

УДК 581.1:581.557:579.6

СУЧАСНИЙ СТАН ДОСЛІДЖЕНЬ БІОЛОГІЧНОЇ ФІКСАЦІЇ АЗОТУ

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 в Інституті фізіології рослин і генетики НАН України протягом останніх 15 років. Розглянуто питання впливу ексудатів проростаючого насіння й коренів бобових рослин на фізіологічну активність бульбочкових бактерій, ролі лектинів у процесі утворення симбіозу і на пізніших етапах його розвитку, гормональної регуляції симбіотичної азотфіксації, впливу екзогенних регуляторів росту рослин на симбіоз, білкового складу бульбочок сої, утворених ризобіями різної ефективності. Значну увагу приділено селекції активних штамів азотфіксувальних мікроорганізмів.

Ключові слова: біологічна азотфіксація, симбіоз, лектини, полісахариди, фітогормони, білки, штами мікроорганізмів.

Широке застосування мінеральних азотних добрив у рослинництві гальмують доволі високі енергетичні затрати на їх виробництво, що в умовах нинішньої світової фінансової кризи спонукає дослідників до пошуку альтернативних шляхів забезпечення сільськогосподарських культур необхідними сполуками цього елемента. Саме таким шляхом є його біологічна фіксація з повітря мікроорганізмами, здатними зв'язувати молекулярний азот атмосфери й перетворювати його на сполуки, придатні для засвоєння рослинами.

У зв'язку з цим серед заходів поліпшення азотного живлення рослин в агрокультурі особливе місце належить теоретичним і практичним розробкам, спрямованим на значне підвищення рівня біологічного перетворення азоту атмосфери на органічні азотовмісні сполуки мікроорганізмами-азотфіксаторами, насамперед бульбочковими бактеріями. Останні у симбіозі з бобовими рослинами здатні фіксувати молекулярний азот повітря, забезпечувати потребу в ньому макросимбіонтів і накопичувати його в орному шарі ґрунту в кількості від 40 до 500 кг/га за рік залежно від вирощуваної бобової культури.

Актуальним сьогодні є також пошук нових азотфіксувальних мікроорганізмів і створення на їх основі ефективних симбіотичних асоціацій, які можна було б застосовувати для підвищення врожайності сільськогосподарських культур і водночас запобігати забрудненню навколишнього середовища синтетичними сполуками.

Фундаментальні дослідження біологічної фіксації атмосферного азоту, що проводяться вченими багатьох країн світу, спрямовані на вивчення її механізмів, деталізацію перебігу фізіолого-біохімічних процесів, які відбуваються під час зв'язування інертної молекули азоту в доступні

рослинам азотні сполуки. Практичний аспект розробок у цьому напрямку полягає в пошуку шляхів мобілізації внутрішніх резервів азотфіксаторів для досягнення максимальної інтенсифікації процесу.

Успішне вирішення цих завдань можливе лише за умови зв'язування суті багатьох фізіологічних і біохімічних реакцій, що сприяють посиленому синтезу й функціонуванню ферментного нітрогеназного комплексу, який відповідає за біологічне зв'язування молекулярного азоту. Незважаючи на значні успіхи в дослідженні порушеної проблеми, інтенсивність процесу азотфіксації у широкомасштабному виробництві значно нижча від рівня, отриманого в дослідах, проведених у контрольованих умовах, тобто біологічний потенціал азотфіксувальних мікроорганізмів на сьогодні реалізований ще далеко не повністю.

Саме вивченню фізіолого-біохімічних особливостей формування і функціонування азотфіксувальних систем бобові рослини — бульбочкові бактерії, злакові рослини — асоціативні бактерії та розробці заходів щодо активування біологічного зв'язування молекулярного азоту присвячені наукові дослідження співробітників відділу симбіотичної азотфіксації Інституту фізіології рослин і генетики НАН України, виконані впродовж останніх 15 років.

Первинна взаємодія між мікроорганізмами й рослинами під час формування симбіозу відбувається ще в період проростання насіння бобових, коли біологічно активні речовини, що інтенсивно секретуються насінням у навколишнє середовище, здатні змінювати властивості бульбочкових бактерій [67, 69]. Зокрема показано, що екsudати насіння бобових культур можуть впливати на здатність специфічних бульбочкових бактерій формувати симбіотичні взаємовідносини з рослинами [43]. Спрямованість впливу екsudатів насіння залежить від їх концентрації, тривалості періоду проростання насіння, сорту рослин, симбіотичних характеристик штамів-інокулянтів [77]. Слід зазначити, що екsudати бобових у певних концентраціях здатні стимулювати ріст активності бульбочкових бактерій [43].

Відомо, що за доконтактної взаємодії важливу роль відіграє хемотаксис бульбочкових бактерій до органічних речовин кореневих виділень рослини [81, 82]. Дослідженнями хемотаксисної здатності повільнорослих бульбочкових бактерій люпину, що різняться за основними симбіотичними властивостями — азотфіксувальною активністю і конкурентоспроможністю, а також ризобій сої та гороху, відмінних від ризобій люпину за специфічністю до рослини-хазяїна, показано, що хемотаксис бульбочкових бактерій стосовно амінокислот, органічних кислот, цукрів, які ідентифіковані в корневих виділеннях люпину, залежить від конкурентоспроможності штаму, меншою мірою — від його специфічності до певної рослини і не залежить від азотфіксувальної активності бактерій [10, 19].

Отримані нами результати підтвердили неспецифічний характер хемотаксису ризобій до сполук такого типу і збіглися з даними інших авторів [8] про існування двох типів таксисної реакції, а саме: до простих сполук (цукрів, амінокислот, органічних кислот), а також флавонів, ферментів, гормонів тощо.

Умови вирощування бобових мають важливе значення для формування симбіозу, зокрема впливають на процес ексудації у рослин [19]. Так, показано, що внесення корневих екsudатів люцерни, вирощеної на різних азотних фонах (0,2; 1,0 і 2,0), у середовище культивування

Sinorhizobium meliloti великою мірою впливає на ріст бактерій у чистій культурі, змінює нодуляційну активність ризобій, визначає специфіку формування симбіотичного апарату, чинить значний ефект на наростання надземної маси рослин-макросимбіонтів на початку вегетації. При цьому ефект ексудатів залежить від азотного фону вирощування рослин, які їх продукують.

