

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования «Российский государственный аграрный университет –
МСХА имени К.А.Тимирязева»

На правах рукописи



Волобуева Ольга Гавриловна

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА
ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ БИОПРЕПАРАТОВ И РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА**

Специальность: 03.01.05 – Физиология и биохимия растений

Диссертация на соискание ученой степени
доктора сельскохозяйственных наук

Научный консультант:
Белопухов Сергей Леонидович,
доктор сельскохозяйственных наук,
профессор, заслуженный изобретатель РФ

Москва - 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	15
ГЛАВА 1 БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНЫЙ СИМБИОЗ	15
1.1 Взаимодействие клубеньковых бактерий (ризобий) и бобового растения	15
1.2 Клубеньковые бактерии – основные агенты симбиотических взаимоотношений	18
1.3 Ультраструктура бактериодсодержащего компартмента инфицированной клетки клубенька	21
1.4 Типы и форма клубеньков	29
1.5. Роль бобово-ризобиального симбиоза в повышении продуктивности агроэкосистемы	35
ГЛАВА 2 РОЛЬ ФИТОГОРМОНОВ В ФОРМИРОВАНИИ БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА	39
2.1 Влияние ауксинов	41
2.2 Влияние цитокининов	50
2.3 Влияние гиббереллинов	56
2.4 Влияние ингибиторов роста	58
ГЛАВА 3 ЭКЗОГЕННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА	67
3.1 Влияние синтетических регуляторов роста	71
3.2 Биопрепараты – новые элементы биорегуляции	86
3.2.1 Общая характеристика биопрепаратов	86
3.2.2 Полифункциональные комплексные биопрепараты	88
3.2.3 Биопрепараты на основе клубеньковых бактерий	91
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	95
ГЛАВА 4 ОБЪЕКТЫ, УСЛОВИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	95
4.1 Объекты исследований	95

4.2 Условия проведения опытов	97
4.2.1 Условия выращивания и методика постановки вегетационных и полевых опытов	97
4.2.2 Климатические и почвенные условия	101
4.3 Методы исследований	104
4.3.1 Культивирование чистых культур клубеньковых бактерий	104
4.3.2 Определение содержания фитогормонов	105
4.3.3 Учет количества и массы клубеньков	107
4.3.4 Определение нитрогеназной активности в клубеньках	108
4.3.5 Электронно-микроскопические исследования структуры клубеньков	109
4.3.6 Определение белка (сырого протеина)	112
4.3.7 Определение крахмала поляриметрическим методом	112
4.3.8 Определение амилозы в крахмале	113
4.3.9 Определение жира в семенах	113
4.3.10 Определение ростовых показателей	115
4.3.11 Методы статистической обработки экспериментального материала	116
РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	117
ГЛАВА 5 ВЛИЯНИЕ БИОПРЕПАРАТА И РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА ГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС ГОРОХА (<i>Pisum sativum</i> L.), ФАСОЛИ (<i>Phaseolus vulgaris</i>) И СОИ (<i>Glycine max</i>)	117
5.1 Влияние Альбита на содержание и соотношение фитогормонов растений гороха на фоне инокуляции Ризоторфином	117
5.2 Действие Ризоторфина, Альбита, Корневина и Эпина-Экстра на содержание и соотношение фитогормонов фасоли разных сортов	125
5.3 Влияние Ризоторфина и Эпин-Экстра на эндогенный уровень гормонов растений сои разных сортов	137
ГЛАВА 6 ДЕЙСТВИЕ БИОПРЕПАРАТА РИЗОТОРФИНА И РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА (АЛЬБИТА, ЭПИН-ЭКСТРА, КОРНЕВИНА) НА АКТИВНОСТЬ СИМБИОТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ РАСТЕНИЙ ФАСОЛИ	150

РАЗНЫХ СОРТОВ	
6.1 Особенности ультраструктуры клубеньков (площадь и количество симбиосом, бактериоидов и включений)	150
6.2 Эффективность симбиотической системы (масса и количество клубеньков, активность нитрогеназы в клубеньках)	163
6.3 Влияние биопрепарата и регуляторов роста на ростовые показатели растений, урожай и его качество	169
ГЛАВА 7 ВЛИЯНИЕ БИОПРЕПАРАТА РИЗОТОРФИНА И РЕГУЛЯТОРА РОСТА ЭПИН-ЭКСТРА НА БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНЫЙ СИМБИОЗ РАСТЕНИЙ СОИ РАЗНЫХ СОРТОВ	176
7.1 Микроскопическое строение клубеньков (площадь и количество симбиосом, бактериоидов, включений)	176
7.2 Особенности симбиотической системы сои в процессе онтогенеза	184
7.3 Влияние биопрепарата Ризоторфин и регулятора роста Эпин-Экстра на ростовые показатели растений в процессе онтогенеза и содержание белка	187
ГЛАВА 8 ДЕЙСТВИЕ БИОПРЕПАРАТА РИЗОТОРФИНА И РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА АЛЬБИТА, КОРНЕВИНА, ЭПИН-ЭКСТРА НА БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНЫЙ СИМБИОЗ РАСТЕНИЙ ГОРОХА	197
8.1 Влияние биопрепарата и регуляторов роста на формирование симбиотической системы	197
8.2 Влияние биопрепарата и регуляторов роста на ростовые показатели растений, урожай и его качество	204
ГЛАВА 9 ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВОЗДЕЛЫВАНИЯ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ БИОПРЕПАРАТА И РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА	217
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	223
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ	229
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК	230

ПРИЛОЖЕНИЯ	329
Приложение А	329
Приложение Б	331
Приложение В	333
Приложение Г	337
Приложение Д	342
Приложение Е	342
Приложение Ж	343
Приложение З	343
Приложение И	344
Приложение К	345
Приложение Л	346
Приложение М	347
Приложение Н	347
Приложение О	348

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень её разработанности.

Симбиотическая азотфиксация, бесспорно, остается одной из наиболее актуальных и фундаментальных проблем современной науки, имеющая большое практическое значение, поскольку перспективы её решения тесным образом связаны с такими важными вопросами, как полноценное питание людей, экологический и энергетический кризис. В бобово-ризобиальном симбиозе экологическая система «симбионт-*Rhizobium* – хозяин-бобовое растение» эволюционирует в направлении совершенствования между вирулентными и эффективными клубеньковыми бактериями и соответствующим растительным партнером (Проворов, Тихонович, 2013-2015). Основу этого взаимодействия составляют, во-первых, преемственная цепь последовательно или одновременно замещающих друг друга структурных образований, выделяющих фитогормоны после первичного гормонального импульса ауксинами. Во-вторых, в симбиозе функционирует сложный нитрогеназо-ферментный комплекс, катализирующий процесс восстановления молекулярного азота до аммония. Оба партнера постоянно обмениваются своими метаболитами: растения продуктами фотосинтеза и фитогормонами, бактерии – фиксированным азотом и биологически активными веществами. Уникальные функции клубеньковых бактерий по фиксации атмосферного азота приобретают особое значение, в связи с усилением антропогенного воздействия на агросистемы и возможностью использования биологических механизмов питания растения.

Формирование бобово-ризобиального симбиоза обусловлено специфическими механизмами сигнальных взаимодействий и взаимной метаболической активности геномов ризобий и бобового растения (Симаров, 1990; Тихонович 2000; Борисов, 1999; Овцына, Тихонович, 2004; Проворов и др. 2012; Серова, Цыганов, 2014; Измайлов, 2015). Однако, самообеспечение по отношению к факторам роста у ризобий не вполне совершенно и, по-видимому, в значительной степени зависит от растительного партнера. Не совсем ясны механизмы

изменения гормонального статуса растений при развитии клубеньков. Возможно, эффективному образованию и активному функционированию азотфиксирующих симбиотических систем будет способствовать применение соответствующих биопрепаратов и регуляторов роста. Перспективность применения биостимуляторов подтверждена в работах многих авторов (Шевелуха, 1984; Кефели, 1994; Хрипач и др. 1995; Якушкина, 2005; Прусакова и др. 2005; 2008; Ломин, Романов, 2008; Suzuki et al, 2013; Ferguson et al, 2014). В литературе отражено в основном влияние экзогенных фитогормонов. Однако, во взаимодействии ризобий и растений, фитогормоны регулируют активность геномов, поэтому важным было изучить изменение эндогенного уровня гормонов в связи с процессами азотфиксации.

В связи с этим изучение роли фитогормонов в процессе формирования эффективного симбиоза при использовании биопрепаратов и регуляторов роста имеет теоретическое и практическое значение.

Цель исследований состояла в изучении влияния биопрепарата Ризоторфин и регуляторов роста Альбита, Корневина, Эпин-Экстра на гормональный статус растений фасоли, сои и гороха, на эффективность бобово-ризобиального симбиоза и урожайность культур.

Задачи исследований.

1. Изучить содержание и соотношение разных групп фитогормонов (ИУК, ЦК, ГК, АБК) в листьях, стеблях и корнях с клубеньками в период наивысшей азотфиксирующей активности трех видов бобовых растений при обработке биопрепаратом и регуляторами роста.

2. Исследовать особенности ультраструктуры клубеньков растений фасоли и сои разных сортов при обработке семян этих растений биопрепаратом и регуляторами роста.

3. Выявить влияние Ризоторфина и регуляторов роста – Альбита, Корневина и Эпин-Экстра на азотфиксирующую активность детерминированных клубеньков фасоли, сои и недетерминированных клубеньков гороха (масса корней с клубеньками, количество клубеньков, масса клубеньковой ткани,

нитрогеназная активность в клубеньках).

4. Выявить влияние биопрепарата и регуляторов роста на ростовые показатели растений гороха, фасоли и сои.

5. Определить влияние Ризоторфина, Альбита, Корневина, Эпин-Экстра на урожайность бобовых растений.

6. Изучить влияние биопрепарата и регуляторов роста на биохимические показатели макросимбионта (содержание белка, амилозы в семенах, амилозы в крахмале и крахмала в семенах бобовых растений).

7. Выявить сортоспецифичность бобовых растений по действию биопрепарата и регуляторов роста.

8. Установить характер взаимосвязи между содержанием и соотношением фитогормонов и показателями ультраструктуры клубеньков, азотфиксирующей активности и продуктивностью бобовых растений.

9. Оценить экономическую эффективность применения биопрепарата и регуляторов роста при возделывании бобовых растений.

Научная новизна. Впервые проведено комплексное исследование действия Ризоторфина, Альбита, Корневина, Эпин-Экстра на гормональный статус растений фасоли, сои, гороха разных сортов и на эффективность бобово-ризобиального симбиоза, в результате которого установлено: повышение активности нитрогеназы у растений фасоли сорта Гелиада при обработке Эпином-Экстра на фоне повышения площади бактериоидов, площади и количества волютина и снижения площади и количества ПОМ, на фоне увеличения содержания ауксинов во всех вегетативных органах. У сорта Шоколадница проявилось протекторное действие Ризоторфина, под влиянием которого наблюдается повышение показателей активности нитрогеназы в клубеньках и увеличение площади и количества бактериоидов, включений волютина, при минимальном количестве ПОМ, а также на фоне увеличения цитокининов во всех вегетативных органах. У растений сои сорта Магева наивысшие показатели азотфиксирующей активности в клубеньках отмечены под влиянием Ризоторфина на фоне увеличения площади и количества симбиосом,

бактероидов, включений волютина и снижения площади и количества ПОМ, на фоне увеличения ауксинов в корнях с клубеньками. У сорта Свапа показано повышение азотфиксирующей активности в клубеньках на фоне увеличения площади и количества симбиосом, бактериоидов, включений волютина и снижения площади и количества ПОМ, а также на фоне увеличения содержания ауксинов в корнях с клубеньками, цитокининов – в листьях и стеблях, гиббереллинов во всех вегетативных органах. У растений гороха сорта Мультик отмечено повышение азотфиксирующей активности под влиянием Альбита на фоне увеличения содержания ауксинов во всех вегетативных органах, цитокининов – в стеблях и гиббереллинов – в листьях; у сорта Норд – при обработке Ризоторфином на фоне повышенного содержания цитокининов в корнях с клубеньками.

Впервые выявлен положительный эффект Ризоторфина на ультраструктуру клубеньков бобовых растений, районированных в Орловской области. Одновременно показано, что содержание в клетках ризобий включений волютина и поли- β -оксимасляной кислоты может быть дополнительной характеристикой активности симбиотической системы.

Впервые в условиях полевых опытов исследовано влияние экзогенной обработки Корневином, Эпином-Экстра, Альбитом, Ризоторфином на содержание и соотношение фитогормонов, эффективность симбиоза и продуктивность растений фасоли сортов Гелиада и Шоколадница. Установлены сортовые реакции этих растений на применение данных препаратов.

Впервые исследовано изменение содержания и соотношения фитогормонов в листьях, стеблях и корнях с клубеньками растений гороха, фасоли, сои разных сортов и эффективность симбиоза. Установлено влияние регуляторов роста и биопрепарата на взаимосвязь симбиотической азотфиксации с фитогормонами и ультраструктурой клубеньков. Выявлена сортовая реакция растений гороха, фасоли и сои на применение Ризоторфина, Альбита, Корневина и Эпин-Экстра.

Теоретическая и практическая значимость работы. Развивается представление об участии фитогормонов в формировании бобово-ризобиального симбиоза. Применение биопрепаратов и регуляторов роста оказывает воздействие на ультраструктуру клубеньков бобовых растений в связи с изменением соотношения разных групп фитогормонов. Параметры строения симбиосом: наличие включений волютина, гранул ПОМ, ПБП для некоторых видов *Rhizobium* могут рассматриваться как новый дополнительный показатель активности симбиотической системы и использоваться селекционерами при создании сортов бобовых растений интенсивной симбиотической азотфиксацией.

Для повышения эффективности бобово-ризобиального симбиоза рекомендуется предпосевная обработка семян биопрепаратом на основе клубеньковых бактерий и регуляторами роста.

Установленные закономерности в действии биостимуляторов на гормональный статус, азотфиксирующую активность, рост, урожай и его качество растений гороха, фасоли и сои разных сортов создают основу для их использования в практике растениеводства.

Полученные в работе данные могут быть использованы в преподавании «Микробиологии» и других дисциплин, где рассматриваются вопросы фиксации азота, применения биопрепаратов и регуляторов роста для повышения азотфиксации и роста урожайности бобовых культур.

Методология и методы диссертационного исследования. Теория и методология исследований основаны на анализе научных трудов. В работе применялись экспериментальный (лабораторные, вегетационные и полевые опыты), аналитический, статистический методы исследований, они приведены в главе «Объекты и методы исследований». Все использованные в работе методы соответствуют требованиям, предъявляемым к практическим исследованиям в области физиологии растений.

Научные положения, выносимые на защиту:

1. Биопрепарат Ризоторфин и регуляторы роста (Альбит, Корневин, Эпин-Экстра) оказывают положительное влияние на гормональный статус бобовых растений – гороха, фасоли, сои разных сортов.

2. Изменение содержания и соотношения фитогормонов в бобовых растениях под влиянием Ризоторфина и регуляторов роста оказывает влияние на ультраструктуру клубеньков бобовых растений.

3. Биопрепарат Ризоторфин и регуляторы роста (Альбит, Эпин-Экстра, Корневин) оказывают положительное влияние на эффективность симбиотической системы.

4. Изученный биопрепарат и регуляторы роста в разной степени оказывают влияние на ростовые показатели, урожай и его качество бобовых растений разных сортов.

5. Выявлена экономическая эффективность применения Ризоторфина и регуляторов роста при возделывании бобовых растений – применение биопрепарата Ризоторфин и регуляторов роста Альбита, Корневина и Эпин-Экстра увеличивало затраты на производство в среднем на 1-7%, а рентабельность повышалась на 15-18%.

Степень достоверности и апробация результатов работы. Достоверность результатов исследований подтверждается объемом проведенных вегетационных и полевых опытов, статистическая обработка данных проведена с помощью программ Excel, MatLab и Statistica. Основные результаты исследований были доложены на 31 российских и Международных конференциях, в том числе: на конференции институтов Орловской области: «Биологические основы интенсивного растениеводства», Орёл, 1993, на Российской конференции «Фундаментальная и методическая подготовка будущего специалиста по экологии и охране природы», Орёл, 1994; на Российской межвузовской конференции «Биология и экология в системе современного педагогического образования», Санкт-Петербург – Ставрополь,

1994, на Международных конференциях «Регуляторы роста и развитие растений», Москва, 1995, 1997, 1999; на Международной конференции «Биологический азот в растениеводстве», Москва, 1997; на 7 координационном совещании «Проблемы и достижения современной физиологии растений и их использование в вузовском и школьном преподавании», Пермь, 1997; на российской конференции «Физиология растений – основа рационального земледелия», Москва, 1999; на Международной конференции «Физиология растений – наука третьего тысячелетия», Москва, 1999; на Международной конференции «Физиология растений – основа фитобиотехнологий», Пенза, 2003; на Международной конференции «Проблемы физиологии растений Севера», Петрозаводск, 2004; на региональной конференции «Вторые чтения, посвященные памяти Ефремова С.И.», Орёл, 2006; на Международной конференции «Современная физиология растений: от молекул до экосистем», Сыктывкар, 2007; на Всероссийской конференции с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты исследования симбиотических систем», Саратов, 2007; на Международной конференции «С.П.Костычев и современная сельскохозяйственная микробиология», Ялта, 2007; на Международной научно-практической конференции «Роль генетических ресурсов и селекционных достижений в обеспечении динамичного развития сельскохозяйственного производства», Орёл, 2009; на Всероссийском симпозиуме с международным участием «Биологически активные вещества микроорганизмов. Прошлое, настоящее, будущее», Москва, 2011; на Международной конференции «Физиология растений – фундаментальная основа экологии и инновационных биотехнологий», Нижний Новгород, 2011; на Всероссийском симпозиуме с международным участием «Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии микроорганизмов», Москва, 2014; на Международной конференции «Генетическая интеграция прокариот и эукариот: фундаментальные исследования и современные агротехнологии», Санкт-Петербург, 2015; на Всероссийском симпозиуме с международным участием «Автотрофные микроорганизмы», Москва, 2015; на научной конференции с международным

участием «Современные технологии сохранения генетических ресурсов растений: проблемы и перспективы», Санкт-Петербург, 2016; на Международной конференции «Современные аспекты сельскохозяйственной микробиологии», Москва, 2016; на Международной конференции «Экспериментальная биология растений», Крым, Судак, 2017; на Международной конференции «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего», Уфа, 2018; на Всероссийской конференции с международным участием «Механизмы устойчивости растений и микроорганизмов к неблагоприятным условиям среды», Иркутск, 2018, а также на заседаниях кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева (Москва, 2014, 2015, 2016, 2020), семинарах кафедры физиологии растений (Москва, 2017, 2020).

Личный вклад автора. Работа является результатом многолетних исследований, проведенных лично автором на всех этапах: анализ отечественной и зарубежной литературы по теме исследования, формулировка проблемы, постановка целей и задач, постановка опытов, выбор методов, проведение экспериментов, обработка, анализ, обобщение и интерпретация полученных результатов, подготовка публикаций и представление результатов на научных конференциях.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 60 научных работ, в изданиях, рекомендуемых ВАК РФ – 15 работ.

Структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 348 страницах машинописного текста и состоит из введения, основной части, содержащей 19 таблиц и 35 рисунков, заключения, библиографического списка, включающего 834 источника, в том числе 276 иностранных и 14 приложений.

Благодарности.

Автор выражает искреннюю признательность заместителю директора по научной работе ФГБНУ ФНЦЗБК РАН доктору сельскохозяйственных наук

Наумкиной Татьяне Сергеевне, Кондыкову Игорю Викторовичу заведующему

лабораторией селекции зернобобовых культур, ФГБНУ ФНЦЗБК РАН кандидату сельскохозяйственных наук, главному научному сотруднику этой лаборатории (группа селекции фасоли) кандидату сельскохозяйственных наук Мирошниковой Марии Петровне (г.Орёл), старшему научному сотруднику, кандидату биологических наук Центра молекулярной биотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева Скоробогатовой Ирине Витальевне, сотрудникам ФГБУН «Института физиологии растений имени К.А.Тимирязева РАН» кандидату биологических наук Крыловой Валерии Валерьевне, Астаховой Нине Васильевне, Райхману Леониду Александровичу, Пospelовой Валентине Николаевне за консультации и помощь при выполнении работы. Слова особой благодарности и признательности адресую доктору биологических наук, профессору Викторине Кузьминичне Шильниковой и научному консультанту, доктору сельскохозяйственных наук, профессору, заслуженному изобретателю РФ Сергею Леонидовичу Белопухову.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

ГЛАВА 1. БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНЫЙ СИМБИОЗ

1.1 Взаимодействие клубеньковых бактерий (ризобий) и бобового растения

Бобово-ризобиальному эндосимбиозу посвящено большое количество работ (Доросинский 1967, 1985; Мишустин, Шильникова, 1968, 1973; Романов, 1983; Lie, 1982, 2000; Посыпанов, 1983, 1986, 1994; Андреева 1986; Кретович, 1987; Тихонович, 1991, 1992, 1998; Тихонович, Проворов 1986, 1996, 2002, 2003, 2005, 2009; Борисов 1999; Наумкина 1999 - 2002, 2006, 2007; Кириченко, Маличенко 2000; Кожемяков, 2001; Вэнс, 2002; Спайк, Кондорози и др., 2002; Новикова, 2004; Иутинская и др., 2010).

В симбиотической азотфиксации принимает участие бобовое растение-хозяин – макросимбионт и клубеньковые бактерии (ризобии), которые являются микросимбионтом. Симбиоз между бактериями и растениями – это качественно иная и высшая форма ассоциативных диязотрофных связей, это система, сформировавшаяся в процессе эволюции как морфологически выраженная структура растения – клубеньки на корнях или наросты в виде узелков на листьях и стеблях разных видов растений. Симбиотические ассоциации есть в любом биоценозе. Партнерами при симбиотических отношениях могут быть представители самых разных высших таксонов и прокариот, детали их взаимоотношений существенно различаются (Шильникова и др. 2006; Умаров, 2015). Симбиотические азотфиксаторы могут существовать в почве как свободноживущие бактерии- сапрофиты, а в тканях растения-хозяина – как симбионты. Двойственность существования бактерий в клубеньках и в почве определяет их биологию: приспособиваясь к одной среде обитания, они могут утратить черты адаптации к другой.

В результате симбиоза между бобовыми растениями и клубеньковыми бактериями устанавливаются сложные взаимоотношения в результате которых между макро- и микросимбионтом происходит обмен метаболитами: микросимбионт дает растению фиксированный им азот, а макросимбионт

обеспечивает источником углерода и эконишей, создавая для ризобий оптимальные физико-химические условия жизни.

Наиболее изучен симбиоз клубеньковых бактерий с бобовыми растениями (сем. *Fabaceae*), который возник ещё в меловом периоде, когда преобладали растения основных семейств цветковых. Триба *Fabeae* – одна из наиболее распространенных в семействе Бобовые (*Fabaceae* Endl.). Она состоит более чем из 300 видов, причем её таксономическая структура до сих пор подвергается существенным изменениям. Многие виды этой трибы имеют важное сельскохозяйственное значение. В её состав входят одни из самых древних культивируемых видов растений – горох посевной (*Pisum sativum* L.) и вика посевная (*Vicia sativa* L.) (Liustina, Miki, 2010).

Свыше 13 тыс. видов бобовых растений образуют клубеньки на корневой системе, из них более 200 используются в сельском хозяйстве. Самыми активными азотфиксаторами являются симбиотические микроорганизмы – клубеньковые бактерии, образующие взаимовыгодные взаимоотношения с бобовым растением. В результате, многие бобовые растения не только обеспечивают себя необходимым азотом, но и накапливают его в почве (Волобуева, 2013). В масштабах мировой экосистемы количество фиксированного азота только бобово-ризобияльной симбиотической системой практически компенсирует потери азота в этой системе в результате процесса денитрификации.

Дефицит азота является острейшей проблемой растениеводства и из года в год не только не сокращается, но даже возрастает. Он входит в состав белков и нуклеиновых кислот. Белки – важнейшая составная часть пищи человека и животных, недостаток и качество которой превратились в одну из наиболее значимых проблем, возникших перед человечеством. Наиболее действенными для решения этой проблемы остаются традиционные пути, хотя и неравнозначные по эффективности, – «технический» и «биологический» источники азота. Однако доступность каждого из них и экономическая целесообразность использования различны. В практике растениеводства, с

целью увеличения урожайности сельскохозяйственных культур, в почву иногда вносится повышенное содержание азотных удобрений. Однако это бывает не всегда полезным, как для растений, так и для человека, поскольку происходит нарушение экологической ситуации и нередко сопровождается снижением качества продукции из-за повышенного содержания нитратов в растениях. Поэтому, внимание ученых и практиков обращено к «биологическому» азоту как экологически чистому источнику, запасы которого в атмосфере, практически неисчерпаемы (Воробьев, 1998; Крылова, 2000; Волобуева, 2013).

Классический термин «биологическая фиксация атмосферного азота», отображающий только его начальный этап, связанный с восстановлением азота в аммиак, в настоящее время заменён синонимами « diaзотрофия», «азотная автотрофия».

Азотная автотрофия представляет собой совокупность биосинтетических реакций, превращающих молекулярный азот (N_2) в аминокислоты органических молекул. Прокариотные организмы, которые осуществляют азотную автотрофию, называются diaзотрофами. В настоящее время к diaзотрофам можно отнести представителей 97 прокариотных родов (Пиневиц, 2007).

Наличие у микроорганизмов межклеточной коммуникации и ауторегуляторных систем, обеспечивающих их связи и контролирующих поведение популяции в зависимости от тех или иных факторов или условий среды представляет интерес при выяснении природы формирования эффективного симбиоза вирулентными клубеньковыми бактериями с растительными партнерами. Пока неизвестно, какие биомолекулы являются сигнальными, где они синтезируются и какие из них контролируют эффективный симбиоз. Возможно, что исследователи недооценивают роль полного гормонального статуса растений и спектра веществ, синтезируемых микроорганизмами в период инфицирования растения и установления с ним симбиоза (Тараховская и др., 2007; Волобуева, Скоробогатова, Шильникова, 2008).

Основная роль в симбиотических взаимоотношениях принадлежит клубеньковым бактериям.

1.2 Клубеньковые бактерии – основные агенты симбиотических взаимоотношений

Основная роль в симбиотрофных взаимоотношениях принадлежит клубеньковым бактериям (ризобиям). Долгое время систематика клубеньковых бактерий базировалась на их специфичности, проявляемой к растению-хозяину (Доросинский, 1970; Мишустин, Шильникова, 1973; Проворов 2001).

Клубеньковые бактерии относят к семействам *Rhizobiaceae*, *Phyllobacteriaceae*, *Bradyrhizobiaceae* и *Hyphomicrobiaceae*. В настоящее время систематика клубеньковых бактерий основана на анализе последовательности генов 16S РНК малой субъединицы рибосомы и включает несколько родов. Наибольшее значение среди них имеют роды: *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Allorhizobium* (Спайнк, Кондороши, Хукас, 2002). В совокупности эти бактерии называют ризобиями.

В своих исследованиях мы работали в основном с представителями родов *Rhizobium* и *Bradyrhizobium*, которые относят к семейству *Rhizobiaceae*.

Семейство *Rhizobiaceae* объединяет симбиотические микроорганизмы – клубеньковые бактерии, которые распространяясь в почвах, сопутствуют определенным видам бобовых растений. Клубеньковые бактерии – это палочковидные, грамотрицательные, неспорообразующие, аэробные бактерии. Клетки клубеньковых бактерий в молодом возрасте подвижны и могут продвигаться как с помощью монотрихально расположенных жгутиков, так и с помощью перитрихов. Ризобии имеют фимбрии, которые служат как для прикрепления клеток к субстрату, так и способствуют скреплению клеток друг с другом при образовании поверхностных пленок, а также фимбрии служат для передачи генетического материала через полый канал этих структур. Многие виды клубеньковых бактерий образуют капсулу, которая по своему химическому составу часто бывает полисахаридная. Капсула, как

непостоянная структура бактериальной клетки, выполняет функции: защитную, запасную, а также функцию – дополнительного осмотического барьера клетки. Клеточная стенка клубеньковых бактерий имеет типичное, характерное для *грамотрицательных бактерий* строение. У клубеньковых бактерий в *наружной мембране* имеются дополнительные компоненты – *липополисахариды*. *Белки* наружной мембраны отличаются большим разнообразием. Сложным у клубеньковых бактерий является *фосфолипидный состав*. Основные фосфолипиды представлены *фосфатидилглицеролом, кардиолипином и фосфатидилэтаноломином*. Модификации ЛПС зависят от типов клубеньков: детерминированных (фасоль, соя) или недетерминированных (горох, клевер). Многие клубеньковые бактерии способны синтезировать *экзопполисахариды (ЭПС)*.

ЭПС придает важную функцию в адаптации клубеньковых бактерий к различным неблагоприятным факторам среды. ЭПС ризобий могут выполнять сигнальные функции. Бактериальные экзопполисахариды и липополисахариды играют важную роль в растительно-бактериальных взаимодействиях.

В липидах ризобий найдены разные типы *жирных кислот*. Состав *жирных кислот* бактерий семейства *Rhizobiaceae* представлен пальмитатом, пальмитолеатом и *цис-вакцинатом*, которые являются доминирующими (Спайнк, Кондороши и др., 2002).

Некоторые штаммы ризобий способны накапливать полисахариды в симбиосоме. Было показано, что присутствие полисахаридов оказывает определенное влияние на симбиоз (Streeter et al., 1995, Кан и др., 2002). Отдельным белкам принадлежит важная роль для активации генов-нодуляции. Растительные *флавоноиды* могут активировать *гены нодуляции*. Вероятно, что при взаимодействии с *флавоноидами* наблюдаются *конформационные изменения* белков NodD (Шламан и др., 2002). Флавоноиды относят к факторам, которые активизируют *гены клубенькообразования у бобовых растений*. Поэтому, возможно к индукторам клубенькообразования можно отнести

фитогормоны растений, присутствующие там (Шламан и др., 2002).

Функцию компонента генома у многих представителей *Rhizobiaceae* выполняют крупные плазмиды, которые играют важную роль в их взаимодействии с растениями, а также гены, контролирующие образование клубеньков и симбиотическую азотфиксацию (Спайнк и др., 2002).

Плазмиды клубеньковых бактерий рода *Rhizobium* обычно делят на две группы: несущие гены, ответственные за образование клубеньков и азотфиксацию – *sym*- плазмиды и криптические или «несимбиотические» плазмиды (Mercado-Blanco, Toro, 1996).

Бактерии рода *Rhizobium* являются быстрорастущими, а *Bradyrhizobium* – медленно растущими. Клетки клубеньковых бактерий полиморфны, отличаются большим разнообразием форм, но чаще всего палочковидной формы, слегка искривлены, размер 2-5×0,7 мкм; молодые клетки некоторых ризобий имеют форму коротких палочек, слегка закругленные на концах, подвижны.

Все штаммы *Rhizobium* и *Bradyrhizobium* обладают способностью синтеза *циклических β-глюканов*, которые являются компонентом *клеточной стенки*, и помогают существовать бактериям в *свободном* состоянии в неблагоприятных условиях среды. Однако аккумуляция циклических β-глюканов в периплазматическом пространстве сильно влияет на общую структуру клеточной оболочки ризобий. Периплазматические глюканы играют важную роль при инфекции растения-хозяина (Брилвелд, Миллер, 2002).

Являясь симбиотическими микроорганизмами, *клубеньковые бактерии* распространяются в почвах, сопутствуя определенным *видам бобовых растений*. Поскольку, однако, большую часть жизни *клубеньковые бактерии* вынуждены самостоятельно существовать в почве как *сапрофиты*, это в значительной степени определяет их свойства.

Клубеньковые бактерии обладают рядом свойств: *вирулентностью*, *специфичностью*, *азотфиксирующей активностью* (*эффективностью*),

конкурентноспособностью.

Вирулентность – это способность ризобий проникать в ткань корневой системы бобового растения, размножаться там и образовывать клубеньки. Критерием является срок появления первого клубенька.

Специфичность – это избирательность по отношению к растению-хозяину, способность ризобий заражать определенный вид растений. Критерием специфичности служит появление, хотя бы одного клубенька на корневой системе. На основе этого свойства выделяют две группы бобовых растений – широкоспецифичные и узкоспецифичные хозяева. Так, широкой, перекрестной специфичностью обладают бактерии *Rhizobium subsp. viciae*, заражающие вику, горох, фасоль. Узкоспецифичные: когда ризобии сои заражают только растения сои.

Активность (или эффективность) определяется содержанием азота или белка в тканях растения или интегральным показателем – урожаем (массой растения).

Конкурентноспособность – это способность клубеньковых бактерий вступать в конкурентные взаимоотношения (за элементы питания, факторы роста и т.д.) с другими бактериями.

В результате взаимодействия ризобий с растением происходит образование клубенька. Не рассматривая общеизвестных истин, мы остановимся лишь на характеристике превращения ризобий в бактериоиды в цитоплазме растительной клетки, поскольку ультраструктура клубеньков, нами изученных в основном находилась именно в этой стадии.

1.3 Ультраструктура бактериоидсодержащего компартмента инфицированной клетки клубенька

Инфицирование корней ризобиями завершается формированием структуры клубенька. Наличие у микроорганизмов *межклеточной коммуникации* и

ауторегуляторных систем, обеспечивающих их связи и контролирующих поведение популяции в зависимости от тех или иных факторов или условий среды, представляет интерес при выяснении природы формирования эффективного симбиоза вирулентными клубеньковыми бактериями с растительным партнёром (Волобуева, Скоробогатова, Шильникова, 2008).

Структура клубеньков в конечном итоге определяется условиями и внутренними сигналами. Бактерии поглощаются клетками клубенька и дифференцируются в азотфиксирующие бактериоиды. При переходе бактериальных клеток в бактериоиды их объем увеличивается, цитоплазма бактериоидов становится менее осмофильной (Мишустин, Шильникова, 1973). Процесс превращения бактерий в бактериоиды протекает синхронно во всех инфицированных клетках центральной части клубенька. Обычно структура бактериоидсодержащей ткани, размер, форма бактериоидов, их число в перибактероидном пространстве, зависит от генома растения-хозяина (Андреева, 1986; Андреева и др., 1989; Тихонович, Проворов, 2009). Растение контролирует и функции ризобий, включая дифференциацию и метаболизм. Со временем бактериоиды заполняют всю растительную клетку, за исключением ядерной зоны. Обычно это совпадает у большинства бобовых растений с фазой бутонизации, начала цветения. Хотя наши исследования показали, что у гороха это может происходить уже в фазу 5-6 листа, у фасоли – в фазу бутонизации - цветения, а у сои – начиная с фазы бутонизации до плодообразования.

Первоначально ряд исследователей (Pfeiffer, 1928; Wilson, 1940) считали бактериоиды патологическими и дегенеративными формами и не связывали процесс азотфиксации с их присутствием в клубеньках. Однако уже в первые годы исследования проблемы считалось (Nobbe, Hiltner, 1893; Hiltner, Störmer, 1903; Thornton, Ganqulee, 1925), что бактериоиды самые жизнеспособные и активные формы клубеньковых бактерий и что фиксация *атмосферного азота растениями* происходит исключительно при их участии. Более поздние наблюдения (Мишустин, Шильникова, 1973; Яковлева, 1975; Андреева с соавт., 1989, Тихонович, 1991; Волобуева, Шильникова, 1993; Измайлов,

2014; Волобуева 2010-2020) подтвердили положение о том, что именно *бактероидным формам* принадлежит ведущая роль в *фиксации азота атмосферы*.

Бактероидсодержащий компартмент создается в инфицированной клетке клубенька, когда бактерия выходит из инфекционной нити и оказывается окруженной перибактероидной мембраной (ПБМ), являющейся производной плазмалеммы растительной клетки. ПБМ является пограничной мембраной между прокариотической и эукариотической клетками. Она создает структурную и метаболическую компартментацию, отделяя бактериоид и перибактероидное пространство (ПБП) от растительных компартментов: цитозоля, ядра, клеточных органелл. Параметрами бактериоида являются: форма и размер бактериоида, его ультраструктура, число бактериоидов в ПБП, соотношение размеров бактериоидов и ПБП, определяемое как соотношение площадей на срезе, структура ПБП, соотношение ПБМ и поверхности заключенных в ней бактериоидов (Андреева, 1989; Rosendehe et.al., 1990; Измайлов, 2014; Волобуева, 2015).

Ряд авторов (Андреева, Жизневская, 1989, Измайлов, 2014) важную роль в формировании и функционировании симбиотической системы у бобовых растений отводят перибактероидному пространству (ПБП), которое представляет собой ограниченную мембраной зону между макро- и микросимбионтом, определяющую взаимодействие этих клеток путем регуляции транспорта веществ, их метаболизма, депонирования и компартментализма. Исследования, проведенные Андреевой и др. (1992) показали, что объем ПБП, и соотношение объемов ПБП/цитозоль существенно варьирует у разных видов бобовых культур. Оно зависит от их возраста и внешних условий среды. При старении клетки и при неэффективном симбиозе происходит увеличение доли ПБП, за счет сокращения цитозоля растительной клетки и числа её органелл, что говорит о резком снижении пространства, занимаемого в инфицированной клетке

растения хозяина (Измайлов, 2014). Это сопровождается «понижением общей метаболической активности клетки и падением интенсивности утилизации фотоассимилятов» (Крылова, 2004), что приводит к накоплению запасных веществ в бактериоидах, ПБП и пластидах (Андреева, 1985; Андреева и др., 1989). Предполагается, что размер ПБП, являющийся генотипическим признаком и зависящий от действия абиотических факторов среды, характеризует эффективность «симбиотических отношений партнеров в клубеньках и может быть одним из её критериев» (Крылова, 2004; Измайлов, 2014).

Отличительной чертой эффективных клубеньков является «отделение» бактериоидов от цитоплазмы растения-хозяина ПБП, ограниченным симбиосомной мембраной (СМ). В случае бобово-ризобияльного симбиоза СМ получила название - перибактероидной мембраны (ПБМ). ПБМ строится растением сразу после высвобождения бактерий из инфекционной нити (Robertson, Melor, Werner, 1987). По мнению ряда авторов (Vance, Johnson, 1983, Robertson, Wells, Brewin, Kight, 1985), ПБМ является необходимым условием дифференцировки бактерий в бактериоиды и фиксации азота. Это мнение основано на том, что в неэффективных клубеньках и во время старения клубеньков, лизис бактериоидов приурочен к распаду ПБМ (Vance, Reibach, Ellis, 1986). Однако в настоящее время у мутантов гороха показано (Тихонович, Романов, Алисова и др., 1985; Тихонович, 1991, 2000; Тихонович, Проворов, 2009), что даже при наличии ПБМ дифференцировки бактерий в бактериоиды может не происходить. Перибактероидной мембране принадлежит большое значение в транспорте метаболитов между микро - и макросимбионтами (Udvardi, Day, 1997, Кан и др., 2009).

Итак, ризобии, освобождаемые в цитоплазму растительных клеток, дифференцируются в эндосимбиотические формы, называемые бактериоидами. В бактериоидах активны гены, контролирующие функцию выработки АТФ в процессе окислительного фосфорилирования. Остальные функции симбиоза,

включая питание микроорганизмов и ассимиляцию фиксированного азота, обеспечивает растение- хозяин (Тихонович, Проворов, 2009).

Дифференцировка бактериоидов находится под контролем большого количества разнообразных сигналов (Каменски и др., 2002).

Впоследствии, бактериоиды вместе с окружающей их симбиосомной мембраной (СМ), составляют симбиосому. Симбиосома – временная «органелла», которая формируется в результате симбиоза.

Симбиосомная мембрана (СМ) в случае бобово-ризобияльного симбиоза получила название перибактероидной (ПБМ) (у мучнистой росы, стеблевой и листовой ржавчины – экстрагаусториальной, а у арбускулярной микоризы – периарбускулярной мембраны).

В последние годы стало очевидным, что СМ не только формируется в ответ на внедрение микроорганизма, но и определяет отношения партнеров симбиоза. Эти отношения устанавливаются в процессе эволюции на клеточном, субклеточном и молекулярном уровнях (Измайлов, 1996, 2014; Бейр и др., 2003; Udvardi, Day, 1997; Kumar, Valdivia, 2009; Spielman et. al., 2012).

