бобово-ризобіальні системи у сучасному землеробстві» у 2012 р. відзначено Державною премією України в галузі науки і техніки.

Розроблено і впроваджено у виробництво препарат нового покоління ризостим. Його унікальність забезпечує поєднання комплексу штамів азотфіксувальних мікроорганізмів, отриманих за допомогою останніх досягнень молекулярної біології і нанобіотехнологій, 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 поверхні щонайменше протягом двох місяців [28].

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. За результатами багаторічних досліджень доведено ефективність препарату при його використанні в сучасних технологіях вирощування пшениці [28, 29].

Співробітниками Інституту було удосконалено напівпромислово технологію виготовлення рідких бактеріальних добрив та добрив на твердих носіях (рис. 4).

Щороку 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.

Варто зазначити, що процес виготовлення бактеріальних препаратів потребує від персоналу належних знань, навичок і досвіду роботи в стерильних умовах, а також відповідного обладнання. Тому працівникам сільськогос-



Рис. 4. Обладнання для виготовлення бактеріальних добрив та продукція Інституту фізіології рослин і генетики НАН України

подарського виробництва необхідно співпрацювати з науково-дослідними установами — оригінаторами штамів і розробниками препаратів, які видають необхідну документацію (регламент, технічні умови), а також рекомендації мікробіологічного і сировинного характеру. Завданням виробництва бактеріальних добрив є максимальне накопичення життєздатних клітин, збереження їх життєздатності на усіх стадіях технологічного процесу, приготування на їх основі готових форм препарату зі збереженням активності мікроорганізмів впродовж гарантійного терміну. Лише в такий спосіб отримані біопрепарати гарантують реальний успіх у рослинництві, неякісні ж можуть дискредитувати саму ідею біологізації землеробства.

В Україні мікробним (біологічним) препаратам, як передовому інноваційному напрямку аграрної діяльності, фахівці господарств приділяють й приділяють найпильнішу увагу, і ці препарати стають дедалі популярнішими. Однак останнім часом при їх використанні виникають окремі питання, які загалом зводяться до того, що одні господарства досягають ви-

соких результатів, тоді як інші мають збитки. Причин цьому може бути багато, але головні з них, на думку фахівців, такі:

- недостатньо високий рівень професіоналізму агровиробників у господарствах при роботі з цими препаратами, зокрема, це стосується як самого вибору препаратів, так і поєднання їх із засобами захисту рослин, мінеральними добривами та мікроелементами;
- поява на українському ринку біопрепаратів інокулянтів невисокої якості та сумнівного походження, застосування яких може дати непередбачувані результати;
- можливе зниження ефективності іноземних препаратів при застосуванні їх вітчизняними агровиробниками через те, що основу таких препаратів становлять активні мікроорганізми, які, на відміну від вітчизняних мікробних агентів, не адаптовані до ґрунтово-кліматичних умов України та сортів культурних рослин української селекції;
- необхідність співпраці з виробниками препаратів у формі фахових консультацій і аналізу причин у разі отримання низьких результатів від застосування біоінокулянтів.

Подолання наведених ускладнень може істотно підвищити як урожайність, так і економічну ефективність.

В Україні мікробіологічні препарати для рослинництва виготовляють такі організації, як Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Інститут сільськогосподарської мікробіології і агропромислового виробництва НААН України, Інститут агроекології і природокористування НААН України, Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, БТУ-центр, ВІОНА, ДП «Рейлін», ТОВ НВФ «Агросвіт», ТОВ «Ферро і Шрот – Україна» та ін. На сьогодні в Україні використовується 27 біопрепаратів, призначених для фіксації рослинами атмосферного азоту, що становить 27,8% від загальної кількості усіх біопрепаратів [30]. Однією з провідних наукових установ України, що займається селекцією високоефективних агрономічно корисних штамів азотфіксувальних мікроорганізмів, розробленням на їх основі біологічних препаратів під сільськогосподарські культури та впровадженням їх у виробництво, є Інститут фізіології рослин і генетики НАН України.

Бактеріальні добрива, що виготовляються в Інституті, легкі й зручні у використанні, мають доступну ціну. З метою повноцінного використання інокулянтів агропромисловцями в Інституті діє консультативна група, до функцій якої, зокрема, належить науковий супровід застосування препаратів в окремих господарствах.

Ми переконані, що вирощування сільськогосподарських культур без застосування бактеріальних добрив — це нереалізовані можливості і неефективно використані ресурси. А максимальну віддачу від рослин (як урожай, так і післядію для наступних культур) можна одержати лише за умови застосування бактеріальних (мікробних) добрив.