Специфічний характер взаємодії бобових рослин із бульбочковими бактеріями під час формування симбіозу полягає у здатності певного виду ризобій інфікувати відповідну йому рослину з утворенням корневих бульбочок. Молекулярною основою такої здатності до «розпізнавання» симбіопартнерів вважають вуглевод-білкову і білок-білкову взаємодію [74], яка ґрунтується на універсальній властивості лектинів (рослинних білків) специфічно й неспецифічно взаємодіяти з вуглеводними детермінантами біополімерів [71] без їх хімічного перетворення. Вони можуть взаємодіяти як із моно-, так і з олігосахаридами, а також із залишками вуглеводів, що входять до складу деяких органічних речовин — глікопротеїдів, полісахаридів, глікозидів [27, 50]. Ці властивості особливо чітко виявляються в процесі формування симбіотичних взаємовідносин між бобовими рослинами і бульбочковими бактеріями. За таких умов лектин бобової рослини зв'язується з полісахаридами лише специфічних для неї ризобій, так відбувається «розпізнавання» симбіопартнерів [65, 66].

Встановлено, 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 рослини-хазяїна, формуванні й функціонуванні бульбочок [68, 70, 75]. Зокрема показано, що в разі інкубації ризобій із лектином перед інокуляцією значно збільшується кількість інфекційних ниток у коренях рослин, а також змінюється вірулентність й конкурентоспроможність бактерій [63, 64, 75]. У зв'язку з цим дослідження ролі лектинів у формуванні бобово-ризобіального симбіозу вельми актуальні, їх результати дають змогу не тільки наблизитися до розуміння загальнобіологічної проблеми «розпізнавання», а й з'ясувати напрями дії цих білків, розробити заходи коригування симбіотичних взаємовідносин між мікро- і макропартнерами. Останнє відкриває шлях до істотного підвищення ефективності симбіотичної фіксації молекулярного азоту.

Всі аспекти біологічної ролі лектинів, у тім числі лектинів бобових рослин, остаточно не з'ясовані. Зважаючи на те що ці білки містяться в різних тканинах і органах рослин [31, 34, 52], вони мусять мати важливе і водночас різнобічне значення для їхньої життєдіяльності.

Відповідальною стадією, яка передуює ініціації інфекції, є адсорбція ризобіальних клітин на коренях рослини-хазяїна. Адсорбція бульбочкових бактерій на коренях бобових рослин як перша стадія формування симбіозу 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 та безпосередню участь цього білка на початковій стадії формування симбіотичних взаємовідносин між партнерами [15, 22, 29].

Роль лектинів у формуванні симбіозу не обмежується лише їх зв'язуванням із глікополімерами мікросимбіонта на початкових етапах контакту з коренями рослин. Ми встановили специфічність модуляторного впливу цих білків на формування і подальше функціонування симбіозу. Такий вплив виявляється у стимуляції гомологічним лектином партнерів симбіозу та нейтральній або супресорній дії лектину, невідповідного цим симбіонтам. Отримані нами 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 [30, 35].

Ми вперше встановили пряму залежність між лектиною та азотфіксувальною активностями бульбочок люпину і сої, що вказує на безпосередню участь лектинів у роботі азотфіксувального апарату. 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 [31, 52]. Зміна показників інтенсивності фотосинтезу в умовах різного забезпечення сої мінеральним і біологічним азотом також супроводжується зміною гемаглютинувальної активності білків у листках, що може підтверджувати гіпотезу щодо участі лектинів у функціонуванні асиміляційної системи бульбочок і фотосинтетичного апарату [51].

У відділі симбіотичної азотфіксації виділено лектин насіння безбульбочкової ізолінії сої, проведено його біохімічні й імунохімічні дослідження. Виявлено деякі відмінності цього білка від лектину насіння сої, здатної формувати бобово-ризобіальний симбіоз, щодо гемаглютинувальної активності, амінокислотного складу, вуглеводної специфічності [37, 44]. В екстракті білка насіння безбульбочкової сої методом гел'фільтрації виявлено дві лектинові фракції з різною вуглеводною специфічністю [39]. Встановлено, що насіння і корені безбульбочкової ізолінії сої за кількісним співвідношенням високомолекулярних білків різняться від насіння і коренів звичайної сої, здатної формувати бульбочки. Корені безбульбочкової сої містять гемаглютинувальний білок, електрофоретична рухливість якого подібна до рухливості галактозоспецифічного лектину насіння звичайної сої [39]. Експериментально встановлено, що білок безбульбочкової сої слабо взаємодіє лише з гетерологічними ліпополісахаридами окремих штамів бульбочкових бактерій люпину [76]. Відомо, що лектин насіння генетично зміненої сої у певних концентраціях може активувати проростання насіння і формування проростків звичайної сої [40], а також утворення й функціонування бобово-ризобіального симбіозу цими рослинами. Водночас за концентрації 10^4 молекул на мікробну клітину він активно впливає на формування та функціонування симбіотичних азотфіксувальних систем, посилює бульбочкоутворення на ранніх етапах онтогенезу сої, формування надземної маси рослин упродовж бутонізації, сприяє при цьому синтезу хлорофілів і каротиноїдів у листках рослин [78, 79]. За характером впливу на інтенсивність проростання насіння й утворення симбіотичних азотфіксувальних систем лектин насіння безбульбочкової сої істотно різниться від лектину насіння звичайної сої.

Серед численних наукових доробок у галузі лектинології 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, зокрема гемаглютинувальних білків насіння різних сортів сої, на розвиток і функціонування бобово-ризобіального симбіозу показало, що гемаглютиніни мають незначні відмінності щодо впливу на формування бульбочок на головному і бічних коренях рослин, а також на активність розвитку симбіозу на ранніх етапах його становлення [38]. Азотфіксувальна активність симбіотичних систем залежить від виду лектину, використаного для обробки бульбочкових бактерій, та його концентрації. Слід зазначити, що концентрація лектину великою мірою визначає характер його впливу на формування і функціонування симбіотичних систем. Під час інкубування ризобій із гемаглютинувальним білком концентраціями 10^5 і 10^6 молекул на бактеріальну клітину загальна азотфіксувальна активність сформованих ними симбіотичних систем знижувалась, тоді як кількість гемаглютиніну 10^7 молекул на бактеріальну клітину не мала такої дії [42].