Согласно традиционному взгляду после первичного узнавания и проникновения клубеньковых бактерий в корень образуется инфекционная нить, ограниченная плазматической мембраной растительного происхождения. Бактерии, заключенные в матрикс инфекционной нити, достигают зоны компетентных клеток, где и происходит собственно инфицирование, в процессе которого клетки макросимбионта продуцируют целлюлазу, а ризобии – пектиназу, которые разрушают стенки инфекционной нити. В результате бактерии попадают в цитоплазму клетки хозяина, окруженные его мембраной хозяина. Оставшийся материал клеточной стенки удаляется в вакуоли путем эндоцитоза и деградируется при инфицировании растительной клетки. У клубеньковых бактерий истончается пептидогликановый слой клеточной стенки, чаще всего он исчезает совсем, а наружная мембрана клеточной стенки

примыкает к цитоплазматической мембране (Mellor, Werner, 1987). Это и приводит к возникновению новой структуры – симбиосоме. Компартиментация метаболизма посредством разделения про- и эукариотических клеток с помощью ПБП и ПБМ становится ключевой особенностью азотфиксирующего симбиоза, где указанные медиальные структуры являются основной зоной биохимических контактов бактериоида с растением, чем было и обусловлено проведение наших электронно-микроскопических исследований.

Компартиментация метаболизма посредством разделения микро- и макросимбионта с помощью ПБП и ПБМ становится ключевой особенностью азотфиксирующего симбиоза, где указанные медиальные структуры являются основной зоной биохимических контактов микро- и макросимбионтов.

В биогенез ПБМ включаются различные мембраны растительной клетки. Бактероиды также вносят свой вклад в процесс биогенеза ПБМ путем встраивания в неё мембранных везикул. Чаще всего это достигается за счет прямой ассоциации микросимбионта с ПБМ. В связи с этим высказывается предположение, что наличие контактов ПБМ и бактериоидов может быть одной из причин синхронизации увеличения площади ПБМ и деления бактериоидов (Bradley et al., 1986). Последовательность биогенеза ПБМ происходит следующим образом: сначала ПБМ возникает на основе эндоцитоза из плазмалеммы (Андреева и др. 1989, Крылова, 2004), ограничивающей инфекционную нить. Поверхность мембраны, обращенной к цитоплазме, оказывается внешней стороной ПБМ. В дальнейшем увеличение поверхности и изменение свойств ПБМ происходит путем её достройки с участием везикул различных мембранных структур растительной клетки и бактериоидов. Это приводит не только к увеличению поверхности ПБМ, но и к привнесению в неё новых свойств, отличных от плазмалеммы. Поэтому, перибактероидная мембрана, а не бактериальная или плазмалемма, реально контролирует поток и тип углеродных соединений для обеспечения азотфиксирующей активности бактериоидов, и, следовательно, она имеет ключевое значение во

взаимоотношениях клубеньковых бактерий и растения (Измайлов, 2014).

Существуют следующие стадии развития бактериоидов (Sutton et al., 1981; Жизневская, 1983): 1. Незрелые бактериоиды. Эта стадия характеризуется отсутствием нитрогеназной активности, в растительной клетке мало леггемоглобина, бактериоиды способны к активному делению и зависят от растения-хозяина в снабжении энергией и связанным азотом. 2. Зрелые бактериоиды. Эта стадия характеризуется высокой нитрогеназной активностью, в клетке много леггемоглобина, бактериоиды у многих растений не способны к делению *in situ*, бактериоиды зависят от растения в получении энергии, но экспортируют существенные количества связанного азота. 3. Стареющие бактериоиды. В этой стадии нитрогеназная активность и содержание леггемоглобина снижаются, происходит постепенная деградация ультраструктуры бактериоида и растительной клетки.

Процесс созревания бактериоидов сопровождается структурной и метаболической перестройкой бактериальной клетки. В бактериоидах синтезируется «нитрогеназный комплекс, восстанавливающий молекулярный азот при наличии АТФ и активированных электронов» (Львов, 1983; Крылова, 2000). По данным Саттона (Sutton, 1980), ацетиленвосстанавливающая активность в клубеньках люпина узколистного возрастает между 10 и 14 днями после инокуляции, что говорит об активном синтезе нитрогеназного комплекса; об этом свидетельствуют также результаты, полученные с помощью ингибиторов белкового синтеза. Возможно одновременное повышение активности ранее синтезированной нитрогеназы при увеличенном снабжении АТФ и восстановительными эквивалентами. Катализируемое нитрогеназой выделение водорода повышается одновременно с ацетиленвосстанавливающей активностью. В этом процессе происходит потеря 25- 35%, иногда до 44% активированных электронов, поступающих к нитрогеназе. Небольшое число видов *Rhizobium* обладают способностью синтезировать водородокисляющую систему, что предотвращает потери энергии в процессе азотфиксации; среди них

штаммы *Rh. leguminosarum*. Гидрогеназная система не обнаружена у *Rh. meliloti*, *Rh. trifolii*, *Rh. phaseoli* и *Rh. lupine* (Sutton, 1983).

Для развития бактериоидов и синтеза в них нитрогеназы важным фактором является низкое парциальное давление кислорода в бактериоидсодержащей ткани. Низкая концентрация кислорода создается благодаря высокому уровню дыхания бактериоидов, созданию барьера для диффузии кислорода в коровой зоне клубенька путем уменьшения объема межклетников, а также синтезу в инфицированной клетке леггемоглобина, выполняющего роль регулятора кислородного режима в ткани. Леггемоглобин выполняет двоякую функцию: переносчика кислорода к бактериоидам, находящимся в клетке в условиях затрудненного доступа кислорода, и защитника нитрогеназы от воздействия кислорода. Для активной работы нитрогеназы необходимо постоянно наличие энергии в виде АТФ, генерируемой в процессе окислительного фосфорилирования, и «приток активированных электронов, осуществляемый системой переносчиков, в которой большую роль играют негеминовые железопротеиды. При созревании бактериоидов изменяется набор цитохромов дыхательной цепи» (Крылова, 2004).

Главным источником углеводов, поступающим в клубеньки, является сахароза. Зрелые бактериоиды могут использовать как сахара, так и органические кислоты (малонат, малат, сукцинат и фумарат) (Романов с соавт., 1985).

Продукт азотфиксации – ион аммония (NH_4^+) выходит из бактериоида в растительную клетку, где ассимилируется с помощью фермента азотного обмена. Основными NH_4^+ ассимилирующими ферментами в цитоплазме растительной клетки являются глутаминсинтетаза и глутаматсинтетаза. Роль цитоплазматической глутаматдегидрогеназы в ассимиляции NH_4^+ незначительна. Ферменты ассимиляции NH_4^+ в бактериоидах не имеют большого значения в синтезе аминокислот клубеньков, но они участвуют в образовании аминокислот, требуемых для синтеза бактериоидных белков. Образующийся через глутаматсинтазу-глутаминсинтетазу глутамин, экскретируется в ксилему и

транспортируется в другие части растения. Глутамин и аспарагин являются основными соединениями, образуемыми в клубеньках многих бобовых, в результате ассимиляции NH_4^+ . Другой путь ассимиляции NH_4^+ в клубеньках соевых, фасолевых и ряда других бобовых – образование аллантаина и аллантаиновой кислоты. В стареющих бактериоидах снижается ацетиленвосстанавливающая активность, при этом выделение водорода снижается еще более сильно. В клубеньках уменьшается содержание леггемоглобина, происходит позеленение клубеньков. Снижается снабжение клубеньков углеводами, в клубеньках падает отношение АТФ/АДФ. Роль гормонов в старении клубеньков показана в ряде работ. В инфицированных клетках нарушается баланс между синтезом и распадом индолилуксусной кислоты (Libbenga, Bogers, 1974). Цитокинины также играют определенную роль в старении клубеньков (Syono et al., 1976). Ультраструктура растительной клетки и бактериоида деградирует.

Таким образом, только в состоянии зрелых бактериоидов существуют истинные симбиотические отношения между *Rhizobium* и бобовым растением, которые лучше обозначить термином мутуализм, поскольку симбиоз (совместное существование) включает и паразитизм, при котором паразит не убивает своего хозяина (Тарр, 1975). Такая форма симбиоза наблюдается в состоянии незрелых бактериоидов, когда микросимбионт получает от растения метаболиты, экскретируя в растение только физиологически активные вещества, стимулирующие метаболизм растительной клетки (Андреева, 1986; Наумкина, 2007).

1.4 Типы и форма клубеньков

Взаимодействие ризобий с бобовым растением завершается образованием клубенька. Клубеньки на корнях бобовых растений представляют высокоспециализированные структуры, которые обеспечивают условия для биологического восстановления азота, являясь при этом уникальной

экологической нишей для ризобий.

В некоторых случаях клубеньки могут образовываться и на других органах растений – стеблях, листьях. Так, например, у тропического влаголюбивого бобового растения *Sesbania rostrata*, произрастающего в Центральной Африке, клубеньки могут находиться на стебле. В этих клубеньках обнаружена клубеньковая бактерия *Azorhizobium caulinodans* (Вэнс, 2002). У ряда растений обнаружены клубеньки на листьях. В них находятся бактерии, усваивающие молекулярный азот. К настоящему времени листовые клубеньки обнаружены у значительного числа южных растений.

Из клубеньков кустарников *Pavetta* и *Psychotria* легко выделяются азотфиксирующие бактерии, отнесенные к роду *Klebsiella*. Листовые клубеньки обогащают растительные ткани азотом. Поэтому в некоторых странах (например, Шри-Ланке) листья *Pavetta* используют в качестве зеленого удобрения.

Клубеньки на корнях бобовых растений имеют разнообразные форму и размеры. Существует несколько классификаций клубеньков по их форме (Corby, 1971; 1983; Allen, 1981). Корби (1971), исследовав в Родезии клубеньки 400 видов бобовых, разделил их по форме на пять групп: сферические – полусферические, сферические – приплюснутые, удлинённые, коралловидные, удлинённые – ветвящиеся. В последующей работе (Corby et al., 1983) классификация была усложнена, и все клубеньки были разделены на два типа: неограниченного роста и ограниченного роста. К первому типу относятся клубеньки, имеющие апикальную меристему, неограниченный рост, удлинённую форму, потенциально переходящую в разветвлённую и множественную. Сюда относятся три группы: 1) имеющие чечевички, 2) не имеющие чечевичек, 3) клубеньки типа люпина, не имеющие чечевичек, охватывающие, благодаря особенностям роста меристемы, корень растения. Ко второму типу относятся клубеньки, имеющие ограниченный рост, полусферическую меристему, сферическую или полусферическую форму. Сюда относятся две группы: 1) маленькие сферические, часто приплюснутые, не

имеющие чечевичек, 2) сферические, имеющие чечевички. Другие классификации делят клубеньки на сферический и апикальный типы (Kodama, 1967), ограниченного и неограниченного роста (Sprent, Embrapa, 1980), цилиндрические, сферические и клубеньки, окружающие корни (Allen, 1981), округлые или овальные, цилиндрические и «муфточки» (Жизневская с соавт., 1979, Андреева, 1986). Однако надо иметь в виду, что определяющим в классификации клубеньков должна быть не форма, а строение его на тканевом уровне: особенности заложения меристемы и длительность её функционирования, тип проводящей системы. Эти признаки и определяют все разнообразие форм и размера клубеньков у бобовых растений (Наумкина, 2007).

Для сравнения клубеньков бобовых растений используют следующие критерии (Андреева, 1986):

1. Вид или группа *Rhizobium*, инфицирующая определенное растение.
2. Степень специфичности *Rhizobium* к растению-хозяину.
3. Тип клубенька и его форма.
4. Ультраструктура бактериоидсодержащего компартмента инфицированной клетки клубенька: а) форма, размер и структура бактериоида; б) число бактериоидов в перибактероидном пространстве; в) соотношение размеров перибактероидной мембраны и клеточной стенки бактериоидов.
5. Тип нуклеоида и содержание ДНК в бактериоидах.
6. Содержание леггемоглобина в клубеньке.
7. Форма первичного продукта связывания аммония и форма транспортного азотного соединения.
8. Азотфиксирующая активность клубеньков.
9. Количество азота, накапливаемого в почве за год.

Выделяют следующие этапы инфекционного процесса (Dart, 1977; Robertson et al., 1981; Шильникова, 1985): 1. Рост клубеньковых бактерий в ризосфере. 2.

Адсорбция бактерий на поверхности корневого волоска. 3. Скручивание и удлинение корневого волоска. 4. Проникновение бактерий в корневой волосок. 5. Размножение бактерий в корневом волоске и образование инфекционной нити. 6. Рост инфекционной нити вдоль корневого волоска по направлению к его базальной части и дальнейшее ее проникновение в коровые клетки корня. 7. Освобождение бактерий из инфекционной нити в коровые клетки.

Для инфекционного процесса характерны следующие особенности:

1. Ядро корневого волоска направляет рост инфекционной нити.
2. В росте инфекционной нити принимает участие аппарат Гольджи макросимбионта.
3. Гормональный контроль над образованием мембраны, окружающей инфекционную нить, и формированием стенки инфекционной нити, осуществляют ауксины и цитокинины, продуцируемые клубеньковыми бактериями.
4. Материал стенки инфекционной нити имеет те же свойства, что и растительная клеточная стенка.
5. Клубеньковые бактерии находятся внутри инфекционной нити в зооглейном (полисахаридном) матриксе.

В результате инфицирования образуются клубеньки. Выделяют следующие этапы образования эффективного клубенька: 1. Образование зоны меристемы путем дифференциации зрелых клеток коры корня под влиянием ауксинов и цитокининов, секретиремых бактериями; 2. Пролиферация клеток с образованием клубенька; 3. Ветвление инфекционных нитей и проникновение их в клетки клубенька, находящиеся в состоянии деления-растяжения; 4. Выход клубеньковых бактерий из инфекционной нити в процессе эндоцитоза; 5. Деление бактерии внутри растительной клетки; 6. Переход бактерий в форму *бактероидов*.

Согласно современным представлениям, учитывая организацию клубеньков бобовых (по Харди и др., 2002), выделяют два основных типа клубеньков:

детерминированные и недетерминированные. Для недетерминированных клубеньков характерно наличие стабильной апикальной меристемы, зоны *префиксации* – когда растительные клетки инфицируются клубеньковыми бактериями и происходит развитие симбиосом, также характерно наличие *интерзоны*, когда происходит синтез поздних нодулинов и отмечается начало азотфиксации, зоны *активной азотфиксации*, за которой следует зона старения клубенька. Итак, важный естественный этап в развитии симбиотического клубенька – старение. В результате процесса старения происходит реутилизация различных питательных веществ из клубенька в другие органы растения. Первые признаки старения в развитии клубенька могут наблюдаться очень рано, хотя обычно сама программа старения запускается после окончания цветения бобовых растений. Задержка запуска программы старения позволила бы продлить период активной азотфиксации, увеличив при этом содержание симбиотрофного азота в растениях, и как следствие способствовала бы повышению урожайности бобовых культур. В старении клубеньков рассматривается важная роль таких фитогормонов как этилен, абсцизовая и жасмоновая кислоты, гиббереллины и монооксид азота (Серова, Цыганов, 2014).

Недетерминированные клубеньки часто имеют несколько удлиненную, иногда даже цилиндрическую форму. Для клубеньков этого типа характерно то, что передача *фиксированного азота* осуществляется в виде *амидов*. Данный тип клубеньков характерен для клевера (*Trifolium spp.*), гороха (*Pisum sativum*), люцерны (*Medicago sativa*).

В *детерминированных* клубеньках нет такого выраженного деления на зоны, в них обычно отсутствует постоянная меристема, хорошо заметна проводящая система.

«Инфицированные клетки, в которых обычно фиксируется азот, чередуются с неинфицированными клетками (где образуются транспортные формы азота). Инфекционные нити в детерминированных клубеньках распространяются преимущественно по межклетникам, а не сквозь клетки» (Тихонович, Проворов, 2009). Детерминированные клубеньки обычно имеют округлую форму, а

транспорт фиксированного азота у них осуществляется в форме *уреидов*. Этот тип клубеньков характерен для фасоли (*Phaseolus*), сои (*Glycine*).

В процессе *формирования клубеньков* на стадии образования *инфекционных нитей* клубеньковые бактерии могут встречаться с различными неблагоприятными факторами в ризосфере бобового растения, в частности с различными *осмотическими* условиями. Образование бактериоидов сопровождается повышением осмотического давления в клубеньках (Botsford, Lewis, 1990). Возможно, что во время инфекционного процесса продолжается непрерывный синтез циклических глюкозидов.

Для активной азотфиксации в клубеньке требуется уникальное органическое соединение – *леггемоглобин* («лег» означает принадлежность бобовым растениям *Leguminosae*). Этот пигмент, близкий к *гемоглобину* крови. Его также называют – *легоглобин, гемоглобин*. Леггемоглобин снижает содержание кислорода в клубеньке, защищая *нитрогеназу*, которая функционирует в клубеньке только при *низкой* концентрации кислорода. *Леггемоглобин* – это белок, продукт совместного биосинтеза макро- и микросимбионтов, играет важнейшую роль в симбиотической азотфиксирующей системе. Он поддерживает необходимый уровень кислорода в клубеньках и служит донором кислорода азотфиксирующим бактериоидам (Топунов, 1996).

У клубеньковых бактерий, как и у всех азотфиксирующих микроорганизмов, имеется *ферментный комплекс нитрогеназы*, катализирующий процесс восстановления N_2 до NH_3 . У активных азотфиксаторов содержание нитрогеназы составляет 1-2% от общего белка в клетке. *Нитрогеназа* – сложный и очень медленно работающий фермент: за 1 мин 1 моль этого фермента превращает в аммиак 50-100 моль N_2 (для сравнения – 1 моль амилазы за это же время расщепляет 240 тыс. моль крахмала), есть и более активные ферменты.

В своих исследованиях мы работали с недетерминированными (горох) и детерминированными (фасоль, соя) клубеньками.

1.5 Роль бобово-ризобиального симбиоза в повышении продуктивности агроэкосистемы

Бобовые растения способны обогащать почву доступным азотом за счет биологической азотфиксации в симбиозе с ризобиями, что является существенным фактором не только для поддержания плодородия возделываемых почв, но и для сохранения баланса естественных экосистем. (Баймиев и др. 2011).

Биологическая фиксация молекулярного азота является ключевым звеном в круговороте азота. Это достаточно медленно происходящий процесс, ограничивающий скорость течения других процессов, о чем свидетельствуют огромные запасы азота в атмосфере и относительный дефицит соединений азота в почве. *Азот* – не только основной биогенный элемент, главный компонент живой материи, но и достаточно важный элемент для земледелия, растениеводства, играющий большую роль в *глобальной азотной экономике* Земли. Биологический азот в отличие от азотных удобрений – это возобновляемый ресурс. Он характеризуется почти полным отсутствием последствий и имеет высокий коэффициент усвоения растениями.

«Биологическая фиксация молекулярного азота – единственно чистый и безопасный путь снабжения растений доступным азотом, при котором совершенно исключено загрязнение почвы, воды и воздуха. Биологический азот не только не загрязняет окружающую среду, но даже существенно оздоравливает экологическую ситуацию в природе, поскольку не проникает в грунтовые воды, не накапливается в сточных водах, не нарушает биологического равновесия в почве. Его использование относится к числу энергосберегающих, экономически выгодных технологий, снижающих потребление растениями азота из почв и необходимость внесения в почву дорогостоящих азотных удобрений» (Шильникова, 2006).

Вопросы, касающиеся *воспроизводства плодородия почв*, являются не только актуальными, но и их значение в условиях изменяющегося климата, возросшей антропогенной нагрузки на почву, агроценозы и атмосферу, дефицита

энергетических ресурсов, постоянно возрастает. Поэтому, интерес к бобовым растениям, которые являются источником экологически чистого белка и в симбиозе с клубеньковыми бактериями, активно фиксируют и накапливают азот в почве, не только не ослабевает, но и представляет чрезмерную теоретическую заинтересованность и имеет важнейшее значение для практики.

В агрономической практике бобовые растения активно используют в севооборотах, так как один из главнейших источников пополнения азотного фонда пахотных почв – это биологическая фиксация молекулярного азота атмосферы, который находится в недоступной форме для высших растений, но его могут активно фиксировать азотфиксирующие микроорганизмы.

Экономическое значение процесса азотфиксации для сельского хозяйства обуславливает большой размах работ и непрерывающийся пристальный интерес исследователей к проблеме биологического усвоения азота. Исследования азотфиксации ведутся широким планом во многих странах мира. В нашей стране наиболее активно изучение этих вопросов происходило, особенно, начиная с середины прошлого века. Однако, интерес к проблеме биологической азотфиксации, в связи с огромной практической значимостью этих вопросов, не ослабевает и в настоящее время. Несколько изменились аспекты изучения данной проблемы: изучение происходит на геномном уровне, с использованием современных ПЦР- методов, ультромикроскопических и других новейших методов исследования этого процесса.

«В настоящее время практическое использование симбиотической азотфиксации осуществляется путем бактериализации бобовых культур соответствующими препаратами высокоэффективных и конкурентоспособных клеток клубеньковых бактерий. Предпринимаются также попытки повысить активность бобово- ризобиального симбиоза с помощью комбинирования биологических и химических мероприятий. В частности, ведется поиск новых физиологически активных веществ и интенсифицируются исследования механизма их воздействия на продуктивность и качество урожая» (Шильникова, Волобуева, Гурьев, 1992; Волобуева, 2010).

В последнее время с целью повышения эффективности бобово-ризобиального симбиоза применяют биопрепараты и регуляторы роста (Волобуева, 2010-2020).

«Из всех факторов, определяющих продуктивность сложной системы *почва- растение-микроорганизмы*, именно последние играют определяющую роль, и именно они являются наименее изученными. Применение биопрепаратов является актуальным, так как многие годы интенсификации сельского хозяйства не прошли даром и во многих почвах отмечена тенденция исчезновения полезных групп микроорганизмов и в то же время повышение численности и разнообразия вредных видов, что вызывает резкое и часто необратимое падение почвенного плодородия. Препараты, на основе микроорганизмов, позволяют направленно регулировать состав и численность микробного комплекса на корнях и в соответствии с потребностями и возможностями растений» (Завалин, 2005).

Повышение урожайности бобовых растений значительным образом зависит от эффективности бобово-ризобиального симбиоза (Волобуева, 1991, 1992, 1997, 2001, 2004, 2006, 2009-2020).

Таким образом, особую и важную роль в повышении продуктивности агроэкосистем отводят бобово-ризобиальному симбиозу, поскольку биологический азот, который усваивают клубеньковые и другие азотфиксирующие микроорганизмы и переводят в доступное для растений состояние, является не только совершенно безвредным для окружающей среды, растений, человека, но и улучшает почвенное плодородие, снижает потребность в азотных удобрениях или полном их отсутствие, способствует поддержанию совершенно безопасной агроэкосистемы и в целом биогеоценоза и в *экологическом аспекте* является просто *идеальным*.

Приведенный обзор литературных данных, указывает, что, несмотря на то, что процессы взаимодействия азотфиксирующих бактерий и бобового растения достаточно полно представлены в литературе, однако отдельные вопросы, касающиеся механизма передачи связанного азота растениям, изучены не достаточно и поэтому не перестают быть актуальными. Кроме того, поскольку азот, фиксированный в клубеньках бобовых, играет важную роль в азотном балансе агроценозов и естественных экосистем, этот процесс имеет большую практическую значимость.

Более того, в последние десятилетия появились различные аспекты изучения бобово-ризобиального симбиоза, касающиеся генетики симбиотической азотфиксации, эволюции симбиоза, структурно-функциональных особенностей бобово-ризобиального симбиоза.

Однако, «несмотря на большое количество данных накопленных при изучении генетического контроля симбиотической азотфиксации как со стороны растения- хозяина, так и микросимбионта» (Наумкина, 2007), вопрос о путях экзогенной регуляции бобово-ризобиального симбиоза остается открытым. Эти исследования необходимы для разработки научно-обоснованного применения биопрепаратов и регуляторов роста на бобовых растениях в растениеводстве, за счет биорегуляции симбиотической азотфиксации, способствующей повышению эффективности бобово- ризобиального симбиоза.

Поэтому в своей работе мы использовали биопрепараты и регуляторы роста, как факторы экзогенной регуляции.

При инфекции растений клубеньковыми бактериями важную роль играют вырабатываемые микроорганизмами фитогормоны (Yanofsky et al., 1985), поэтому в следующем разделе мы остановимся на вопросе о роли фитогормонов для бобового растения.

ГЛАВА 2 РОЛЬ ФИТОГОРМОНОВ В ФОРМИРОВАНИИ БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА

Особое место в регуляции взаимоотношений бобовых растений и клубеньковых бактерий занимают фитогормоны – ауксины, цитокинины и фенольные соединения. Роль этих веществ в растениях заключается в обеспечении последовательности процессов морфогенеза и координации функциональной активности целого организма, в том числе и его реакций на внешние воздействия. Их участие в образовании и развитии бобово-ризобиального симбиоза не вызывает сомнений, хотя исследовано в меньшей степени. В бобово-ризобиальном симбиозе особое место занимают именно растительные фитогормоны (Новикова, 2004). Ряд исследователей отводят существенную роль ростовым веществам в процессе инфицирования корневой системы бобовых клубеньковыми бактериями (Шильникова, Тагиев, 1969; Каладжанян, 1970; Мишустин, Шильникова, 1973; Сабельникова, 1979, 1983;

Груодиене, 1980; Акимова и др. 2002, 2005; Цыганова, Цыганов, 2012; Иванова, Цыганов, 2014). Поэтому, несомненно, этот вопрос имеет важное теоретическое и прикладное значение. Его решение дает возможность выяснить оптимальные условия инфицирования и образования клубеньков, процессов, в значительной степени предопределяющих активность симбиотической азотфиксации и успех нитригинизации. В настоящее время доказано (Кулаева, 1973; Кефели, 1974, Чайлахян, 1984; Дерфлинг, 1985; Муромцев, 1987, Якушкина, 1989; Курапов, 1999, Новикова, 2004), что ростовые процессы в клетке и всего растительного организма регулируются деятельностью эндогенных регуляторов роста, среди которых особая роль принадлежит фитогормонам. Клубеньковым бактериям свойственна способность, синтезировать биологически активные вещества фитогормональной природы. Положительное воздействие клубеньковых бактерий на рост и развитие бобового растения, особенно в начальный период вегетации, связывается со снабжением его продуктами жизнедеятельности ризобий, так как

известно, что в ряде случаев молодое растение не в состоянии полностью обеспечить свои потребности в биологически активных веществах. В процессе формирования симбиотических клубеньков при взаимодействии бобового растения и ризобий, важная роль «со стороны растения принадлежит системе гормональной регуляции, в которую вовлечены все классы фитогормонов, выявленные у растений» (Романов, 2009; Цыганова, Цыганов, 2015). Известный английский писатель Г.Уэллс описал фантастическую страну, в которой бродили животные диковинных размеров, а растения росли прямо на глазах, достигая колоссальной высоты. Живые существа питались здесь «пищей богов», которая и была причиной невиданного расцвета и роста органического мира. В настоящее время доказано существование веществ, сильно влияющих на рост и развитие растений. Это растительные гормоны – фитогормоны («фито» - растение, «гормон» - возбуждаю, двигаю) – низкомолекулярные химические соединения, синтезируемые в очень малых количествах в определенных клетках и тканях и выполняющие регуляторную функцию в процессе роста и развития растения. В настоящее время признано, что фитогормоны являются внутриклеточными сигнальными молекулами, которые осуществляют свои функции активно «взаимодействуя» как между собой, так и с другими сигнальными молекулами (Мамаева и др., 2015). «Фитогормоны – важные сигнальные молекулы, участвующие в большинстве физиологических процессов в растениях. Очевидно, что они играют важную роль в инициации, развитии и функционировании симбиотических клубеньков» (Цыганова, Цыганов, 2015). В развитии симбиотического клубенька принимают участие все группы фитогормонов (Ferguson V.J., Mathesius U., 2014). Был выделен также новый фитогормон – фузикоцин – продукт метаболизма гриба, который является одним из наиболее известных активаторов АТФ-фазы и проявляет антистрессовую активность (Муромцев, 1984). Синтез фитогормонов является менее изученным механизмом стимулирующего действия микросимбионтов на растения (Тихонович, Проворов, 1998, 2009). Способность синтезировать значительные количества

ауксинов и цитокининов наиболее подробно изучена у фитопатогенных бактерий, образующих у растений опухоли (агробактерии, псевдомонады). Выявлена эта способность и у ризобий, причем, иногда изменения их системы синтеза фитогормонов могут повышать активность симбиотической азотфиксации (Kuukendall, Hunter, 1992).

Имеются экспериментальные данные о том, что стимуляция развития растений некоторыми PGPR-бактериями (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) связана именно с синтезом фитогормонов (Okon et al., 1995). Таким образом, ростовые соединения, продуцируемые микроорганизмами, являются химическими медиаторами, отличающиеся особым воздействием на симбиотическую систему в процессе онтогенеза и играющие важную роль в образовании клубенька.

2.1 Влияние ауксинов

Наиболее изученным из фитогормонов, регулирующих симбиотические отношения, является ауксин. Ауксин – от греческого слова «*αἰχμη*», что означает «рост». Все известные в настоящее время ауксины принадлежат к производным индола. Наибольшее значение среди них имеет индолил-3-уксусная кислота (ИУК), выделенная и идентифицированная в 1934г. датским химиком Kögl. Набор ауксинов не ограничен только индольными соединениями, родственными индолилуксусной кислоте, т.к. есть ауксиноактивные соединения иной структуры (фенилуксусная кислота, кампестерол). Большинство биохимиков считает, что биосинтез ИУК идет из триптофана, который в свою очередь, образуется из шикимовой кислоты через ряд метаболических этапов.

Ауксины обладают поливалентностью, т.е. оказывают влияние на многие стороны обмена веществ: усиливают синтез нуклеиновых кислот и белка, повышают интенсивность дыхания, регулируют активность ряда ферментов. Они вызывают в растении весьма разнообразные физиологические эффекты: рост клеток растяжением, деление клеток, например, камбия, дифференцировку

ксилемы, способствуют увеличению объема клеток со слабо выраженной полярностью, росту пыльцевых трубок, разрастанию околоплодника и образованию партенокарпических плодов, препятствуют опаданию листьев за счет торможения образования отделительного слоя, способны индуцировать корнеобразование на стеблевых черенках (ризогенез).

Механизм действия ауксинов связывают с работой АТФ-азной протонной помпы в клеточной мембране. Согласно исследованиям В.В.Полевого, ауксины создают гиперполяризацию мембран, т.е. увеличивают трансмембранный потенциал ($\Delta\mu\text{H}^+$).

Ауксин, по-видимому, увеличивает скорость потока электронов, что приводит к усилению синтеза АТФ. $\Delta\mu\text{H}^+$ на мембране может образоваться и за счет распада АТФ в результате действия АТФ-фазы. Имеются данные, что ИУК активизирует АТФ-азу, локализованную в плазмалемме. Это может быть причиной активизации выхода протонов (H^+ - помпа). Специфичность действия ауксина, как активатора протонной помпы, достигается наличием рецепторов, которые избирательно концентрируют молекулы ауксина в определенных участках мембраны, что позволяет гормону регулировать работу электронно-транспортной цепи. Таким образом, ауксины способствуют нормальному росту клеток путем регуляции растяжения клеточных стенок, кроме того, активированный ауксином H^+ - насос играет важную роль в процессах жизнедеятельности растения.

Ризобии могут синтезировать ростовые вещества фитогормональной природы – ауксины. Так, штаммы *R.meliloti* активно продуцируют ряд ростовых веществ, в том числе индольной природы, из которых идентифицированы индолил-3-уксусная кислота и индолацетонитрил. Клетки *R.leguminosarum* активно превращают L- триптофан в индольные ауксины, индолил-3-уксусную кислоту, а также потенциальные её предшественники ИПВК, индолил-3-гликолевая, индолацетальдегид и индольное соединение с Rf 0,28. Все они проявляют высокий ростстимулирующий эффект, что указывает на их возможное участие в реализации ауксиновой активности этого вида ризобий

(Сабельникова, 1973). В результате исследований В.И.Сабельниковой с соавт. (1983) было сделано предположение, что ризобии способны синтезировать ростстимулирующие вещества индольной природы не только в искусственных условиях при культивировании на питательных средах, но и в естественной среде обитания в ризосферном и прикорневом слоях почвы, где донором триптофана могут быть растение и многочисленные ризосферные микроорганизмы. Образование индольных соединений при этом должно положительно сказаться на развитии растений, инфицировании корневой системы бобовых клубеньковыми бактериями, возможно, и жизнедеятельности почвенных микроорганизмов.

Установлено (Лобанок, 1992), что в корневых клубеньках гороха количество ИУК значительно выше, чем в корнях: для гороха в 40-60, для люпина жёлтого в 3 раза. Концентрация ИУК в клубеньках зависит от эффективности штамма. ИУК локализуется в тканях растения - хозяина и не содержится в клетках ризобияльного эндофита и окружающих их мембранах (Груодиене, 1980). Стимуляция роста в длину и увеличение сухой массы при внесении гетероауксина проявляется у инокулированных и неинокулированных растений (Шильникова, Тагиев, 1969), особенно в отношении вирулентных и активных штаммов.

При изучении действия гетероауксина на рост ризобий была выявлена связь между соотношением концентраций гетероауксина, титром и продолжительностью лаг - фазы клубеньковых бактерий (Лобанок, 1992). ИУК в концентрации 0,6-1 мг/л ускорял рост колоний и сокращал продолжительность лаг - фазы *Rhizobium phaseoli*, особенно чётко при концентрации 0,5-2 мг/л (Груодиене, 1977). В данных работах отмечено, что стимулирующий эффект ИУК в большей степени проявляется на увеличении размеров клеток, в меньшей на их делении, только на агаризованной среде и в зависимости от особенностей штамма. Прирост биомассы клубеньковых бактерий фасоли, люпина, гороха на жидкой среде незначителен, а при концентрации ИУК выше 10^{-5} М наблюдается ингибирование развития клеток.

Ряд исследователей считают, что *Rhizobium* активно синтезирует ауксины и ауксиноподобные вещества. Н.А.Красильников (1958), изучая способность продуцировать β - ИУК у 12 видов клубеньковых бактерий, в том числе специфических к клеверу, люцерне, фасоли, вике, чечевице, медунице, гороху, экспарцету, сое, люпину, показал, что они либо не образуют, либо синтезируют его в незначительных количествах. Высказывается предположение, что ауксин растение получает от микросимбионта и что клубеньки на корнях бобового образуются под действием биологически активных веществ, синтезируемых ризобиями.

Так, из 60 штаммов люцерны только 9 образовывали гетероауксины. По данным автора, способность продуцировать ауксины не является видовым признаком клубеньковых бактерий. В то же время разные штаммы одного и того же вида в этом отношении сильно отличаются друг от друга. К.Оплитилова, V.Vancur (1983) установили способность клубеньковых бактерий гороха синтезировать β - ИУК. М.Х.Чайлахян с соавт. (1985) показали присутствие ауксиноподобных и гиббереллиновых веществ в «выделениях» вирулентных и активных штаммов клубеньковых бактерий фасоли, клевера, конских бобов, вики, экспарцета. Исключение составляли клубеньковые бактерии люцерны.

Присутствие ростстимулирующих веществ при выращивании некоторых видов и штаммов *Rhizobium* установили Kynar, Dule (1982). В некоторых работах, проведено сопоставление активных и малоактивных штаммов клубеньковых бактерий по их способности, синтезировать ИУК. Так, Е.Н. Мишустин, В.К. Шильникова, (1973) показали, что активные штаммы продуцируют ауксин интенсивнее малоактивных. Способность к активному синтезу ИУК выявлена В.Д.Тагиевым (1970) только у эффективных штаммов люцерны, тогда как у малоактивных автор её не наблюдал. В.Д. Таркшвили (1971) установил, что многие из 40 штамма *R.phaseoli*, *R.meliloti*, *R.japonicum* – активные продуценты ростовых веществ, но корреляции между синтезом ауксинов и эффективностью штаммов не обнаружил. М.Х.Чайлахян и

Н.Л.Каладжян (1972) хроматографически доказали для 22 активных и малоактивных штаммов клубеньковых бактерий гороха и сои способность синтезировать ауксины. Различий между активными и неактивными штаммами не установлено.

Известно, (Thimann, 1936; Stowe, 1959; Kefford, 1980; Khanifah, 1968; Erdmann, Schiewer, 1971; Кефели, 1974, 1994; Муромцев, 1976) что триптофан – предшественник ИУК не только у высших растений, но и у микроорганизмов. О.И.Бершова (1991) установила, что клубеньковые бактерии в присутствии триптофана активнее синтезируют индолил-3-уксусную кислоту. Так, из 7 видов *Rhizobium* в отсутствие предшественника только *R.phaseoli*, *R.trifolium*, *R.meliloti* синтезировали β - ИУК, в присутствии – все семь. Превращение триптофана *Rhizobium* и синтез индольных соединений подробно изучены Rigaud (1970). Имеются предположения, что клубеньковые бактерии получают триптофан из корневых выделений бобовых, которые экзосмируют в ризосферный слой почвы значительные количества аминокислот, в том числе и триптофан.

Синтез ИУК в прикорневом слое почвы осуществляется сравнительно легко, так как среди продуктов экзосмоса корневой системы бобовых всегда присутствует триптофан. При этом ИУК может образовываться в корневой системе бобового растения и за счет деятельности клубеньковых бактерий. Было показано, что ризобии – активные синтетика гетероауксина (Калниныш, 1968, 1988). Наличием β - ИУК объясняют искривление корневых волосков – «ворот инфекции». Одним из первых наблюдал изменение формы корневых волосков под действием ИУК Thornton (1962), утверждающий, что это явление – необходимое условие инфицирования. Аналогичный факт наблюдали и другие исследователи (Kefford, 1970; Nutman, 1982; Lie, Hubbel, 1989; Phaik, Vincent, 1999).

Источником ИУК в момент инфицирования растения служат не только растения, выделяющие через корневую систему триптофан, который многими видами бактерий, в том числе клубеньковыми, может переводиться в β - индолилуксусную кислоту, но и сами клубеньковые бактерии, а возможно и

другие виды почвенных микроорганизмов, обитающие в зоне корня. Количество ИУК, образующейся таким путём, незначительно. И хотя известно, что для проявления каталитических функций ИУК (Полевой, 1986) требуются именно ничтожные её количества, по-видимому, все же увеличение её концентрации в зоне корня до определённого предела может стимулировать процесс инфицирования бобового растения клубеньковыми бактериями (Тагиев, 1966; Сабельникова, 1983).

При внедрении ризобий в корневую систему макросимбионта первостепенное значение принадлежит ИУК (Мишустин, Шильникова, 1973; Волобуева, 2007, 2009, 2011-2018). Высокий уровень ауксинов в зоне активного инфицирования, определяет растяжение клеток растения-хозяина и способствует внедрению клеток ризобий в ткань корня. Одна из теорий проникновения клубеньковых бактерий в корень растения (так называемая ауксиновая гипотеза) базируется на предположении, что клубеньковые бактерии проникают в корень, благодаря стимуляции синтеза ИУК из триптофана. Однако реакция искривления корневых волосков высокоспецифична по бактериальному тесту и неспецифична по ауксину. В то же время есть данные (Шильникова, 1975), что гетероауксин в концентрации 0,0005% повышает вирулентность ризобий и усиливает образование клубеньков.

Первым видимым проявлением инфицирования является скручивание корневых волосков. Наиболее высокое содержание ИУК и его предшественника триптофана, наблюдается в зрелых клубеньках, что совпадает с фазой цветения растений и коррелирует с максимальным уровнем азотфиксации.