Потреба в мікробних азотфіксувальних препаратах для рослинництва (бобові та зернові культури) в Україні становить понад 16 млн гектарних порцій щороку. На сьогодні найбільшою проблемою є відсутність сучасних біотехнологічних заводів з їх виготовлення, оскільки виробнича база Інституту навіть за наявності високого рівня наукових розробок та висококваліфікованих кадрів не розрахована на значне зростання обсягів виготовлення і впровадження біопрепаратів.

Учені-мікробіологи занепокоєні тим, що впродовж останніх років на ринку України спостерігається активний процес витіснення вітчизняних мікробних препаратів імпортними аналогами. Є нагальна потреба звернутися до уряду з пропозицією про будівництво сучасних біотехнологічних заводів при інститутах, які мають сучасні інноваційні розробки і висококваліфіковані кадри. Крім того, необхідно обмежити ввезення в Україну високовартісних іноземних азотфіксувальних біопрепаратів через введення квот.

Збільшення виробництва і застосування бактеріальних добрив дозволить отримувати екологічно чисту продукцію рослинництва, сприятиме зниженню антропогенного (хімічного) навантаження на екосистеми та відновленню родючості ґрунтів.

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 можливе лише за умови розширення і поглиблення фізіолого-біохімічних та молекулярно-генетичних досліджень.

REFERENCES

[СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ]

1. Kots S.Ya., Peterson N.V. *Mineral elements and fertilizers in plant nutrition*. (Kyiv: Logos, 2015).
[Коць С.Я., Петерсон Н.В. *Мінеральні елементи і добрива в живленні рослин*. К.: Логос, 2015.]
2. Morgun V.V. Contribution of genetics and plant breeding to the food security of Ukraine. *Visn. Nac. Akad. Nauk Ukr.* 2016. (5): 20.
[Моргун В.В. Внесок генетики і селекції рослин у забезпечення продовольчої безпеки України. *Вісник НАН України*. 2016. № 5. С. 20–23.]
3. Morgun V.V., Rybalka O.I. Strategy of cereals genetic improvement aimed at food safety, health promotion and industry needs. *Visn. Nac. Akad. Nauk Ukr.* 2017. (3): 54. <https://doi.org/10.15407/visn2017.03.054>
[Моргун В.В., Рибалка О.І. Стратегія генетичного поліпшення зернових злаків з метою забезпечення продовольчої безпеки, лікувально-профілактичного харчування та потреб переробної промисловості. *Вісник НАН України*. 2017. № 3. С. 54–64.]
4. Biological agriculture is a step towards the future! *Propozytsiya*. 2017. (Special Issue). P. 12–13.
[Біологічне землеробство – крок у майбутнє! *Пропозиція*. 2017. Спецвипуск. С. 12–13.]
5. Kucher A., Kucher L. Economics of application of mineral fertilizers. *Propozytsiya*. 2016. (Special Issue). P. 8–16.
[Кучер А., Кучер Л. Економіка застосування мінеральних добрив. *Пропозиція*. 2016. Спецвипуск. С. 8–16.]
6. Patyka V.P., Kots S.Ya., Volkohon V.V. et al. *Biological Nitrogen*. (Kyiv: Svit, 2003).