Отже, експериментально ми довели, що сумісна дія бульбочкових бактерій і лектинів гомологічних (специфічних) їм рослин позитивно впливає на нодуляційний процес, азотфіксувальну активність бульбочок, продуктивність рослин і залежить від концентрацій лектину в інокуляційній суспензії. Це означає, що лектин як сигнальна молекула опосередковано, через бактеріальну клітину регулює процес розвитку симбіотичної системи, активність азотфіксації і може бути використаний для підвищення ефективності бактеріальних добрив. Водночас доведено, що гетерологічний лектин із насіння сої стимулює процеси нодуляції та азотфіксації у симбіотичних системах люцерна — *S. meliloti*, зокрема в умовах недостатнього забезпечення рослин вологою [47], сприяє наростанню маси рослин і збільшенню врожаю насіння люцерни.

Лектини — продукти рослинного метаболізму, які характеризуються широким спектром біологічної активності і полівекторною дією. За екзогенної дії цих білків на насіння стимулюються процеси проростання насіння, росту й розвитку рослин, підвищується їх продуктивність [16, 33, 73]. Лектини не тільки позитивно впливають на метаболізм і функціональну активність азотфіксувальних мікроорганізмів, а й пригнічують ріст фітопатогенних грибів [11, 13, 14], що розкриває перспективність практичного використання цих біологічно активних молекул у рослинництві як регуляторів росту рослин і мікроорганізмів [73], біологічних агентів у розробці екологічних методів захисту рослин [62].

Концептуальним напрямом розвитку біотехнології у сільському господарстві є створення оригінальних комплексних композицій багатофакторної дії. Для створення лектин-бактеріальних композицій ми використовували два компоненти: фітолектин і культуру ґрунтових азотфіксувальних мікроорганізмів. Штам *Azotobacter chroococcum* T79 — компонент лектин-бактеріальної композиції азолек — отримано методом аналітичної селекції з чорноземного ґрунту Полтавської обл. у відділі симбіотичної азотфіксації Інституту фізіології рослин і генетики НАН України. Він характеризується істотною азотфіксувальною активністю в умовах чистої культури [59], а в умовах польового дослідження при бактерізації насіння ярої пшениці сорту Рання 93 цим штамом азотфіксувальна активність ризосферних мікроорганізмів підвищувалась в 1,2 раза, урожай зерна — на 3,0 ц/га або 9,2 % [17]. Культури бульбочкових бактерій

Bradyrhizobium japonicum 6346 і *R. leguminosarum* bv. *viciae* 2406, що є компонентами комплексних лектин-ризобіальних композицій бралек та ризолек — це високоактивні, високоефективні у симбіозі з рослинами сої, гороху мікроорганізми, які використовуються для бактеріальних добрив із метою бактеризації насіння бобових культур перед посівом. Доведено ефективність дії лектин-бактеріальних композицій бралек (*B. japonicum* 6346 + лектин сої), ризолек (*R. leguminosarum* bv. *viciae* 2406 + лектин гороху), азолек (*A. chroococcum* T79 + лектин пшениці) [9, 12] за їх застосування для передпосівної обробки насіння з метою підвищення продуктивності рослин сої, гороху, пшениці та поліпшення фітосанітарного стану ґрунту внаслідок розвитку агрономічно корисної групи азотфіксуювальних мікроорганізмів.

У разі застосування рідких біопрепаратів і препаратів, виготовлених на твердому носії, основу яких становили ризобії сої та гомологічний лектин, урожай сої підвищувався до 25 % [35, 53].

Окрім лектинів ціла низка сполук, продукованих обома партнерами симбіозу, діють як специфічні ефектори, зумовлюючи особливості формування та функціонування азотфіксуювального апарату. Так, екзополісахариди ризобіальних штамів впливають на активність нодуляції рослин гомологічними бульбочковими бактеріями, посилюють нітрогеназну активність корневих бульбочок і ризогенез, підвищують продуктивність рослин. На інфекційні властивості ризобій та активність нодуляції впливають також глюкани і ліпополісахариди [24].

Обробка проростків люцерни 0,06 %-м розчином ризобіального глюкану з подальшою інокуляцією бульбочковими бактеріями індукувала утворення потужного азотфіксуювального апарату з високою активністю, а також збільшення маси коренів, внаслідок чого інтенсифікувалось наростання надземної маси рослин як за оптимального, так і за недостатнього водозабезпечення [23, 72].

У результаті дослідження дії глюкану, отриманого із *S. meliloti* СХМІ-188, на симбіоз люцерни і *S. meliloti* 441 виявлено [18], що вона залежить від способу застосування. Обробка проростків люцерни глюканом із наступною бактеризацією ризобіями істотно не змінювала нодуляційні характеристики симбіозу (кількість бульбочок та їх азотфіксуювальну активність), але стимулювала наростання надземної і кореневої маси рослин люцерни. У разі його дії безпосередньо на клітини ризобій істотно знижувались нодуляційний потенціал ризобій і нітрогеназна активність бульбочок. Застосування глюкану збільшувало пероксидазну активність у коренях і листках люцерни. Виявлено, що цей полісахарид діє на рослину як екзогенний біоефектор, однак не «чужий» їй і, можливо, нею «розпізнається».

Результати проведених нами експериментів виявили також вплив неризобіальних полісахаридів на формування й функціонування симбіозу, вказали на можливість підвищення ефективності симбіозу неспецифічними глікополімерами [24]. Із використанням полісахариду бактозоль, який є продуктом глибинного культивування грамнегативної бактерії *Beijerinckia* ІБХ-84, встановлено [26], що він здатний підвищувати інтенсивність фізіологічних процесів у рослинах гороху і сої, зокрема азотфіксуювальну активність корневих бульбочок. За його застосування істотно підвищуються врожай зерна і вміст білка в ньому.