При формировании клубеньков на корнях бобовых растений пролиферация клеток под влиянием *Rhizobium* обычно начинается на расстоянии 1-2-х клеточных слоев от конца инфекционной нити (Мишустин, Шильникова, 1973). Первый фитогормональный импульс осуществляется ауксинами (Шильникова, Тагиев, 1969). Возможно, происходит конверсия триптофана в β - ИУК, оказывающая на все жизнедеятельные ткани растения активное гормональное

воздействие. В дальнейшем основную формативную функцию приобретают зоны активного функционирования меристем в местах возможного образования боковых корней. Вместе с тем известно, что и цитокинины, синтезируемые клубеньковыми бактериями играют важную роль в пролиферации клубеньковой ткани (Кулаева, 1973; Vysotskaya L.V et al., 2001; Hwang I, et al., 2006).

По мнению ряда авторов (Stenz, 1982; Fähræus, Ljunggren, 1998), обнаружена ИУК у бобового растения, инокулированного неактивным штаммом ризобий. В этих условиях деформации корневых волосков и образования клубеньков не происходило. Авторы предполагали участие ИУК в росте инфекционной нити за счет локального её синтеза клетками *Rhizobium*. Накопление ИУК во внешней среде не давало эффективного роста, а высокая концентрация ИУК подавляла образование клубеньков. Итак, вопрос об участии β - ИУК в инфицировании корневых волосков клубеньковыми бактериями сложен, и объяснить инфицирование корневых волосков только действием ИУК нельзя.

При обработке гетероауксином инокулированных растений гороха и люцерны клубеньки образуются на 2-3 суток раньше, чем у необработанных (Лобанок, 1992). Количество клубеньков на растениях при двойной обработке значительно увеличивается. Однако, оценивая этот эффект вне зависимости от биостимуляции, следует иметь в виду, что новообразование клубеньков тормозится латеральной меристемой клубеньков и корня. У активных клубеньков функции меристемы сохраняются в течение более длительного времени и поэтому формирование новых клубеньков задерживается. Далларт считает, что ИУК играет важную роль в генезисе клубенька.

По данным R.Kupert (1970), концентрация ауксинов в растениях гороха в стерильных условиях, уменьшалась. Кретович с соавт. (1972), изучая влияние инокуляции семян люпина эффективными и неэффективными штаммами ризобий на синтез ИУК в клубеньках и корнях растений, установили, что клубеньки люпина во всех вариантах содержат ИУК, количество которой увеличивается по мере развития растений до фазы образования бобов. В клубеньках, образованных при инокуляции эффективным штаммом, содержание

ИУК больше, чем образованных при инокуляции неэффективным штаммом.

Обработка семян и надземных частей препаратом ИУК улучшает рост, стимулирует усвоение и редукцию нитратов, повышает содержание азота у фасоли и люцерны, растущих с клубеньковыми бактериями на субстрате со сниженной нормой связанного азота. Полив и опрыскивание бобовых растений раствором ИУК интенсифицирует фиксацию азота в клубеньках (Груодиене, 1971, 1974, 1977).

При обработке растений ИУК повышается интенсивность фотосинтеза, с которым связан и процесс симбиотической фиксации молекулярного азота. По данным О.Н.Кулаевой (1975), ИУК стимулирует синтез белка у растений.

J.Dullaatr (1970) установил, что клубеньковые бактерии стимулируют образование в клубеньках ферментов, ответственных за синтез гетероауксина. Ещё раньше было установлено (Thimann, 1936; Link, 1837), что в клубеньках бобовых растений среди других ростовых веществ преобладает индолил-3-уксусная кислота, количество которой здесь больше, чем в корнях. J.S.Pate (1998) показал, что концентрируется она в средней части клубенька, где наиболее активно осуществляется фиксация азота.

Синтетическая ИУК, особенно совместно с клубеньковыми бактериями, активизирует развитие растений и образование клубеньков, снижает степень потребления кислорода клетками ризобий (Тагиев, 1965). Гетероауксин активизирует процесс образования клубеньков у гороха и люцерны, особенно в концентрации 0,0005%; стимулирует развитие растений при совместной обработке семян 0,005%-ным раствором ИУК и активными штаммами клубеньковых бактерий; совместное применение β - ИУК и неактивных штаммов клубеньковых бактерий практически эффекта не дает (Шильникова, Тагиев, 1969). Авторы предполагают, что ИУК влияет на вирулентность ризобий. Активная симбиотическая система бобовых растений более интенсивно синтезирует ИУК, чем малоактивная.

М.Х.Чайлахян, Р.П.Арутюнян (1968) показали, что гетероауксин стимулирует образование клубеньков. Обработка бобовых растений после

формирования 6-7-го листа β - индолилуксусной и α - нафтилуксусной кислотами путем опрыскивания надземной части, а также совместное внесение с питательной средой в условиях гидропоники, имеет восприимчивость к инфицированию клубеньковыми бактериями, интенсифицирует образование клубеньков, повышает процентное содержание азота в органах растений (Арутюнян с соавт., 1975).

М.Х.Чайлахян, Н.Л.Каладжян (1970) сравнили содержание ауксинов, гиббереллинов и фенольных соединений в листьях, корнях и клубеньках растений сои и фасоли, инокулированных и неинокулированных клубеньковыми бактериями. В экстрактах из листьев и корней инокулированных и неинокулированных культур сои, фасоли обнаружены ауксиноподобные вещества и ингибиторы фенольной природы – катехин, флавоноиды, флавоноиды гликозидов и фенольные кислоты. В листьях и корнях инокулированных растений их больше, ингибиторов меньше, чем в контрольных вариантах. В клубеньках также синтезируются и ауксиноподобные вещества, и ингибиторы, но, как и в листьях и в корнях инокулированных растений, стимуляторы роста преобладают над ингибиторами.

В.И.Сабельникова с соавт. (1979, 1983) установила, что клубеньковые бактерии индуцируют синтез физиологически активных соединений в бобовом растении, положительно влияют на ростовые процессы. Очевидно, что в регуляции роста растений ведущую роль играют не одно, а несколько веществ фитогормональной природы, которые, вероятно, связаны еще и с деятельностью ряда других негормональных веществ. ИУК накапливается особенно в больших количествах в клубеньках, что, возможно, имеет отношение к их формированию. Ею же было установлено, что инокуляция семян бобовых клубеньковыми бактериями активизирует не только симбиотическую азотфиксацию, но и способствует большому накоплению в растениях индольных соединений, в первую очередь – индолил-3-уксусной кислоты, особенно её свободной формы.

Итак, ауксины разносторонне влияют на клубеньковые бактерии и

симбиотическую систему бобового растения. С одной стороны, ауксин повышает вирулентность штаммов, то есть способность их проникать в ткани корня, размножаться в них и вызывать образование клубеньков. Если штамм активен, то удлинение активной деятельности ризобий в клубеньках в присутствии ауксина или его синтетического аналога – Корневина, повышает эффект бактериализации. В том случае, если штаммы неактивны или малоактивны, то хотя период их функционирования в клубеньках и удлиняется в присутствии гетероауксина или Корневина, эффект бактериализации при этом практически отсутствует. С другой стороны, существенная роль ИУК в интенсификации процесса фотосинтеза может служить одним из объяснений стимулирующего действия фитогормонов на рост, формирование клубеньков и накопление азота у бобовых растений.

В определённой концентрации ИУК может стимулировать азотфиксирующую активность.

Следует отметить, что ауксин действует на симбиотические взаимоотношения бобовых растений с клубеньковыми бактериями в сочетании с другими биологически активными соединениями. Примером такого взаимодействия является участие ИУК наряду с цитокининами. Обнаружено, что ауксин и цитокинины, секретлируемые *Rhizobium*, оказывают «триггерное» действие на деление коровых клеток корня (Проворов, 2009; Волобуева, 2014).

2.2 Влияние цитокининов

Некоторые микроорганизмы синтезируют соединения, оказывающие сильно стимулирующее действие на деление растительных клеток. Эта группа стимуляторов роста получила название «кинины» (Кулаева, 1973). Они обнаружены и у некоторых бактерий родов *Rhizobium*, *Corynebacterium*, *Agrobacterium* (Медведев, 2004). Отмечена способность продуцировать цитокинины бактериями *Bacillus subtilis* (Архипова и др., 2015).

Все известные природные цитокинины являются производными пурина и обладают сходным строением. Это производные пуриновых азотистых оснований, а именно аденина, у которого в положении 6 – NH₂ – группы

имеется боковая цепь. Замещающая группа может содержать кольца различного строения, как в кинетине (6-фурфуриламинопурин), в БАП (6-бензиламинопурин) или нециклический радикал, как в природном цитокиnine зеатине (изопентениладенин).

По-видимому, в каждом растении имеется несколько цитокининов. Способность последних регулировать деление клеток часто проявляется в культуре изолированных тканей (Scoog, Miller, 1987). По некоторым данным, цитокинины синтезируются преимущественно в корнях. В последнее время появляются сведения о том, что данный процесс идёт и в других органах растений.

Биосинтез цитокининов может происходить двумя путями: 1) путем конденсации аденина и изопентенилпирофосфата, который образуется из мевалоновой кислоты; 2) за счет разрушения (гидролиза) тРНК.

Цитокинины обладают полифункциональностью и характер их действия на растения во многом зависит от их концентрации (Mok, 1994; Taiz, Zeiger, 2002).

Механизм действия цитокининов связан с активизацией синтеза РНК и белка в клетке, что приводит к возрастанию активности ряда ферментов, связанных с регуляцией биосинтеза РНК и белка, окислительными процессами, реализацией запасных веществ, формированием хлоропластов. Под действием цитокининов увеличивается число полисом и уменьшается рибосом (моносом), не участвующих в синтезе белка. Данные литературы (Ломин, Романов, 2008) свидетельствуют в пользу образования гормон - рецепторного комплекса, как ответной реакции клетки на действие фитогормона. Наиболее перспективным направлением в установлении молекулярного механизма действия цитокининов является поиск белков – рецепторов для них. Имеется предположение, что молекулы зеатина идеально вписываются в двойную спираль ДНК и, влияя на её структурное и функциональное состояние, проявляют своё регуляторное действие. В последнее время механизм действия цитокининов «связывают с трансдукцией цитокининового сигнала, в котором участвуют не только элементы двухкомпонентной системы бактериального типа,

но и компоненты систем эукариотического типа, в том числе связанных с активностью фосфолипазы группы D» (Романов, 2009).

Показано, что для формирования клубеньков необходимо локальное повышенное соотношение цитокининов и ауксинов. Оно связано с поступлением из проводящей системы фактора вблизи сайтов закладки клубеньковых примордиев. Поэтому обработка корней цитокининами или ингибиторами биосинтеза (транспорта) ауксинов может вызвать образование клубеньков в отсутствие ризобий (Boot et al., 1999).

Имеются данные, указывающие на способность клубеньковых бактерий, синтезировать вещества цитокининовой природы (Пиневиц, 2007), а процесс образования клубеньков связывают с синтезом в них цитокининов (Овцына, Тихонович, 2004). Однако если ауксины способствуют внедрению ризобий в корень, то цитокинины свою основную роль, очевидно, выполняют уже при образовании структур клубенька. Клубеньковые бактерии – активные синтетики цитокинина, особенно высоковирулентные штаммы. Самым типичным эффектом цитокининов является стимуляция клеточного деления. «Многие эффекты цитокининов на организменном уровне, например образование сосудистых тканей в корнях, обусловлены их способностью, стимулировать деление определенной группы клеток- предшественников» Наиболее наглядно это отмечается в культуре изолированных клеток и тканей (каллусе). Однако индукция деления клеток под влиянием цитокининов происходит только в присутствии ауксина (Полевой, Саламатова, 1991).

Цитокинины регулируют рост растяжением изолированных листьев и семядолей (Кулаева, 1987, Kieber, Schaller, 2013). Тесное взаимодействие между цитокинином и ауксином характерно также для процессов дифференцировки. Так, при сравнительно высоких дозах цитокининов, по сравнению с ауксинами в каллусе идет дифференцировка почек, а при противоположном соотношении этих гормонов – корней. Цитокинины снимают апикальное доминирование, способствуют пробуждению и росту боковых почек. Цитокинины задерживают старение растений. Наглядно это показано на

листьях. Изолированные листья быстро начинали желтеть, так как из корней не поступали цитокинины. Экзогенный цитокинин не только задерживает распад хлорофилла и белка, но и стимулирует их синтез (омолаживающий эффект). Такой же эффект наблюдается и при укоренении изолированных листьев. Ткани, обогащенные цитокининами, обладают аттрагирующей способностью, привлекая на себя транспорт веществ. Цитокинины регулируют процесс фотосинтеза. Это происходит разными способами. Цитокинин активирует синтез всех типов РНК в ядре, синтез белков и функциональную активность мембран.

В исследованиях Phillips, Torrey (1980, 1992) отмечается «повышенная» способность высоковирулентных штаммов клубеньковых бактерий продуцировать цитокинины. По их мнению, эти соединения играют важную роль в формировании клубеньков. Авторы установили способность *R. japonicum* и *R. leguminosarum* экзосмировать в среду цитокинины в количестве, достаточном для индуцирования деления корковых клеток корней сои и гороха, ведущих к образованию клубеньковой ткани.

Добавление изопентениладенина в среду, где выращивали растения фасоли *Phaseolus vulgaris*, вызывает морфологические изменения в корнях, аналогичные тем, которые сопутствуют инокуляции клубеньковыми бактериями *Rhizobium* (Мишке, 1988). В молодых клубеньках гороха была выявлена высокая цитокининовая активность. Нахождение активных цитокининов и ауксинов в местах заражения клубеньковыми бактериями, послужило обоснованием предположения о том, что фитогормоны играют определенную роль в механизме деления клеток поверхности корня. В среде, где культивировали *R. leguminosarum* обнаружено 3 цитокининовых соединения, одно из которых идентифицировали по Rf. Впоследствии соединения, близкие по свойствам к цис-зеатину и цис-зеатинрибозиду, были выделены из культуральной жидкости *R. japonicum* (Phillips, Torrey, 1980; 1992). Максимум цитокининов наблюдался в стационарной фазе роста (1 кинетин-эквивалент на 1л среды) другими исследователями (Ротберг, 1975; Зикманис с соавт., 1977). Сабельникова В.И.

установила, что клубеньковые бактерии синтезируют ряд пуриновых соединений, среди которых наибольший интерес представляют вещества, концентрирующиеся в зоне с R_f 0,32-0,44; 070-0,87. В чистых культурах ризобий в жидкой среде влияние кинетина на прирост биомассы нестабильно – стимулирующий и ингибирующий эффект различен в зависимости от особенностей штамма (Груодиене, 1980).

В опытах Газаль (1985) кинетин стимулировал развитие ризобий сои и люпина и не влиял на развитие клубеньковых бактерий гороха и фасоли, в опытах Я.П.Груодене (1989) значительно усиливал биохимические процессы быстрорастущих ризобий. У клубеньковых бактерий фасоли на среде с ИУК, и особенно с кинетином повышалась нитратредуктазная активность и активность окислительно-восстановительных ферментов. ИУК и кинетин, практически не влияя на размножение ризобий фасоли, но длительное время поддерживали жизнеспособность культуры (Груодиене, 1989).

Эффект цитокинина в отношении ризобий усиливается в присутствии гетероауксина (Kefford, 1983, Лобанок, 1992). Экзогенный цитокинин вызывает морфологические изменения в корнях на начальных этапах процесса инфицирования. Морфологические модификации корней стерильных растений в присутствии синтетических цитокининов сходны с изменениями, наблюдаемыми при инокуляции ризобиями.

Итак, клетки клубеньковых бактерий способны синтезировать цитокинины. Так, *Rhizobium japonicum* в условиях *in vitro* продуцирует цитокинины в количествах, необходимых для провокации деления клеток корня растений при образовании клубеньков. Цитокининовая активность положительно коррелирует с митотическим индексом меристем гороха. В 3-недельных клубеньках в меристематической зоне активность цитокинина высокая, в бактериоидной ткани – умеренная. С возрастом клубеньков она снижается. В 4-недельных клубеньках обнаруживается только 10-я часть общей активности (Лобанок, 1992).

Ауксин и цитокинины, продуцируемые клубеньковыми бактериями внутри

инфекционных нитей, стимулируют деление коровых клеток корня при образовании клубеньков (Phillips, 1992). В клубеньках фасоли присутствует цитокинин β - изопентениладенин, в клубеньках гороха и бобов – зеатин и его рибозид (Лобанок, 1992).

По данным В.И. Артамонова (1975), обработка раствором кинетина увеличивает число клубеньков на корнях люцерны, гороха и фасоли, а масса у гороха и фасоли в 2 и в 5 раз больше по сравнению с контролем. Эффект кинетина зависит от его концентрации и сорта бобовой культуры. Цитокинины играют определённую роль не только при инокуляции, но и на следующих этапах развития растений (Кукайнен, 1974, Лобанок, 1992). Так кинетин может увеличивать содержание белка в семенах фасоли за счёт небелкового азота. Была установлена зависимость влияния кинетина и от способа обработки растений. При обработке семян фасоли масса клубеньков увеличивается на 66,7%, а при опрыскивании надземной части – на 88%. Замачивание семян в растворах цитокинина повышает азотфиксирующую активность клубеньков растений. На основе смеси цитокининов в настоящее время изготовлен препарат «Барет», который при опрыскивании зернобобовых культур в дозе 0,26 - 1,4 л/га стимулирует рост корней и проявляет антистрессовое действие (Груодиене, 1980).

Цитокинины, как и ауксины, влияют на функционирование симбиотической системы посредством интенсификации процесса фотосинтеза, а также на формирование клубеньков. Образование последних, возможно лишь при наличии полиплоидных клеток в коре корня, индуцируется кинетином – отсюда и его влияние на формирование повышенного количества клубеньков у бобовых растений (Лобанок, 1992).

Клубеньковые бактерии синтезируют цитокинины, которые играют важную роль в образовании клубеньков и оказывают влияние на азотфиксирующую активность бобовых растений.

2.3 Влияние гиббереллинов

Другую группу фитогормонов составляют гиббереллины (GA_3), представляющие несомненный интерес для сельского хозяйства. Это группа химически близких соединений, отличающихся функциональными группами. Гиббереллины относятся к классу дитерпеноидов. Это тетрациклические карбоновые кислоты дитерпеноидной природы. Их молекулы состоят из четырех изопреновых остатков, которые образуют кольца. В настоящее время известно более 110 гиббереллинов (Билова и др., 2016). Считают, что практически весь спектр гиббереллинов можно обнаружить в грибных культурах, при этом для каждой из них имеется специфический набор этих гормонов (Медведев, 2012).

Замечательным свойством гиббереллинов является их способность стимулировать рост и развитие растений (Муромцев, 1987).

Гиббереллины участвуют в регуляции фотосинтеза (Якушкина, Пушкина, 2005). Этот фитогормон индуцирует синтез специфических РНК и белков, способствует увеличению содержания ауксина, усиливает синтез фосфолипидов мембран.

Что касается механизма действия гиббереллинов, то хотя большинство авторов объясняют действие гиббереллина влиянием на синтез РНК и белка, известно, что гиббереллин A_3 повышает активность α - амилазы раньше, чем активизирует синтез РНК. Гиббереллины оказывают влияние на свойства мембран. Они активизируют синтез мембран, особенно эндоплазматического ретикулума (ЭПР), стимулируют образование из ЭПР микротелец, содержащих гидролитические ферменты, стимулируют выделение амилазы через плазматическую мембрану. Предполагается, что воздействие на лизосомные мембраны – один из главных механизмов действия гиббереллинов (Полевой, 1982; Медведев, 2012).

Существовала гипотеза, что гиббереллин действует через ауксиновый обмен (Полевой, 1982).

Роль гиббереллиноподобных веществ, активно синтезируемых клубеньковыми бактериями, во взаимоотношениях с бобовыми растениями менее изучена (Волобуева, 2014), по сравнению с ИУК. Ряд исследователей (Чайлахян и др., 1961; Мишке, 1988) отмечают, что гиббереллин снижает степень образования клубеньков. В условиях гидропоники он задерживает образование клубеньков и при опрыскивании, и при внесении в среду. В опытах Р.Ш.Арутюняна с соавт. (1975) образование клубеньков при опрыскивании гиббереллином наблюдалось только на люцерне. В то же время установлено, что клубеньковые бактерии фасоли, гороха, вики, клевера, конских бобов, люцерны и других растений образуют гиббереллины A_1 , A_2 , A_5 , A_7 и другие гиббереллиноподобные вещества. Ризобии сои образуют только гиббереллины A_1 и A_7 (Мишке, 1988). Содержание гиббереллинов в клубеньках на несколько порядков выше, чем в корнях (Шумный, Сидорова, 1991). В зрелых клубеньках в сравнении с молодыми и старыми, гиббереллоподобные соединения содержатся в более высоких концентрациях. Обнаружено также (Лобанок, 1992), что в листьях и корнях инокулированных растений содержание гиббереллиноподобных веществ и активность их выше, по сравнению с неинокулированными. Накопление гиббереллиноподобных веществ в тканях растений связывают с регуляцией скорости деления, роста и развития клеток.

По данным (Fletcher et al., 1990), гиббереллин не действует на ризобии, угнетение же образования клубеньков вызвано его действием на растение-хозяина. По данным И.В.Мишке (1988), опрыскивание растений карликовой фасоли «Гибрелом» производства фирмы «Мерк» ФРГ, содержащим 0,005% калийного гиббереллата, положительно влияет на рост растений, в частности стеблей, но при этом число клубеньков снижается. А.Г. Лобанок (1992) отмечает наличие отрицательной корреляции между нитрогеназной активностью и содержанием гиббереллина в клубеньках. Экзогенный гиббереллин отрицательно влияет на образование клубеньков у бобовых растений и их нитрогеназную активность, но при этом может положительно влиять на рост растений (Лобанок, 1992).

Роль гиббереллиноподобных веществ, активно синтезируемых клубеньковыми бактериями, во взаимоотношениях с бобовыми растениями менее изучена.

Содержание этих соединений в клубеньках на несколько порядков выше, чем в корнях. Однако данных о связи между содержанием гиббереллинов и функциональной активности симбиоза малочисленны (Dullart, Duba, 1990; Williams, De Mattorca, 1992). В работе Т.И. Новиковой (2004) было показано, что гиббереллин А₃ более активно воздействует на нодуляцию и азотфиксацию растений, чем гиббереллин А₇ (Новикова, 2004).

Возможно участие гиббереллина наряду с цитокинином в стимуляции биосинтеза ИУК из триптофана. Гиббереллин также специфически повышает в тканях активность гидролаз, осуществляющих освобождение ИУК из связанных форм. Однако не исключено, что оба фитогормона обладают собственными, хотя и взаимосвязанными механизмами действия на симбиоз (Соколова, 2010).

2.4 Влияние ингибиторов роста

Среди фитогормонов-ингибиторов, выделяют абсцизовую кислоту и этилен. В последнее время к данной группе относят салициловую и жасмоновую кислоты. Ингибиторы, как и стимуляторы роста, широко представлены в природе. Они подавляют ростовые процессы, морфогенез, дифференцировку тканей, играют роль в фотопериодизме, фототропизме, модифицируют функции фитогормонов, меняя ход их биосинтеза и интенсивность разрушения (Кефели, Турецкая, 1977). Класс ингибиторов разнообразен.

Абсцизовая кислота (АБК) относится к классу терпеноидов (как и гиббереллины), является сесквитерпеном (С₁₅) и напоминает часть молекулы каротиноидов.

Существуют два пути в её биосинтезе: 1) из мевалоновой кислоты (через изопентилпирофосфат и геранилпирофосфат) и 2) путем распада каротиноидов

(через ксантоксин). Неизвестны некоторые промежуточные продукты биосинтеза АБК. Синтез АБК зависит от обеспеченности растения элементами минерального питания (особенно азотом) и водой.

Физиологическое действие АБК повалентно. АБК при повышении концентрации противодействует многим эффектам *ауксинов, цитокининов, гиббереллинов*.

АБК – гормон покоя, благоприятствует разгрузке флоэмных окончаний в местах потребления ассимилятов и синтезу запасных белков в семенах.

АБК широко распространена в растительном мире, обладает широким спектром ингибирующего действия: вызывает опад листьев, тормозит рост латеральных почек, поступление веществ в клетки, коррелирует с состоянием покоя растений (Дерфлинг, 1985; Кефели, 1994). Надо отметить, что абсцизовую кислоту называют гормоном стресса, так как её содержание может резко возрастать при многих неблагоприятных условиях среды (Медведев, 2012; Лукаткин и др. 2016).

Многие связывают ингибирующее действие абсцизовой кислоты и её аналогов с торможением синтеза нуклеиновых кислот. Этот ингибитор может выступать в роли антагониста не только какого-либо одного, а практически всех известных фитогормонов - ауксинов, гиббереллинов, цитокининов. Кроме того, он тормозит биосинтез ферментов и РНК. Установлено, что абсцизовая кислота образуется из 2-14 С-мевалоновой кислоты, превращение которой осуществляется в хлоропластах (Кефели, Турецкая, 1977).

АБК играет важную роль в эндогенной регуляции фотосинтеза. Так, было установлено (Кошкин и др., 2005), что при удалении бобов у сои содержание АБК в листе резко возрастало, а интенсивность фотосинтеза (ИФ) снижалась. ИФ листа зависит от напряжения донорно-акцепторных отношений. В период роста бобов у растений гороха была отмечена высокая ИФ у листьев, непосредственно обеспечивающих рост и развитие плодов (Кошкин и др., 2005).

Таким образом, АБК – гормон растений изопреноидной природы. Осенью накапливается в семенах и почках и тормозит их развитие. Биосинтез АБК и

гиббереллинов происходит из общего предшественника – мевалоновой кислоты, переключение системы на синтез одного из этих веществ регулируется их избытком.

В последнее время изучение абсцизовой кислоты проводится в связи со стрессовыми явлениями. В данном случае найдено значительно больше корреляции, чем в связи с действием этого вещества на процессы роста и покоя. Корреляция между количеством гормонов и скоростью роста хорошо проявляется в том, что молодые, растущие органы характеризуются высоким их содержанием. Доказано, что направление тех или иных физиологических процессов часто зависит от соотношения отдельных компонентов гормональной системы (Муромцев, 1973; Кефели, 1974, 1994).

Этилен является другим известным ингибитором роста. Этилен представляет собой бесцветный газ, хорошо растворимый в эфире, слабее в спирте и приблизительно в 5 раз лучше растворим в воде, чем кислород. Образуется этилен из серосодержащей аминокислоты метионина.

Имеются исследования, посвященные изучению влияния цитокининов на синтез этилена (Cary et. al, 1995; Tanaka et.al, 2005). В некоторых работах показано, что этилен может предотвращать накопление цитокининов и тем самым поддерживать перераспределение биомассы в пользу корней, что важно для адаптации растений к недостатку воды или ионов (Коробова, Высоцкая, Васинская и др., 2016).

Показано, что при активации этиленом сигнального пути этилена повышалась устойчивость растений *Arabidopsis thaliana* к УФ-В за счет увеличения синтеза ловушек АФК – спермидина и спермина из путресцина, накапливавшегося под влиянием УФ-В радиации (Прудникова, Ракитин, Карягин и др., 2016).

У многих растений этилен подавляет рост побегов и корней в длину с одновременным усилением роста в толщину в зоне растяжения. Это происходит за счет изменения направления роста клеток с продольного на поперечное (изодиаметрический рост клеток), что связывается с торможением

полярного транспорта ауксина. С последним связывают нарушение нормального геотропизма, то есть растение от ортогеотропного состояния переходит к латеральногеотропному росту. Наряду с влиянием на рост в длину, наиболее известными эффектами этилена являются регуляция созревания плодов, опадение плодов и листьев, ускорение процессов старения. Под влиянием этилена возрастает активность пектиназы и целлюлазы в отделительном слое плодоножек и черешков листьев. Эти ферменты растворяют клеточную стенку. В результате нарушается связь между клетками. Этилен регулирует образование адвентивных корней и корневых волосков; стимулирует цветение у растений (ананаса) и индуцирует развитие женских цветков.

Образование клубеньков может происходить при пониженном уровне этилена (Heidstra et al., 1997). Ингибиторы его синтеза стимулируют развитие дополнительных клубеньков, а мутанты с повышенной активностью клубенькообразования могут характеризоваться резко сниженной чувствительностью к этилену (Penmetsa, Cook, 1997).

В обзоре А.В.Цыгановой и В.Е.Цыганова (2015) рассмотрена роль этилена в негативной регуляции. Так показано, «что этилен негативно контролирует количество формируемых симбиотических клубеньков на различных стадиях их развития. Первый негативный эффект этилена проявляется уже на уровне кальциевых осцилляций, вызываемых действием Nod-факторов, продуцируемых ризобиями. В дальнейшем этилен негативно влияет на деформации корневых волосков, стимулируемых Nod-факторами, рост инфекционной нити, а также на развитие клубенькового примордия» (Цыганова, Цыганов, 2015). В то же время выявлено, что у сои *Glycine max* (L. Merr.) этилен не участвует в регуляции клубенькообразования

К ингибиторам роста относят также *салициловую кислоту (СК)* и *жасмоновую кислоту (ЖК)*.

Метилловый эфир ЖК интенсивно применяют для повышения устойчивости растений к различным неблагоприятным факторам внешней среды (Sasaki-Sekimoto et. al, 2005; Santino et.al, 2013). Однако данных о

влиянии СК и ЖК на бобово-ризобиальный симбиоз не найдено.

К фитогормонам относят также brassinosteroids или brassinins (Б), оказывающие влияние на многие метаболические процессы в растении, в частности они стимулируют *ростовые процессы*.

Считают, что экзогенные brassinins, к которым относится препарат Эпин и Эпин- Экстра в низких концентрациях способны повышать устойчивость растений к различным неблагоприятным, стрессовым факторам окружающей среды и поэтому являются перспективными препаратами для сельского хозяйства (Хрипач и др., 1993, 1995).

Современное интенсивное растениеводство немислимо без использования регуляторов роста и биопрепаратов на основе живых клеток микроорганизмов. В этом отношении весьма перспективными могут быть регуляторы роста микробного происхождения.

Преимущество регуляторов роста микробного происхождения перед химическими удобрениями и пестицидами в том, что они проявляют комплексное позитивное воздействие на растения в малых дозах. В основе регуляторов роста микробного происхождения находятся живые клетки микроорганизмов. Поэтому они не накапливаются в окружающей среде, а легко утилизируются в ней, являясь экологически совершенно безвредными.

В процессе жизнедеятельности микроорганизмы вырабатывают разнообразные соединения, которые играют важную роль в жизни растений, животных и других микроорганизмов. Соединения, являющиеся продуктами жизнедеятельности микроорганизмов, называют микробными метаболитами.

Органические вещества разнообразной химической природы, обладающие активностью в очень малых концентрациях (0,001-0,0001 мг/л) и большой специфичностью действия, называют физиологически активными соединениями. Микроорганизмы являются богатейшим источником разнообразных физиологически активных веществ. Причем возможности микроорганизмов в этом отношении практически неисчерпаемы. В настоящее время известно большое количество микробных метаболитов и с каждым годом

исследователи открывают новые ценные соединения, которые раньше не были известны органической химии. С помощью микроорганизмов получают быстрее, проще, а главное дешевле различные вещества, применяемые в самых разнообразных отраслях народного хозяйства – медицине, пищевой промышленности, в сельском хозяйстве и т.д. Но до сих пор много важных биологически активных соединений микробного происхождения, неизвестно. Способность микроорганизмов синтезировать самые разнообразные соединения огромна и до конца не изучена.

Использование микроорганизмов и их метаболитов в основе регуляторов роста связано с особенностями их строения. Так микроорганизмы имеют более простое строение, по сравнению со строением клеток эукариот. Имеются особенности в строении генетического материала прокариот. Кроме того, микроорганизмы характеризуются большой скоростью протекания ферментативных реакций, и нарастания клеточной биомассы в единицу времени. Микроорганизмы легко приспосабливаются к среде обитания в естественных и искусственных условиях (Дятлова, 2001).

Многие микроорганизмы обладают способностью синтеза биологически активных веществ. Так ауксины и цитокинины образуют клубеньковые бактерии.

На основе отдельных групп микроорганизмов создаются биопрепараты, которые повышают устойчивость растений к заболеваниям и способствуют увеличению урожая и улучшению качества продукции.

Особенности многих бактерий образовывать микробные слизи в огромных количествах, слизистую капсулу, в состав которых входят полисахариды (декстран, ксантан) используется для приготовления пленок с целью защиты корней растений. В растворе полисахариды, входящие в состав капсул, образуют гели, при засыхании – тонкие пленки, проницаемые для кислорода, но непроницаемые для воды. Образуемые микробные слизи используют в растениеводстве для сохранения корней рассады от высыхания.

Цитокинины обнаружены среди продуктов метаболизма микоризообразователей, клубеньковых бактерий, фитопатогенов. Фузикоцин –

фитогормон, который синтезируется в растениях и регулирует ростовые процессы. Велика аналогия фузикокина с гиббереллинами. Фузикокин относится к дитерпенам. Впервые Г.С.Муромцев в 1987г. высказал предположение о гормональной природе этого соединения.

* * *

Имеющиеся в литературе данные, свидетельствуют о полифункциональном действии фитогормонов на симбиоз, что проявляется в их участии в инфицировании бобовых растений клубеньковыми бактериями, в генезисе клубеньков, в регуляции уровня азотфиксации. Все эти соединения – ауксины, цитокинины, гиббереллины, абсцизовая кислота и этилен занимают особое место в регуляции взаимоотношений бобовых растений и клубеньковых бактерий. Роль этих веществ в растениях заключается в обеспечении последовательности процессов морфогенеза и координации функциональной активности целого организма, в том числе и его реакций на внешние воздействия. Их участие в образовании и развитии бобово-ризобиального симбиоза не вызывает сомнений, хотя исследовано в меньшей степени (Волобуева, 2014). Ростовые вещества рассматривают как сигнальные молекулы.

Однако, механизмы изменения гормонального статуса растения при развитии клубеньков неясны. Возможно, синтезируемые ризобиями гормоны, по-видимому, не оказывают существенного влияния на их соотношение (Hirsch et al., 2001). Вероятно, изменение гормонального статуса корней является одним из результатов действия сигнального каскада, запускаемого Nod-факторами (Stougaard, 2000, Тихонович, Проворов, 2009).

В основе формирования и функционирования клубеньков бобовых растений лежат сложные метаболические процессы, явившиеся результатом установления регуляторных связей между бактериями и растением. Для более глубокого

понимания механизмов воздействия на систему симбиотической азотфиксации организма хозяина, необходимо знать гормональные процессы, происходящие с первых моментов взаимодействия микро - и макросимбионта, влияющие на формирование и длительность биосуществования клубеньков. Этому в частности, может способствовать изучение гормонального статуса макросимбионта и спектра биологически активных веществ, синтезируемых ризобиями, в период инфицирования бобовых растений. «Следует отметить, что редко изучается действие обработки гормонами одновременно на все органы растения. Не всегда влияние экзогенной обработки сопоставляется с изменениями эндогенного содержания гормона. В этой связи, получить четкие данные по ответной реакции организма на экзогенное воздействие гормона не представляется возможным. Это делает затруднительным эффективное применение регуляторов роста в растениеводстве» (Пузина, 1999).

Поэтому, в своей работе мы изучали влияние экзогенных факторов регуляции (биопрепаратов и регуляторов роста) на эндогенный уровень бобовых растений, с целью выяснения при этом, особенностей изменения показателей азотфиксирующей активности, роста, качества и продуктивности растений (Волобуева, 2006-2020).

Итак, важную роль в регуляции клубенькообразования играют фитогормоны - ауксины, цитокинины, гиббереллины и фенольные соединения. Роль этих веществ в растениях заключается в обеспечении последовательности процессов морфогенеза и координации функциональной активности целого организма, в том числе и его реакций на внешние воздействия. Их участие в образовании и развитии симбиотической системы бобового растения не вызывает сомнений, хотя исследовано в меньшей степени (Волобуева, 2014, 2015).

Таким образом, обзор литературы по вопросу о роли фитогормонов в формировании бобово-ризобияльного симбиоза показал, что одни группы фитогормонов (ауксины, цитокинины) изучены в большей степени, имеется много сведений об их синтезе, их влияние на формирование бобово-

ризобиального симбиоза, другие (гиббереллины, абсцизовая кислота, этилен) в меньшей степени. Однако в литературе не найдено достаточно сведений об изменении эндогенного уровня фитогормонов бобовых растений в период наиболее активной азотфиксирующей активности этих растений при экзогенном внесении регуляторов роста и биопрепаратов.

ГЛАВА 3 ЭКЗОГЕННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА

Одной из важных и мало разработанных проблем в области симбиотической азотфиксации является её гормональная регуляция. Изучение системы гормонального контроля растений дает возможность регулировать не только продуктивность сельскохозяйственных культур и сохранность урожая, но и целый ряд различных сторон метаболизма, приводящих к таким результатам, которые не могут быть достигнуты с помощью других агроприемов и методов. В последние годы возрос интерес к биопрепаратам и регуляторам роста растений.

Для бобовых растений характерна системная регуляция симбиоза, адаптивное значение которой заключается в поддержании энергетического и азотно-углеродного баланса растений, развивающихся в условиях симбиотрофного питания азотом (Тихонович, Проворов, 2009).

Внедрение в технологию возделывания сельскохозяйственных культур регуляторов роста, удобрений, пестицидов и других средств химизации направлено, прежде всего, на повышение урожайности и качества продукции. Если положительное влияние пестицидов и удобрений на урожайность известны давно, то относительно регуляторов роста столь однозначного заключения нет. Это связано с различной отзывчивостью самих культур, их сортовыми особенностями, временем применения регуляторов роста, нормой их расхода, погодными условиями и другими факторами, а также с механизмом действия самих регуляторов роста (Дорожкина и др., 2015).

В настоящее время в связи с ухудшением экологической обстановки применение минеральных удобрений все менее актуально, поэтому для формирования высокого и качественного урожая сельскохозяйственных культур сельхозпроизводители предпочитают использовать биопрепараты и регуляторы роста. Сельское хозяйство, основанное на экологически безопасных агротехнологиях, должно иметь абсолютный приоритет (Румянцева и др., 2015,

Рабинович и др., 2015).

Бобовые культуры фиксируют азот атмосферы в симбиозе с клубеньковыми бактериями и накапливают его в биомассе растений. Они служат уникальными предшественниками для выращивания зерновых, поскольку способствуют восстановлению плодородия почв за счет привнесения азота в биологически доступной форме. В настоящее время практически все страны мира отводят бобовым культурам исключительно большую роль в преодолении трудностей, вызванных дефицитом белка, энергетическим кризисом и необходимостью охраны окружающей среды.

Эффективность бобово-ризобиального симбиоза в отношении азотфиксации и урожайности бобовых культур зависит от большого количества биотических и абиотических факторов. Первые включают разнообразные свойства макросимбионта и штаммов ризобий, вторые – климатических и почвенных условий. Очень часто не все эти факторы оптимальны. Поэтому азотфиксация и урожайность бобовых редко достигают максимальных величин. Неблагоприятные внешние условия, по-видимому, чаще оказывают более сильное воздействие на эффективность симбиоза, чем отклонения макро- и микросимбионтов от максимального соответствия друг другу. Это ставит агротехнику возделывания бобовых культур в число мероприятий, которые в большей мере определяют эффективность симбиоза (Мильто, 1982). Кроме того, в бобово-ризобиальном симбиозе важная роль отводится ризобиям. Их положительное влияние на растение определяется не только способностью фиксировать молекулярный азот, но и способностью синтезировать многие биологически активные соединения (Волобуева, 2014).

В настоящее время для повышения эффективности бобово-ризобиального симбиоза используются регуляторы роста и биопрепараты. Их механизм, как системы гормонального контроля, дающий возможность сбалансировано регулировать развитие растений и обеспечивающий при правильной агротехнике наивысшую продуктивность симбиотических культур, изучается достаточно эффективно (Кефели, Прусакова, 1985; Мильто, 1982; Посыпанов,

1982, Волобуева, 1992; 1998, 2002). Вместе с тем внедрение регуляторов роста в практику сельского хозяйства, тормозится из-за отсутствия широких испытаний в полевых условиях, неясности доз и сроков обработки семян в зависимости от сельскохозяйственных культур. Поэтому, изучение возможности повышения симбиотической эффективности бобовых культур при действии биопрепаратов и регуляторов роста, представляет теоретический и практический интерес.

В своих исследованиях мы изучали влияние регуляторов роста – Эпин-Экстра, Корневина, Агростимулина, Альбита на бобово-ризобиальный симбиоз.