[Патика В.П., Коць С.Я., Волкогон В.В. та ін. *Біологічний азот*. К.: Світ, 2003.]
7. Features of fertilizers use under drought conditions. *Propozytsiya*. 2016. (12): 68.
[Особливості застосування добрив у посушливих умовах. *Пропозиція*. 2016. № 12. С. 68–74.]
8. Kozhemyakov A.P. Productivity of nitrogen fixation in agrocenoses. *Microbiology Journal (Microbiologichny Zhurnal)*. 1997. **59**(4): 22.
[Кожемяков А.П. Продуктивність азотфіксації в агроценозах. *Мікробіол. журн.* 1997. Т. 59, № 4. С. 22–28.]
9. Kots S.Ya., Morgun V.V., Patyka V.P. et al. *Biological nitrogen fixation: legume-rhizobial symbiosis*. (Kyiv: Logos, 2011).
[Коць С.Я., Моргун В.В., Патыка В.Ф. и др. *Биологическая фиксация азота: бобово-ризобийный симбиоз*. Т. 2. К.: Логос, 2011.]
10. Sichkar V.I. The importance of leguminous crops in improving the stability of steppe farming. *Bulletin of Agrarian Science in Black Sea Region*. 2003. (3): 175.
[Сичкарь В.И. Значение зернобобовых культур в повышении стабильности степного земледелия. *Вісн. аграр. науки Причорномор'я*. 2003. Спец. вип. № 3. С. 175–180.]
11. International Year of Pulses 2016. <http://www.fao.org/pulses-2016/en/>
[Международный год зернобобовых 2016. <http://www.fao.org/pulses-2016/ru/>]
12. Smirnov V.V., Patyka V.P., Pidhorsky V.S. et al. Microbial biotechnology in agriculture. *Agroecological journal*. 2002. (3): 3.
[Смирнов В.В., Патыка В.П., Підгорський В.С. та ін. Мікробні біотехнології в сільському господарстві. *Агро-екол. журн.* 2002. № 3. С. 3–9.]
13. Morgun V.V., Kots S.Ya. Bacteriation of leguminous seeds. *Propozytsiya*. 2007. (2): 40.
[Моргун В.В., Коць С.Я. Бактеризація посівного матеріалу бобових. *Пропозиція*. 2007. № 2. С. 40–41.]
14. Tarariko O.H., Sherstoboyeva O.V., Patyka V.P. The concept and scientific substantiation of the basic directions of perfection of systems of release and realization of microbiological preparations for an agricultural production. *Microbiology Journal (Microbiologichny Zhurnal)*. 1997. **59**(4): 102.
[Тараріко О.Г., Шерстобоева О.В., Патыка В.П. Концепція і наукове обґрунтування основних напрямів удосконалення систем випуску і реалізації мікробіологічних препаратів для сільськогосподарського виробництва. *Мікробіол. журн.* 1997. Т. 59, № 4. С. 102–108.]
15. Patent of Ukraine No 21012 A. Published on 27.02.1998, bul. № 0/1987.
[Пат. 21012 А Україна СО5F 11/08, С12R1:41. Ю.П. Старченков, Н.М. Мандровська, М.М. Нічик та ін. Штам бактерій *Rhizobium leguminosarum* для одержання бактеріального добрива під горох. Опубл. 27.02.98, бюл. № 1.]
16. Patent of Ukraine No 21013 A. Published on 27.02.1998, bul. № 1/1998.
[Пат. 21013 А Україна СО5F 11/08, С12R1:41. Ю.П. Старченков, М.М. Нічик, Н.М. Мандровська та ін. Штам бактерій *Rhizobium lupini* для одержання бактеріального добрива під люпин. Опубл. 27.02.98, бюл. № 1.]