У результаті встановлення симбіотичних відносин між бобовою рослиною і бульбочковими бактеріями формується високоспеціалізована

структура — коренева бульбочка, розвиток і функціонування якої потребують складної регуляції, зокрема за участю фітогормонів. І хоча питання гормональної регуляції симбіотичної азотфіксації та впливу екзогенних фітогормонів на симбіоз є дуже важливими, вони залишаються малодослідженими. Ми вивчили здатність штамів і Tn5-мутантів *B. japonicum* у чистій культурі синтезувати фітогормони ауксинової природи. Виявлено чітку залежність між азотфіксувальною активністю штаму та його здатністю до синтезу індолілоцтової кислоти (ІОК). Культуральні рідини високоефективних ризобій містили у кілька разів більше ІОК порівняно з мало- чи неефективними бактеріями [20]. З'ясовано, що ауксини відіграють неспецифічну роль, яка полягає у стимулюванні росту і розвитку рослинного організму, ініціації бульбочкоутворення, збільшенні кореневої системи, внаслідок чого поліпшується обмін поживними речовинами в системі ґрунт — мікроорганізми — рослина. При цьому ауксини діють не ізольовано, а їх вплив обумовлений характером взаємодії та співвідношенням з іншими фітогормонами, зокрема цитокінінами. Отримані нами результати дають підставу стверджувати важливу роль цитокінінів у гормональному регулюванні процесів ініціації та розвитку азотфіксувального апарату симбіотичних систем сої з бульбочковими бактеріями, підкреслюють необхідність подальших комплексних досліджень цієї проблеми [4].

Для вивчення фізіологічних особливостей формування й функціонування симбіотичних систем *Medicago* — *S. meliloti* за дії екзогенних фітогормонів ми провели серію дослідів із застосуванням регуляторів росту рослин різної природи: синтетичних (полістимуліну К, полістимуліну А-6, які є іммобілізованими формами регуляторів росту відповідно з цитокініновим та ауксиновим характером дії і типовими системами з обмеженим виділенням активної речовини); природного походження (продукти термофільного метанового бродіння відходів спиртодріжджового виробництва (ПТМБ), до складу яких входять вітаміни групи В, ІОК, зеатинрибозид). Встановлено, що регулятори росту цитокінінової природи інтенсифікують процеси газообміну CO₂, стимулюють азотфіксувальну функцію рослин люцерни, сприяють формуванню генеративних органів, утворенню плодів, а також посилюють адаптивні властивості симбіотичних систем до посухи. Розроблено способи ефективного застосування регуляторів росту рослин триману 1 і ПТМБ на посівах багаторічних бобових трав [23, 45, 46].

Результати наших досліджень дали змогу науково обґрунтувати роль симбіотичної азотфіксації в підвищенні продуктивності багаторічних бобових трав за рахунок біологічного азоту. Показано, що в умовах дефіциту мінерального азоту в ґрунті інтенсивність симбіотичної азотфіксації люцерни визначає рівень фотосинтезу в рослин. Розширено уявлення про значення мінерального азоту в функціонуванні симбіотичних систем багаторічних бобових трав люцерни і козлятнику. Вперше встановлено особливості впливу різних форм мінеральних азотних добрив на формування симбіотичних систем, елементів продуктивності рослин люцерни, рівень їх урожайності [7, 23, 25]. Виявлено розбіжності реакцій симбіотичних систем *Medicago* — *S. meliloti*, створених із використанням штамів з різною стійкістю до вмісту мінерального азоту, на концентрацію цього елемента в поживному середовищі. Доведено, що фізіологічною особливістю систем, утворених за участю стійких до міне-

рального азоту штамів, є висока нітратредуктазна активність рослини-хазяїна [23].

Під час симбіотичної взаємодії ризобій із бобовими рослинами активується каскад фізіологічних реакцій, спрямованих на підтримання функціонального стану утворених систем. Метаболічні процеси, що відбуваються при цьому, включають активування низки ферментів, синтез нових білків, необхідних для нормального функціонування нітрогеназного комплексу, а також підтримання гомеостазу бульбочки у процесі її онтогенезу. Тому вивчення білкового складу симбіотичних систем, утворених за участю ризобій із різними характеристиками, дало б змогу ідентифікувати протеїни, задіяні у формуванні й функціонуванні бульбочок, зрозуміти роль цих біологічних макромолекул на різних етапах розвитку симбіозу. Результати наших досліджень підтвердили, що на початкових етапах функціонування симбіотичної системи сої з детермінованим типом розвитку бульбочок існує прямий зв'язок між рівнем активності синтезу білків і азотфіксацією цієї системи. Підвищення активності останньої супроводжується збільшенням вмісту протеїнів. Із розвитком симбіотичних систем збільшується вміст поліпептидів із мол. м. 15 кД, які є продуктами генів рослини-хазяїна і можуть бути або певними низькомолекулярними функціональними білками, або ферментами. Вміст цитоплазматичних поліпептидів із мол. м. 160 кД у бактероїдах бульбочок сої пов'язаний з ефективністю роботи нітрогеназного комплексу. Крім того, важливими для роботи нітрогеназного комплексу є мембранні поліпептиди з мол. м. 70 кД [32]. Очевидно, що використання електрофоретичних досліджень з урахуванням змін кількісного складу білків у зв'язку з активністю азотфіксації дасть змогу чіткіше ідентифікувати штами за їх симбіотичними характеристиками, а зазначені поліпептиди можуть слугувати маркерами азотфіксувального потенціалу ризобій. Подальші експерименти з використанням молекулярно-біологічних та біохімічних методів дослідження допоможуть зрозуміти їхню функцію в метаболізмі симбіотичних систем, розробити методи регулювання активності азотфіксувального апарату.

Під час вивчення фізіологічних особливостей симбіотичних взаємовідносин бобових із ризобіями важливо дослідити фізіологічний стан рослин, зумовлений бактеризацією. Особливе місце при цьому відводиться функціонуванню окисно-відновних ферментів. Вважають, що пероксидази, зв'язані з клітинною стінкою рослини-хазяїна, беруть участь не лише в процесах росту і формування клітинних стінок, а й виконують ширший спектр фізіологічних функцій. Виявлено, що в разі встановлення симбіотичних відносин у клітинах макросимбіонта істотно зростає активність окиснювальних процесів, які супроводжуються утворенням і розкладанням пероксидних сполук за участю пероксидази і каталази. Одним із підходів при вивченні «іmunної» відповіді макросимбіонта на інфікування бульбочковими бактеріями може бути дослідження цієї реакції в симбіотичних системах різної ефективності. Так, ми встановили, що рівень пероксидазної активності в бульбочках і коренях сої залежить від азотфіксувальної активності мікросимбіонта, а активність поліфенолоксидази в кореневих бульбочках пов'язана з вірулентністю ризобій [24].