Ранее в своих исследованиях мы изучали влияние природного регулятора роста пара-аминобензойной кислоты (ПАБК) на бобово-ризобиальный симбиоз (Волобуева, Шильникова, 1992, 1993). ПАБК – $\text{H}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{COOH}$ – физиологически активное природное соединение, участвующее в обменных процессах растительных и животных организмов. Как составная часть фолиевой кислоты, ПАБК необходима клеткам бактерий для синтеза пуринов, тимина и ряда аминокислот, в частности глицина, серина и метионина (Рапопорт, 1983).

Механизм действия ПАБК основан на активации многих ферментов организма. Повышение активности фермента под действием ПАБК в результате образования комплекса между ними обусловлено сильным родством физико-химического потенциала ПАБК с генами, т.е. частично устраняется естественное несовершенство нормального фермента при образовании его комплекса с ПАБК. По сравнению с коферментными комплексами ПАБК включает несравненно более широкий вид сродства, поскольку она отличается высокой частотой связи с самыми различными ферментами. После образования комплексов ПАБК с многочисленными ферментами в организме сильно повышается общая ферментативная активность (Рапопорт, 1989). ПАБК выделяется высокой упорядоченностью своего действия и отсутствием образования валентных связей с ферментами в комплексе или с генетическими телами при репарации. Физико-химическая непрерывность

ПАБК в биологических условиях объясняет причину подъема ферментативного катализа в комплексе с ПАБК. В химической среде отдельные молекулы ПАБК и даже молекулы химических мутагенов неотличимы от остальных молекул, так как физико-химические потенциалы всех генетически активных тел надежно экранированы микрофизическими составляющими этих молекул. Сочетание физико-химических потенциалов ПАБК и фермента приносит массовость взаимодействия с ПАБК, которая затем определяет переход к взаимодействию с субстратом в горячей точке фермента. Исключительное свойство ПАБК при её активности в немалой степени зависит от образования молекулой ПАБК уникально симметричного диполя, которого нет в физиологических аминокислотах. ПАБК достигает самых необычных эффектов ускорения плазматического синтеза нуклеотидов и аминокислот при репарации, и крупного ускорения митотических превращений при вызванной ею фенотипической активации. ПАБК снимает извечное ограничение активности ферментов и их систем, которые по своей природной чувствительности делаются объектом разносторонней атаки отрицательных биологических, физических, химических факторов, часто действующих в одно время. Этому противостоят активированные ПАБК ферменты и мобилизация возможностей рационального земледелия.

Таким образом, благоприятный эффект на ферментативные процессы в растениях, с одной стороны, её роль как предшественника соединений, необходимых бактериям, с другой стороны, дают возможность предположить об участии ПАБК в симбиозе бобовых растений с клубеньковыми бактериями.

В исследованиях, проведенных ранее (Волобуева, Шильникова, 1992, 1993), было показано, что ПАБК способствует развитию эффективного симбиоза в концентрации 0,005 и 0,25%. Устойчивость клубеньковых бактерий гороха и люпина в чистых культурах к ПАБК существенно (в 100-1000 раз) выше, чем в условиях симбиоза. Нами была выявлена сортовая реакция растений гороха на ПАБК. Наибольшей отзывчивостью характеризовался сорт Норд. Предпосевная обработка семян растений гороха, сорт Норд ПАБК приводила к

повышению урожая на 25% (в среднем).

В опытах с растениями гороха сорта Батрак и фасоли сортов Неруса и Горналь было показано влияние ПАБК и ИУК на урожай этих растений (Волобуева, 2004). Так, под влиянием ИУК происходило повышение урожайности растений гороха сорта Батрак на 15%. Урожайность растений фасоли сорта Неруса и Горналь в большей степени повышалось при обработке растений фасоли ПАБК. Под влиянием ИУК наблюдалась некоторая тенденция увеличения урожайности растений фасоли сортов Неруса и Горналь (Волобуева, 1997, 2004).

Таким образом, использование биопрепаратов и регуляторов роста с целью повышения эффективности бобово-ризобиального, можно рассматривать как один из важнейших агротехнических приемов современного растениеводства. Биопрепараты и регуляторы роста, внесенные экзогенно, воздействуют на работу гормональной системы растений, на физиологические процессы и метаболизм макросимбионта и ризобий, что, возможно, оказывает влияние на активность симбиотической азотфиксации, и как следствие, на продуктивность бобовых растений.

3.1 Влияние синтетических регуляторов роста

Первые сведения о регуляторах роста относятся к 20-30 гг. двадцатого столетия. Регуляторы роста растений определяют, как не обладающие фитотоксичностью соединения, способные в очень малых дозах изменять интенсивность тех или иных физиологических процессов (Кефели, Прусакова, 1985; Шевелуха, 2003; Дорожкина, Поддымкина, Добрева, 2015). Регуляторы роста делят на природные и синтетические, которые применяют для практических целей для обработки семян или растений с целью изменения процессов жизнедеятельности растений, увеличения урожайности или структуры урожая (улучшения качества).

Природные регуляторы роста называют также фитогормонами: ауксины, гиббереллины, цитокинины, абсцизовая кислота, этилен, жасмоновая и

салициловая кислоты (описаны нами ранее), а также brassinостероиды.

Во всем мире в технологии получения растениеводческой продукции все шире используется принципиально новое звено, дополняющее необходимые агротехнические мероприятия, – синтетические регуляторы роста и развития растений. Наряду с удобрениями они являются составной частью комплексной химизации сельского хозяйства.

В мировой литературе к синтетическим регуляторам роста относят экзогенные препараты регуляторного действия. Среди них есть вещества химически родственные фитогормонам, но есть и многочисленные вещества, которые не имеют никакого отношения к известным группам фитогормонов. Синтетические регуляторы не являются питательными веществами, в малых дозах оказывают непосредственное воздействие на рост, не оказывают в используемых концентрациях токсического действия на растения и мало токсичны для человека и теплокровных животных. В основе регуляторного действия синтетических регуляторов лежит либо имитация действия фитогормона (тогда они являются его синтетическим аналогом), либо влияние на гормональный статус растений. Применение синтетических регуляторов роста позволяет наиболее полно использовать потенциальные возможности роста растений в нужном направлении, а также повысить устойчивость растений к действию стрессовых факторов. Академик А.Л.Курсанов назвал отрасль использования регуляторов роста «фармакологией растений».

В основе классификации синтетических регуляторов роста лежит не их химическая природа, а механизм действия на физиологические процессы и, в первую очередь, на гормональную систему регуляции. С их помощью можно управлять такими важными физиологическими процессами как прорастание семян, рост стебля и листьев, заложение и рост корней, переход к цветению, плодоношению, созреванию семян, опадение и подсушивание листьев, покой, устойчивость к действию неблагоприятных факторов внешней среды. В популярной литературе и практике сельского хозяйства синтетические регуляторы роста растений относятся к ядохимикатам или пестицидам (от лат.

«*pestis*» - зараза и «*caedo*» - убиваю). Пестициды давно известны человеку. Ещё в X веке до н.э. в древней Греции применяли серу как средство, отпугивающее насекомых. В древнем Риме были известны защитные свойства ртути, мышьяка. Около 100 лет садоводы используют бордосскую жидкость для борьбы со многими заболеваниями плодовых, citrusовых и ягодных культур. Промышленное производство пестицидов началось во второй половине 19 века. Подлинная революция в создании и производстве пестицидов произошла в 40-х годах двадцатого столетия, когда происходил направленный синтез органических соединений с заданными свойствами, которые обладали широким спектром действия и высокой эффективностью. Пестициды в основном являются продуктами органического синтеза, значительно меньше это неорганические соединения, а иногда – препараты растительного и бактериального происхождения.

Характерной особенностью большинства синтетических регуляторов роста является избирательность их действия на виды, сорта, органы и ткани растительного организма. Вопрос о механизме активирующего, тормозящего и детального действия на растения синтетических регуляторов роста изучен недостаточно. Вместе с тем их оценка по механизму действия на клеточном и молекулярном уровне крайне необходима для целенаправленной регуляции функциональных эффектов у макро- и микросимбионтов, а также при синтезе новых соединений.

Проникая в клетку, регуляторы роста в первую очередь контактируют с плазмалеммой и регулируют её свойства и функции, в частности активируют протонный транспорт (Полевой, 1984, Новикова, 2004, Романов 2007). В результате этого происходит секреция H^+ и подкисление среды клеточной стенки, что приводит к её размягчению и последующему растяжению. Активация H^+ - насосов индуцирует сопряженные электрохимические процессы – повышение мембранной проницаемости и электрогенности. Последствием секреции протонов из клетки является поглощение ионов K^+ .

Большинство синтетических регуляторов роста представляют собой

структурные или физиологические аналоги фитогормонов, которые обладают способностью активно воздействовать на гормональный баланс растений, высокой физиологической активностью, что обычно обусловлено их структурным сходством с соответствующими фитогормонами. Известны также синтетические регуляторы роста (например, хлорхолинхлорид), не обладающие структурным сходством с фитогормонами, но способные воздействовать на гормональный статус растений и тем самым изменить течение тех или иных морфофизиологических процессов. Почти все синтетические регуляторы роста являются аналогами природных регуляторов роста. Так, к синтетическим аналогам ауксина относят ИМК, НУК, НОУК, 2,4-Д, Корневин. ИМК – γ - (индолил-3)-масляная кислота, не содержащаяся в высших растениях, во многих случаях влияет на физиологические процессы также, как и ИУК, но отличается от неё относительно высокой персистентностью. Это и определяет успех применения ИМК, особенно при стимуляции корнеобразования. НУК – α -нафтилуксусная кислота – физиологический аналог ауксина, используется в качестве эффективного регулятора роста растений. НУК хорошо проникает в растение и легко в них перемещается. В процессе метаболизма регулятора роста образуется оксиметилнафталин, α -нафтойная и фталевая кислоты. НОУК – β -нафтоксиуксусная кислота. Обладает ауксиновой активностью и может применяться в качестве средства стимуляции плодообразования на томатах и земляники. 2,4-Д – дихлорфеноксиуксусную кислоту в основном применяют как средство борьбы с сорняками. 2,4-Д является физиологическим аналогом эндогенного ауксина, отличаясь от последнего гораздо более высокой персистентностью, однако, в дозах, необходимых для проявления её рострегулирующей активности.

Корневин – синтетический регулятор роста, аналог *гетероауксина*, действующим веществом которого является *ИМК*. Корневин способствует быстрому прорастанию семян, улучшает укоренение черенков, помогает развитию корневой системы, укрепляет иммунную систему растений, снижает воздействие на растение неблагоприятных факторов внешней среды, таких как

засуха, перепады температуры, переувлажнение. Корневин – активатор корнеобразования, регулятор роста широкого спектра действия. Применяют для улучшения приживаемости рассады плодовых и овощных культур (Волобуева, 2010, 2015, 2017). Литературных данных об экзогенном влиянии Корневина на бобово-ризобиальный симбиоз не найдено. Однако использование Корневина с целью повышения эффективности бобово-ризобиального симбиоза весьма перспективно, так как сами клубеньковые бактерии способны синтезировать ауксины.

Этиленпродуценты. Этилен – единственный газообразный регулятор роста, который с 1960г. условно относят к фитогормонам. В небольших концентрациях (0,001-0,1 мкл/л) он способен «включать» или «выключать» физиологические программы, связанные с регуляцией роста и созревания плодов, старением и опадением листьев, с процессами покоя, стрессовым состоянием растений. Этилен служит гормоном-посредником в реализации действия физиологически активных веществ на ростовые процессы (Чкаников с соавт., 1983; Ischizawa, Esashi, 1984). В 1967г. появилось сообщение (Wilde, 1971) о том, что 2-хлорэтилфосфоновая кислота является ещё более эффективным продуцентом этилена в растительных тканях, и вскоре было организовано промышленное производство этого препарата, масштабы применения которого с тех пор непрерывно возрастают. Были обнаружены и другие вещества, способные выделять этилен в растениях. Одним словом, продуценты этилена сделались весьма популярными синтетическими регуляторами роста, которые играют важную роль в сельскохозяйственном производстве.

В 70-е годы в мировом растениеводстве получили широкое распространение ретарданты, продуцирующие этилен. По своей активности они превосходят четвертичные соединения аммония (ССС). Они представлены 2-хлорэтилфосфоновой кислотой (ХЭФК, этефоном) и её производными – это этрел, кампозан, гидрел, дигидрел и др.

В своих исследованиях ранее мы использовали кампозан – один из продуцентов этилена, препарат, созданный на основе солей 2-

хлорэтилфосфоновой кислоты. Кампозан – одна из удачных препаративных форм этафона, производства фирмы «Битерфельд» химкомбината Германии. Уже первые испытания препарата кампозана М в Центральных районах Нечерноземной зоны России на посевах озимой ржи, показали, что опрыскивание посевов слабым раствором препарата в фазе начала выхода растений в трубку способствует развитию коротко- и толстостебельных неполегающих растений (Кефели, Прусакова, 1985).

Урожай ржи от применения кампозана возрастает в результате появления большого количества продуктивных боковых побегов на единицу площади, улучшения налива зерна и уменьшения потерь при уборке. Наибольший эффект от кампозана достигается у озимой ржи в условиях высокой культуры земледелия и внесения достаточного количества органических и минеральных удобрений (Кефели, Прусакова, 1985).

Физиологическую активность кампозана чаще всего объясняют его способностью быстро трансформироваться в растениях с образованием этилена, подобно тому, как это происходит в водных растворах, имеющих рН 3-4. Процесс образования этилена ускоряется при повышении кислотности и температуры. Таким образом, проявление физиологической активности кампозана обусловлены, прежде всего, повышением содержания этилена в тканях растений (Ракитин, 1983). Распространено мнение, что кампозан хорошо передвигается по растению и легко достигает мишеней, проявляющих наиболее высокую чувствительность к этилену, который образуется здесь при деградации препарата (Крейцберг, 1982). Однако доказательство системности кампозана, то есть его способности транспортироваться по растению, нельзя считать безупречным. Необходимо отметить, что этилен, образующийся в результате распада кампозана, неизбежно начинает взаимодействовать с гормональной системой растений, особенно с механизмами, ответственными за синтез эндогенного этилена. Так, появление экзогенного этилена по принципу обратной связи может приводить к торможению АЦК-оксидазы, поскольку АЦК-синтаза продолжает функционировать нормально, и к накоплению 1-

аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты. АЦК способна передвигаться по растению, и некоторые исследователи считают, что транспорт и последующий метаболизм этого предшественника эндогенного этилена служат основной причиной того, что образование этилена усиливается в органах растений, удаленных от места нанесения кампозана (Hume, Lovell, 1983).

Большое значение может иметь то обстоятельство, что происходящее под действием экзогенного этилена торможение терминальных процессов биосинтеза этилена, опять же по принципу обратной связи, может вести к снижению содержания эндогенной ИУК, являющейся индуктором АЦК-синтазы в ювенильных растениях (Vang et. al., 1982). Естественно, что указанные изменения гормонального статуса растений должны неизбежно вызывать каскад реакций, что и нужно иметь в виду при интерпретации данных о механизмах действия кампозана.

В случаях, когда кампозан выполняет функции ретарданта, на первый план может выступать его способность тормозить реализацию физиологической активности эндогенного ауксина. Деградация кампозана в растениях происходит постепенно, на протяжении нескольких дней, иногда недель. При этом во всех случаях в растительных тканях остается некоторое количество неразрушенного препарата, который конъюгирует с углеводами и другими эндогенными метаболитами (Крейцберг с соавт., 1982; Гринченко, 1983).

Перспективным классом ретардантов являются изобутираты. Исследователями Воронежского университета (Эрдели Г.С., Хожайновой Г.Н.) и доктором Шиллинком Г. из г. Галее (Германия) на основе дихлоризобутирата создан ретардант Тебепас.

Тебепас – *Teberpas* – комбинированный препарат немецкого производства, обладающий ретардантным действием, который выпускается в виде 44% водного раствора и содержит три компонента: хлорхолинхлорид, 2-хлорэтилфосфоновую кислоту и дихлоризобутират натрия, в соотношении 2:1: 0,13 соответственно. По эффективности смеси не уступают чистому кампозану, но по стоимости обработки смесью значительно ниже (Шиповский, 1989).

Тебепас обладает высокой эффективностью (в 2-3 раза выше, чем ССС). Главным образом он ингибирует синтез и транспорт гиббереллина. Тебепас, взаимодействуя с молекулами мембранных белков, понижает их способность к конформационной подвижности, оказывает влияние и на состояние воды, в первую очередь входящей в состав мембран, а также окружающей белки. В результате увеличивается водоудерживающая способность и тем самым повышается засухоустойчивость растений.

Хлорхолинхлорид (ССС, тур, хлористый 2-хлорэтилтриметиламмоний) - $[\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3]\text{Cl}$. Хлорхолинхлорид обладает широким спектром действия, его физиологическая активность выявлена более чем на 100 видах растений (Постников, 1989).

Механизм действия: основным направлением метаболизма хлорхолинхлорида является образование холинхлорида, холина, а затем бетаина (Shneider, 1967).

При изучении механизма поступления хлорхолинхлорида показано, что в клетках нителлы ССС^+ поглощается медленнее, чем K^+ , но примерно с такой же интенсивностью, как ионы холина и ацетилхолина. Корнями кукурузы ССС поглощается в виде хлорхолинкатиона (Геринг, Эвальд, 1979). Пути превращения ССС в растительном организме: возможен выход хлорхолинхлорида через корни в почву. Одной из причин исчезновения препарата из надземных органов растений является его транспорт в корни, а из корней в почву. Частично ССС может выделяться через гутационную жидкость (Bier, Faust, 1967). Возможна деградация ССС до образования холина и бетаина. Эта система превращений может явиться важным моментом в обеспечении устойчивости видов и сортов растений к химическому препарату, тем более имеются данные о роли этих реакций в других стрессовых условиях. R.Storey и R.Jones (1975) указывали на возможную роль бетаина в проявлении солеустойчивости.

Пока не ясно, какие эндогенные факторы регулируют превращение хлорхолинхлорида в растительном организме. Возможно, ими являются

фитогормоны. Обсуждается вопрос о взаимодействии хлорхолинхлорида с эндогенными и экзогенными физиологически активными веществами. Ещё первыми исследователями хлорхолинхлорида было показано, что действие этого вещества на рост растений противоположно влиянию гиббереллина; более того, обработка растений гибберелловой кислотой снимала ингибирующее действие ретарданта (Tolbert, 1970). В связи с этим было высказано предложение, что ССС является антигиббереллином (Cathey, 1974). Однако оно не совсем обосновано, поскольку антиметаболиты при конкуренции с метаболитами в специфических реакциях должны быть близки по химическому строению (Чайлахян, 1966). И действительно, исследования показали, что гибберелловая кислота не снимала ингибирующего действия хлорхолинхлорида (Berry, Smith, 1970; Vadava, 1972). Имеются данные (Гамбург, 1971) об изменении биосинтеза гиббереллина в среде с туром. Делаются попытки установить место действия хлорхолинхлорида в биосинтезе гиббереллина.

Обработка растений хлорхолинхлоридом вызывала уменьшение содержания ауксина у высокорослого сорта Рамонский и увеличение его количества у карликового сорта София (Jvanova, 1971). Снижение содержания ауксинов в растениях при воздействии ССС может быть связано с торможением биосинтеза из предшественников или с усилением их разложения при повышенной активности ИУК-оксидазы. Пока ещё ни один из этих путей действия хлорхолинхлорида в полной мере экспериментально не доказан, однако имеются сведения о том, что наряду с изменением содержания эндогенного ауксина в растениях уменьшается (Norris, 1966) или увеличивается (Щербаков, 1968) количество свободного триптофана, генетически связанного с биосинтезом ИУК. Что касается второго пути действия хлорхолинхлорида на ауксины (через активность ИУК-оксидазы), то имеющиеся данные ограничены и противоречивы. В одних случаях активность ИУК-оксидазы усиливалась (Halevy, 1963; Волынец, Пальченко, 1977), в других угнетение роста гипокотилей огурца под влиянием ССС не сопровождалось изменением активности этого фермента (Кнури, 1973). Очевиден факт взаимодействия хлорхолинхлорида с

обменом эндогенных физиологически активных соединений, хотя природа этого процесса исследована недостаточно.

В 1969г. впервые была высказана мысль о роли ССС в генной регуляции растительных клеток гороха. В этот и последующие годы появился ряд работ, освещающих влияние ретарданта на нуклеиновый обмен злаковых культур (Книпл, Кулаева, 1970; Авунджян, Ширакян, 1973).

Итак, из всех ретардантов наиболее широкое использование получил хлорхолинхлорид. Препарат вносят в почву в дозах 5-8кг действующего вещества или опрыскивают растения в фазу 5-6 листьев в концентрации 4 кг/га. Установлено, что через 6 недель после опрыскивания ССС препарат разлагается с образованием холинхлорида, холина, а затем бетаина. Зерно, обработанных ССС растений, не содержит остатков ретарданта. Чаще всего ССС применяют в посевах злаков для предупреждения полегания хлебов. На хлорхолинхлорид особенно отзывчива пшеница как яровая, так и озимая. Обработанные растения имеют более толстую укороченную соломинку, а также вертикально ориентированные листья более темного зеленого цвета. Ячмень, рожь, овес менее чувствительны к данному ретарданту. У риса реакция варьирует в зависимости от сорта. Слабое действие ССС на рост стебля ярового ячменя Меркис А.И. и Деева В.П. связывают со спецификой ауксинового обмена, а именно с незначительным снижением уровня ауксинов, которые ответственны за рост клеток путем растяжения клеточной оболочки. Эффективность ретарданта хлорхолинхлорида бывает наибольшей в условиях дождливого лета и с применением больших доз азотных удобрений. Хлорхолинхлорид оказывает положительное влияние на величину урожая и его качество. Повышение урожая зерна у яровой и озимой пшеницы в среднем на 2-5 ц/га наблюдалось за счет устранения полегания, увеличения продуктивной кустистости и заполненности колоса (Прусакова Л.Д.).

В наших исследованиях (1992) было показано, что при совместной обработке растений гороха хлорхолинхлоридом и Ризоторфином увеличивались масса клубеньков, нитрогеназная активность и содержание хлорофилла в листьях

растений. Изучение ультраструктуры клубеньков растений гороха, образованных при обработке хлорхолинхлоридом на фоне инокуляции показало наличие бактериоидов в центральной части клубенька с четко выраженным перибактероидным пространством.

Синтетическим регулятором роста является оксикарбам – препарат цитокининого типа, аналог картолина, повышает устойчивость растений к неблагоприятным условиям среды (засуха, мороз, болезни), повышает сопротивляемость растений по отношению к грибной инфекции (Шевелуха с соавт., 1983, 1987; Творус с соавт., 1987). Цитокинины оказывают защитное действие на растение, повышают устойчивость растений к различным неблагоприятным воздействиям, включая рентгеновское облучение, повышенные концентрации солей, низкие температуры, влияние антибиотиков и других химических агентов (Кулаева, 1973; Романов, 2007). Среди неблагоприятных воздействий была и засуха. В результате поиска химических аналогов цитокининов, у которых способность повышать устойчивость растений к неблагоприятным условиям была бы усилена, был создан препарат картолин, впоследствии его аналог – оксикарбам.

Высокая активность оксикарбама отмечена в различных биохимических реакциях, характерных для веществ цитокининового типа действия. В опытах на срезанных листьях ячменя, оксикарбам обладал свойством цитокининов увеличивать активность связанной с хроматином РНК-полимеразы при низких концентрациях (10^{-6} М), сравнимых с гормональными концентрациями вещества. При обработке целых растений, получивших нормальное водоснабжение, оксикарбам на активность РНК-полимеразы не влиял, но увеличивал её при недостатке обеспеченности растений водой (Шаренкова, Саливанкина, 1984). В работах О.Н. Кулаевой с соавторами (1983) показано, что оксикарбам обладает специфическим спектром физиологической активности, в котором многие свойства цитокининов редуцированы, но их защитное действие усилено. Механизм действия оксикарбама, возможно, связан с увеличением активности РНК-полимераз (Шаренкова с соавт., 1984). Оксикарбам оказывает действие

на многие стороны обмена веществ растительной клетки, тем самым повышаются адаптационные возможности организма, хотя механизм такого процесса недостаточно выяснен. Возможно, защитное действие оксикарбама связано с влиянием его на активность генетического аппарата, с повышением устойчивости белоксинтезирующей системы растительных клеток и хлоропластов, сохранением жизнеспособности растений в условиях дефицита влаги и высоких температур.

Ранее, нами было показано (1987-1992 гг.), что в полевых условиях оксикарбам способствовал развитию эффективного симбиоза в концентрации 0,01 и 0,00001%. Протекторное действие оксикарбама в отношении бактеризованных растений люпина и гороха было отмечено в засушливый период 1988г.

В наших исследованиях (1987 – 1992гг.) синтетические регуляторы роста – хлорхолинхлорид, кампозан, оксикарбам, тебепас использовались для обработки семян гороха и люпина. Установлены концентрации регуляторов роста оксикарбама 0,01; 0,00001% и хлорхолинхлорида – 0,005%, способствующие развитию эффективного симбиоза. Наивысший урожай 61,4 ц/га получен при обработке оксикарбамом в концентрации 0,00001% (Волобуева, Шильникова, 1992).

Агростимулин – регулятор роста, который представляет собой комплекс ростовых веществ природного происхождения и синтетического аналога фитогормонов – 2,6 – диметилпиридин-1-оксида. По своему физическому состоянию представляет прозрачный водно-спиртовой раствор. Препарат широкого спектра в растении.

В литературе не найдено сведений о влиянии агростимулина на бобово-ризобиальный симбиоз, чем и был обусловлен выбор этого препарата в наших исследованиях.

В своей работе мы также использовали регулятор роста Альбит, который некоторые исследователи рассматривают и как биопрепарат (Алехин, Злотников, 2007).

Альбит содержит очищенные действующие вещества из бактерий *Bacillus megaterium* и *Pseudomonas aureofaciens*, которые в природных условиях обитают в ризосфере растений, стимулируют их рост, повышают устойчивость к болезням и неблагоприятным факторам среды. В составе препарата сбалансирован набор микро- и макроэлементов и терпеновых кислот хвойного экстракта. В отличие от биопрепаратов содержащих живые клетки бактерий, действие Альбита стабильнее, поскольку обладает биологической экономической эффективностью (Волобуева, Скоробогатова, Шильникова, 2008).

Альбит эффективен при малых и оптимальных дозах азотных и фосфорных удобрений (Задорин, 1996). Биологическая эффективность препарата против болезней составляет в среднем 50-80% (Алехин, Злотников, 2007).

Литературных данных о влиянии Альбита на симбиотическую активность бобово- ризобиального симбиоза не найдено, чем и был обусловлен выбор этого препарата в нашей работе.

Эпин-Экстра – синтетический аналог brassinosteroidов, действующее вещество эпибрассинолид (ЭПБ). Фитогормон широкого диапазона действия вызывает большой спектр клеточных ответов, включая рост растений, прорастание семян, фиксацию азота, повышение устойчивости к биотическим и абиотическим стрессам. Механизм действия связан с повышением активности ДНК и РНК-полимераз, влиянием на аминокислотный состав белков, а возможно, с влиянием на структурно- функциональные свойства клеточных мембран. Брассины стимулируют активность АТФ, изменяют жирнокислотный состав липидной фракции мембран, активизируют протонный насос (Волобуева, 2010, 2012, 2015).

Первый брассинолид выделен в 1979г из пыльцы рапса. В последующие годы получено много аналогов этого вещества – эпибрассинолид, гомобрассинолид, а также brassinosteroidы. Все они стероидной природы, обнаружены у ряда других сельскохозяйственных культур – бобов, чая и др. Фитогормональная активность брассинолидов и brassinosteroidов проявляется в стимуляции роста, увеличении секреции ионов водорода, интенсивности

фотосинтеза.

Одной из самых интересных особенностей brassinolidов является их способность контролировать действие ауксинов, АБК. Помимо того, что они способны стимулировать индукцию указанных фитогормонов, они также усиливают синтез ключевых ферментов нуклеинового обмена растений – ДНК-полимеразы, рибонуклеазы, АТФзы. При совместном действии brassinolidов с ИУК brassinolidы проявляют синергический эффект. Опыты показывают (Захарычев, 1999), что фитогормоны этого типа резко повышают урожайность зерновых и овощных культур, обладают антистрессовыми свойствами, т.е. повышают устойчивость к холоду, засухе, засолению.

Таким образом, влияние химических регуляторов роста на растительную клетку многообразно. Те или иные нарушения, вызванные действием химических соединений, происходят в различных частях клетки – ядре, митохондриях, хлоропластах, мембранах, затрагивают разные молекулярные циклы – биосинтез белков, образование и трансформацию энергии и др.

Регуляторы роста находят широкое применение в растениеводстве, т.к. повышают урожайность растений.

Таким образом, всё выше сказанное, а также малочисленные литературные данные о влиянии Корневина, Агростимулина, Альбита, Эпин-Экстра на бобово-ризобияльный симбиоз, вызвали интерес использования этих регуляторов роста в нашей работе.

* * *

В настоящее время повышение урожайности продукции растениеводства, не может быть достигнуто без широкого использования регуляторов роста. Применение средств химизации, несомненно, увеличивает экологическую опасность, поэтому возникает острая необходимость организации постоянного мониторинга за использованием регуляторов роста и развития растений. К синтетическим регуляторам роста предъявляется ряд требований: слабая

токсичность, отсутствие токсичных метаболитов, быстрое разложение, отсутствие мутагенных свойств, минимальная экологическая нагрузка на гектар почвы, отсутствие остаточных количеств в растениях, в почве и вредного влияния на почвенные микроорганизмы.

При синтезе регуляторов роста не всегда учитывается их влияние на генетику организма. Однако многие химические вещества обладают генетическими эффектами. Выявление и предотвращение возможных последствий попадания в биосферу химических соединений, способных проникнуть в живую клетку и поражать в ней молекулу ДНК, имеет огромное экологическое и медицинское значение. Поэтому, необходим постоянный эколого-генетический и микробиологический контроль применения химических веществ в сельском хозяйстве.

Физиологически активные вещества с точки зрения мутагенного действия начали изучаться с 70-х годов двадцатого века. Индуцируя различные типы мутаций, регуляторы роста могут вызвать ухудшение хозяйственно ценных признаков, а, следовательно, привести к утрате сортовых свойств.

Комплексный подход к оценке безопасности применения регуляторов роста растений состоит в том, чтобы, имея прогноз использования препаратов можно было рационально выбирать площади под посевы и посадки тех или иных сельскохозяйственных культур, вид регулятора роста растений, технологию применения и предотвратить кумуляцию регуляторов в почве, растениях и загрязнение ими водоисточников. Академиком В.С.Шевелухой была разработана схема проведения государственных испытаний фиторегуляторов (Шевелуха, 1992).

В агрономической практике используют регуляторы роста полифункционального действия. Оптимизация и безопасность регуляторов роста диктует необходимость создания компьютерных программ и широкого их внедрения в практику сельского хозяйства для решения конкретных агротехнических задач.

Использование регуляторов роста на бобовых растениях связано с

интенсификацией процессов азотфиксации. Характер их влияния во многом зависит от природы биостимулятора, его концентрации, вида и сорта бобового растения, способа обработки и условий. Экзогенная обработка регуляторами роста макросимбионта приводит к изменению уровня гормонов, что, возможно, оказывает влияние на ультраструктуру клубеньков бобовых растений, что вероятно изменяет нитрогеназную активность, качество урожая и продуктивность растений.

3.2 Биопрепараты – новые элементы биорегуляции

В настоящее время использование биопрепаратов является одним из перспективных и экологически безопасных направлений современного агропроизводства.

В течение длительного периода в нашей стране была популярна «химизация» сельского хозяйства. Со временем оказалось, что химизация сельскохозяйственного производства приносит не только рост урожайности, но и создает серьезные экологические последствия. Несомненно, агрохимикаты играют важную роль в повышении продуктивности сельскохозяйственных культур, но при этом важно рациональное их использование в сочетании с разными факторами (Завалин, 2005). Альтернативой химическим средствам защиты растений могут быть биопрепараты.

3.2.1 Общая характеристика биопрепаратов

Биопрепараты – общее название препаратов биологического происхождения, применяемых для целенаправленного воздействия на живые организмы, в т.ч. для профилактики и лечения заболеваний. Биопрепараты можно условно разделить на 3 группы: 1) биопрепараты, используемые в медицине; 2) биопрепараты, используемые в промышленности; 3) биопрепараты, используемые в сельском хозяйстве.

Биопрепараты, используемые в медицине, представляют соединения

медицинских продуктов биологического происхождения, в том числе вакцины, препараты крови, аллергены, соматические клетки, ткани, рекомбинантные белки. В состав биопрепаратов могут входить сахара, белки, нуклеиновые кислоты или сложные комбинации этих веществ; они могут представлять собой биологические объекты – например, клетки и ткани. Биологические препараты выделяют из различных природных источников – животных, микроорганизмов. Они могут быть синтезированы методом биотехнологии. Активно исследуется потенциал медицинского применения клеточных и генных биологических препаратов для лечения многих заболеваний.

В промышленности часто используют биопрепараты для очистки почв и грунтов от загрязнения нефтью и нефтепродуктами (Рогозина Е.А. и др., 2010). Биопрепараты используются на предприятиях пищевой промышленности, для очистки сточных вод.

В сельскохозяйственной практике биопрепараты применяют в различных её отраслях: в растениеводстве, в садоводстве и в овощеводстве, в земледелии, в животноводстве и кормопроизводстве. При этом биологические препараты часто используют для защиты растений, для борьбы с насекомыми-вредителями сельскохозяйственных культур, для кормления животных.

В своих исследованиях мы изучали действие биопрепаратов, используемых в растениеводстве, поэтому в дальнейшем речь будет об этих препаратах.

Основу всех этих биопрепаратов составляют микроорганизмы, выделенные из природных объектов (ризосфера или ризоплана растений). Биопрепараты представляют собой чистую культуру одного вида бактерий с заданным титром и определенными свойствами. В отличие от биоудобрений, содержащих несколько видов, а иногда и несколько десятков видов микроорганизмов, биопрепараты дают тот эффект, который заложен в свойствах исходного штамма – продуцента. Биопрепараты способствуют улучшению минерального питания растений, повышают их устойчивость к различным неблагоприятным факторам среды, фитопатогенам, способствуют росту урожайности и качества продукции растениеводства при сохранении плодородия почв.

В последнее время с появлением фундаментальных знаний в области интеграции генетических систем микроорганизмов и растений в процессе взаимодействия, удалось преодолеть имеющиеся недостатки и предложить принципиально новые подходы к оптимизации микробно-растительного взаимодействия. (Тихонович и др., 2005). Поэтому, именно в настоящее время, биопрепараты находят широкое применение в практике сельского хозяйства.

К основным механизмам полезного действия микроорганизмов в составе биопрепаратов относятся: 1) фиксация атмосферного азота, 2) оптимизация фосфорного питания, 3) стимуляция роста и развитие растений, 4) улучшение питания растений, 5) повышение устойчивости к стрессовым условиям.

Применение микробиологических препаратов в земледелии РФ обеспечивает экономию до 1 млн. тонн азотных удобрений в год, оптимизацию фосфорного питания при выращивании растений. Использование биопрепаратов дает возможность получить дополнительный сбор белка на уровне 3-4 млн. тонн в год, и приводит к снижению применения экологически опасных агрохимикатов в 1,5-2 раза. Применение биопрепаратов обеспечивает получение нормативно чистой продукции на слабо загрязненных радионуклидами и тяжелыми металлами территориях. Средняя эффективность препаратов составляет на зерновых культурах – 16-33%, на технических 12-28%, на овощных и бобовых 18-45% (Тихонович и др., 2005).

Поэтому далее мы остановимся на описании особенностей биопрепаратов полифункционального действия.

3.2.2 Полифункциональные комплексные биопрепараты

Полифункциональные микробные препараты характеризуются многогранностью своего действия. Они могут оказывать комплексное влияние на растения и почву. Использование биопрепаратов приводит к следующим эффектам: – повышают содержание полезных микроорганизмов в почве; – участвуют в образовании гумуса и улучшают структуру почвы; – оказывают оздоравливающий эффект, так как сдерживают рост фитопатогенов, увеличивая число микроорганизмов-антагонистов в почве, поэтому их применение

улучшает экологическое состояние почв; – способствуют улучшению минерального питания растений; – способствуют росту растений и повышают их устойчивость к различным факторам, за счёт синтеза ими фитогормонов; – повышают азотфиксирующую активность; – улучшают структуру и качество урожая.

В последнее время особый интерес вызывают бактерии, которые обитают в почве независимо от растений, образуя так называемый «ассоциативный симбиоз». В результате такого взаимодействия бактерии не образуют клубеньки или иные новообразования на корнях растений. При этом бактерии обитают либо на поверхности корня – ризоплане, либо в прикорневой зоне – ризосфере (Тихонович, Проворов, 2007).

Микроорганизмы, стимулирующие рост растений, называют как PGPB (*Plant Growth Promoting Bacteria*) (Иванчина, Гарипова, 2012). Использование в сельскохозяйственном производстве биопрепаратов на основе бактерий группы PGPB связано с их ростстимулирующими свойствами.

В сельском хозяйстве широкое применение получили микробиологические препараты на основе ассоциативных бактерий для небобовых культур. Это такие биопрепараты как Агрофил, Азоризин, Ризоагрин, Мизорин, Флавобактерин (Тихонович и др., 2005). Они составляют группу препаратов под названием «ФАРМАТ». Это отдельная группа, где каждый из препаратов изготавливается на основе индивидуальной чистой культуры микроорганизмов (Кожемяков, 2008). Так, препарат Агрофил создан на основе бактерий рода *Agrobacterium*. Биопрепарат Агрофил рекомендуется для применения при выращивании овощных культур (капуста, огурцы, томаты, перец, морковь, свёкла, редис, тыква, салат), плодово-ягодных растений и картофеля.

Применение Агрофила увеличивает содержание витаминов, каротина и продукции на 10-30%, ускоряет созревание урожая на 7-10 дней, снижает содержание нитратов, радиоактивных веществ и тяжелых металлов в продукции (Тихонович и др., 2005).

Биопрепарат Азоризин создан на основе штамма бактерий, относящихся к

роду *Azospirillum*. Они, заселяя ризоплану и ризосферу растений, вытесняют болезнетворные бактерии, за счёт синтеза ростстимулирующих веществ и витаминов. Азоризин – биопрепарат фунгицидно-стимулирующего действия, предназначен для предпосевной обработки семян зерновых культур, а также для подкормки растений цветочных культур, всех видов газонных трав и декоративных кустарников. Основой биопрепарата Ризоагрин являются бактерии рода *Agrobacterium*. Биопрепарат Мизорин создан на основе бактерий, относящихся к роду *Arthrobacter*. Применение биопрепарата Мизорин повышает устойчивость растений к засухе, заморозкам и другим, неблагоприятным для растений условиям и ограничивает поступление и накопление в растениях *нитратов*. Биопрепарат Флавобактерин создан на основе бактерий рода *Flavobacterium*. Применение препарата повышает качество урожая свёклы, картофеля, зерновых и кормовых культур (Тихонович и др., 2005).

Эффективность действия биопрепаратов на основе ассоциативных бактерий связана с их особенностью фиксировать молекулярный азот.

Применение биопрепаратов снижает заболеваемость растений и улучшает фитосанитарную обстановку в почве. Биопрепараты на основе ассоциативных бактерий повышают устойчивость растений к неблагоприятным условиям. (Тихонович и др., 2005).

К биопрепаратам полифункционального действия относятся БисолбиФит и БисолбиСан. Действующее начало этих препаратов - бактерии рода *Bacillus*, которые обитают на ризоплане и в ризосфере. Они способны синтезировать биологически активные соединения, благодаря которым определяется высокая эффективность применения биопрепаратов БисолбиФит и БисолбиСан на самых разных сельскохозяйственных культурах.