17. Patent of Ukraine No 51890. Published on 15.11.2004, bul. № 11/2004.
[Пат. 51890 Україна СО5F 11/08, С12№1/29 // (С12№1/20, С12R1:41). С.М. Маліченко, С.Я. Коць, Л.В. Титова та ін. Штам бактерій *Rhizobium* sp. (*Galega*) для одержання бактеріального добрива під козлятник. Опубл. 15.11.04, бюл. № 11.]
18. Patent of Ukraine No 78755. Published on 25.03.2013, bul. № 6/2013.
[Пат. на корисну модель 78755 Україна МПК СО5F 11/00, С12№1/100. С.Я. Коць, С.М. Маліченко, П.М. Маменко та ін. Штам бактерій *Bradyrhizobium japonicum* PC08 (B-7399) для одержання бактеріального добрива під сою. Опубл. 25.03.13, бюл. № 6.]
19. Patent of Ukraine No 95714. Published on 12.01.2015, bul. № 1/2015.
[Пат. на корисну модель 95714 Україна МПК СО5F 11/08, С12№1/20, С12R 1/41A01 № 62/026 A01P 21/00. Л.В. Кириленко, С.Я. Коць, П.М. Маменко та ін. Штам бактерій *Rhizobium galegae* L2 (колекція ІМВ НАН України) для одержання бактеріального добрива під козлятник східний. Опубл. 12.01.15, бюл. № 1.]
20. Patent of Ukraine No 13298. Published on 28.02.1997, bul. № 1/1997.
[Пат. 13298 Україна СО5F 11/08, С12№1/20. Ю.П. Старченков, М.М. Нічик, Н.В. Петерсон та ін. Штам бактерій *Rhizobium meliloti* для одержання бактеріального добрива під люцерну. Опубл. 28.02.97, бюл. № 1.]
21. Patent of Ukraine No 50851. Published on 15.11.2002, bul. № 11/2002.
[Пат. 50851 Україна СО5F 11/08, С12№1/20. С.Я. Коць, Н.А. Воробей, Ю.П. Старченков. Штам бактерій *Rhizobium meliloti* для одержання бактеріального добрива під люцерну. Опубл. 15.11.02, бюл. № 11.]
22. Patent of Ukraine No 21785. Published on 10.04.2007, bul. № 4/2007.
[Пат. 21785 Україна С12№1/20. Н.А. Воробей, С.Я. Коць. Штам бактерій *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* для одержання бактеріального добрива під люцерну. Опубл. 10.04.07, бюл. № 4.]
23. Kots S.Ya., Malichenko S.M., Kruhova O.D. et al. *Physiological and biochemical features of feeding plants with biological nitrogen*. (Kyiv: Logos, 2001).
[Коць С.Я., Маліченко С.М., Кругова О.Д. та ін. *Фізіолого-біохімічні особливості живлення рослин біологічним азотом*. К.: Логос, 2001.]
24. Malichenko S.M., Datsenko V.K., Vasylyuk V.M., Kots S.Ya. Transposon mutagenesis of strains *Bradyrhizobium japonicum*. *Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants (Fiziologiya i biokhimiya kul'turnykh rasteniy)*. 2007. **39**(5): 409.
[Маліченко С.М., Даценко В.К., Василюк В.М., Коць С.Я. Транспозоновий мутагенез штамів *Bradyrhizobium japonicum*. *Фізіологія і біохімія культ. рослин*. 2007. Т. 39, № 5. С. 409—418.]
25. Vasylyuk V.M., Mel'nykova N.M., Mykhalkiv L.M. et al. Formation of the symbiotic relationships between lupine plants and transposon mutants *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*). *Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants (Fiziologiya i biokhimiya kul'turnykh rasteniy)*. 2007. **39**(3): 233.
[Василюк В.М., Мельникова Н.М., Михалків Л.М. та ін. Формування симбіотичних взаємовідносин рослин люпину з транспозоновими мутантами *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*). *Фізіологія і біохімія культ. рослин*. 2007. Т. 39, № 3. С. 233—241.]
26. Mykhalkiv L.M., Vorobey N.A., Kots S.Ya., Sichkar V.I. Efficiency of alfalfa symbiosis with nodule bacteria, obtained by different methods. In: *Selection and Genetics of Legume Cultures: Modern Aspects and Prospects*: Proc. Int. Conf. (June 23-26, 2014, Odesa). P. 264—266.
[Михалків Л.М., Воробей Н.А., Коць С.Я., Січкач В.І. Ефективність симбіозу люцерни з бульбочковими бактеріями, отриманими різними методами. В кн.: *Селекція та генетика бобових культур: сучасні аспекти та перспективи*: зб. тез міжнар. наук. конф. (23-26 червня 2014, Одеса). С. 264—266.]
27. Kots S.Ya., Morgun V.V., Palyuka V.P. *Biological nitrogen fixation: associative nitrogen fixation*. (Kyiv: Logos, 2014).
[Коць С.Я., Моргун В.В., Патька В.Ф. і др. *Біологічна фіксація азота: асоціативна азотфіксація*. Т. 4. Київ: Логос, 2014.]
28. Kots S.Ya., Vorobey N.A., Kurychenko O.V. et al. *Microbiological Preparations for Agriculture*. (Kyiv: Logos, 2016).
[Коць С.Я., Воробей Н.А., Кіриченко О.В. та ін. *Мікробіологічні препарати для сільського господарства*. К.: Логос, 2016.]
29. Kurychenko O.V. *Biotechnology in Plant Growing*. (Mykolaiv: Pion, 2014).
[Кіриченко О.В. *Біотехнології в рослинництві*. Николаев: Іліон, 2014.]
30. Tkalenko H. Biological preparations in plant protection. *Propozytsiya*. 2015. (Special Issue). P. 2—15.
[Ткаленко Г. Біологічні препарати в захисті рослин. *Пропозиція*. 2015. Спецвипуск. С. 2—15.]

Стаття надійшла 02.10.2017.

V.V. Morgun, S.Ya. Kots

Institute of Plant Physiology and Genetics
of National Academy of Sciences of Ukraine (Kyiv)

THE ROLE OF BIOLOGICAL NITROGEN
IN NITROGEN NUTRITION OF PLANTS

The article considers the importance of biological nitrogen in increasing the productivity of agricultural plants and the fertility of soils. The state and prospects of fundamental research in the field of atmospheric nitrogen biological fixation are characterized, the advantages of microbial nitrogen fixing preparations are shown in comparison with nitrogen fertilizers.

Keywords: biological nitrogen fixation, symbiosis, transposon mutagenesis, strains, nodule bacteria, free-living nitrogen-fixing bacteria, associative microorganisms, mineral fertilizers, microbial preparations, plant productivity.