Широке застосування інокуляції бульбочковими бактеріями бобових культур для підвищення їх урожаю та поліпшення його якості спонукає до систематичної роботи над удосконаленням симбіотичних влас-

тивостей цих бактерій, а отже, ефективності бобово-ризобіального симбіозу. Генетичною базою для селекції активних штамів бульбочкових бактерій слугують ризобії, виділені з природних біоценозів (аналітична селекція) [1, 49, 54] або отримані за дії різних мутагенів — фізичних і хімічних [6, 48].

Сьогодні у розпорядженні мікробіологів є доволі великі колекції штамів бульбочкових бактерій — симбіонтів різних бобових культур, виділених із різних ґрунтів, тому подальше отримання таким способом нових штамів із високою азотфіксувальною активністю проблемне. Для розширення генетичної бази цих мікросимбіонтів необхідно залучати нові штами з різних географічних зон, насамперед із центрів походження окремих бобових культур, а також поліпшувати симбіотичні властивості наявних штамів бульбочкових бактерій.

Методами аналітичної селекції ми отримали високоактивні конкурентоспроможні штами бульбочкових бактерій люпину *Rhizobium lupini* 387a, гороху *Rhizobium leguminosarum* 263b, козлятнику східного *Rhizobium* sp. (*Galega*) 159 [48, 56, 57, 60].

Методом міжродової кон'югації ми отримали високоефективні штами бульбочкових бактерій люцерни *S. meliloti* M4 [55], M12 [58] та конюшини *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* BN9 [61]. Особливістю створених штамів бульбочкових бактерій є те, що вони менш чутливі до несприятливих екологічних умов — низьких температур, нестачі вологи, надлишку азоту в ґрунті. Зокрема, штам M4 стійкий до підвищених концентрацій азоту в ґрунті, а за азотфіксувальною активністю перевищує штам-стандарт 425a в 1,6 раза. Застосування зазначених штамів *S. meliloti* суттєво активізує перебіг найважливіших фізіологічних процесів — азотфіксацію, фотосинтез, дихання, а також істотно підвищує (на 20—25 %) продуктивність люцерни, збільшує в урожаї вміст білка, вільних і зв'язаних амінокислот. Науково обґрунтована й експериментально доведена позитивна 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. [21, 22, 24].

Одним із найефективніших сучасних методів розширення спектра мінливості ризобій є метод транспозонового мутагенезу, що ґрунтується на здатності рухливих генетичних елементів — транспозонів (Tn) вбудовуватись у ген-мішень, інактивувати його і забезпечувати стійкість до антибіотиків через поодинокі генетичні зміни. Для транспозонового мутагенезу в бульбочкових бактерій застосовують SUP-вектори, сконструйовані Сімоном та співавт. [80]. Частота ауксотрофних мутацій за використання цього вектора становить 3 %, що у 2—3 рази перевищує частоту мутацій у разі застосування фізичного й хімічного мутагенезу, дає змогу отримати моногенні мутації в бактеріальних клітинах. В Інституті фізіології рослин і генетики НАН України методом неспецифічного транспозонового мутагенезу з використанням плазмиди pSUP2021::Tn5 створено високоефективні конкурентоспроможні штами бульбочкових бактерій гороху, люцерни і конюшини [5, 36]. Вперше доведено можливість використання цієї плазмиди для транспозонового мутагенезу в штамів *B. japonicum* 646, 614a, 71t із частотою транспозиції 10^{-6} — 10^{-7} [3, 28]. Встановлено, що використання плазмиди pSUP5011::Tn5 більш ефективно для інсерції Tn5-транспозона в геном повільнорослих бактерій *B. japonicum* штамів 646, M6346 і дає змогу отримати ширший спектр Tn5-мутантів.

Векторну плазмиду, що несе транспозон Tn5, застосовано також для транспозонового мутагенезу бульбочкових бактерій люпину штамів 10, 168, 359a, при цьому частота утворення канаміциностійких клонів становила 10^{-7} — 10^{-9} [2]. Виявлено, що не всі штами бульбочкових бактерій люпину можна використовувати для проведення транспозонового мутагенезу за допомогою вектора pSUP2021::Tn5 [2], а більшість отриманих 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 дослідах із використанням піщаного субстрату [41].

У відділі створено колекцію Tn5-мутантів повільнорослих бульбочкових бактерій сої і люпину, здійснено первинний скринінг за ознаками «азотфіксація», «ефективність симбіозу», встановлено гетерогенність цих бактерій за симбіотичними ознаками.

Ми створили і підтримуємо в життєдіяльному стані одну з найбільших в Україні колекцію різних за активністю штамів повільно- і швидкорослих симбіотичних азотфіксаторів — представників родів *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, куди входять штами, селекціоновані як ученими нашого Інституту, так і працівниками інших наукових установ України і країн СНД. Крім того, у колекційному фонді зберігається низка штамів асоціативних і вільноіснуючих азотфіксувальних мікроорганізмів. Авторство окремих із них належить нашим науковцям. Використання цієї колекції сприятиме вирішенню багатьох теоретичних проблем і науково-прикладних завдань у сфері біологічної фіксації атмосферного азоту.

Звісно, до цілковитого з'ясування всіх аспектів біологічної азотфіксації як однієї з найважливіших галузей сучасної біології ще далеко, тому вирішення багатьох досліджуваних питань у цьому напрямі можливе лише за умови розширення і поглиблення молекулярно-біологічних, генетичних, фізіологічних, біохімічних і селекційно-генетичних досліджень.