Во Всероссийском НИИ сельскохозяйственной микробиологии (г. Санкт-Петербург-Пушкин) создан микробиологический препарат Бацикол энтомопатогенного действия на основе бактерий *Bacillus thuringiensis* (Bt). Идентифицировано более 70 разновидностей Bt. Эти бактерии способны

длительное время сохранять жизнеспособность после обработки растений, обладая патогенными свойствами в отношении вредных насекомых и фитопатогенов. Биопрепарат Бацикол обладает полифункциональными свойствами. Его использовали против серой гнили земляники, против фузариозного увядания на томатах, против гельминтоспориозной корневой гнили ячменя, против ризоктониоза картофеля. Эффективность биопрепарата против фитофагов варьировала от 50 до 100% (Грищечкина, 2015).

3.2.3 Биопрепараты на основе клубеньковых бактерий

Особый интерес вызывают биопрепараты на основе клубеньковых бактерий, поскольку проблема биологической фиксации атмосферного азота – одна из важнейших. Наивысшей азотфиксирующей активностью среди микроорганизмов обладают клубеньковые бактерии, вступающие в симбиоз с бобовыми растениями. Благодаря симбиозу некоторые бобовые растения не только полностью обеспечивают себя азотом, но и накапливают его в почве (Шильникова, 1978, Звягинцев и др., 2005, Кожевников и др., 2007, Волобуева, 2013).

Перспектива повышения интенсивности земледелия путем обогащения почвы за счет такого дешевого источника, как азот, реализуется на практике инокуляцией (бактеризацией) семян бобовых растений препаратом клубеньковых бактерий. Первый препарат под названием Нитрагин был произведен в 1896г. в Германии, позднее под различными наименованиями (Нитрагин, Радицин, Кампен, Ризонит, Нодулайд, Нитрофикс и др.) его стали получать в разных странах. В России чаще используют торфяной Нитрагин – Ризоторфин - стерилизованный гамма-лучами низинный торф, обогащенный питательными для ризобий веществами. Расфасованную массу с внесенной в неё соответствующей культурой клубеньковых бактерий выдерживают в термостате для размножения ризобий. Титр клубеньковых бактерий в готовом препарате – 2,5 млрд. клеток в 1г. Перед посевом семена бобовых растений обрабатывают из расчета 200г препарата на одну гектарную порцию семян.

Наполнителями в Ризоторфине (носителями бактерий) могут быть стерилизованные почва, бентонит, лигнит, гемицеллюлоза.

Биопрепарат Ризоторфин рекомендуется для предпосевной обработки семян бобовых: люпина, сои, вики, гороха, фасоли, нута, козлятника, клевера, донника, люцерны и др. Применение Ризоторфина обеспечивает высокую эффективность фиксации молекулярного азота в результате симбиоза (Волобуева, 2015).

Большое значение для эффективности биопрепарата Ризоторфина, нормального функционирования симбиоза и продуктивности бобовых растений играют агроэкологические условия. Одним из таких факторов является кислотность почвы.

При инокуляции бобовых растений биопрепаратом Ризоторфин, достигается получение высококачественной белковой растительной продукции, содержащей ряд незаменимых аминокислот, которых не хватает в кормах для животных. Каждая тонна фуражной продукции бобовых растений повышает содержание азота в почве на 60-75 кг/га. Прибавка урожая, благодаря Ризоторфину, может составлять: зерна гороха – 1-2 ц/га, зерна сои – 2-4 ц/га, сена люцерны, клевера – 6-8 ц/га. При этом на 2-3% возрастает содержание белка в урожае (Шильникова, 2006).

Климент Аркадьевич Тимирязев (1843-1920) на одной из своих публичных лекций говорил о препарате Ризоторфин: «Удобрение для целого поля в жилетном кармане! Это фантастика!»

Ранее, в своей работе в условиях серой лесной почвы в почвенной культуре на агробиостанции ОГУ (г. Орел), и в условиях полевого опыта ВНИИЗБК (Орловская область), изучали влияние биопрепарата Ризоторфин на основе штаммов клубеньковых бактерий 245а, 255б, 260б, 263б, 651 и штамма ризобий - А на азотфиксирующую активность растений гороха сортов Батрак и Норд. В результате проведенных исследований было установлено, что все испытанные штаммы увеличивали надземную массу и высоту растений гороха по сравнению с контролем. Под влиянием штаммов клубеньковых бактерий происходило

увеличение массы корней с клубеньками и количества клубеньков. Наибольшую активность проявил штамм 263б, а менее активным оказался штамм 245а (хотя этот штамм считается активным). Активными были также штаммы 255б и 260б. Структурный анализ урожая подтвердил эти данные. Анализ данных, полученных в полевом опыте по влиянию штаммов клубеньковых бактерий на высоту и надземную массу растений гороха, показал, что штамм 651 и штамм ризобий - А увеличивали и высоту, и массу надземной части растений. Под влиянием испытанных штаммов происходило увеличение массы корней с клубеньками, массы клубеньков и нитрогеназной активности. При этом наибольшую активность проявил штамм ризобий - А, что подтверждает ранее проведенные исследования, показывающие высокую конкурентноспособность и высокую азотфиксирующую активность данного штамма. Учет урожайных данных подтвердил исследования азотфиксирующей активности растений гороха. Все испытанные штаммы повышали урожайность, по сравнению с контролем (и штамм 651, и штамм ризобий – А). Однако штамм ризобий - А был более активным по сравнению с местным штаммом 651. Была отмечена сортовая реакция на штаммы. Наибольшей отзывчивостью характеризовался сорт растений гороха Батрак. Однако тенденция к повышению урожая отмечается и для сорта гороха Норд. В полевом опыте под влиянием штамма клубеньковых бактерий 651 и штамма ризобий - А происходило увеличение массы надземных органов, высоты, азотфиксирующей активности и урожайности растений гороха. Штамм ризобий - А оказался наиболее активным и конкурентноспособным. Выявлена сортовая реакция растений гороха на испытанные штаммы. Наибольшей отзывчивостью характеризовался сорт Батрак. Тенденция к повышению урожая отмечена и для сорта Норд. Перед посевом семена растений гороха необходимо инокулировать штаммами клубеньковых бактерий – 263б, 255б, 260б и 651. Данные штаммы можно рекомендовать производству как активные.

* * *

Таким образом, применение биопрепаратов в сельскохозяйственном производстве является перспективным направлением. Поскольку, биопрепараты создаются на основе живых клеток микроорганизмов, обладающих многими полезными свойствами для растений, благодаря которым происходит повышение урожайности культур. Они совершенно безвредны для человека и окружающей среды.

Использование биопрепаратов в земледелие обеспечивает экономию до 1 млн. т азотных удобрений в год, оптимизацию фосфорного питания при выращивании растений, обеспечивает снижение применения экологически опасных агрохимикатов и получение нормативно чистой продукции на слабо загрязненных радионуклидами и тяжелыми металлами территориях.

Особую роль в современном сельскохозяйственном производстве играют биопрепараты на основе клубеньковых бактерий, которые используются под различные бобовые растения. Интерес к биопрепаратам на основе клубеньковых бактерий связан с тем, что сами клубеньковые бактерии способны синтезировать биологически активные вещества, которые обеспечивают растениям ростовую и метаболическую регуляцию, а при правильной агротехнике высокую продуктивность бобово-ризобиального симбиоза.

Уникальные функции микроорганизмов по фиксации атмосферного азота приобретают особое значение в связи с усилением антропогенного воздействия на агроэкосистемы и возможность использования биологических механизмов питания растений.

Таким образом, перспективным направлением современного сельскохозяйственного производства является применение биопрепаратов. Полное освоение азотфиксирующей способности почвенных бактерий и оптимизация её за счет азотного баланса почв в агроэкосистемах позволяет решить многие проблемы устойчивого современного земледелия. Поэтому, изучение эффективности биопрепаратов и применение их на бобовых культурах, является актуальным и имеет практическую и научную значимость.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ГЛАВА 4 ОБЪЕКТЫ, УСЛОВИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

4.1 Объекты исследований

В опытах использовали растения гороха (*Pisum sativum* L.) сортов Норд (2005- 2009 гг.), Мультик (2005-2009 гг.), Юниор (2006-2010); растения фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.) сортов Гелиада и Шоколадница (2006-2008 гг.); растения сои (*Glycine max* L.) сортов Магева, Свапа (2007-2012 гг.). Все семена были получены в ФГБНУ ФНЦ ЗБК (г. Орел).

Норд и *Мультик* – сорта селекции ФГБНУ ФНЦ ЗБК (Орёл), Норд, совместно с Полтавским СХИ. Оба сорта безлисточковые, устойчивые к полеганию, достаточно высокоурожайные. У сорта Норд масса тысячи семян – 250-300г, содержание белка – 24-25%. В сорте Мультик удалось преодолеть отрицательную корреляцию между крупностью семян и урожайностью. Несмотря на мелкосемянность (масса 1000 семян в среднем около 150г, от 145-179г), по семенной продуктивности Мультик не уступал крупносемянным стандартам. Сорт отличается повышенным содержанием белка в семенах 23,9-26,6% (Зеленов и др., 2009, 2012).

Юниор – сорт селекции ФГБНУ ВНИИЗБК (Орёл), листочковый, среднеспелый, устойчивый к полеганию и корневым гнилям, обладает повышенной азотфиксацией. Характеризуется стабильной урожайностью, как в нормальные, так и в засушливые годы (масса 1000 семян – 230-240г, содержание белка 24-26%) (Волобуева, 2013).

Гелиада и *Шоколадница* – сорта селекции ФГБНУ ФНЦ ЗБК (Орёл). Гелиада – сорт раннеспелый, Шоколадница – среднеспелый. Сорта отличаются по вегетационному периоду, морфологическим особенностям, по урожайности. Оба сорта устойчивые к основным болезням фасоли, отличаются по окраске семян. Масса тысячи семян у сорта Гелиада – 320-380г., у сорта Шоколадница – 290-320 г. Сорта не исследованы в отношении их азотфиксирующей активности.

Магева – сорт сои селекции Рязанской ГО сельского хозяйства, выведен

методом индивидуального отбора из мутантной популяции, раннеспелый, содержание белка в зерне до 40%, жира-19%, слабо восприимчив к бурой ржавчине, масса 1000 семян – 140г.

Свапа – сорт селекции ФГБНУ ФНЦ ЗБК (Орёл), скороспелый, имеет детерминантный тип стебля, высокотехнологичный, отличается неосыпаемостью семян и нерастрескиваемостью бобов, содержание белка до 39%, жира до 22,4%, масса 1000 семян 150г (Волобуева, 2015).

В работе использовали биопрепарат Ризоторфин на основе штаммов клубеньковых бактерий для гороха: *Rhizobium leguminosarum* *bv. viciae*, штамм 250а, 245а; для фасоли *Rhizobium leguminosarum* *bv. phaesoli*, штамм 700; для сои *Bradyrhizobium japonicum*, штамм 634. Все штаммы получены в ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии» (Санкт-Петербург, Пушкин).

Клубеньковой бактерии гороха и фасоли имеют клетки палочковидной формы, слегка искривлены, размер 2-5×0,7 мкм. Бактероиды, как правило, ветвящейся формы, встречаются в клубеньках, иногда в чистой культуре. Колонии большие, содержат много слизи, прозрачные с кремоватым оттенком. Культура быстрорастущая. Здесь и для других штаммов имеется в виду характер роста колоний на минеральной среде с добавлением дрожжевого экстракта и глюконата кальция. Клубеньковые бактерии сои имеют клетки палочковидной формы, вытянутые и слегка изогнутые с одного конца. Размер клеток 5-7×0,6 мкм. Ветвление крайне редко. Бактероиды практически не отличаются по форме от палочек, но более длинные. Штаммы образуют мелкие слизистые колонии белого цвета. Культура медленнорастущая.

В работе также использовали регуляторы роста Альбит, Корневин, Эпин-Экстра, Агростимулин, описание которых дано ранее.

4.2 Условия проведения опытов

Модельные опыты проводились на кафедре микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева. Вегетационные опыты проводились в вегетационном домике лаборатории агрохимии (2005-2010 гг.) ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева и в лаборатории азотного обмена «Института физиологии растений» РАН (2007-2012гг.). Полевые опыты проводились в 2006-2008 гг. в ФГБНУ ФНЦ ЗБК (г. Орел).

4.2.1 Условия выращивания и методика постановки вегетационных и полевых опытов

В процессе исследований были проведены модельные и лабораторные опыты в условиях кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева, вегетационные опыты в условиях вегетационного домика кафедры агрохимии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева и в условиях вегетационного домика лаборатории азотного обмена Института физиологии растений РАН имени К.А.Тимирязева (г. Москва), полевые опыты в ФГБНУ ФНЦ ЗБК (г. Орёл).

Схема полевого опыта №1:

- 1 – Обработка семян растений гороха сорта Норд Ризоторфином (контроль).
- 2 – Обработка семян растений гороха сорта Норд Альбитом на фоне инокуляции Ризоторфином.
- 3 – Обработка семян растений гороха сорта Мультик Ризоторфином (контроль).
- 4 – Обработка семян растений гороха сорта Мультик Альбитом на фоне инокуляции Ризоторфином (Волобуева, Скоробогатова, Шильникова, 2008; Волобуева, 2015).

Семена растений гороха сортов Норд и Мультик замачивали на 3,5 часа в

растворе препаратов, согласно схеме опыта. Ризоторфин, штамм 245а, на основе клубеньковых бактерий гороха *Rhizobium leguminosarum bv.vicia*. Опыт был заложен 18 мая, появление массовых всходов отмечено 29 мая. 18 мая по такой же схеме был заложен опыт с почвенной культурой в сосудах Митчерлиха в вегетационном домике кафедры агрохимии РГАУ-МСХА им. К.А.Тимирязева. Почва – чернозем.

Агрохимическая характеристика почвы: рН 7,1; N по Тюрину и Кононовой (мг/сос.) - 112; P₂O₅ – 200, K₂O – 125 (по Чирикову), вес почвы – 4,550 кг. Повторность 10- кратная, в каждом сосуде по 10 растений. Влажность почвы поддерживали на уровне 60-70% ПВ. Появление всходов отмечено 29 мая.

Схема вегетационного опыта с растениями гороха сортов Норд и Юниор:

- 1 – Обработка семян растений гороха сорта Норд Ризоторфином (контроль).
- 2 – Обработка семян растений гороха сорта Норд Агростимулином на фоне инокуляции Ризоторфином.
- 3 – Обработка семян растений гороха сорта Юниор Ризоторфином (контроль).
- 4 – Обработка семян растений гороха сорта Юниор Агростимулином на фоне инокуляции Ризоторфином (Волобуева, 2013, 2015).

Перед посевом семена замачивали в растворе Агростимулина на 1ч, согласно схеме опыта, а непосредственно перед посевом обрабатывали Ризоторфином (штамм 245а). Почва – чернозем. Агрохимическая характеристика почвы: рН 7,1; N по Тюрину и Кононовой (мг/сос.) - 93; P₂O₅ – 200, K₂O – 125 (по Чирикову), вес почвы – 5 кг. В каждом сосуде по 10 растений (повторность 10-кратная). Влажность почвы поддерживали на уровне 60-70 % ПВ. Посев осуществлен 7 июня, появление всходов отмечено 13 июня.

Схема вегетационного опыта с растениями сои сортов Магева и Свапа:

- 1 – Обработка семян растений сои сорта Магева Ризоторфином (контроль).

2 – Обработка семян растений сои сорта Магева Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризотофином.

3 – Обработка семян растений сои сорта Свапа Ризоторфином (контроль).

4 – Обработка семян растений сои сорта Свапа Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином (Волобуева, 2015).

Растения выращивали в условиях вегетационного домика лаборатории азотного обмена Института физиологии растений РАН им. К.А.Тимирязева (г. Москва) в сосудах с 6 кг кварцевого песка на модифицированной безазотной питательной смеси Кнопа. Азот вносили в виде $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ в дозе 430 мг на сосуд в фазу четвертого листа, а затем через 2 недели вносили смесь Кнопа с микроэлементами по Ринькису. Семена растений сои сортов Магева и Свапа замачивали в течение 3 ч в растворе регулятора роста Эпин-Экстра в концентрации 10^{-6}M . Непосредственно перед посевом обрабатывали Ризоторфином штамм 634, на основе клубеньковых бактерий сои *Bradyrhizobium japonicum*, согласно схеме опыта. Повторность 5-ти кратная, в каждом сосуде по 10 растений. Опыт заложен 28 мая, появление всходов отмечено 1 июня.

Растения гороха сортов Мультик и Норд и фасоли сортов Шоколадница и Гелиада выращивали в условиях полевого опыта ФГБНУ ФНЦ ЗБК (Орёл).

Длина делянки для гороха – 7,5 м, для фасоли – 4,5 м, ширина 1,5 м. расположение вариантов рендомизированное, повторность 4-х кратная. Посев гороха осуществляли сеялкой ССК-6-10, после черного пара, фон $\text{N}_{10}\text{P}_{26}\text{K}_{26}$, Норма высева семян гороха 330 кг/га.

Семена гороха замачивали перед посевом на 5 ч в растворах соответствующих биопрепаратов и регуляторов роста, затем подсушивали, а непосредственно перед посевом (за 30 мин) обрабатывали Ризоторфином (штамм 245а для гороха) (Волобуева, Мирошникова, Наумкина, 2016).

Схема полевого опыта № 2 с горохом:

1. Семена гороха сорта Норд без обработки (контроль).
2. Обработка семян гороха сорта Норд Ризоторфином.
3. Обработка семян гороха сорта Норд Альбитом на фоне инокуляции Ризоторфином.
4. Обработка семян гороха сорта Норд Корневином на фоне инокуляции Ризоторфином.
5. Обработка семян гороха сорта Норд Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином
6. Семена гороха сорта Мультик без обработки (контроль).
7. Обработка семян гороха сорта Мультик Ризоторфином.
8. Обработка семян гороха сорта Мультик Альбитом на фоне инокуляции Ризоторфином.
9. Обработка семян гороха сорта Мультик Корневином на фоне инокуляции Ризоторфином.
10. Обработка семян гороха сорта Мультик Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином.

Семена растений фасоли замачивали в растворах соответствующих регуляторов роста на 5 ч, согласно схеме опыта, затем подсушивали, а непосредственно перед посевом обрабатывали Ризоторфином, штамм 700 на основе клубеньковых бактерий фасоли *Rhizobium leguminosarum bv.phaseoli*. Норма высева семян фасоли на делянку 4,5м² для сорта Гелиада – 130г, для сорта Шоколадница – 90г.

Схема полевого опыта № 3 с фасолью:

1. Семена фасоли сорта Гелиада без обработки (контроль).
2. Обработка семян фасоли сорта Гелиада Ризоторфином.
3. Обработка семян фасоли сорта Гелиада Альбитом на фоне

инокуляции Ризоторфином.

4. Обработка семян фасоли сорта Гелиада Корневином на фоне инокуляции Ризоторфином.

5. Обработка семян фасоли сорта Гелиада Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином.

6. Семена фасоли сорта Шоколадница без обработки (контроль).

7. Обработка семян фасоли сорта Шоколадница Ризоторфином.

8. Обработка семян фасоли сорта Шоколадница Альбитом на фоне инокуляции Ризоторфином.

9. Обработка семян фасоли сорта Шоколадница Корневином на фоне инокуляции Ризоторфином.

10. Обработка семян фасоли сорта Шоколадница Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином.

4.2.2 Климатические и почвенные условия

Полевые опыты закладывались в севообороте в лаборатории селекции зернобобовых культур (2006-2008 гг.) ФГБНУ ФНЦ ЗБК (г.Орёл, Орловская область). Орловская область занимает северный и западный склоны СреднеРусской возвышенности. Институт находится в 8км на юго-запад от г. Орла, с которым его связывает асфальтная дорога. Климат района расположения научно- исследовательского института относится к переходному климату умеренных широт от лесной зоны к зоне степной и характеризуется неравномерным распределением температуры, влажности воздуха и осадков по временам года. По влагообеспеченности область относится к зоне достаточного увлажнения. Часто на территории развиваются эрозионные процессы. Среднегодовая сумма осадков составляет 550-560 мм. Наибольшее количество осадков (43% годовых) приходится на период с июня по август. Наиболее засушливые периоды – май и первая половина июня. Продолжительность активного вегетационного периода с температурой выше 15°С – 80-95 дней. В зимний период наблюдаются частые метелевые ветры,

сдувающие снег с полей. Самым крупным естественным водным источником территории является река Мезенка. Запас воды в ней значительный, но уровень не постоянный. Полноводной река бывает во время весеннего снеготаяния, в летнее время сильно обмелевает. Пойма в весеннее время заливается полностью в течение 4-5 дней. Кроме реки Мезенки на территории НИИ имеются ручьи по д. Спицино, Безымянный, Ендовик, Ольховье, которые немногочисленны и в летнее время пересыхают. Грунтовые воды залегают на небольшой глубине – 0,5-2 м.

Метеорологические условия 2006-2008 годов, когда проводились полевые исследования, отличались по распределению температуры и осадков своей неравномерностью. Вегетационный период 2008 года (май-август) характеризовался как слабозасушливый. Сильнозасушливым (по ГТК) были май и август, избыточно-увлажненным – июль. Среднесуточная температура воздуха составила на этот период 17,1°C, что на 0,7°C выше среднемноголетней. Сумма осадков – 250,4 мм, или 93,4% нормы. Эффективных температур накопилось на 96° больше среднемноголетней нормы. Наиболее теплыми были апрель, июль, август и сентябрь, сумма температур за эти месяцы значительно выше нормы. Осадки превышали норму на 161,7%, только в июле. В мае, июне и в августе их количество составило 60,6-74,8-53,8% нормы (соответственно). Для растений фасоли 2006 г. был избыточно увлажненный, 2007 г. характеризовался, как засушливый, а 2008 г. был благоприятный для развития этих растений.

На территории Орловской области наблюдается переход от дерново-подзолистых почв к черноземам.

На территории ФГБНУ ВНИИЗБК, где проводились полевые исследования, основной почвенный фон составляют серые и темно-серые лесные почвы. Кроме основных почвенных разностей на территории встречаются светло-серая лесная почва, оподзоленный чернозем, лугово-черноземная почва временного избыточного переувлажнения. В поймах рек выявлены зернистые и зернисто-слоистые почвы. По ложбинам и пониженным элементам рельефа

распространены дерново-намытые и иловато-болотно-глиевые почвы.

В наших опытах – почва среднесуглинистая, темно-серая, средней окультуренности. В пахотном горизонте гумуса находилось – 3,7-5,5%, азота (легкогидролизуемого) по Кононовой – 6,7-7,8 мг/100 г почвы, P_2O_5 – 9,8-11,0 мг/100г (по Кирсанову), K_2O – 7,5-7,8 мг/100 г почвы (по Масловой), pH солевой вытяжки – 5,7-6,0 (Волобуева, 2010-2020).

Мощность гумусового горизонта 30-35см. Механический состав почвы в основном среднесуглинистый. Плотность сложения пахотного слоя 1,20-1,25 г/см³. Порозность в верхнем слое почвы – 53%, а в нижних слоях метрового профиля – 45%. Гигроскопическая влажность в пахотном слое 75% к весу почвы. Наименьшая влагоемкость 32,3-34,8%, влажность устойчивого завядания 9,7% от объема почвы.

В годы проведения полевых опытов погодные условия характеризуются как контрастные, однако они повторяют среднемноголетние климатические данные, в связи с чем, результаты, которые мы получили в ходе проведения своих исследований, позволяют объективно и достоверно проанализировать особенности возделывания бобовых культур при использовании биопрепаратов и регуляторов роста и дать разностороннюю оценку их влияния на эффективность бобово- ризобиального симбиоза.

4.3 МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

4.3.1 Культивирование чистых культур клубеньковых бактерий

Коллекционные штаммы клубеньковых бактерий гороха, фасоли выращивали и хранили на бобовом агаре (БА) и среде Фреда. Эти среды для быстрорастущих клубеньковых бактерий. БА готовили следующим образом: 50г белой фасоли заливали 1л дистиллированной воды и варили до готовности 30 минут. Отвар фильтровали через марлю или вату. К отвару добавили, в г/л: сахара – 20; K_2HPO_4 – 1; MgSO_4 – 0,3; агар – 15; pH 7,0. Объем доводили до первоначального и стерилизовали 30 минут при 1,5 атм. Среда Фреда: манит (сахароза или глюкоза) – 10,0г; K_2HPO_4 – 0,5г; MgSO_4 – 0,2г; NaCl – 0,1г; CaCO_3 – 3,0г; дрожжевая вода (pH 6,8) – 100мл; агар – 15г; дистиллированная вода – 1л (pH 7,0). На этих средах клубеньковые бактерии обычно образуют бесцветные или молочные, часто слизистые колонии.

Штаммы клубеньковых бактерий сои культивировали и хранили на среде Лазарева и Исварана. Эти среды для медленно растущих клубеньковых бактерий. Среда Лазарева: г/л, K_2HPO_4 – 0,5; MgSO_4 – 0,2; NaCl – 0,2; MnSO_4 – 0,005; NH_4MoO_4 – 0,002; маннит – 10; дрожжевая – вода 100 мл; агар – 15; pH 6,3. Стерилизовали в течение 30 минут. Среда Исварана: г/л, манит или сахара – 10; K_2HPO_4 – 0,5; MgSO_4 – 0,2; NaCl – 0,1; глюконат кальция – 1,5; FeCl_3 – 0,01; дрожжевой экстракт – 2; агар – 20. Медленно растущие бактерии сои на питательной среде образуют менее прозрачные с небольшим количеством слизи и более плотные беловатые колонии. Инокуляцию проводили при посадке семян 3-х суточной культурой бактерий, выращенной в пробирках на соответствующих питательных средах; нагрузка – около 10^6 клеток на одно растение. В наших исследованиях такой культурой обрабатывали семена растений гороха и сои разных сортов в вегетационном опыте.

4.3.2 Определение содержания фитогормонов

Данная методика была использована при выполнении экспериментального материала и отражена при написании статей (Волобуева, Скоробогатова, Шильникова, 2008; Волобуева, 2010, 2011).

Содержание фитогормонов (ИУК – индолилуксусная кислота, ЦК – цитокинины, АБК – абсцизовая кислота) в листьях, стеблях, корнях с клубеньками определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) по методике, разработанной в лаборатории регуляторов роста и развития сельскохозяйственных растений РГАУ–МСХА им. К.А.Тимирязева. Биологическую активность ГК (гибберелловая кислота) определяли по росту гипокотилей салата сорта Берлинский. Содержание ГК – по калибровочной кривой, для построения которой использовали гибберелловую кислоту (Россия).

Условия хроматографирования для определения ИУК у гороха: детектор флуоресцентный RF - 350 (Shimadzu), Em - 350 nm, Ex - 280 nm, колонка Lichrosorb RP – 18,6 мкм, 4×150. Подвижная фаза – 40%-ный водный раствор метанола, скорость потока 0,6 мл/мин, время удерживания – 18 мин. Идентификация ИУК проводилась сравнением времени удерживания синтетической ИУК (Sigma) с природной. Минимальная регистрируемая концентрация ИУК составила 10,0 нг в аликвоте пробы (50 мкл). Для определения АБК: детектор ультрафиолетовый (модель ВТ 3030), длина волны 254 nm, колонка Lichrosorb RP-18,6 мкм, 4×150. Подвижная фаза – 40%-ный водный раствор метанола, скорость потока 0,7 мл/мин, время удерживания АБК – 8 мин. Идентификация АБК проводилась сравнением времен удерживания синтетической АБК (Calbiochem) с природной. Минимальная регистрируемая концентрация АБК составила 10,0 нг в аликвоте пробы (50 мкл). Условия хроматографирования для определения цитокининов: детектор ультрафиолетовый (модель ВТ 3030), длина волны 268 nm, колонка Lichrosorb RP- 18,6 мкм, 4×150. Подвижная фаза: ацетонитрил-вода-уксусная кислота (V/V – 55:44:1), скорость потока 0,7 мл/мин, время

удерживания – 15 мин. Идентификация зеатина проводилась сравнением времен удерживания синтетического зеатина (Calbiochem) с природным. Минимальная регистрируемая концентрация зеатина составила 25,0 мг в аликвоте пробы (50 мкл).

Определение фитогормонов у гороха проводили в фазу бутонизации-начала цветения (период наиболее активной фиксации азота этих растений).

Условия хроматографирования для определения ИУК у фасоли: детектор флуоресцентный RF - 350 (Shimadzu), Em - 350 nm, Ex - 280 nm, колонка Lichrosorb RP – 18,6 мкм. Подвижная фаза – 40 %-ный водный раствор метанола, скорость потока 0,5 мл/мин, время удерживания – 12 мин. Идентификацию ИУК проводили сравнением времени удерживания синтетической ИУК (Sigma) с природной. Минимальная регистрируемая концентрация ИУК составила 10,0 нг в аликвоте пробы (50 мкл). Условия хроматографирования для определения АБК: детектор ультрафиолетовый (модель ВТ 3030), длина волны 254 nm, колонка Lichrosorb RP- 18,6 мкм. Подвижная фаза – 40%-ный водный раствор метанола, скорость потока 0,5 мл/мин, время удерживания АБК – 18 мин. АБК идентифицировали, сравнивая время удерживания синтетической АБК (Calbiochem) с природной. Минимальная регистрируемая концентрация АБК составила 10,0 нг в аликвоте пробы (50 мкл). Условия хроматографирования для определения цитокининов: детектор ультрафиолетовый (модель ВТ 3030), длина волны 268 nm, колонка Lichrosorb RP- 18,6 мкм, 4 x 250. Подвижная фаза: ацетонитрил-вода-уксусная кислота (V/V – 55:44:1), скорость потока 0,7 мл/мин, время удерживания – 15 мин. Зеатин идентифицировали, сравнивая время удерживания синтетического зеатина (Calbiochem) с природным. Минимальная регистрируемая концентрация зеатина составила 25,0 нг в аликвоте пробы (50 мкл). Определение фитогормонов у фасоли проводили в фазу цветения – период наиболее активной фиксации азота этих растений (Волобуева, 2011).

Для растений сои условия хроматографирования для определения ИУК: детектор флуоресцентный RF - 350 (Shimadzu), Em - 350 nm, Ex - 280 nm,

колонка Lichrosorb RP – 18,6 мкм, 4×250. Подвижная фаза – 40%-й водный раствор метанола, скорость потока 0,6 мл/мин, время удерживания – 11 мин. Идентификацию ИУК проводили сравнением времени удерживания синтетической ИУК (Sigma) с природной.

Минимальная регистрируемая концентрация ИУК составила 5,0 нг в аликвоте пробы (50 мкл). Условия хроматографирования для определения АБК: детектор ультрафиолетовый (модель ВТ 3030), длина волны 254 nm, колонка Lichrosorb RP- 18,6 мкм. Подвижная фаза – 40%-й водный раствор метанола, скорость потока 0,5 мл/мин, время удерживания АБК – 22 мин. АБК идентифицировали, сравнивая время удерживания синтетической АБК (Calbiochem) с природной. Минимальная регистрируемая концентрация АБК составила 7,5 нг в аликвоте пробы (50 мкл). Условия хроматографирования для определения цитокининов: детектор ультрафиолетовый, колонка Lichrosorb RP-18,6 мкм. Подвижная фаза: ацетонитрил- вода-уксусная кислота (V/V – 55:44:1), скорость потока 0,9 мл/мин, время удерживания – 12 мин. Зеатин идентифицировали, сравнивая время удерживания синтетического зеатина (Calbiochem) с природным. Минимальная регистрируемая концентрация зеатина составила 25,0 нг в аликвоте пробы (50 мкл). Определение фитогормонов у сои проводили в фазу плодообразования – период высокой азотфиксирующей активности у сои. Ошибка определения содержания фитогормонов не превышала 20% (Волобуева, 2015; Волобуева, Белопухов, 2013).

4.3.3 Учет количества и массы клубеньков

Учет количества и массы клубеньков определяли путем отделения клубеньков от корневой системы с помощью пинцета, подсчета и взвешивания их на электронных весах.

Корневую систему бобового растения с клубеньками извлекают методом монолитов. Корни с клубеньками из каждого слоя почвы отмывают под струей воды на ситах с диаметром отверстий 1мм. Для удаления пылевидных частиц

почвы используют мягкую кисточку. Корни с клубеньками подсушивают фильтровальной бумагой и взвешивают на весах. Клубеньки отделяют от корней, учитывают количество клубеньков и их массу взвешиванием. Анализируют не менее 10 растений, повторность 5-7-кратная (Посыпанов, 1991).

4.3.4 Определение нитрогеназной активности в клубеньках

Определение нитрогеназной активности основано, на способности нитрогеназы восстанавливать ацетилен до этилена. Использована методика определения активности симбиотической азотфиксации растений в полевых условиях и условиях искусственного климата (вегетационный опыт) (Орлов с соавт., 1984).

Азотфиксирующую активность бобовых растений определяли ацетиленовым методом ($N_2(C_2H_2)$) через 3-5 недель после появления всходов у гороха (фаза 6-8 листьев), в фазу бутонизации-начала цветения, цветения, у фасоли в фазу бутонизации-начала цветения, у сои – начиная с фазы бутонизации и до фазы налива плодов. Пробы растений отбирали с опытной делянки в одно и то же время (10 ч) по 10 растений с каждого варианта, из которых 5 для определения $N_2(C_2H_2)$ и 5 - для определения массы и количества клубеньков. В лаборатории корни растений аккуратно отряхивали, отмывали водой от остатков почвы, отделяли от надземной массы на уровне корневой шейки и по 5 корней помещали в реакционные флаконы объёмом 130см^3 , которые закрывали специальной резиновой пробкой. В каждый флакон вводили ацетилен (примерно 5% объёма) с помощью медицинских шприцев с силиконовой прокладкой, типа «Рекорд». Для анализа использовали ацетилен, полученный в лаборатории в колбе Бунзена при взаимодействии карбида кальция с дистиллированной водой. Экспозиция - 1 ч. Через 1 ч процесс нитрогеназного восстановления ацетилена в этилен прерывали, вводя во флакон реактив Несслера в объёме, равном объёму введённого ацетилена. После ввода реактива флакон сразу же тщательно встряхивали. Указанные химикаты

связывают непрореагировавший ацетилен и инактивируют клубеньки. Нитрогенезную активность определяли на газовом хроматографе «Цвет- 106».

Расчёт количества этилена (C_2H_4), образовавшегося за период взаимодействия ацетилена с нитрогеназой в реакционном флаконе, производили в расчёте на 1 растение, результат выражали в наномолях (нМ). Количество образовавшегося этилена рассчитывали по формуле:

$$A = P_2 \times \frac{V_3 \times 44,6}{P_1 \times t \times n} \text{ (нМ/ растение/ ч);}$$

где, А - количество этилена (C_2H_4) в нМ на флаконе в единицу времени; P_1 - усредненный пик диаграммы пробы стандарта, см;

P_2 - пик диаграммы пробы из флакона, см; V_3 - объём флакона, см³;

t - время экспозиции, час;

n - число корней во флаконе;

44,6 - количество нМ C_2H_4 в 1 см³ стандарта.

Результат удобно выражать в микрограммах (мкг) N. Пересчет результатов анализа в мкг N/растение/час удобнее всего проводить на конечном этапе расчетов, т.е. пересчитывать среднюю цифру нМ C_2H_2 /раст./час, характеризующую сортообразец. Полученное количество нМ C_2H_4 /раст./час умножают на множитель $28/3 \cdot 10^{-3} = 0,0093$. Таким образом, активность симбиотической азотфиксации /N₂(C_2H_2)/ можно выражать как в нМ C_2H_4 /раст./час, так и в мкг N/раст./час.

4.3.5 Электронно-микроскопические исследования структуры

клубеньков

Данная методика была отражена при написании моих отдельных статей (Волобуева, 2012, 2014-2016; Волобуева, Мирошникова, 2018).

Анализ ультраструктуры клубеньковой ткани растений гороха, фасоли, сои проводили в периоды наиболее активной азотфиксации: у гороха в фазу

бутонизации-начала цветения, у фасоли – в фазу цветения, у сои в фазу плодообразования. Анализировали свежие клубеньки (чаще всего срединной части) растений. Клубеньки перед фиксацией разрезали бритвой на маленькие кусочки размером 1 мм³ и погружали в 0,1М фосфатный буфер (рН 7,4) в 10-ти кратной повторности. В течение 2,5 – 3,0 ч при 0°С (в холодной комнате) фиксировали в 2,5%-ном растворе глутаральдегида, после чего клубеньки промывали в фосфатном буфере 3 раза по 30 мин при 0°С и заливали осмиевым фиксатором на ночь (в холодной комнате). Отмытые в фосфатном буфере клубеньки обезвоживали в спиртах возрастающих концентраций и ацетона, затем заливали в смесь эпонов. Фиксацию клубеньков в глутаральдегиде проводили по методу Sabatini. Срезы получали на ультрамикротоме LKB-3 («LKB», Швеция) и помещали на сетки с формваровой подложкой, контрастировали 1%-ным водным раствором уранилацетата и 0,2%-ным цитратом свинца. Препараты просматривали в электронном микроскопе TEMSCAN 100CX2 («JEOL», Япония) (инструментальное увеличение 300000, а ускоряющее напряжение 80 кВ). Применяли фотопластинки для ядерных исследования, когда проводили фотографирование объекта.

Далее, после получения фотографий, для них применяли метод статистической обработки.

Статистическую обработку полученных исследований проводили на приборе MOP-VIDEOPLAN фирмы «Reichert» (Австрия) (Волобуева, 2015). Работу на видеоплане проводили в следующей последовательности. Поставить правильно диск (прорезно внутрь) и включить видеоплан. А → У → 2 → CR → ручкой на таблетке нажать PROG → после появления записи на экране нажать ручкой CLEAR → выбрать программу → ручкой нажать SCL (увеличение) → ручкой относительно планета вывести в квадратике MAGNIF, нажать на таблетку 2 раза, нажать на клавиатуре нужное увеличение → CR → ручкой нажать на таблетке PROG → CR → 1(программа) → на клавиатуре – TAB. Записать № файла, далее начать работать, нажать SING. В конце работы

записать в память: STO → YES → YES.

Подготовка увеличения: если негативы сняты при увеличении $\times 17$ (увеличиваем в 3 раза), $17 \times 3 = 51$, а нужное увеличение $\times 51\ 000$, тогда объектив поднимают до тех пор, пока на метке по линейке будет, 3 см → наводим фокус. Желательно, чтобы все негативы были при одном увеличении. Далее выбираем параметры: площадь 1-ый параметр – AREA, точки (количество) 2-ой параметр – POINT. Далее через RESET продолжить работу. Для перехода на следующий вариант MDAT. Кривая Гауса – классификация. A → CLASS –1 → CR → comman DS и т.д. Запись: MEAM – средняя величина \pm STDERROK. Если в конце стоят значения: - 01 – 0,0.....; - 02 – 0,00.....; - 03 – 0,000.....

Ввод чисел математической обработки:

A – CORR – 1 → CR → 2 → 9 → COUNTHL → POS 1 → CR. Перед записью в память записать ТАБЛ.

В наших опытах проводили статистическую обработку электронномикроскопических исследований изменения ультраструктуры симбиосом и бактериоидов при обработке биопрепаратами и регуляторами роста.

Определяли площадь и количество *симбиосом* (С), *бактероидов* (Б), *включений поли-β-оксимасляной кислоты* (ПОМ), *волютина* (В), а также в отдельных вариантах (где это было возможно) определяли площадь (Волобуева, 2015) *перибактероидного пространства* (ПБП).

Площадь ПБП находили, вычитая из средней площади симбиосом, среднюю площадь бактериоидов.

$$S = S_1 - S_2,$$

где S – площадь ПБП, S_1 – средняя площадь симбиосом,

S_2 – средняя площадь бактериоидов,

S_2 – вычисляли по формуле:

$S_2 = S_2' \times n$, где S_2' – площадь бактериоидов, n – количество бактериоидов,

$S_B = B \times A$, где S_B – средняя площадь всех бактериоидов,

B – количество бактериоидов, A – средняя площадь бактериоидов.

$S_{\text{Пом}} = B_{\text{Пом}} \times S_{\text{П}}$, где $S_{\text{Пом}}$ – средняя площадь включений ПОМ, $B_{\text{Пом}}$ – количество включений ПОМ, $S_{\text{Пом}}$ – площадь включений ПОМ.

$S_{\text{В}} = B_{\text{В}} \times S_{\text{В}}$, где $S_{\text{В}}$ – средняя площадь включений воллютина, $B_{\text{В}}$ – количество включений воллютина, $S_{\text{В}}$ – площадь включений воллютина.

В отдельных вариантах отсутствовали симбиосомы и были только бактериоиды.

4.3.6 Определение белка (сырого протеина)

Для определения белка (сырого протеина) использовали методику Ермакова (Ермаков и др., 1987) применительно к особенностям нашего опыта.

Вначале готовили соответствующие реактивы. Далее навеску 100 мг переносили в колбу Кьельдаля (100-250 мл) заливали и озоляли серной кислотой 10мл, добавляли катализатор 2 г, затем переносили в отгонную, озоляли и получали бесцветный раствор в колбе. После озоления содержимое колбы переносили в отгонный аппарат, где отгоняли аммиак. Отгонка аммиака проводилась на приборе Сереньева по соответствующей схеме.

Далее проводили вычисление результатов. Разделив, вес белка на вес навески, и умножив на 100, получаем процентное содержание белка в данном веществе. Для фасоли, гороха – среднее значение содержания азота в белке – 16% и коэффициент пересчета – 6,25.

4.3.7 Определение крахмала поляриметрическим методом

Крахмал – полимер глюкозы, состоящей из двух полисахардов, отличающихся по строению и свойствам – линейного полисахарида амилозы и «ветвистого» амилопектина. Амилоза более растворима и обладает меньшей вязкостью, чем амилопектин. Для определения крахмала широко применяются поляриметрические методы, с использованием поляриметров разной конструкции. Принцип поляриметрического метода состоит в гидролизе крахмала и определении в гидролизате угла вращения. В работе использовалась методика, описанная А.И. Ермаковым (Ермаков, 1987, с. 148).

4.3.8 Определение амилозы в крахмале

Определение амилозы в крахмале проводили по методике А.И. Ермакова (Ермаков, 1987).

В мерную колбу на 100 мл отвешивают 100 мг препарата и добавляют 1 мл 95%- го спирта и 9 мл 1н р-ра NaOH, перемешивают и нагревают на кипящей водяной бане

10 мин (30 мин) для кристаллизации крахмала. Охлаждают и доводят до метки дистиллированной водой и хорошо перемешивают. В другую колбу на 100 мл берут 5 мл этого раствора крахмала, добавляют 1 мл 1 н уксусной кислоты и 2 мл йодного раствора (0,2 г йода в 2 г KI в 100 мл воды). Доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают и настаивают 20 мин. После этого измеряют оптическую плотность полученной окраски на фотоэлектрокалориметре при 620 нм. (Это делают и сразу в муке – просеивают её через сито 100 мк) – стандартная кривая. 40 мг амилозы смачивают 1 мл спирта и 9 мл 1 н раствора NaOH, нагревают 10 мин (30 мин) на кипящей бане, охлаждают и доводят до метки. Берут 1,2,3,4,5 мл раствора амилозы в мерные 100 мл колбы, добавляют 1 н раствор уксусной кислоты соответственно (0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1 мл) прибавляют ко всем по 2 мл раствора йода, доводят до метки и смотрят на ФЭКе. Светофильтр – 670, кюветка – 20. После просмотра делаем расчеты (Ермаков, 1987, с. 151).

4.3.9 Определение жира в семенах

Жиры (липиды) или масла определяли в семенах бобовых растений. Методы определения липидов связаны с их физическими свойствами. В работе использовалась методика определения сырого жира по количеству обезжиренного остатка в модификации С.В. Рушковского (Ермаков, 1987, с. 200).

Пакетики из фильтровальной бумаги обезжиривали эфиром в аппарате Сокслета или помещали их в обычную банку на 1 сутки. В обезжиренный пакетик, предварительно высушенный в сушильном шкафу и взвешенный

вместе с бюксом, отвешивали навеску в 1 г. Пакетик высушивали до постоянного веса вместе с бюксом. Закрытый пакетик с навеской помещали в бюкс, ставили в термостат и сушили до постоянного веса вместе с бюксом. Закрытый пакетик с навеской помещали в бюкс, ставили в термостат и высушивали до постоянного веса при температуре 100-150 °С в течение 6-8 часов. После доведения до постоянного веса пакета с навеской, его помещали в экстрактор аппарата Сокслетта. По окончании экстрагирования пакеты переносили из аппарата на фильтровальную бумагу, происходило обезжиривание. Затем их помещали в бюксы и высушивали до постоянного веса в термостате при температуре 100-150 °С.

Вычисление % содержания жира проводили по формуле:

$$X = \frac{B \times 100}{A} \%, \quad \text{где } A - \text{вес навески, г} \\ B - \text{вес сырого жира, г}$$

Вес сырого жира = вес после экстрагирования и сушки вместе с бюксом и пакетом с навеской – вес пустого бюкса с пакетом после экстрагирования, высушивали и взвешивали. Вес пакета с навеской и бюксом – вес пакета с навеской и бюксом после экстрагирования. На абсолютно сухое вещество:

$$\% = \frac{D \times 100}{H};$$

$D = (B - C)$, H – навеска сухая, $H = B - A$, A = вес пустого бюкса с фильтром обезжиренные, B – вес бюкса с фильтром и навеской после сушки, C – вес бюкса с фильтром и обезжиренной навеской после сушки

Навеска 1 г (сырая). Вес пакета. Вес пакета с навеской. Сушка пакета с навеской до абсолютно сухого веса. Взвешивание. Отгонка в аппарате Сокслета с учетом культуры (горох – дня, соя – неделя) с обязательной проверкой на наличие жира. При необходимости процесс продолжали.

Сушка в вытяжном шкафу 0,5 часа, сушка в сушильном шкафу – 5 часов. Взвешивание. Сушка по 1 часу до получения абсолютно сухого веса. Расчет.

4.3.10 Определение ростовых показателей

В процессе роста и развития бобовых растений в вегетационных и полевых исследованиях определяли ростовую активность (относительную скорость роста).

Ростовую активность высоты побегов и ярусности рассчитывали, используя формулу:

$$Raak = \frac{a_2 - a_1}{t \times a_1} \times 100\%$$

где t – время в сутках, a_1 – первое измерение, a_2 – второе измерение.

Наблюдая за ростом и развитием бобовых растений, отмечали наступление важных фенологических фаз. У зерновых бобовых культур обычно отмечают следующие фазы: всходы, ветвление, бутонизация, цветение, образование бобов, полный налив, полная спелость. Всходы: появляется семядольный или настоящий лист и ряды хорошо просматриваются. С этой фазы начинается наблюдение за формированием симбиотического аппарата, отчёт периода вегетации. Ветвление отмечают, когда из пазухи нижних листьев появляется побег второго порядка. Бутонизация наступает при появлении первых бутонов на растении. Цветение регистрируют при раскрытии цветков в пазухе нижнего листа. Образование бобов фиксируют, когда в пазухе нижнего листа заканчивается рост в длину первого боба. Полный налив семян у зерновых бобовых культур отмечают, когда бобы нижнего и среднего яруса наполнены. У зерновых бобовых в этой фазе, как правило, нижние листья желтеют, но ещё не опадают, растения накапливают максимальное количество органической массы и элементов питания. Затем отмечают опадение листьев и недоразвитых генеративных органов, отмирание мелких корней, и кривые динамики данных показателей падают. Полная спелость – физиологическая зрелость семян, когда бобы и семена приобретают характерную для вида и сорта окраску (Посыпанов, 1991).

4.3.11 Методы статистической обработки экспериментального материала

Дисперсионный анализ широко используется для планирования эксперимента и статистической обработки его данных. Методом дисперсионного анализа можно обработать данные наблюдений и учетов вегетационного и полевого однофакторного и многофакторного опытов.

Сущность дисперсионного анализа заключается в расчленении общей суммы квадратов отклонений и общего числа степеней свободы на части-компоненты, соответствующие структуре эксперимента и оценке значимости действия изучаемых факторов по F-критерию (Доспехов, 1979).

Статистическая обработка данных осуществлялась методами корреляционного и дисперсионного анализов по Б.А. Доспехову (1985) с использованием программы Statistica for Microsoft Windows.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

ГЛАВА 5 ВЛИЯНИЕ БИОПРЕПАРАТА И РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА ГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС ГОРОХА (*Pisum sativum* L.), ФАСОЛИ (*Phaseolus vulgaris*) И СОИ (*Glycine max*)

5.1 Влияние Альбита на содержание и соотношение фитогормонов растений гороха на фоне инокуляции Ризоторфином

Все представленные в данном разделе результаты отражены в напечатанных мною работах и в соавторстве (Волобуева, Мирошникова, Кондыков, 2007; Волобуева, 2007; Волобуева, Скоробогатова, Шильникова, 2008; Волобуева, 2019).

Использование биопрепаратов и регуляторов роста может быть высокоэффективным только на основе изучения уровня естественных гормонов в растительном организме.

При воздействии на растения экзогенными препаратами в них изменяется содержание и соотношение эндогенных гормонов (Якушкина, 1983; Курапов, 1999; Гарипова и др., 2010; 2015). В настоящее время накоплен большой экспериментальный материал, в котором анализируется содержание фитогормонов в растениях (Пузина, 1999; Скоробогатова и др., 1999; Акимова и др., 2000; 2002; 2005). Однако гормональный статус бобового растения при симбиозе с клубеньковыми бактериями изучен недостаточно. В связи с чем, при симбиотических отношениях макро - и микросимбионта изучали влияние Ризоторфина и Альбита на содержание и соотношение эндогенных фитогормонов в листьях, стеблях и корнях с клубеньками растений гороха сортов Норд и Мультик в фазу бутонизации-начала цветения (период наиболее активной азотфиксирующей активности у гороха) в условиях вегетационного опыта.

Исследовали содержание ауксинов по ИУК, цитокининов по зеатину, гиббереллинов – по гибберелловой кислоте и абсцизовой кислоты в органах

растений гороха двух разных сортов, отличающихся по размерам семян. В контрольном варианте семена были обработаны Ризоторфином, который способствовал образованию клубеньков. В опытном варианте на фоне инокуляции Ризоторфином семена обрабатывали Альбитом в концентрации $10^{-5}M$.

Анализ уровня содержания гормонов в растениях гороха Норд и Мультик в фазе бутонизации-начала цветения при их обработке Альбитом на фоне инокуляции Ризоторфином показал:

Содержание ИУК. У сорта Норд содержание ауксинов под влиянием Альбита на фоне инокуляции Ризоторфином не изменялось в листьях и стеблях, и снижалось в корнях с клубеньками на 25% по сравнению с вариантом обработки Ризоторфином. У растений гороха сорта Мультик содержание ауксинов под влиянием Альбита на фоне инокуляции Ризоторфином повышалось в листьях, стеблях и корнях с клубеньками на 97,4%, 50,4% и 34% соответственно, по сравнению с вариантом обработки семян только Ризоторфином (рис. 5.1).

Вероятно, что этот эффект был вызван положительным влиянием ризобактерий Альбита, усиливший метаболическую активность клубеньковых бактерий, поскольку известно, что ризобии являются продуцентами ауксинов. Кроме того, возможна связь с эффектом стимуляции АТФ-азы под влиянием эндогенной ИУК, которая увеличила показатели энергетического обмена бактерий, связанного с процессами дыхания и окислительного фосфорилирования.

Содержание зеатина. У растений гороха сорта Норд при обработке Альбитом на фоне инокуляции Ризоторфином содержание зеатина повышалось в стеблях в 2 раза и снижалось в листьях и в корнях с клубеньками на 25% и 40% соответственно (рис. 5.2). У растений гороха сорта Мультик содержание ЦК повышалось в стеблях (в 4 раза), снижалось в листьях на 25% и в корнях с клубеньками на 23%.

Наибольшее содержание зеатина отмечено в корнях с клубеньками растений

гороха обоих сортов при обработке только Ризоторфином.

Этот факт подтверждает, что основным местом синтеза цитокининов служат апикальные меристемы корней, влияющие на развитие побега и, прежде всего, на функционирование ассимиляционного аппарата (Кулаева, 1973, Kuiper et.al, 1988; Веселов и др., 1998, Романов, 2002, 2008, Высоцкая и др., 2011).

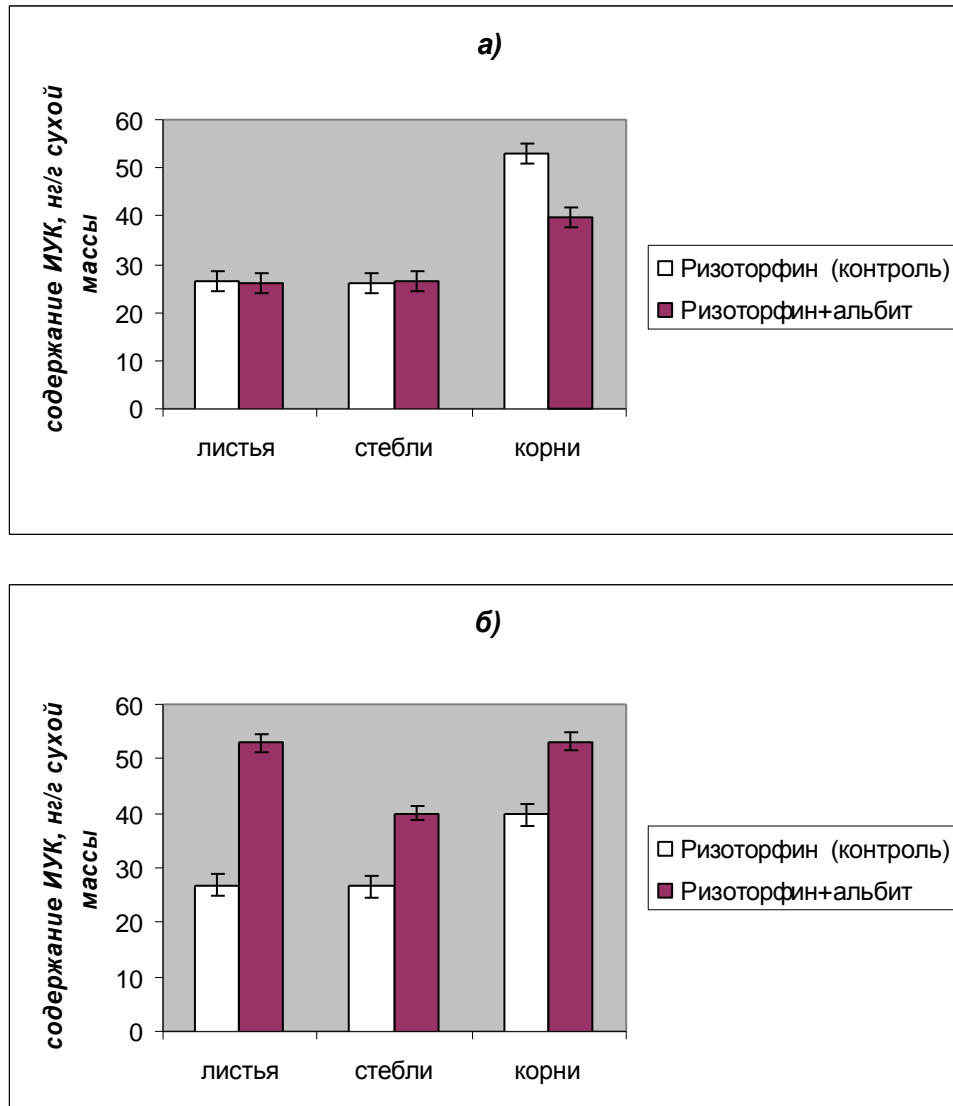


Рисунок 5.1 Влияние Альбита на содержание ИУК в органах растений гороха разных сортов: а – Норд, б – Мультик

(Волобуева, 2019; Волобуева, Скоробогатова, Шильникова, 2008)

Наибольшее содержание ЦК в корнях с клубеньками при обработке Ризоторфином, возможно, объясняется тем, что некоторые бактерии ризосферы,

ассоциированные с растениями, способны синтезировать большие количества фитогормонов, в том числе цитокинины (Mercier, Kerbauy, 1991; Sakakibara, 2003; Hwang, Sakakibara, 2006; Долгих и др., 2016, Драговоз и др., 2011).

Таким образом, если ауксины влияют на распределение питательных веществ и воды, обладая аттрагирующим эффектом, регулируют дыхание и синтез АТФ (окислительное фосфорилирование), то цитокинины отвечают за фотофосфорилирование, усиливают отток ассимилятов, влияют на азотный обмен (Кулаева, 1982, 2004).

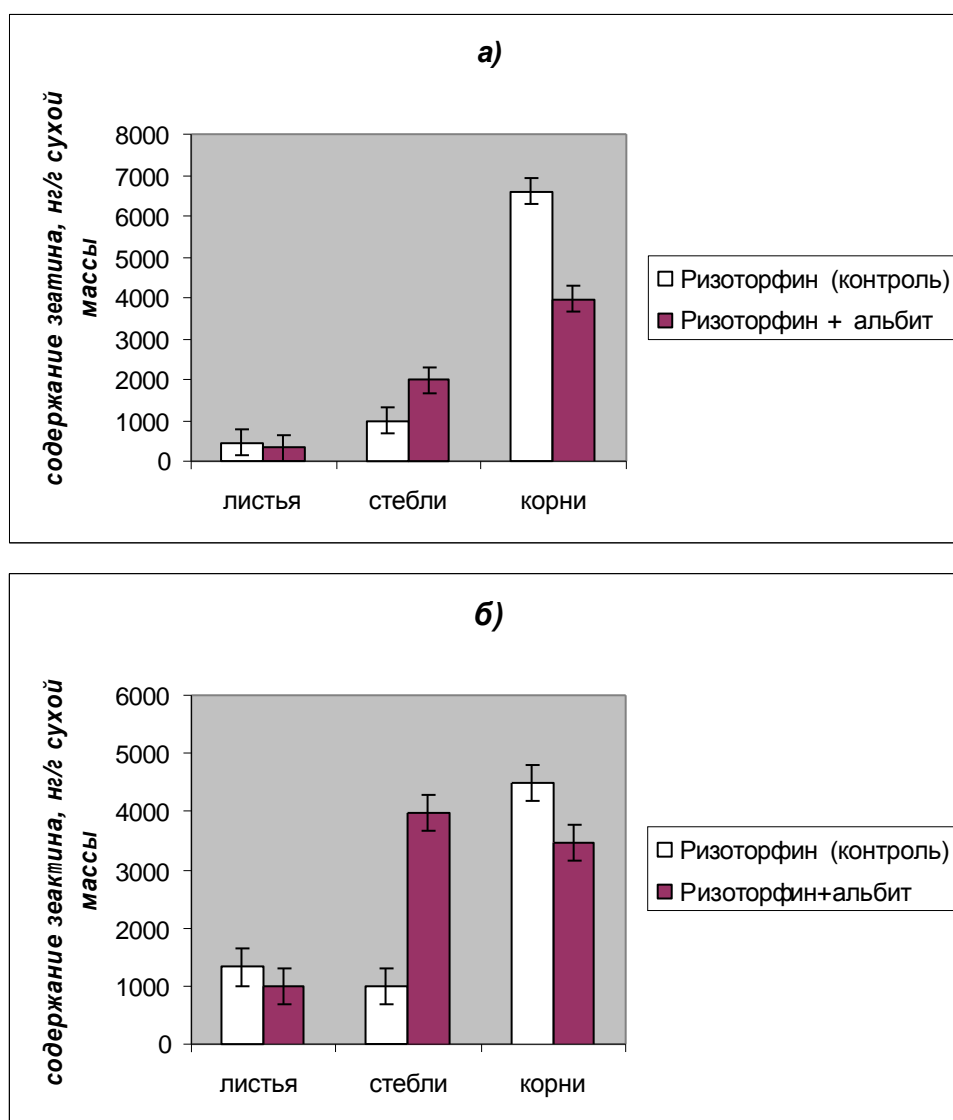


Рисунок 5.2 Содержание зеатина в органах растений гороха разных сортов: а – сорт Норд, б – сорт Мультик, при обработке семян Альбитом и Ризоторфином

(Волобуева, Скоробогатова, Шильникова, 2008)

Содержание гиббереллинов. Данные рисунка 5.3 свидетельствуют о том, что под влиянием Альбита на фоне инокуляции Ризоторфином у растений гороха сорта Норд происходило повышение содержания ГК в листьях на 17,24%, в стеблях и в корнях с клубеньками почти в 2 раза, по сравнению с контролем. Молекулярные механизмы действия гиббереллинов, их структурные особенности и функциональное действие свидетельствуют, что они не только синтезируются во многих органах растений, но могут также транспортироваться в растениях в акро - и базипетальном направлениях (Муромцев и др., 1987).

Что касается сорта Мультик, то отмечено существенное изменение при обработке Альбитом в уровне ГК в листьях – увеличение почти в 3 раза против контроля. Вместе с тем, Альбит значительно снизил содержание ГК в стеблях и корнях с клубеньками (на 25,86% и 25,62% соответственно), по сравнению с вариантом обработки только Ризоторфином (рис. 5.3).

Гиббереллины, подобно ауксинам, участвуют в разрастании завязи и образовании плодов. Гиббереллины способствуют не перераспределению питательных веществ, а общему их накоплению, отвечая за фотофосфорилирование. Возможно поэтому, как показали наши последующие исследования, наблюдалось снижение азотфиксирующей активности клубеньков растений гороха сорта Норд под влиянием Альбита на фоне инокуляции Ризоторфином и повышение симбиотической активности у сорта Мультик под влиянием Альбита на фоне инокуляции Ризоторфином.

Содержание АБК. Данные рисунка 5.4 свидетельствуют о том, что у растений гороха сорта Норд отмечено значительное повышение содержания абсцизовой кислоты (почти в 4 раза) под влиянием Альбита, на фоне инокуляции Ризоторфином, в стеблях по сравнению с контролем. Содержание АБК под влиянием Альбита, на фоне инокуляции Ризоторфином, в листьях и в корнях с клубеньками было почти на уровне с контролем. Что касается сорта гороха Мультик, то при обработке Альбитом на фоне инокуляции Ризоторфином отмечено изменение в уровне АБК в стеблях – увеличение почти в 2 раза и в корнях с клубеньками – увеличение на 49% против

контроля. Обычно АБК, ингибитор роста, играющий ведущую роль в регулировании покоя, тормозит ростовые процессы в растении. Торможение роста сопровождается подавлением синтетических процессов и ускорением старения тканей.

АБК выступает антагонистом ауксинов, цитокининов и гиббереллинов. Абсцизовую кислоту называют стрессовым гормоном, поскольку при резких колебаниях температуры, степени засоления и водном дефиците её концентрация сильно меняется.

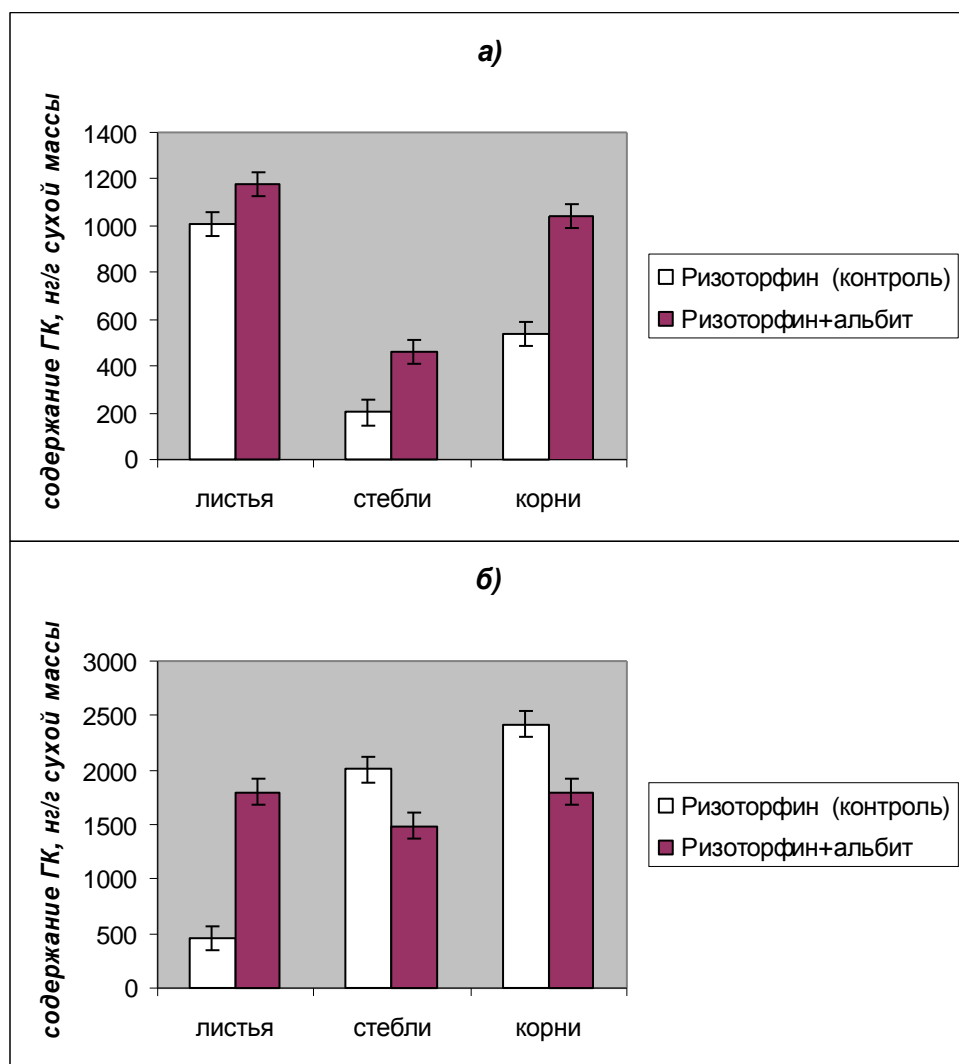


Рисунок 5.3 Содержание ГК в органах растений гороха разных сортов: а – Норд, б – Мультик, при обработке семян Альбитом и Ризоторфином (Волобуева, Скоробогатова, Шильникова, 2008)

Действие АБК могут блокировать другие фитогормоны. Антагонизм между ЦК и АБК отмечен в ряде работ (Якушкина и др., 2005; Нефедьева и др., 2005).

Использование Альбита в сочетании с Ризоторфином приводило к изменению соотношения эндогенных фитогормонов в листьях, стеблях и корнях с клубеньками растений (табл. 5.1). Отмечены сортовые особенности растений гороха по содержанию эндогенных фитогормонов, что свидетельствует об их влиянии на метаболизм растений.

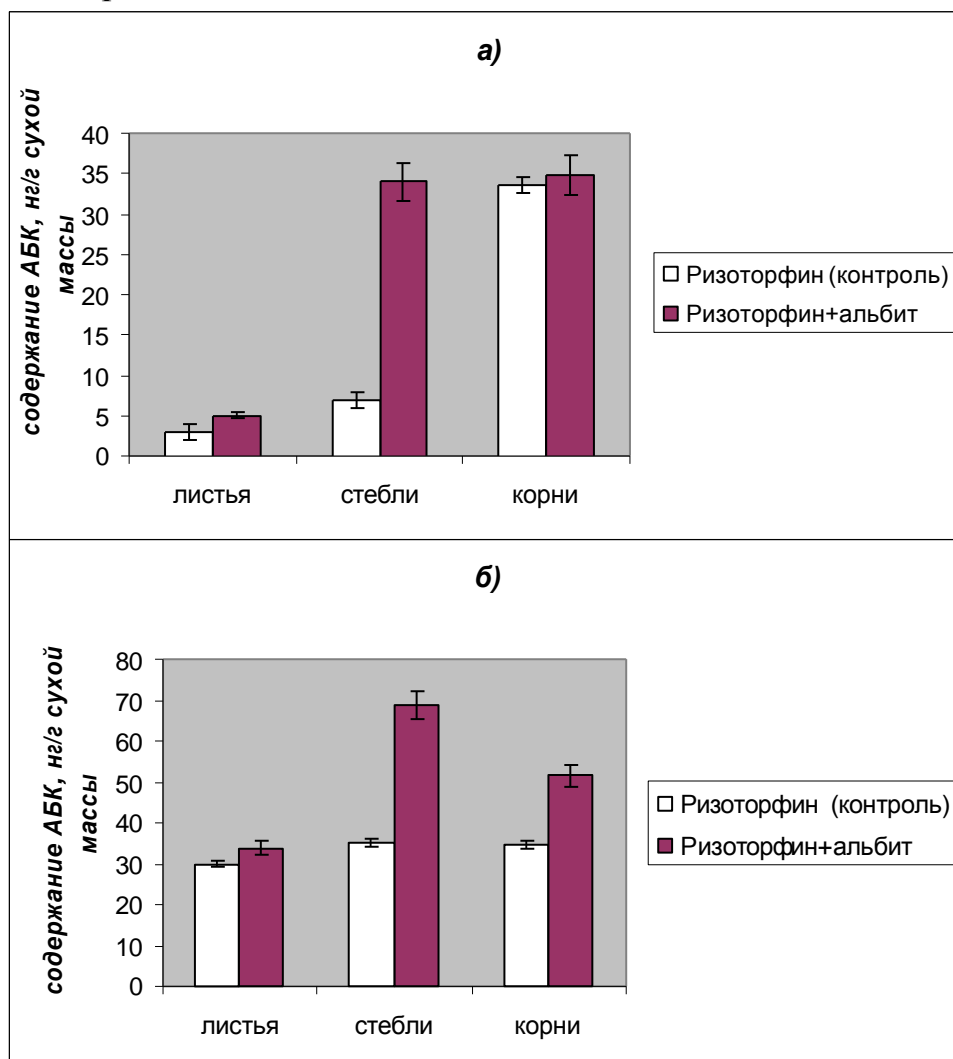


Рисунок 5.4 Влияние Альбита на содержание АБК в органах растений гороха разных сортов: а – Норд, б – Мультик

(Волобуева, 2019)

Несомненно, что фитогормоны растений вызывали усиление метаболизма ризобий и ризобактерий, что позволило в дальнейшем характеризовать их действие как фактор, способствующий формированию эффективного симбиоза (Волобуева, Скоробогатова, Шильникова, 2008).

В таблице 5.1 представлено соотношение гормонов в растениях гороха сортов Норд и Мультик при обработке Альбитом.

Таблица 5.1 – Соотношение фитогормонов в растениях гороха сортов Норд и Мультик (Волобуева, 2013)

Вариант	Органы растения	Соотношение фитогормонов			
		ИУК/ АБК	ГК/ АБК	ЦК/ АБК	ИУК+ЦК+ГК/ АБК
Сорт Норд+ Ризоторфин	Листья	8,83	150	334,47	164,4
	Стебли	3,74	141,5	28,69	24,85
	Корни	1,58	197	16	6,41
Сорт Норд + Альбит	Листья	5,2	67,1	235,28	61,52
	Стебли	7,79	58,24	13,54	2,34
	Корни	0,97	113,79	29,89	4,16
Сорт Мультик + Ризоторфин	Листья	0,89	44,0	15,22	2,0
	Стебли	0,76	28,3	57,34	2,47
	Корни	1,15	130,05	69,94	5,82
Сорт Мультик + Альбит	Листья	1,56	29,34	53,07	2,48
	Стебли	0,58	57,72	21,66	1,16
	Корни	1,03	67,2	34,88	2,0

Таким образом, можно заключить следующее.

Сорт Норд. Содержание ауксинов у растений гороха сорта Норд под влиянием Альбита на фоне инокуляции Ризоторфином не изменялось в листьях и стеблях и снижалось в корнях с клубеньками на 25% против контроля.

Содержание зеатина под влиянием Альбита повышалось в стеблях в 2 раза и снижалось в листьях и в корнях с клубеньками на 25% и 40% соответственно.

Содержание ГК под влиянием Альбита увеличивалось в листьях на 17,2%, в стеблях и корнях с клубеньками почти в 2 раза по сравнению с контролем.

Содержание АБК под влиянием Альбита значительно повышалось в стеблях (почти в 4 раза) против контроля.

Сорт Мультик. Содержание ауксинов под влиянием Альбита повышалось в листьях, стеблях и корнях с клубеньками на 97,4%. 50,4% и 34% соответственно, по сравнению с вариантом обработки Ризоторфином.

Содержание *зеатина* под влиянием Альбита повышалось в стеблях (в 4 раза), снижалось в листьях на 25% и в корнях с клубеньками на 23%, по сравнению с контролем.

Содержание *ГК* - под влиянием Альбита отмечено существенное увеличение содержания ГК в листьях (почти в 3 раза) и снижение в стеблях на 25,86% и в корнях с клубеньками на 25,63% по сравнению с контролем. Содержание *АБК* под влиянием Альбита, на фоне инокуляции Ризоторфином, в листьях было почти на уровне с контролем, увеличивалось в стеблях (в 2 раза) и в корнях с клубеньками на 49%, по сравнению с контролем.

Таким образом, обработка растений гороха сортов Норд и Мультик биопрепаратом Ризоторфином, содержащим штамм клубеньковых бактерий *Rhizobium leguminosarum* 245a, и Ризоторфином в сочетании с Альбитом, приводила к изменению соотношения эндогенных фитогормонов в листьях, стеблях и корнях с клубеньками этих растений. Отмеченные изменения в содержании фитогормонов и их перераспределение по органам растений оказали влияние, как показали наши последующие исследования, на азотфиксацию. Так, повышение азотфиксирующей активности в клубеньках растений гороха сорта Мультик отмечено при обработке Альбитом на фоне инокуляции, а сорта Норд – при обработке Ризоторфином.

Отмечены сортовые особенности растений гороха по содержанию эндогенных фитогормонов, при обработке Ризоторфином и Альбитом. Это свидетельствует о возможных вариантах контроля со стороны генетического аппарата растения за их биосинтезом. Возможно, этим определяется неодинаковая способность одного и того же микроорганизма вызывать различные сдвиги в организме растения-хозяина.

5.2 Действие Ризоторфина, Альбита, Корневина и Эпина-Экстра на содержание и соотношение фитогормонов фасоли разных сортов

В этом разделе отражены результаты проведенных мною исследований, которые напечатаны в моих работах и в соавторстве (Волобуева,

Скоробогатова, Мирошникова 2009; Волобуева, Скоробогатова, Шильникова, 2010; Волобуева, Скоробогатова, 2010; Волобуева, 2009, 2010, 2011, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020; Волобуева, Мирошникова, 2015; Волобуева, Мирошникова, Наумкина, 2016).

Исследования по изучению влияния экзогенной обработки семян растений фасоли сортов Гелиада и Шоколадница Ризоторфином, Корневином, Альбитом и Эпином- Экстра на эндогенный уровень этих растений проводили в условиях полевого опыта ВНИИЗБК (г. Орёл). Особенности сортов были описаны ранее в главе 4. Оба сорта являются районированными в условиях Орловской области и не изученными в отношении эффективности азотфиксирующей активности растений.

Содержание ИУК. Данные рис. 5.5 свидетельствуют о том, что Альбит не оказал влияния на содержание ауксинов в листьях, стеблях растений фасоли сорта Гелиада и снизил в корнях с клубеньками почти в 2 раза. Регулятор роста Корневин повышал содержание ауксинов в листьях (в 2,2 раза) и стеблях растений фасоли этого сорта и снижал в корнях с клубеньками (в 2,5 раза). При анализе ответной реакции на экзогенную обработку регуляторами роста и биопрепаратами необходимо учитывать, что согласно закону действующих масс, внесение конечного продукта реакции тормозит его образование. Возможно, с этим связано уменьшение эндогенной ИУК в корнях с клубеньками при экзогенной обработке Корневином.

Под влиянием Эпина-Экстра увеличивалось содержание ИУК в листьях, в стеблях в 2,3 раза и в корнях с клубеньками в 1,6 раза растений фасоли сорта Гелиада, по сравнению с контролем.

У растений фасоли сорта Шоколадница Альбит и Корневин не оказали влияния на содержание ауксинов в листьях. Вместе с тем, Альбит повысил содержание ИУК в корнях с клубеньками в 1,5 раза. Содержание ИУК в листьях и корнях с клубеньками при обработке Корневином было на уровне с контролем.

Препарат Эпин-Экстра повысил содержание ИУК в листьях, в стеблях в 2,1 раза и в корнях с клубеньками в 1,6 раза растений фасоли сорта

Шоколадница, по сравнению с контролем (Волобуева, 2015).

Обработка препаратом Эпин-Экстра повышала содержание ИУК во всех вегетативных органах фасоли обоих сортов, что подтверждает положение о синергизме brassinosteroidов и ауксинов. В отношении гиббереллинов отмечен аддитивный эффект – у растений фасоли сорта Шоколадница Эпин-Экстра увеличивал их содержание в листьях и корнях с клубеньками, у сорта Гелиада возрастало содержание зеатина в корнях с клубеньками.

Этот факт подтверждает положение о том, что ауксины и стероидные гормоны усиливают метаболические процессы в растении.

Под влиянием Альбита увеличивалось содержание ИУК в корнях с клубеньками в 1,5 раза у сорта Шоколадница, у растений, семена которых были обработаны Эпином-Экстра, уровень ИУК повышался в листьях и корнях с клубеньками (в 2,1 и 1,6 раза соответственно), по сравнению с контролем.

Однако если ауксины способствуют внедрению ризобий в корень, то цитокинины свою основную роль, очевидно, выполняют уже в процессе формирования клубенька.

Содержание зеатина. Данные рис. 5.6 свидетельствуют о том, что Альбит повысил содержание зеатина в листьях (на 81%) и в корнях с клубеньками (в 6,1 раза) и снизил в стеблях (в 2,4 раза) растений фасоли сорта Гелиада, по сравнению с контролем (Волобуева, 2010, 2015, 2016, 2018).