1. Антипчук А.Ф. Экологические аспекты селекции ризобий и повышения эффективности симбиоза // Физиология и биохимия культ. растений. — 1994. — 26, № 4. — С. 315—333.
2. Василюк В.М., Мельникова Н.М., Михалків Л.М. та ін. Формування симбіотичних взаємовідносин рослин люпину з транспозоновими мутантами *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) // Физиология и биохимия культ. растений. — 2007. — 39, № 3. — С. 233—241.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. Генетические основы селекции клубеньковых бактерий / Б.В. Симаров, А.А. Аронштам, Н.И. Новикова и др.; Под ред. Б.В. Симарова. — Л.: Агропромиздат, 1990. — 192 с.
7. Заболотна В.П., Бутницький І.М., Коць С.Я. Значення козлятнику східного у симбіотичній фіксації азоту та підвищенні збору білка // Физиология и биохимия культ. растений. — 2004. — 36, № 4. — С. 291—300.
8. Кацы Е.И. Генетико-биохимические и экологические аспекты подвижности и хемотаксиса у фитопатогенных, симбиотических и ассоциативных с растениями бактерий // Успехи соврем. биологии. — 1996. — 116, № 5. — С. 579—593.

9. Кириченко Е.В., Жемойда А.В., Коць С.Я. Влияние растительно-бактериальных композиций на продуктивность яровой пшеницы // *Агрехимия*. — 2005. — № 10. — С. 41–47.
10. Кириченко Е.В. Изучение хемотаксиса клубеньковых бактерий люпина к органическим веществам // *Мікробіол. журн.* — 2005. — 67, № 3. — С. 19–26.
11. Кириченко Е.В., Маличенко С.М. Значение лектинов и экзополисахаридов в установлении контакта между бобовыми растениями и клубеньковыми бактериями при формировании симбиоза // *Физиология и биохимия культ. растений*. — 2000. — 32, № 5. — С. 410–415.
12. Кириченко О.В. Роль лектинів бобових рослин в активізації симбіотичних властивостей специфічних ризобій при утворенні та функціонуванні симбіозу // *С.-г. мікробіологія*. — 2009. — Вип. 9. — С. 43–58.
13. Кириченко О.В., Сергієнко В.Г. Фунгітоксична активність рослинних лектинів // *Физиология и биохимия культ. растений*. — 2006. — 38, № 6. — С. 526–534.
14. Кириченко Е.В., Титова Л.В. Влияние растительных лектинов на рост культур почвенных микроорганизмов // *Агроекол. журн.* — 2005. — № 4. — С. 52–56.
15. Кириченко Е.В., Титова Л.В., Жемойда А.В., Омельчук С.В. Влияние лектинов бобовых растений разной специфичности на развитие проростков сельскохозяйственных культур // *Физиология и биохимия культ. растений*. — 2004. — 36, № 5. — С. 390–397.
16. Кириченко Е.В., Титова Л.В., Коць С.Я. и др. Влияние лектина из семян сои на продуктивность сои // *Агрехимия*. — 2004. — № 11. — С. 58–61.
17. Кириченко Е.В., Титова Л.В., Коць С.Я. Эффективность бактериализации семян пшеницы яровой штаммом *Azotobacter chroococcum* T79 // *Аграрная наука*. — 2010. — № 1. — С. 21–24.
18. Косенко Л.В., Михалкив Л.М., Кругова Е.Д. и др. Биологическая активность глюкана *Sinorhizobium meliloti* // *Микробиология*. — 2003. — 22, № 5. — С. 633–638.
19. Коць С.Я., Береговенко С.К., Кириченко Е.В., Мельникова Н.Н. Особенности взаимодействия растений и азотфиксирующих микроорганизмов. — Киев: Наук. думка, 2007. — 315 с.
20. Коць С.Я., Волкогон М.В., Грищук 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.
21. 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.
22. Коць С.Я., Маличенко С.М., Кругова О.Д. та ін. Фізіолого-біохімічні особливості живлення рослин біологічним азотом. — К.: Логос, 2001. — 271 с.
23. Коць С.Я., Михалкив Л.М. Фізіологія симбіозу та азотне живлення люцерни. — К.: Логос, 2005. — 300 с.
24. Коць С.Я., Моргун В.В., Патька В.Ф. и др. Биологическая фиксация азота: бобово-ризобиальный симбиоз: [Монография в 4-х т.]. Т. 1. — К.: Логос, 2010. — 508 с.
25. Коць С.Я. Формування симбіотичного апарату та азотфіксувальна активність у люцерни при застосуванні різних форм мінерального азоту // *Физиология и биохимия культ. растений*. — 1998. — 30, № 4. — С. 306–310.
26. Кругова О.Д., Мандровська Н.М., Охріменко С.М. Вплив бактеріального екзополісахариду на ефективність симбіотичної азотфіксації рослин гороху і сої // *Там само*. — 2002. — 34, № 3. — С. 239–244.
27. Луцик М.Д., Панасюк Е.Н., Луцик А.Д. Лектины. — Львов: Вища шк., 1981. — 154 с.
28. Маличенко С.М., Даценко В.К., Василюк В.М., Коць С.Я. Транспозоновий мутагенез штамів *Bradyrhizobium japonicum* // *Физиология и биохимия культ. растений*. — 2007. — 39, № 5. — С. 409–418.
29. Маличенко С.М., Даценко В.К., Маменко П.М. Адсорбція бульбочкових бактерій корінням специфічних та неспецифічних їм бобових рослин // *Онтогенез рослин, біологічна фіксація молекулярного азоту та азотний метаболізм: Матеріали Міжнар. наук. конф. (Тернопіль, 1–4 жов. 2001)*. — Тернопіль, 2001. — С. 95–98.
30. Маличенко 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.
31. Маличенко 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.
32. Маменко П.М., Коць С.Я., Дрозденко Г.М., Жемойда А.В. Білковий склад бульбочок сої, інокульованої штамми та Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* різної ефективності // *Там само*. — 2008. — 40, № 6. — С. 525–531.