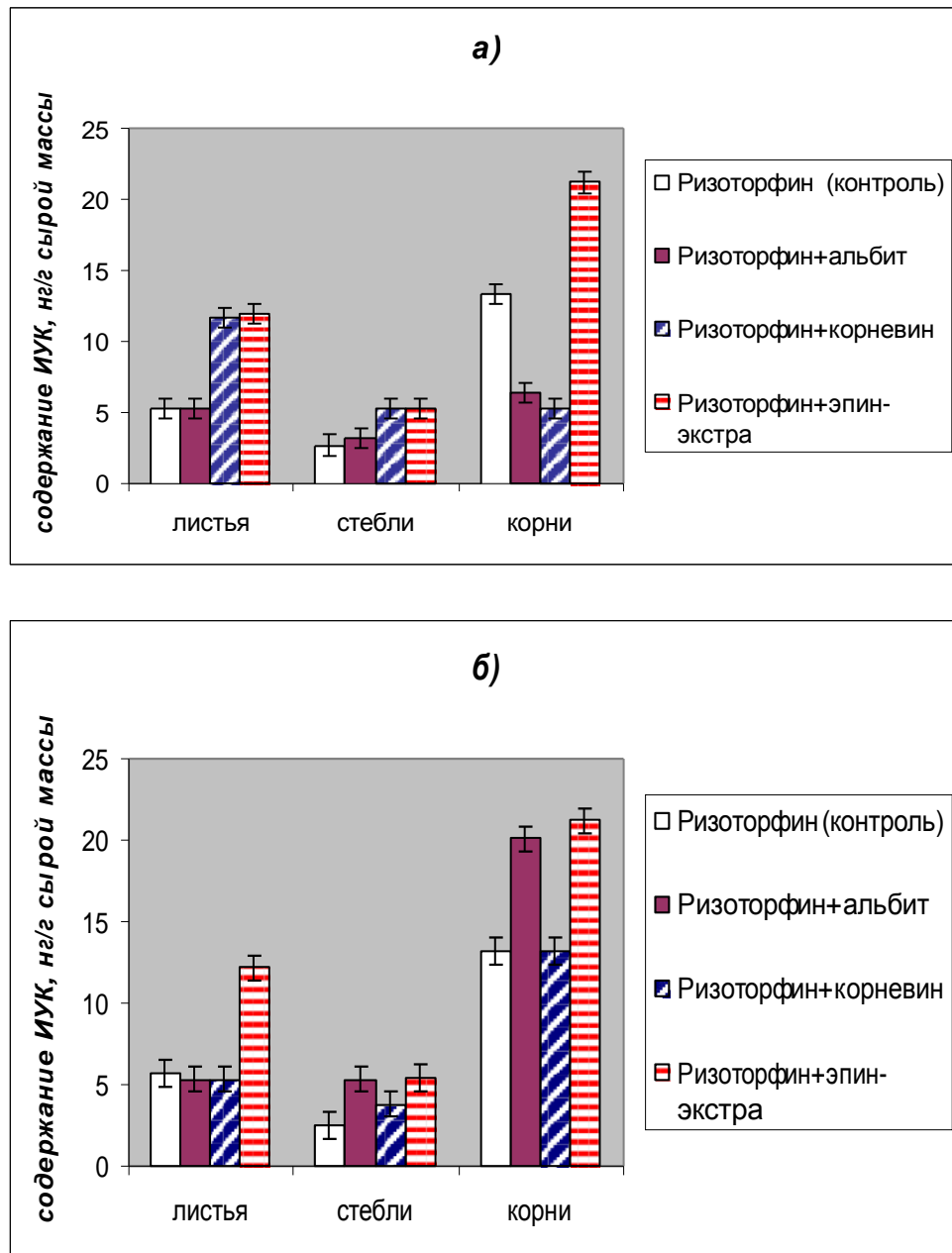


Рисунок 5.5 Влияние регуляторов роста и биопрепаратов на содержание ИУК в органах растений фасоли: а – Гелиада, б – Шоколадница (Волобуева, 2015)

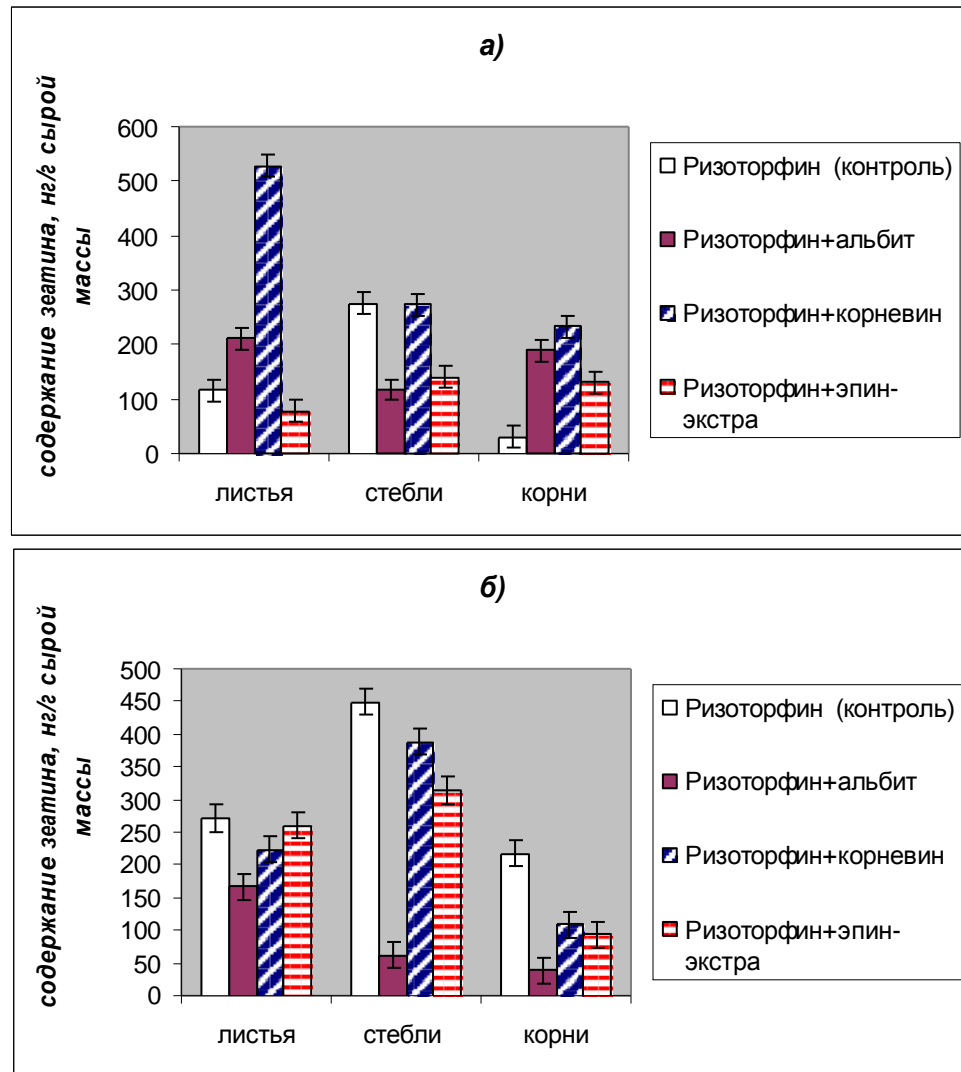


Рисунок 5.6 Влияние регуляторов роста и биопрепаратов на содержание зеатина в органах растений фасоли: а – Гелиада, б - Шоколадница

Корневин повысил содержание зеатина в листьях (в 4,5 раза) и в корнях с клубеньками (в 7,5 раза) и не изменял его уровня в стеблях (Волобуева, 2010, 2015, 2016, 2018, 2020). Корневин – регулятор роста, который является синтетическим аналогом ауксинов. При образовании клубеньков на корнях бобовых растений обычно ауксины играют важную роль в процессе внедрения ризобий в корневые волоски макросимбионта–растения. Источником ауксинов в момент инфицирования служат не только растения, выделяющие через корневую систему триптофан, который многими видами бактерий, в том числе клубеньковыми, может переводиться в β -

индолилуксусную кислоту, но и сами клубеньковые бактерии, а возможно и другие виды почвенных микроорганизмов, обитающих в ризосфере и в самой почве. Количество ИУК, образующейся таким путем, незначительно. И хотя известно, что для проявления каталитических функций ИУК (Полевой, 1986) требуются именно ничтожные её количества, по-видимому, все же увеличение её концентрации в зоне корня до определенного предела может стимулировать процесс инфицирования бобового растений клубеньковыми бактериями.

У растений сорта Гелиада, семена которых были обработаны Эпином-Экстра, происходило снижение уровня зеатина в листьях на 33% (в 1,5 раза) и в стеблях (в 2 раза) и повышение в корнях с клубеньками (в 4,3 раза), по сравнению с контролем.

У растений фасоли сорта Шоколадница, семена которых были обработаны Альбитом, Корневином, Эпином-Экстра, содержание зеатина во всех вегетативных органах снижалось и было высоким при обработке Ризоторфином (рис. 5.6).

Итак, наиболее отзывчивым на действие биопрепаратов и регуляторов роста оказался сорт фасоли Гелиада, у которого происходило повышение уровня зеатина в корнях с клубеньками под влиянием Альбита, Корневина и Эпина-экстра (в 6,1; 7,5; 4,2 раза соответственно). Уровень зеатина повышался в листьях под влиянием Альбита и Корневина (в 1,8 и 4,5 раза соответственно). Наиболее отзывчивым на действие биопрепарата Ризоторфин оказался сорт фасоли Шоколадница. Под влиянием Ризоторфина происходило повышение уровня зеатина в листьях, стеблях и в корнях с клубеньками.

Содержание гиббереллинов. Данные рис. 5.7 свидетельствуют о том, что Альбит повысил уровень ГК в листьях на 45%, в стеблях на 24% и снизил в корнях с клубеньками на 68%, по сравнению с контролем у растений фасоли сорта Гелиада. У растений этого сорта, семена которых были обработаны Корневином, уровень ГК в листьях и в корнях с клубеньками был низким по сравнению с контролем, а в стеблях повышался на 14,4%, по сравнению с

контролем. У растений сорта Гелиада, семена которых были обработаны Эпином-Экстра, уровень ГК снижался во всех вегетативных органах - в листьях, стеблях и корнях с клубеньками (на 30%, 55% и 83% соответственно) по сравнению с контролем у растений фасоли сорта Гелиада (Волобуева, 2010, 2015, 2016, 2018).

У растений фасоли сорта Шоколадница (Волобуева, 2018) Альбит не оказал влияния на уровень ГК в листьях и стеблях и повышал содержание ГК в корнях с клубеньками в 3,2 раза, по сравнению с контролем. Вместе с тем, Корневин не оказал влияния на содержание ГК в листьях и повысил содержание ГК в стеблях и корнях с клубеньками (в 6,3 и 6,1 раза соответственно). У растений, семена которых были обработаны Эпином-Экстра, уровень ГК повышался в листьях и корнях с клубеньками (в 3,2 и 4,5 раз соответственно) и был на уровне в стеблях (Волобуева, 2010, 2015, 2016, 2018).

Таким образом, у растений фасоли сорта Гелиада, семена которых были обработаны Альбитом, уровень ГК повышался в листьях и стеблях (в 1,5 и 1,2 раза соответственно) и снижался в корнях с клубеньками в 3,3 раза. Корневин повысил уровень ГК в стеблях на 14%.

Препарат Эпин-Экстра снизил уровень ГК в листьях, стеблях и корнях с клубеньками на 30%, 55% и 83% соответственно (или в 1,4; 2,2 и 5,8 раз соответственно) у растений фасоли сорта Гелиада по сравнению с контролем. У растений фасоли сорта Шоколадница (Волобуева, Мирошникова, Наумкина, 2016), семена которых были обработаны Альбитом, уровень ГК повышался в корнях с клубеньками в 3,2 раза против контроля, а Корневин повысил уровень ГК в стеблях и корнях с клубеньками (в 6,3 и 6,1 раза соответственно) против контроля у этих растений.

Препарат Эпин-Экстра повысил уровень ГК в листьях и корнях с клубеньками (в 3,2 и 4,5 раза соответственно) по сравнению с контролем у растений фасоли сорта Шоколадница.

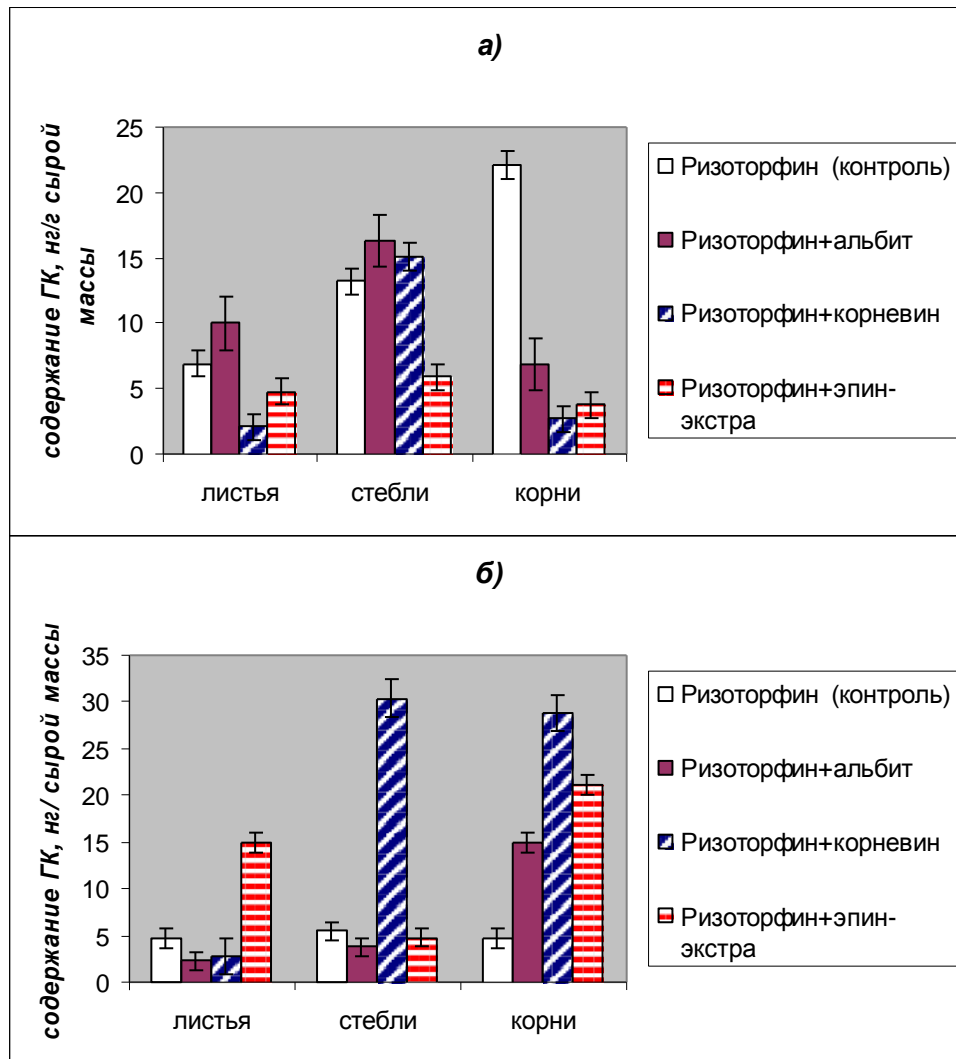


Рисунок 5.7 Влияние регуляторов роста и биопрепаратов на содержание ГК в органах растений фасоли: а – Гелиада, б – Шоколадница (Волобуева, Мирошникова, Наумкина, 2016)

Содержание АБК. Данные рис 5.8 свидетельствуют о том, что у растений сорта Гелиада, семена которых были обработаны Альбитом, уровень АБК повышался в листьях (на 134% или в 2,3 раза), был почти на уровне с контролем в стеблях и снижался в корнях с клубеньками на 49,5% (или в 2 раза). У этих растений обработка семян Корневином повышала уровень АБК в листьях (на 113,6% или в 2,1 раза), не изменяла её содержание в стеблях и снижала в корнях с клубеньками на 58% (или в 2,4 раза), по сравнению с контролем.

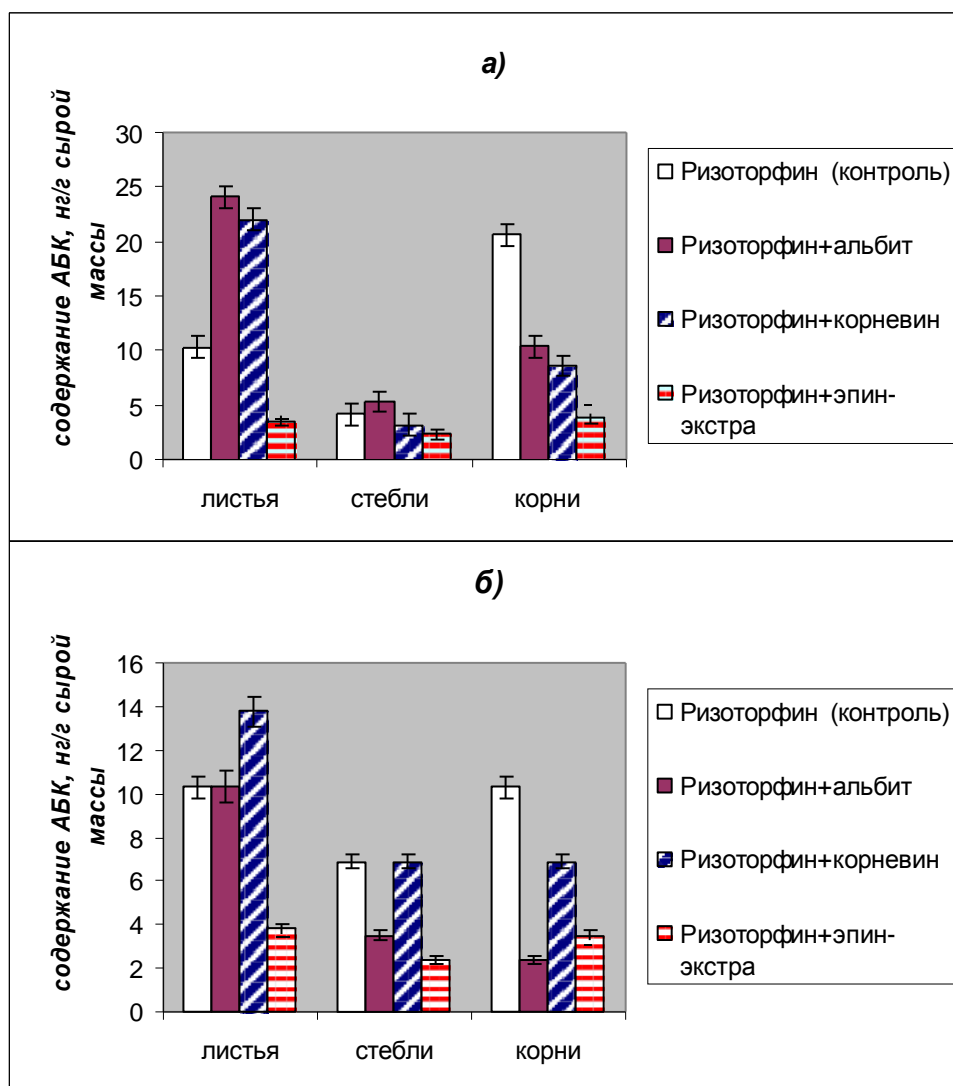


Рисунок 5.8 Содержание АБК в органах растений фасоли: а – Гелиада, б – Шоколадница, при обработке семян Ризоторфином и регуляторами роста

У растений фасоли обоих сортов, семена которых были обработаны Эпином-Экстра, уровень АБК во всех вегетативных органах был ниже, против контроля (

Волобуева, 2010, 2015, 2016, 2018).

У растений фасоли сорта Шоколадница, семена которых были обработаны Альбитом, уровень АБК не изменялся в листьях, снижался в стеблях (на 49,3% или в 2 раза) и в корнях с клубеньками. Корневин повысил содержание АБК в листьях на 34% (в 1,3 раза). Её уровень не изменялся в стеблях и снижался в корнях с клубеньками на 33% (в 1,5 раза) против контроля.

При анализе экзогенного влияния биопрепаратов и регуляторов роста на эндогенный уровень фитогормонов важно учитывать соотношение гормонов. В таблице 5.2 представлено такое соотношение фитогормонов у растений фасоли разных сортов под влияние Ризоторфина, Альбита, Корневина и Эпина-Экстра.

Таким образом, можно заключить следующее.

Сорт Гелиада. Листья. Содержание *ауксинов* в листьях возрастало под влиянием Корневина и Эпина-Экстра (почти вдвое) по сравнению с контролем. Под влиянием Альбита на фоне инокуляции Ризоторфином, содержание *ауксинов* находилось на уровне с контролем. У растений, семена которых были обработаны Альбитом и Корневином, уровень *зеатина* повышался (в 2 и 4,5 раза соответственно). У растений, семена которых были обработаны Эпином-Экстра, уровень *зеатина* снижался по сравнению с контролем. (Волобуева, 2019, 2020). Содержание *ГК* незначительно повышалось под влиянием Альбита (в 1,5 раза) и несколько снижалось под влиянием Корневина и Эпин-Экстра. Содержание *АБК* повышалось под влиянием Альбита (в 2,3 раза) и Корневина (в 2,1 раза) и снижалось под влиянием Эпин-Экстра (Волобуева, 2019, 2020).

Стебли. Содержание *ауксинов* под влиянием Альбита почти не изменялось и повышалось под влиянием Корневина и Эпина-Экстра (в 4,4 раза) против контроля. Содержание *зеатина* снижалось под влиянием Альбита и Эпина-Экстра и не изменялось под влиянием Корневина. Содержание *ГК* повышалось под влиянием Альбита (в 1,2 раза), Корневина (в 1,1 раза) и снижалось под влиянием Эпина-Экстра (в 2,2 раза) по сравнению с контролем. Содержание *АБК* не изменялось под влиянием Альбита и снижалось под влиянием Корневина и Эпина-Экстра (в 1,4 раза).

Корни с клубеньками. Содержание *ауксинов* под влиянием Альбита и Корневина снижалось (в 2,0 и 2,5 раза соответственно) и повышалось под влиянием Эпина- Экстра (в 1,6 раза) против контроля. Содержание *зеатина* значительно повышалось под влиянием Альбита, Корневина и Эпина-Экстра (в 6,1; 7,5 и 4,2 раза соответственно). Содержание *ГК* в корнях с клубеньками уменьшалось под влиянием Альбита, Корневина и Эпина-Экстра (в 3,2; в 6,3; в 5,8 раза соответственно) по сравнению с контролем. Содержание *АБК* снижалось под влиянием Альбита, Корневина и Эпина-экстра (в 1,98; в 2,4; в 3,2 раза соответственно) против контроля.

Таблица 5.2 – Соотношение фитогормонов в растениях фасоли сортов Гелиада и Шоколадница (Волобуева, 2019, 2020)

Вариант	Органы Растения	Соотношение фитогормонов			
		ИУК/ АБК	зеатин/ АБК	ГК/ АБК	ИУК+зеатин+ГК/ АБК
Сорт Гелиада					
Ризоторфин (контроль)	Листья	0,52	11,29	0,67	12,48
	Стебли	0,35	80,88	3,88	85,12
	Корни	0,65	1,51	1,07	3,22
Альбит	Листья	0,22	8,73	0,42	9,37
	Стебли	0,4	33,43	4,66	38,49
	Корни	0,62	18,18	0,66	19,46
Корневин	Листья	0,53	23,96	0,19	24,68
	Стебли	2,12	109,6	6,04	117,76
	Корни	0,62	27,04	0,41	28,06
Эпин-экстра	Листья	1,85	12,11	0,75	14,71
	Стебли	2,21	58,13	2,46	62,79
	Корни	3,26	20,03	0,59	23,88
Сорт Шоколадница					
Ризоторфин (контроль)	Листья	0,55	26,36	0,46	27,37
	Стебли	0,33	65,15	0,70	66,17
	Корни	1,28	21,07	0,46	22,81
Альбит	Листья	0,51	16,19	0,23	16,94
	Стебли	1,51	17,71	0,51	19,74
	Корни	7,73	14,92	5,73	28,39
Корневин	Листья	0,39	16,17	0,25	16,81
	Стебли	0,22	56,16	4,41	60,78
	Корни	1,91	15,73	4,17	21,81
Эпин-экстра	Листья	2,84	60,56	3,47	66,86
	Стебли	1,69	98,09	1,47	101,25
	Корни	6,06	26,57	6,03	38,66

Сорт Шоколадница. Листья. Содержание *ауксинов* не изменялось под влиянием Альбита, Корневина и увеличивалось под влиянием Эпина-Экстра (в 2,1 раза). Содержание *зеатина* снижалось под влиянием Альбита и Корневина и не изменялось под влиянием Эпина-Экстра. У растений, семена которых были обработаны Альбитом и Корневином, уровень *ГК* уменьшался в листьях (в 1,9 и 1,3 раза соответственно) и увеличивался под влиянием Эпина-Экстра (в 3,1 раза). Содержание *АБК* не изменялось под влиянием Альбита, повышалось под влиянием Корневина (в 1,3 раза) и снижалось под влиянием Эпина-Экстра (в 2,3 раза).

Стебли. Содержание *ауксинов* повышалось под влиянием Альбита и Эпина-Экстра (в 2,3 раза) и снижалось под влиянием Корневина (в 1,5 раза). Содержание *зеатина* снижалось под влиянием Альбита, Корневина и Эпина-Экстра (в 7,3; 1,2; 1,4 раза соответственно). Содержание *ГК* под влиянием Альбита в стеблях снижалось, не изменялось под влиянием Эпина-Экстра и значительно увеличивалось под влиянием Корневина. Содержание *АБК* в стеблях снижалось под влиянием Альбита и Эпина-Экстра (в 2,0 и 2,2 раза соответственно) и не изменялось под влиянием Корневина.

Корни с клубеньками. Содержание *ауксинов* не изменялось под влиянием Корневина и увеличивалось под влиянием Альбита и Эпина-Экстра почти вдвое против контроля. Содержание *зеатина* уменьшалось под влиянием Альбита, Корневина и Эпина-Экстра и было высоким при обработке Ризоторфином.

Содержание *ГК* возрастало в корнях с клубеньками под влиянием всех испытуемых регуляторов роста – Альбита, Корневина, Эпина-Экстра (в 3,2; 6,1; 4,5 раза соответственно). Содержание *АБК* уменьшалось под влиянием Альбита, Корневина и Эпина-Экстра по сравнению с контролем.

Таким образом, растения фасоли сортов Гелиада и Шоколадница в полевых условиях проявили разную чувствительность к экзогенной обработке регуляторами роста и биопрепаратом. Это оказало влияние на

их азотфиксирующую активность. Так, наивысшие показатели симбиотической активности, а именно, активности фермента нитрогеназы, в клубеньках фасоли Гелиада отмечены при обработке семян Эпином-Экстра и Ризоторфином, на фоне увеличения ИУК во всех вегетативных органах, а у сорта Шоколадница – при обработке Ризоторфином (когда наблюдалось повышение уровня зеатина в корнях с клубеньками).

5.3 Влияние Ризоторфина и Эпин-Экстра на эндогенный уровень гормонов растений сои разных сортов

Все представленные в данном разделе результаты проведенных исследований отражены в напечатанных мною работах и в соавторстве (Волобуева, 2010, 2011, 2013; Волобуева, Белопухов, 2013; Волобуева, 2015, Волобуева, Мирошникова, Наумкина, 2016; Волобуева, 2018, 2019).

Гормональная регуляция симбиоза относится к инструментам воздействия на систему симбиотической азотфиксации растения хозяина. Таким образом, она оказывает влияние на формирование и длительность активного существования клубеньков. Поэтому важно исследовать, каким образом экзогенное внесение регулятора роста оказывает влияние на эндогенный уровень фитогормонов (Волобуева, 2015).

Изучение влияния биопрепарата Ризоторфина и регулятора роста Эпин-Экстра на содержание и соотношение фитогормонов у растений сои сортов Свапа и Магева проводили в условиях вегетационного домика лаборатории азотного обмена Института физиологии растений имени К.А. Тимирязева РАН (г. Москва) в сосудах с 6 кг кварцевого песка на модифицированной безазотной питательной смеси Кнопа. Азот вносили в виде $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ в дозе 430 мг на сосуд в фазе 4-го листа, а затем через 2 недели вносили смесь Кнопа с микроэлементами по Ринькису (Волобуева, 2015).

В работе использовали биопрепарат Ризоторфин (*Bradyrhizobium japonicum*), содержащий штамм 634, эффективный для сои и регулятор роста Эпин-Экстра. Эпин-Экстра – синтетический аналог brassinosteroidов, действующее вещество эпибрасинолид (ЭПБ). РР и биопрепараты,

воздействуют на растения экзогенно. При этом происходит изменение уровня и соотношения эндогенных гормонов (Волобуева, 2018). Поэтому, важно понять роль ризобий в детерминациях количественного выражения симбиотической активности и уровня фитогормонов сформированной соево-ризобиальной системы.

На фоне обработки семян Ризоторфином и Эпином-Экстра происходило изменение содержания фитогормонов в вегетативных органах растений.

Содержание ауксинов. У растений сои, семена которых были обработаны Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином, уровень ИУК не изменялся в листьях, снижался в корнях с клубеньками на 68% и в стеблях на 47,8%, по сравнению с контролем (рис. 5.9).

Что касается сорта Свапа, то отмечено снижение содержания ИУК в листьях на 47,83% при обработке Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином. В стеблях содержание ИУК было на уровне контроля. Отмечено существенное изменение при обработке Эпином-Экстра на фоне инокуляции в уровне ауксинов в корнях с клубеньками – увеличение почти в 2,5 раза (или на 147%) против контроля. Вероятно, это было связано с тем, что клубеньковые бактерии сами участвуют в синтезе ИУК. Ауксины ризобий в дополнении к ауксинам растений изменяют ритм клеточного деления. Существенная функция этого соединения связана в значительной степени с его способностью при местном повышении содержания, вызывать приток и перераспределение пластических веществ, необходимых для осуществления интенсивного нарастания ткани. Ауксин, содержащийся в корнях, является как продуктом собственного синтеза, так и результатом притока из надземной части растений. Поэтому, можно полагать, что часть ИУК транспортировалась из листьев и стеблей в корни (Волобуева, 2010, 2015).

Ауксины, кроме функции регуляции роста, необходимы также для реализации активности цитокининов. Высоковирулентные штаммы *Rhizobium* обладают повышенной способностью продуцировать цитокинины, и именно им отводится важная роль в формировании клубенька. Цитокинины повышают аттрагирующую способность клеток макросимбионта, что обусловлено их влиянием на функциональную активность клеточных мембран.

Содержание зеатина. У растений сои сорта Магева, семена которых были обоботаны Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином, уровень зеатина снижался в листьях, стеблях и в корнях с клубеньками на 21; 20; 46,5% (соответственно), по сравнению с контролем (рис. 5.10) (Волобуева, 2013, 2019).

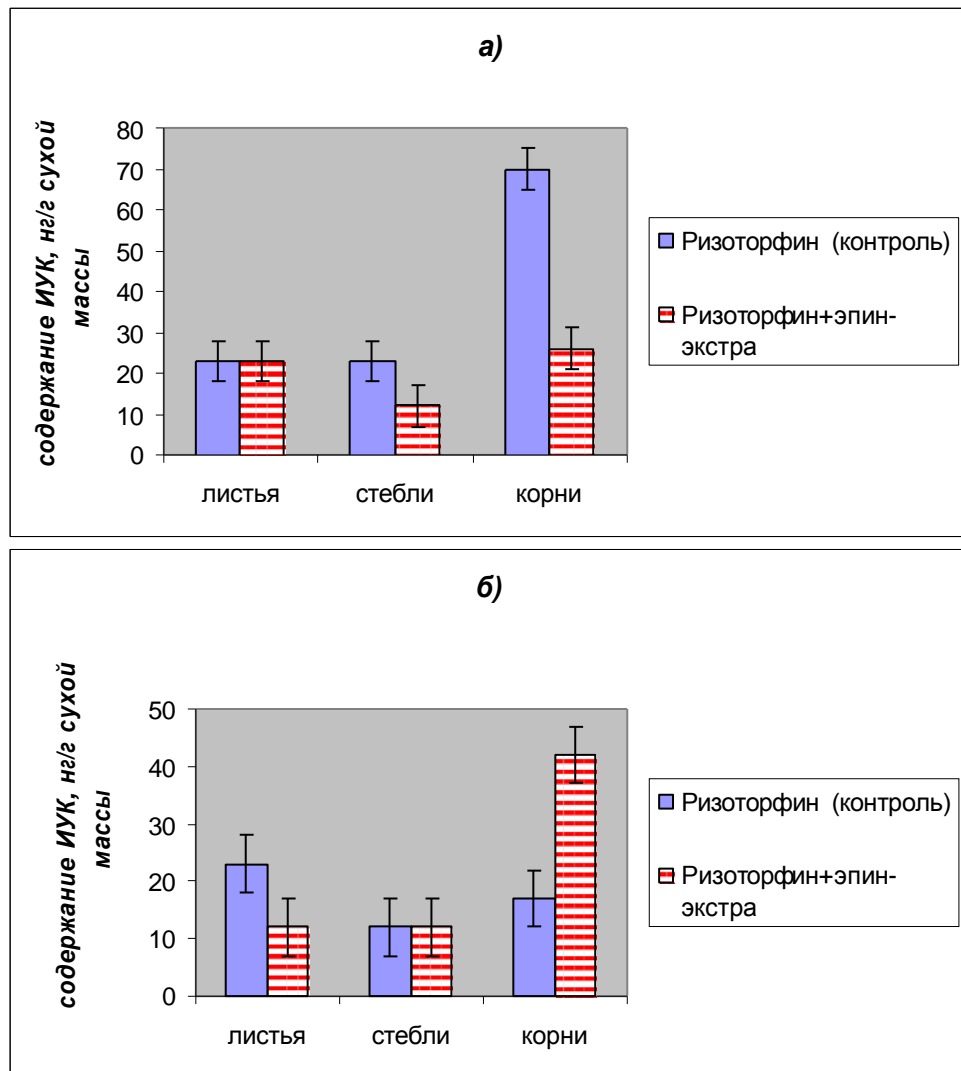


Рисунок 5.9 Влияние Эпина-Экстра на содержание ИУК в органах растений сои: а – Магева, б - Свапа

В то же время отмечено положительное влияние биопрепарата Ризоторфина. У растений сои Магева, семена которых были обработаны только Ризоторфином, происходило увеличение содержания зеатина во всех вегетативных органах – в листьях, стеблях и в корнях с клубеньками на 21,5; 20,0; 46,5% (соответственно) (рис. 5.10) (Волобуева, 2015).

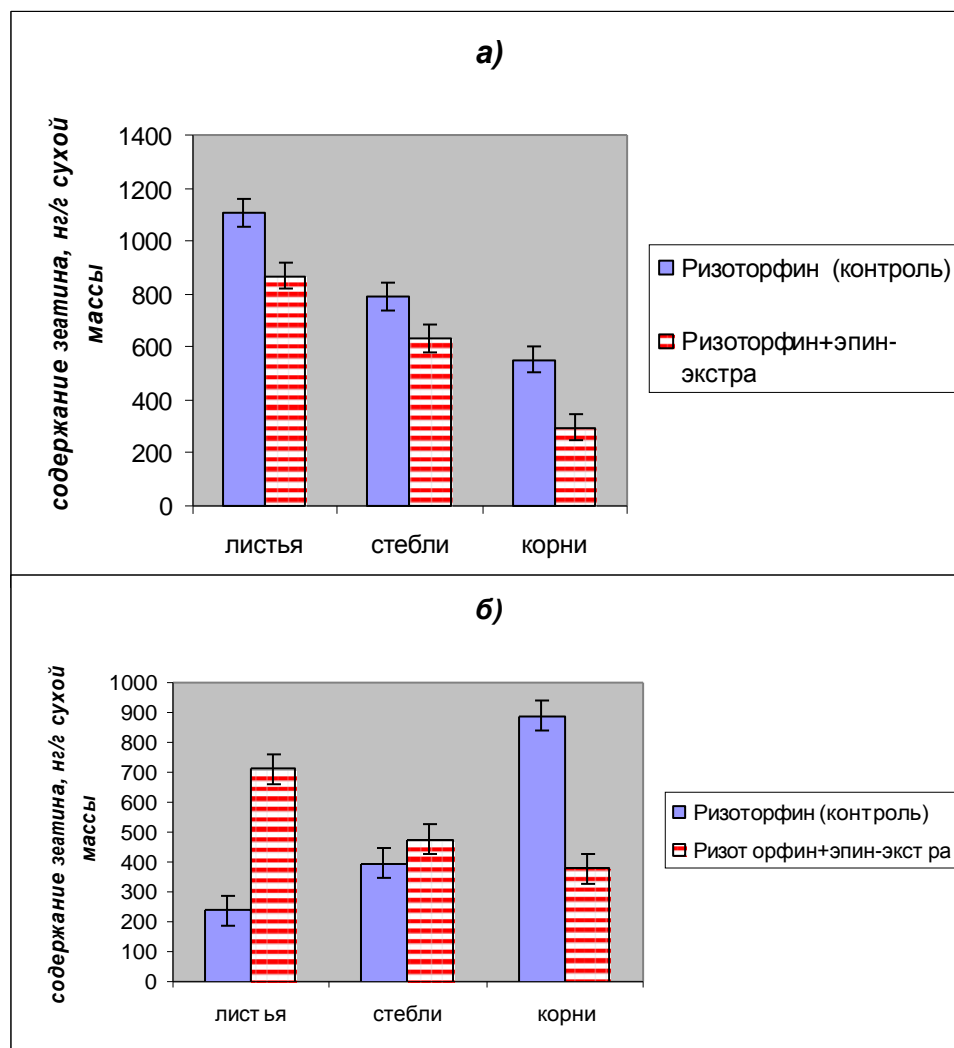


Рисунок 5.10 Влияние Эпина-Экстра на содержание зеатина в органах растений сои: а – Магева, б – Свапа (Волобуева, 2019)

Возможно, наибольшее содержание ЦК в корнях с клубеньками объясняется тем, что некоторые бактерии, ассоциированные с растением, способны синтезировать большие количества фитогормонов, в том числе цитокинины (Волобуева, Скоробогатова, Шильникова, 2008; Груодиене, 1980; Веселов и др., 1988; Драговоз и др., 2011). У растений сои Свапа, семена которой были

обработаны Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином, отмечается повышение уровня зеатина в листьях и стеблях (в 3,0 и 1,2 раза соответственно) и уменьшение в корнях с клубеньками в 2,4 раза (рис. 5.10).

Таким образом, содержание зеатина возрастало в листьях и стеблях растений сои сорта Свапа при обработке Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином по сравнению с контролем.

Содержание гиббереллинов. Данные рис. 5.11 свидетельствуют о том, что под влиянием Эпина-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином содержание ГК в листьях не изменялось и снижалось в стеблях и корнях с клубеньками на 40,35% и 89,09% (в 1,7 и 9,2 раза соответственно) растений сои сорта Магева (Волобуева, 2015).

У растений сои Свапа, семена которой были обработаны Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином, уровень ГК повышался во всех вегетативных органах - в корнях с клубеньками, стеблях и листьях (в 1,9; 2,6; 4,4 раза соответственно) (Волобуева, 2015).

Гиббереллины, в отличие от ауксинов и зеатина, в меньшей степени дезорганизуют деятельность меристемы, хотя и усиливают митотическую активность. Обычно гиббереллины способствуют увеличению количества эндогенных ауксинов в растениях, под влиянием ГК также усиливается синтез белка и действие цитокининов. Гиббереллины стимулируют удлинение побегов, но оказывают очень слабое влияние или совсем не влияют на рост корней (Кефели, 1994; Долгих и др., 2016).

Таким образом, наиболее чувствительным к обработке Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином оказался сорт сои Свапа, а к обработке Ризоторфином – сорт сои Магева.

Содержание АБК. Данные рис. 5.12 свидетельствуют о том, что Эпин-Экстра не оказал влияния на содержание АБК в стеблях и в корнях с клубеньками растений сои сорта Магева. Вместе с тем, значительно повысил её содержание в листьях (в 5 раз), по сравнению с контролем.

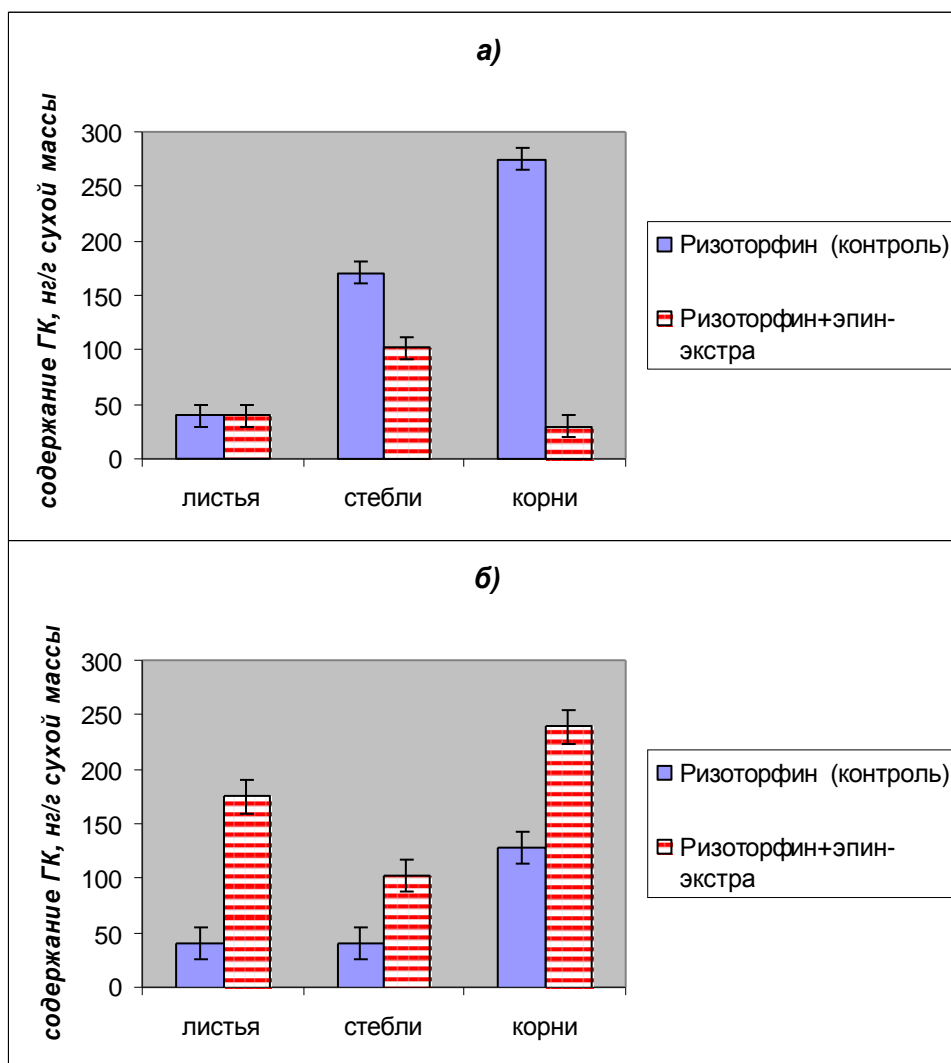


Рисунок 5.11 Влияние Эпина-Экстра на содержание ГК в органах растений сои: а – Магева, б - Свапа

У сорта Свапа, семена которой были обработаны Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином, наблюдается увеличение АБК в стеблях и листьях (на 50 и 60% соответственно) и снижение на 21% в корнях с клубеньками.