33. *Маменко П.М., Коць С.Я.* Фізіологічна реакція рослин ненодулюючої сої на обробку насіння лектином // Там само. — 2006. — **38**, № 4. — С. 324—330.
34. *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.
35. *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.
36. *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.
37. *Мельникова Н.М.* Біохімічні особливості лектинів безбульбочкової сої // Укр. біохім. журн. — 1997. — **69**, № 5—6. — С. 158—162.
38. *Мельникова Н.Н., Ковальчук Н.В., Коць С.Я., Мусатенко Л.И.* Влияние лектинов семян сои на формирование и функционирование бобово-ризобиального симбиоза // Физиология и биохимия культ. растений. — 2009. — **41**, № 5. — С. 439—446.
39. *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.
40. *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.
41. *Мельникова Н.М., Мельник В.М., Михалків Л.М. та ін.* Формування симбіозу у люпину, інокульованого Tn5-мутантами *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) у польових умовах // Вісн. Харків. аграр. ун-ту. Сер. Біологія. — 2009. — Вип. 1. — С. 52—57.
42. *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 // Физиология растений: проблемы та перспективы развития. — К.: Логос, 2009. — Т. 1. — С. 492—496.
43. *Мельникова Н.Н., Омельчук С.В.* Влияние семенных экссудатов бобовых растений на формирование бобово-ризобиального симбиоза // Прикл. биохимия и микробиология. — 2009. — **45**, № 3. — С. 331—337.
44. *Мельникова Н.М.* Особливості амінокислотного складу лектину безбульбочкової сої // Укр. біохім. журн. — 1997. — **69**, № 5—6. — С. 200—202.
45. *Михалків Л.М., Коць С.Я., Кірізій Д.А., Григорюк І.П.* Активізація CO₂-газообміну у люцерни синтетичними цитокинінами в умовах водного дефіциту // Доп. НАН України. — 2001. — № 12. — С. 141—146.
46. *Михалків Л.М., Коць С.Я., Кірізій Д.А., Григорюк І.П.* Регуляція процесів азотфіксації і фотосинтезу у люцерни препаратами цитокинінової і ауксинової природи за різного водозабезпечення // Физиология и биохимия культ. растений. — 2002. — **34**, № 4. — С. 141—146.
47. *Михалків Л.М., Маменко П.М., Коць С.Я.* Симбіоз люцерна — *S. meliloti* за обробки лектином в умовах посухи // Матеріали VI наук. конф. молодих вчених (Чернігів, 29—30 вересня 2009). — Чернігів: Вид-во Чернігів. ЦНТЕІ, 2009. — С. 59—61.
48. *Патика В.П., Коць С.Я., Вологон В.В. та ін.* Біологічний азот / За ред. В.П. Патики. — К.: Світ, 2003. — 424 с.
49. *Патика В.П., Крутило Д.В., Ковалевська Т.М.* Вплив аборигенних популяцій бульбочкових бактерій сої на симбіотичну активність інтродукованого штаму *Bradyrhizobium japonicum* // Мікробіол. журн. — 2004. — **66**, № 3. — С. 14—21.
50. *Подгорский В.С., Коваленко Э.А., Симоненко И.А.* Лектины бактерий. — Киев: Наук. думка, 1992. — 203 с.
51. *Сытников Д.М., Коць С.Я., Маличенко С.М., Киризий Д.А.* Интенсивность фотосинтеза и лектиновая активность листьев сои при инокуляции ризобиями совместно с гомологичным лектином // Физиология растений. — 2006. — **53**, № 2. — С. 189—195.
52. *Сытников Д.М., Коць С.Я., Маличенко С.М.* Лектиновая активность различных органов сои в условиях эффективного и неэффективного симбиоза // Физиология и биохимия культ. растений. — 2006. — **38**, № 11. — С. 53—60.
53. *Сытников Д.М., Коць С.Я., Маличенко С.М.* Эффективность симбиотической системы соя — *Bradyrhizobium japonicum* при действии гомологичного лектина в условиях различного обеспечения минеральным азотом // Там же. — 2005. — **37**, № 5. — С. 394—401.
54. *Толкачев Н.З.* Потенциальные возможности симбиотической азотфиксации при выращивании сои на Юге Украины // Мікробіол. журн. — 1997. — **59**, № 4. — С. 34—40.
55. *Пат. 13298 Україна СО5F 11/08, С12№1/20.* Штам бактерій *Rhizobium meliloti* для одержання бактеріального добрива під люцерну / Старченков Ю.П., Нічик М.М., Петерсон Н.В. та ін. — Опубл. 28.02.97, Бюл. № 1.

56. Пат. 21012 А Україна CO5F 11/08, C12R1:41.. Штам бактерій *Rhizobium leguminosarum* для одержання бактеріального добрива під горох / Старченков Ю.П., Мандровська Н.М., Нічик М.М. та ін. — Опубл. 27.02.98, Бюл. № 1.
57. Пат. 21013 А Україна CO5F 11/08, C12R1:41.. Штам бактерій *Rhizobium lupini* для одержання бактеріального добрива під люпин / Старченков Ю.П., Нічик М.М., Мандровська Н.М. та ін. — Опубл. 27.02.98, Бюл. № 1.
58. Пат. 50851 Україна CO5F 11/08, C12N1/20. Штам бактерій *Rhizobium meliloti* для одержання бактеріального добрива під люцерну // Коць С.Я., Воробей Н.А., Старченков Ю.П. — Опубл. 15.11.02. Бюл. № 11.
59. Пат. 62820 А Україна CO5F 11/08, C12N1/20. Штам бактерій *Azotobacter chroococcum* T79 для одержання бактеріального добрива під сою // Коць С.Я., Титова Л.В., Кириченко О.В. та ін. — Опубл. 15.12.2003, Бюл. № 12.
60. Пат. 51890 Україна CO5F 11/08, C12N1/29 // (C12N1/20, C12R1:41). Штам бактерій *Rhizobium* sp. (*Galega*) для одержання бактеріального добрива під козлятник / Маліченко С.М., Коць С.Я., Титова Л.В. та ін. — Опубл. 15.11.04, Бюл. № 11.
61. Пат. 21785 Україна C12N1/20. Штам бактерій *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* / Воробей Н.А., Коць С.Я. — Опубл. 10.04.07, Бюл. № 4.
62. Пат. На корисну модель 41723 Україна МПК (2009) A01N63/00 A01C 1/06. Спосіб використання рослинних лектинів для захисту овочевих культур від хвороб // Сергієнко В.Г., Кириченко О.В., Перковська Г.Ю. — Опубл. 10.06.2009, Бюл. № 11.
63. *Bauchrovitz M.A., Barker D.G., Fruchet G.* Lectin genes are expressed throughout root nodule development and during nitrogen fixation in the *Rhizobium-Medicado* symbiosis // *Plant J.* — 1996. — 9. — P. 31—43.
64. *Brelles-Marino G., Costa G.A., Boiardi J.L.* Enhancement of infection thread formation by *Rhizobium etli* incubated with bean seed lectin // *Microbiol. Res.* — 1996. — 151. — P. 243—246.
65. *Brewin N.J., Kardailsky I.V.* Legume lectins and nodulation by *Rhizobium* // *Trends Plant Sci.* — 1997. — 2, N 3. — P. 92—98.
66. *Diaz C.L., Melches L.S., Hooykaas P.J.J. et al.* Root lectin as a determinant of host-plant specificity in the *Rhizobium*-legume symbiosis // *Nature.* — 1989. — 338. — P. 579—581.
67. *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.
68. *Hirsch A.M.* Role of lectins (and rhizobial exopolysaccharides) in legume nodulation // *Curr. Opin. Plant Biol.* — 1999. — 2. — P. 320—326.
69. *Keshavan N.D., Chowdhary P.R., Haines D.C., Gonzalez J.E.* L-canavaline made by *Medicago sativa* interferes with quorum sensing in *Sinorhizobium meliloti* // *J. Bacteriol.* — 2005. — 187, N 12. — P. 8427—8436.
70. *Kijne J.W., Bauchrovitz M.A., Diaz C.L.* Root lectins and rhizobia // *Plant Physiol.* — 1997. — 115, N 3. — P. 869—873.
71. *Komath S.S., Kavitha M., Swamy M.J.* Beyond carbohydrate binding: new directions in plant lectin research // *Org. Biomol. Chem.* — 2006. — 4. — P. 973—988.
72. *Kots S.Y., Mykhalkiv L.M., Melnykova N.M.* Improving productivity under water stress by treatment with periplasmic glucan // *Grassland Sci. Eur.* — 2003. — 8. — P. 649—652.
73. *Kyrychenko O.V.* Practice of soybean and wheat lectins use for the plant growing // *Problems of Biogeochem. and Geochem. Ecol.* — 2008. — 1, N 5. — P. 99—105.
74. *Laus M.C., Logman T.J., Lamers G.E. et al.* A novel polar surface polysaccharide from *Rhizobium leguminosarum* binds host plant lectin // *Mol. Microbiol.* — 2006. — 59. — P. 1704—1713.
75. *Lodeiro A.R., Lopez-Garsia S.L., Vazquez T.E.E., Fabelukes G.* Stimulation of adhesiveness, infectivity and competitiveness for nodulation of *Bradyrhizobium japonicum* by its pretreatment with soybean seeds lectin // *FEMS Microbiol. Lett.* — 2000. — 188. — P. 177—184.
76. *Melnykova N.M., Malichenko S.M., Kots S.Ya.* Protein composition and carbohydrate-binding activity of non-nodulating soybean root extract // *Proc. 12th Intern. Congr. on Genes, Gene families, and Isozymes (Berlin, 2003)* / Eds. C. Schnarrenberger, B. Wittmann-Liebold. — Medimond, 2003. — P. 261—264.
77. *Melnykova N., Mykhalkiv L., Omelchuk S., Kots S.* Effect of soybean seed exudates on soybean — *Bradyrhizobium* symbiosis formation // *Proc. of 36th Ann. Meet. Of the ESNA, 10—14 September, Iasi, Romania.* — Iasi: Ion Ionescu de la Brad, 2006. — P. 321—324.
78. *Melnykova N., Omelchuk S.V., Mamenko P., Mykhalkiv L.* Effect of non-nodulating soybean seed lectin on nodulation of soybean plants by *Bradyrhizobium japonicum* // *Abstracts of XVII Intern. Bot. Congr., July 17—23, 2005, Vienna, Austria.* — Vienna, 2005. — P. 256.
79. *Melnykova N.M., Omelchuk S.V., Mykhalkiv L. M.* Seed haemagglutinin from soybean plants with changed symbiotic properties is able to modulate soybean — *Bradyrhizobium japonicum*

- symbiosis formation // Abstr. Book of First (Inaugural) Ukr. Congr. for Cell Biol., Lviv, Apr. 25—28, 2004. — Львів, 2004. — С. 202.
80. *Simon R., Prifer V., Puhler A.* A broad host range mobilization system for in vivo genetic engineering: transposon mutagenesis in gramnegative bacteria // *Biotechnology*. — 1983. — **1**, N 11. — P. 784—791.
81. *Vande B.A., Vanderleyden J.* The role of bacterial motility, chemotaxis and attachment in bacterial—plant interactions // *Mol. Plant Microbe Interact.* — 1995. — **8**. — P. 800—810.
82. *Walker T.S., Bais H.P., Grotewold E., Vivanco J.M.* Root exudation and rhizosphere biology // *Plant Physiol.* — 2003. — **132**. — P. 44—51.

Отримано 17.01.2011

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФИКСАЦИИ АЗОТА

С.Я. Коць

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

Приведены важнейшие результаты исследований биологической фиксации атмосферного азота, выполненных в Институте физиологии растений и генетики НАН Украины в течение последних 15 лет. Рассмотрены вопросы влияния экссудатов прорастающих семян и корней бобовых растений на физиологическую активность клубеньковых бактерий, роли лектинов в процессе образования симбиоза и на более поздних этапах его развития, гормональной регуляции симбиотической азотфиксации, влияния экзогенных регуляторов роста растений на симбиоз, белкового состава клубеньков сои, образованных ризобиями различной эффективности. Значительное внимание уделено селекции активных штаммов азотфиксирующих микроорганизмов.

CURRENT STATE OF BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION STUDIES

S.Ya. Kots

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

The paper presents the main results of studies in biological fixation of atmospheric nitrogen, which were performed in the Institute of Plant Physiology and Genetics NAS of Ukraine during last 15 years. The special attention is given to the influence of exudates of emerging seeds and roots of legume plants on physiological activity of nodule bacteria, role of lectins in symbiosis formation and functioning, hormonal regulation of symbiotic nitrogen fixation and influence of exogenous plant growth regulators on symbiosis, protein composition of soybean nodules created by the rhizobia of various efficiency and selection of active strains of nitrogen fixing bacteria.

Key words: biological nitrogen fixation, symbiosis, lectins, polysaccharides, phytohormones, proteins, microorganisms, strains.