АБК – ингибитор роста, играет ведущую роль в регулировании покоя, тормозит ростовые процессы в растении. Торможение роста сопровождается подавлением синтетических процессов и ускорением старения тканей. АБК выступает антагонистом ИУК, ЦК и ГК.

Итак, у растений сои Магева наблюдается увеличение уровня АБК в листьях, и в листьях и стеблях сои Свапа, при обработке семян этих растений Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином, по сравнению с растениями, семена которых были обработаны только Ризоторфином.

(Волобуева, 2010, 2012, 2015, 2018).

Определение содержания эндогенных фитогормонов имеет первостепенную важность при рассмотрении их регуляторной роли. При этом надо иметь в виду, что физиологическое проявление действия гормона в разных органах растения бывает неоднозначным. Как известно, это может зависеть от соотношения фитогормонов – количественного и качественного. В дальнейшем, сравнение показателей роста и азотфиксирующей активности растений с содержанием и соотношением четырех основных групп фитогормонов показало, что эти процессы зависят от соотношения фитогормонов (табл. 5.3).

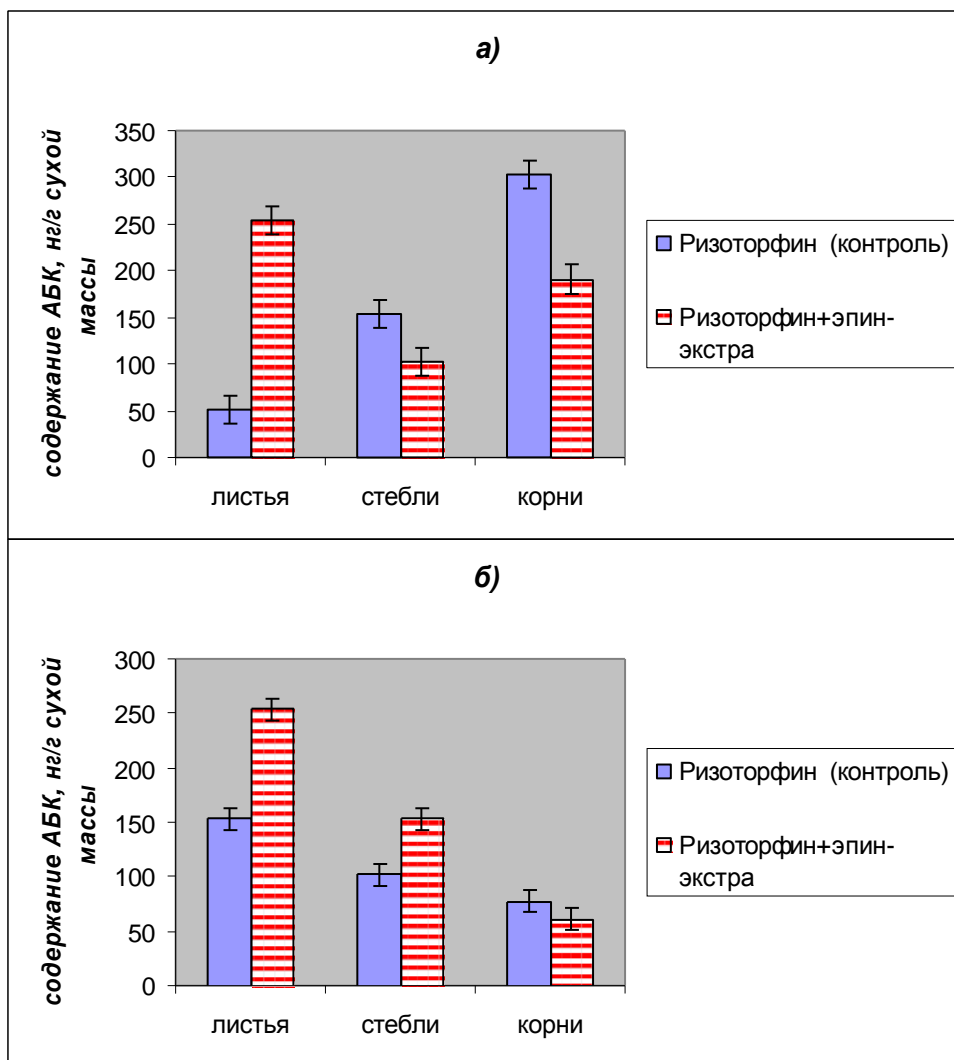


Рис. 5.12 Содержание АБК в органах растений сои: а – Магева, б – Свапа, при обработке семян Ризоторфином и Эпином-Экстра (Волобуева, 2015)

Таблица 5.3 – Соотношение фитогормонов в растениях сои сортов Магева и Свапа (Волобуева, Белопухов, 2013; Волобуева, 2015, 2018)

Вариант	Органы растения	Соотношение фитогормонов			
		Зеатин/ АБК	ГК/АБК	ИУК/АБК	ГК+зеатин+ИУК/ АБК
		Сорт Магева			
Ризоторфин	Листья	21,7	0,8	0,5	22,9
	Стебли	5,2	1,1	0,2	7,8
	Корни	1,8	0,9	0,2	3,0
Эпин-экстра и Ризоторфин	Листья	5,7	0,3	0,2	6,1
	Стебли	6,2	1,0	0,1	7,3
	Корни	1,6	0,2	0,1	1,9
		Сорт Свапа			
Ризоторфин	Листья	1,6	0,3	0,2	2,0
	Стебли	3,9	0,4	0,1	4,4
	Корни	11,6	1,7	0,2	13,5
Эпин-экстра и Ризоторфин	Листья	2,8	0,7	0,1	3,5
	Стебли	3,1	0,7	0,1	3,8
	Корни	6,2	3,9	0,7	10,8

Таким образом, можно заключить следующее.

Сорт Магева. Обработка семян Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином приводила к снижению уровня *ауксинов*, *ГК* и *АБК* - в стеблях и корнях с клубеньками, а также к снижению уровня *зеатина* во всех вегетативных органах растения. В тоже время уровень *АБК* значительно повышался в листьях (в 5 раз).

Сорт Свапа. Содержание *ауксинов* под влиянием Эпина-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином снижалось в листьях, не изменялось в стеблях и значительно возрастало в корнях с клубеньками (в 2,5 раза) против контроля. Содержание *зеатина* под влиянием Эпина-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином значительно возрастало в листьях (в 3 раза) и в стеблях (в 1,2 раза) и снижалось в корнях с клубеньками (в 2,4 раза) против контроля. Содержание *ГК* значительно возрастало при обработке Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином в листьях (в 4,4 раза), стеблях (в 2,6 раза) и в корнях с клубеньками (в 2 раза) по сравнению с контролем. Содержание *АБК* под

влиянием Эпина-Экстра возрастало в листьях и стеблях на 66% и 50% (соответственно) и уменьшалось в корнях с клубеньками, по сравнению с вариантом обработки семян только Ризоторфином.

Таким образом, в зависимости от органа растения меняется не только содержание отдельных гормонов, но и их соотношение. Высокий уровень зеатина (Волобуева, 2018) в период наивысшей азотфиксирующей активности растений сои сорта Магева в листьях, стеблях и корнях с клубеньками говорит об интенсивности процессов метаболической деятельности в этих органах. Изменение соотношения гормонов обеспечивалось в большей степени существованием так называемых «метаболических вилок». Впервые, на такую особенность метаболизма, указал Д.Н. Прянишников (1951). Она заключается в наличии общих предшественников при образовании двух или трех разных веществ, осуществляющих, как правило, альтернативные пути обмена. Это положение в полной мере проявляется при изучении фитогормонов.

Ауксины влияют на распределение питательных веществ и воды, улучшают рост растений, регулируют дыхание, синтез АТФ, что приводит к возрастанию фосфорилирования, интенсивнее происходит синтез АТФ и соответственно усиливаются процессы азотфиксации, взаимосвязанные с процессами фотосинтеза. Если ауксины отвечают за рост растяжением, цитокинины – за деление клеток. Цитокинины также отвечают за процесс фотосинтеза, усиливают отток ассимилятов, влияют на азотный обмен, стимулируют нитратредуктазу, а возможно и нитрогеназу. Гиббереллины подобно ауксинам участвуют в разрастании завязи и образовании плодов. Гиббереллины способствуют не перераспределению питательных веществ, а общему их накоплению. Гиббереллины отвечают за фотофосфорилирование, действуя на геном, экспрессируют гены, т.е. вызывают активность генов, ответственных за синтез белков и фотофосфорилирование (особенно нециклическое, где больше всего образуется АТФ). АБК в условиях стресса способствует образованию запасных белков. На поздних стадиях эмбриогенеза появляются специфические белки, которые повышают устойчивость растений к

обезвоживанию.

Итак, растения сои разных сортов проявили разную чувствительность к действию регулятора роста Эпина-Экстра и биопрепарата Ризоторфин. Наиболее чувствительным к действию регулятора роста Эпина-Экстра оказался районированный в Орловской области сорт сои Свапа, а к действию биопрепарата Ризоторфин – сорт сои Магева.

Наивысшие показатели симбиотической активности у сои Магева наблюдались при обработке семян Ризоторфином, а у сои Свапа – при обработке семян Эпином- Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином.

* * *

Таким образом, сравнивая содержание фитогормонов (ИУК, зеатин, ГК, АБК) в органах растений гороха, фасоли, сои разных сортов, семена которых были обработаны Ризоторфином, Альбитом, Корневином и Эпином-Экстра, можно заключить следующее.

1. Содержание ауксинов. У растений гороха сорта Мультик, семена которых были обработаны Альбитом на фоне инокуляции Ризоторфином, уровень ауксинов повышался во всех вегетативных органах - в листьях, стеблях и в корнях с клубеньками (на 97,4%, 50,4%, 34% соответственно) (Волобуева, 2019).

У растений фасоли на уровень ауксинов в большей степени повлиял препарат *Эпин-Экстра*. Под влиянием Эпина-Экстра на фоне инокуляции *Ризоторфином* происходило повышение уровня ИУК в листьях, стеблях и корнях с клубеньками сортов Гелиада и Шоколадница.

Под влиянием *Альбита* на фоне инокуляции *Ризоторфином* уровень ИУК повышался в стеблях и в корнях с клубеньками (в 1,5 раза) растений фасоли сорта Шоколадница.

У растений сорта Гелиада, семена которой были обработаны *Корневином* на

фоне инокуляции *Ризоторфином*, уровень ауксинов повышался в листьях (в 2,2 раза) и в стеблях.

У растений сои содержание ИУК значительно возрастало в корнях с клубеньками растений сорта Свапа (в 2,5 раза) при обработке *Эпином-Экстра* на фоне инокуляции *Ризоторфином*, по сравнению с контролем (Волобуева, 2010, 2012, 2015, 2018).

2. Содержание зеатина. Содержание зеатина под влиянием *Альбита* на фоне инокуляции *Ризоторфином* повышалось в стеблях растений гороха сортов Норд и Мультик (в 2 и 4 раза соответственно), по сравнению с контролем.

У растений фасоли сорта Гелиада, семена которой были обработаны *Альбитом* на фоне инокуляции *Ризоторфином*, уровень зеатина повышался в листьях (на 81%) и в корнях с клубеньками (на 510%), по сравнению с контролем. Обработка семян растений этого сорта *Корневином* на фоне инокуляции *Ризоторфином*, приводила к повышению уровня зеатина в листьях и корнях с клубеньками (на 353 и 650% соответственно) и не изменяла в стеблях.

Под влиянием *Эпина-Экстра* на фоне инокуляции *Ризоторфином* уровень зеатина повышался в корнях с клубеньками растений фасоли сорта Гелиада (на 320% или в 4,2 раза), по сравнению с контролем.

Содержание зеатина значительно возрастало в листьях (в 3,0 раза) и в стеблях (в 1,2 раза) растений сои сорта Свапа при обработке *Эпином-экстра* на фоне инокуляции *Ризоторфином*, по сравнению с контролем. У сорта сои Магева в большей степени проявилось действие биопрепарата *Ризоторфина*. Под его влиянием наблюдается увеличение содержания зеатина в листьях, стеблях и в корнях с клубеньками.

3. Содержание гиббереллинов. Обработка семян гороха сортов Норд *Альбитом* на фоне инокуляции *Ризоторфином* повышала уровень ГК в листьях (на 17,2%), в стеблях и в корнях с клубеньками (в 2 раза), по сравнению с контролем, у сорта Мультик – в листьях (почти в 3 раза)

(Волобуева, 2019).

Обработка семян фасоли сорта Гелиада Альбитом на фоне инокуляции *Ризоторфином* повышала уровень ГК в листьях и стеблях (на 45% и 24% соответственно), а у сорта Шоколадница - в корнях с клубеньками (на 217% или в 3,2 раза) (Волобуева, 2017).

Корневин на фоне инокуляции *Ризоторфином* повышал содержание ГК в стеблях (на 14%) растений фасоли сорта Гелиада и в стеблях и в корнях с клубеньками растений фасоли сорта Шоколадница (на 533 и 513% соответственно).

Обработка семян фасоли Шоколадница на фоне инокуляции *Ризоторфином* повышала уровень ГК в листьях и в корнях с клубеньками (на 217 и 349% соответственно).

Содержание ГК увеличивалось у растений сои сорта Свапа при обработке семян этих растений *Эпином-Экстра* на фоне инокуляции *Ризоторфином* в листьях, стеблях и в корнях с клубеньками (в 4,4; 2,6; 1,9 раза соответственно).

4. Содержание АБК. Уровень содержания АБК при обработке *Альбитом* на фоне инокуляции *Ризоторфином* был низким у растений гороха сорта Норд в листьях и стеблях и несколько повышался в корнях с клубеньками на 3,9%, по сравнению с контролем. У сорта гороха Мультик обработка *Альбитом* на фоне инокуляции *Ризоторфином*, увеличивала содержание АБК в стеблях (в 2,0 раза) и в корнях с клубеньками (Волобуева, 2019) на 49%, по сравнению с контролем.

Содержание АБК под влиянием *Альбита* на фоне инокуляции *Ризоторфином* повышалась в листьях (на 113% или в 2,3 раза) растений фасоли сорта Гелиада, не изменялась в стеблях и снижалась в корнях с клубеньками (на 49,5% или в 2 раза).

Под влиянием *Корневина* на фоне инокуляции *Ризоторфином*, содержание АБК повышалось в листьях (на 58% или в 2,1 раза) и снижалось в стеблях и в корнях с клубеньками (Волобуева, 2019) растений фасоли сорта Гелиада. У

растений фасоли сорта Шоколадница *Корневин* (Волобуева, 2017) повысил содержание АБК в листьях (на 113,6% или в 1,3 раза), не изменял в стеблях и снизил в корнях с клубеньками (на 66% или в 2,9 раза) (Волобуева, 2015).

Под влиянием *Эпина-Экстра* на фоне инокуляции *Ризоторфином* происходило снижение уровня АБК в листьях, стеблях и корнях с клубеньками растений фасоли обоих сортов.

Содержание АБК повышалось в листьях (в 5,0 раз) растений сои сорта Магева под влиянием *Эпина-Экстра* на фоне инокуляции *Ризоторфином*, и в листьях и стеблях (на 66% и 50% соответственно) растений сои сорта Свапа, по сравнению с контролем (Волобуева, 2010, 2012, 2015, 2018).

Таким образом, экзогенная обработка семян гороха, фасоли и сои разных сортов биопрепаратом *Ризоторфин* и регуляторами роста – *Альбитом*, *Корневином*, *Эпином-Экстра* по-разному оказала влияние на гормональный статус этих растений. Во всех случаях отмечены сортовые особенности бобовых растений по содержанию эндогенных фитогормонов, что свидетельствует о возможных вариантах контроля со стороны генетического аппарата растения за их биосинтезом. Очевидно, этим определяется неодинаковая способность одного и того же микроорганизма вызывать различные сдвиги в организме растения-хозяина, что подтверждает надежность взаимоотношений исследуемых систем.

ГЛАВА 6 ДЕЙСТВИЕ БИОПРЕПАРАТА РИЗОТОРФИНА И РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА (АЛЬБИТА, ЭПИН-ЭКСТРА, КОРНЕВИНА) НА АКТИВНОСТЬ СИМБИОТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ РАСТЕНИЙ ФАСОЛИ РАЗНЫХ СОРТОВ

Об эффективности бобово-ризобиального симбиоза растений фасоли судили по показателям ультраструктуры клубеньков, симбиотической азотфиксации и продуктивности растений. Изучение азотфиксирующей активности растений фасоли проводили на районированных в Орловской области сортах – Гелиада и Шоколадница.

6.1 Особенности ультраструктуры клубеньков (площадь и количество симбиосом, бактериоидов и включений)

Материалы, представленные в этом разделе, отражены в моих публикациях и в соавторстве (Волобуева, 2011, 2013, 2014, 2015, 2016, 2018, 2020; Волобуева, Мирошникова, 2015, 2018).

Метод электронной микроскопии позволил выявить некоторые особенности действия Ризоторфина, Альбита, Корневина и Эпин-Экстра на эффективность бобово-ризобиального симбиоза (Волобуева, 2011, 2012, 2014, 2015, 2016, 2018). Определяли площадь симбиосом, бактериоидов, включений поли- β -оксимасляной кислоты и волютина и их количество на приборе МОР-видеоплан с микроскопических фотографий (см. методы).

Установлено, что во всех вариантах присутствовали бактериоиды. В отдельных вариантах бактериоиды были с сильно развитым перибактероидным пространством (ПБП) (рис. 6.13, и рис. приложения). Перибактероидному пространству отводится важная функция «регуляции транспорта веществ и метаболизма формирующихся и функционирующих симбиосом» (Андреева, 1989; Rosendahe et. al, 1990; Измайлов, 2014).

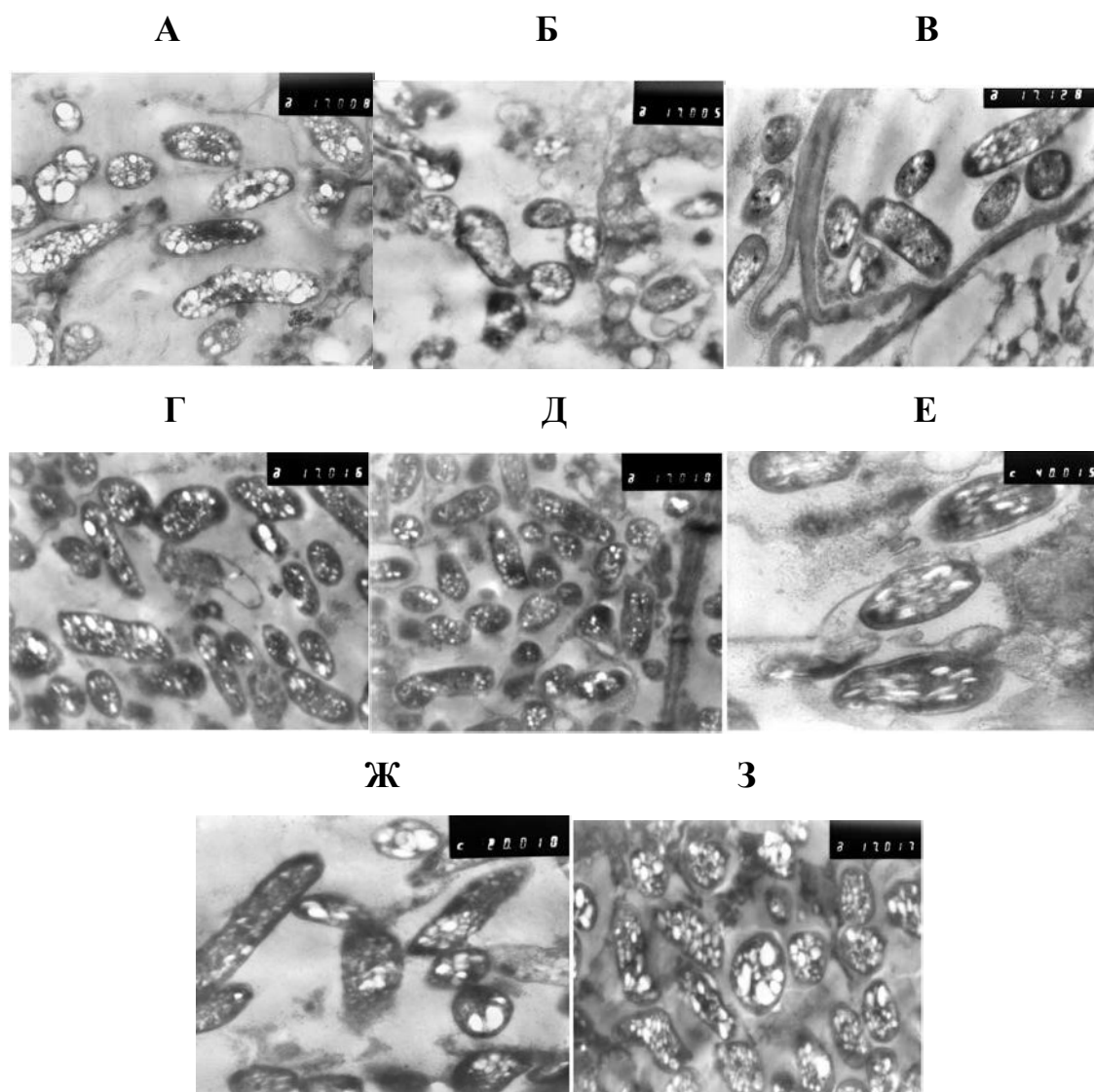


Рис. 6.13 Ультраструктура клубеньков фасоли: (Волобуева, 2016)

А – клубеньки фасоли сорта Гелиада, образованные при инокуляции семян Ризоторфином, увеличение 17000;

Б – клубеньки фасоли сорта Гелиада, образованные при обработке семян Альбитом, увеличение 17000;

В - клубеньки фасоли сорта Гелиада, образованные при обработке семян Корневином, увеличение 17000;

Г – клубеньки фасоли сорта Гелиада, образованные при обработке семян Эпином-Экстра, увеличение 17000;

Д – клубеньки фасоли сорта Шоколадница, образованные при инокуляции семян Ризоторфином, увеличение 17000;

Е – клубеньки фасоли сорта Шоколадница, образованные при обработке семян Альбитом, увеличение 40 000;

Ж – клубеньки фасоли сорта Шоколадница, образованные при обработке семян Корневином, увеличение 20000;

З – клубеньки фасоли сорта Шоколадница, образованные при обработке семян Эпином-Экстра, увеличение 17000

ПБП было хорошо развито в клубеньках растений фасоли Гелиада и Шоколадница, семена которых были обработаны Альбитом, а также у сорта Гелиада, семена которой были обработаны Эпином-Экстра.

Бактероиды обычно окружает перибактероидная мембрана (ПБМ).

Процесс включения в биогенез ПБМ различных мембран растительной клетки имеет не только пространственную, но и временную организацию. Она в значительной мере типична для биогенеза всех растительных мембран. Сначала активизируется шероховатый эндоплазматический ретикулум. Затем везикулярный транспорт белков идет от эндоплазматического ретикулума через аппарат Гольджи к ПБМ симбиосом. ПБМ, а не бактериальная мембрана, реально контролирует поток и тип углеродных соединений для обеспечения азотфиксирующей активности бактериоидов. Поэтому, симбиосомная мембрана имеет ключевое значение во взаимоотношениях макро- и микросимбионтов симбиоза (Измайлов, 2014).

Бактероиды также вносят свой вклад в процесс биогенеза ПБМ путем встраивания в нее мембранных везикул. Чаще всего это достигается за счет прямой физической ассоциации микросимбионта с ПБМ. В связи с этим высказывается предположение, что наличие контактов ПБМ и бактериоидов может быть одной из причин синхронизации увеличения площади ПБМ и деления бактериоидов (Bradley et al., 1986; Измайлов, 2014).

Способность бактериоидов к фиксации молекулярного азота теснейшим образом связана с глубокой не только количественной, но и качественной перестройкой их окислительно-восстановительных систем (Романов, 1987).

Таким образом, последовательность биогенеза ПБМ может быть представлена следующим образом. Поверхность мембраны, обращенной к цитоплазме, оказывается внешней стороной ПБМ. В дальнейшем увеличение поверхности и изменение свойств ПБМ происходит путем ее достройки с участием везикул различных мембранных структур растительной клетки и бактериоидов. Всё это приводит не только к увеличению поверхности ПБМ, но и к привнесению в нее новых свойств, отличных от плазмалеммы.

В биогенезе ПБМ принимают участие, как микро - так и макросимбионт за счет дифференцированного характера экспрессии генов. Вследствие этого ПБМ приобретает уникальный в биологическом отношении мозаичный, в полном смысле симбиотический характер. Являясь в эволюционном отношении едва ли не одной из самых молодых растительных мембран, в процессе биогенеза ПБМ получает возможность использовать потенциал различных организмов, возникших в разные периоды филогенеза. В результате у нее появляются свойства отличные от каждого из них. В то же время низкое соотношение в ПБМ белок/липид позволяет рассматривать её как мембрану с упрощенной метаболической организацией.

Размер ПБП, являющийся генотипическим признаком, и в то же время зависит от действия факторов внешней среды, характеризует эффективность симбиоза.

Выдвигается предположение, чем менее эффективна симбиотическая система, тем доля ПБП, как правило, больше. Но это нужно еще доказать относительно разных бобовых растений (Измайлов, 2014).

В клетках бактериоидов кроме постоянных компонентов, которыми являются рибосомы и внутриклеточные мембранные структуры, могут находиться и непостоянные. К таким непостоянным структурам бактериоидов, прежде всего, относятся различные включения. Это включения гликогена, волютина, липидов, в частности поли- β -оксимасляной кислоты (Волобуева, 2018).

Гранулы волютина при исследовании в электронном микроскопе выглядят как электроннопрозрачные, четко контурированные образования сферической или эллипсоидной формы, размером 300-700 Å, располагающиеся терминально на одном или обоих полюсах клетки, могут находиться в зонах аккумуляции полисахаридов, и, если центрально или субтерминально – соответствовать ядерному расположению в предделении или делении клеток.

Волютина нет обычно в молодых бактериоидах, но много в зрелых. Очевидно, вследствие этого полифосфатные гранулы могут считаться хранителями пирофосфата до использования его во время реактивации клеток

(Воробьева, 1976).

Волютин рассматривается как запасное вещество, подобное крахмалу, гликогену, жиру, как резерв неорганических фосфатов. Основную часть волютиновых гранул составляют полифосфаты. Волютин служит запасным резервуаром фосфата, важного предшественника в синтезе АТФ и ДНК.

Волютин является источником азота и фосфора для бактерий. Кроме того, волютин характеризуется метакромазией (Волобуева, 2015), т.е. изменением цвета красителя при окраске; так при окрашивании клеток метиленовым синим, волютин окрашивается в красный цвет.

ПОМ – поли- β -оксимасляная кислота – липидные включения, которые являются источником энергии для бактерий. В бактериоидах содержание гранул ПОМ может достигать до 50% и более от сухого веса клетки (Sutton et al., 1981, Романов, 1987). Наличие этого эндогенного резерва определяет большую пластичность метаболизма ризобий в чистых культурах.

Возможно, накоплению ПОМ в бактериоидах способствует лимитирование эндогенного источника азота. Хотя, возможно, большое содержание ПОМ свидетельствует о низкой азотфиксирующей активности клубеньковых бактерий, т.к. имеются данные (Кретович, 1972), что ПОМ тесно связана с процессом азотфиксации, нуждающимся в значительных затратах энергии и притока C_5 и C_4 - соединений, которые необходимы для ассимиляции образующегося аммиака.

Как полагает В.И.Романов (1987) «роль ПОМ заключается в основном в регуляции использования фотоассимилятов, поступающих в бактериоиды и по содержанию полимера можно в определенной степени судить об обеспеченности бактериоидов углеводными субстратами. Низкий уровень азотфиксации в клубеньках может определяться, неспособностью растения-хозяина ассимилировать весь азот, фиксированный бактериоидами, то есть недостаточным транспортом связанного азота из клубеньков в надземную часть растения» (Волобуева, 2015).

Содержание ПОМ обычно в бактериоидах незначительно именно тогда, когда клетки наиболее активно дышат и фиксируют азот, а значит, и

потребность их в энергии и восстановленных эквивалентах особенно велика у аэробных бактерий, к которым относятся клубеньковые бактерии. Обмен ПОМ обычно тесно связан с функционированием цикла Кребса (Романов, 1987).

Содержание поли- β -оксимасляной кислоты может служить для некоторых видов *Rhizobium* новой дополнительной характеристикой активности симбиотической системы (Волобуева, 2015).

В наших исследованиях изучение ультраструктуры клубеньков растений фасоли сортов Гелиада и Шоколадница, семена которых были обработаны биопрепаратом и регуляторами роста, показало следующее.

Симбиосомы. Данные рис.6.13 и (рис. приложения) свидетельствуют о том, что самая большая площадь симбиосом была в варианте с обработкой Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином у фасоли сорта Гелиада. В вариантах с обработкой Ризоторфином и Корневином симбиосомы отсутствовали. У растений фасоли сорта Шоколадница симбиосомы были только в варианте с обработкой Альбитом на фоне инокуляции Ризоторфином. Самое большое количество симбиосом отмечено в варианте с обработкой Эпином-Экстра и Альбитом на фоне инокуляции Ризоторфином у растений фасоли сорта Гелиада, а у растений фасоли сорта Шоколадница в варианте с обработкой Альбитом на фоне инокуляции Ризоторфином (Волобуева, 2015).

Бактероиды. Данные рис.6.13. и рис.6.14. свидетельствуют о том, что самая большая площадь бактериоидов была у растений сорта Гелиада при обработке Корневином и Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином, по сравнению с вариантом обработки Ризоторфином. У сорта фасоли Шоколадница (Волобуева, 2011, 2012, 2014, 2015, 2016, 2018) самая большая площадь бактериоидов была в варианте с обработкой биопрепаратом Ризоторфин. Самое большое количество бактериоидов отмечено в варианте с обработкой биопрепаратом Ризоторфин и Корневином на фоне инокуляции Ризоторфином у сорта Гелиада. У сорта фасоли Шоколадница самое большое количество симбиосом отмечено в варианте с обработкой только Ризоторфином и Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином (Волобуева,

Мирошникова, Наумкина, 2016).

Включения ПОМ. Данные рис.6.15. свидетельствуют о том, что у растений фасоли сорта Гелиада самая большая площадь включений ПОМ отмечена в варианте с обработкой Альбитом на фоне инокуляции Ризоторфином. У растений фасоли сорта Шоколадница самая большая площадь ПОМ отмечена в варианте с обработкой Корневином на фоне инокуляции Ризоторфином.

Самое больше количество включений ПОМ отмечено у растений фасоли сорта Гелиада при обработке препаратом Альбит на фоне инокуляции Ризоторфином. У растений фасоли сорта Шоколадница самое большое количество ПОМ отмечено в варианте с обработкой Корневином на фоне инокуляции Ризоторфином (Волобуева, Мирошникова, Наумкина, 2016).

Наличие липидных включений ПОМ в бактериоидах связывают с процессами фотосинтеза и азотфиксации. По содержанию ПОМ в определенной степени можно судить об обеспеченности бактериоидов углеводными субстратами. Низкий уровень азотфиксации в клубеньках может определяться, неспособностью растения-хозяина ассимилировать весь азот, фиксированный бактериоидами, т.е. недостаточным транспортом связанного азота из клубеньков в надземную часть растения. Обычно в бактериоидах содержание ПОМ незначительно именно тогда, когда клетки наиболее активно осуществляют процесс дыхания и фиксации азота. Поэтому, большое содержание включений ПОМ в бактериоидах свидетельствует о не высоком уровне фиксации азота.

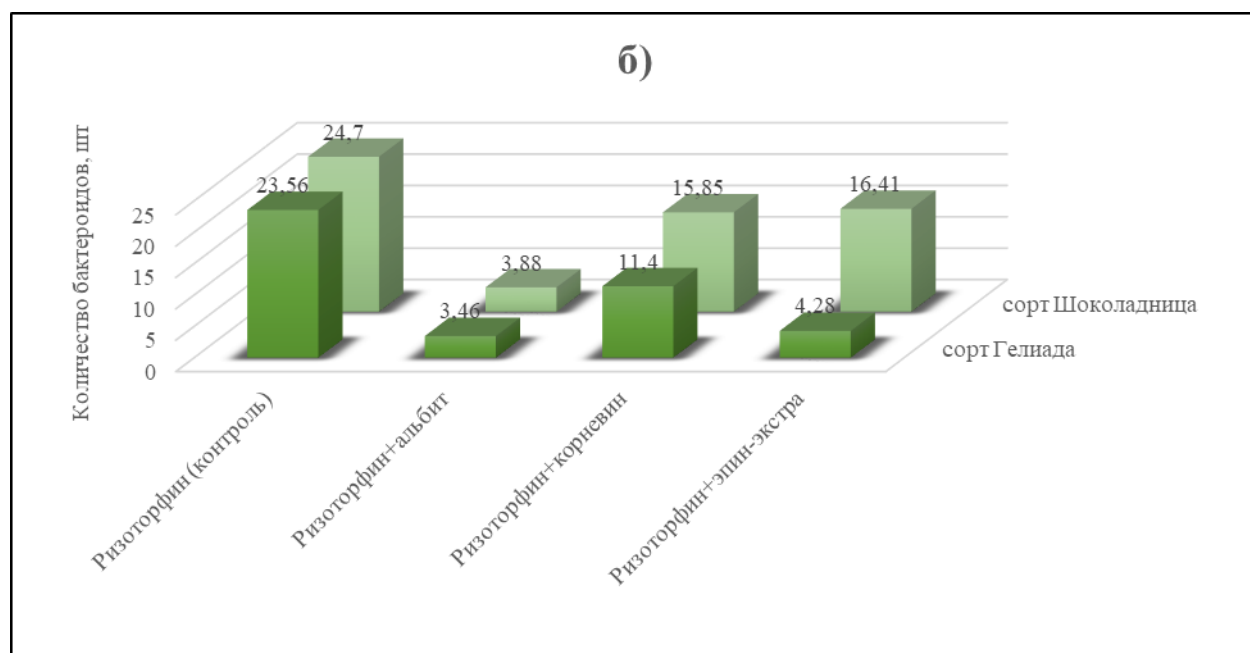
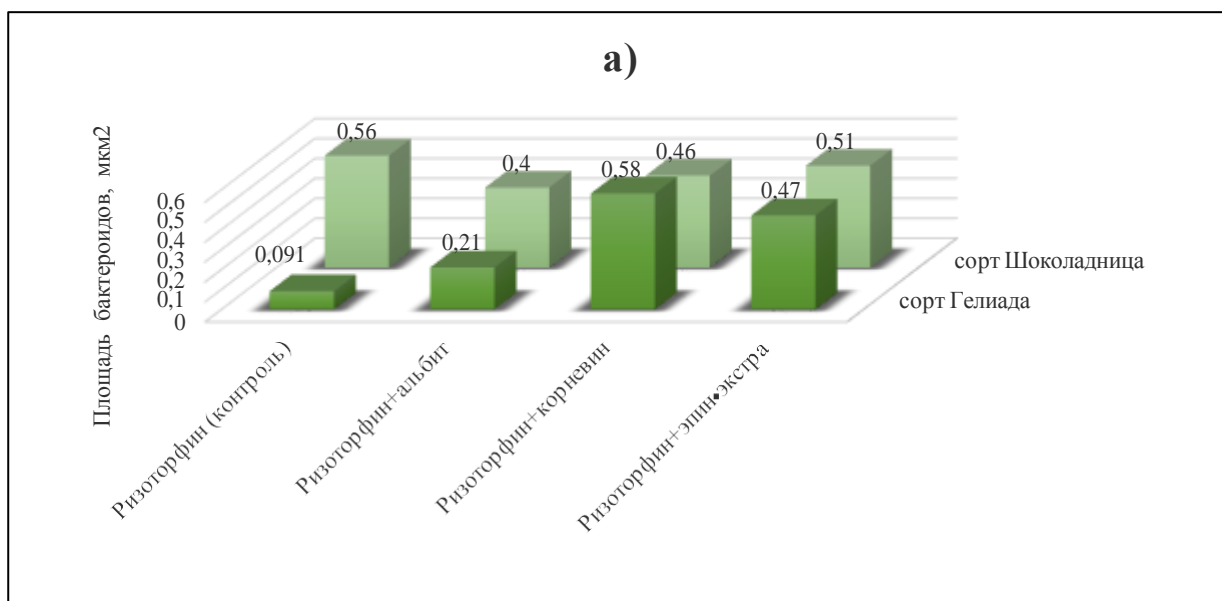


Рисунок 6.14 Влияние биопрепарата и регуляторов роста на площадь (а) и количество (б) бактериоидов растений фасоли сортов Гелиада и Шоколадница

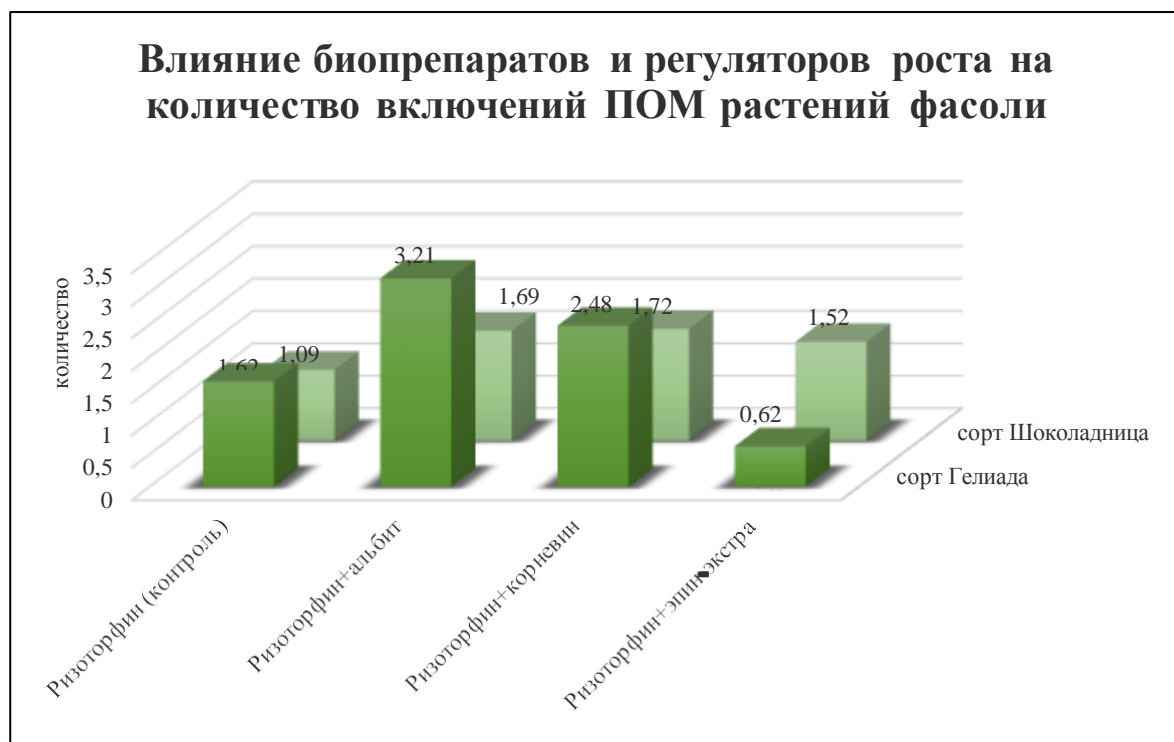
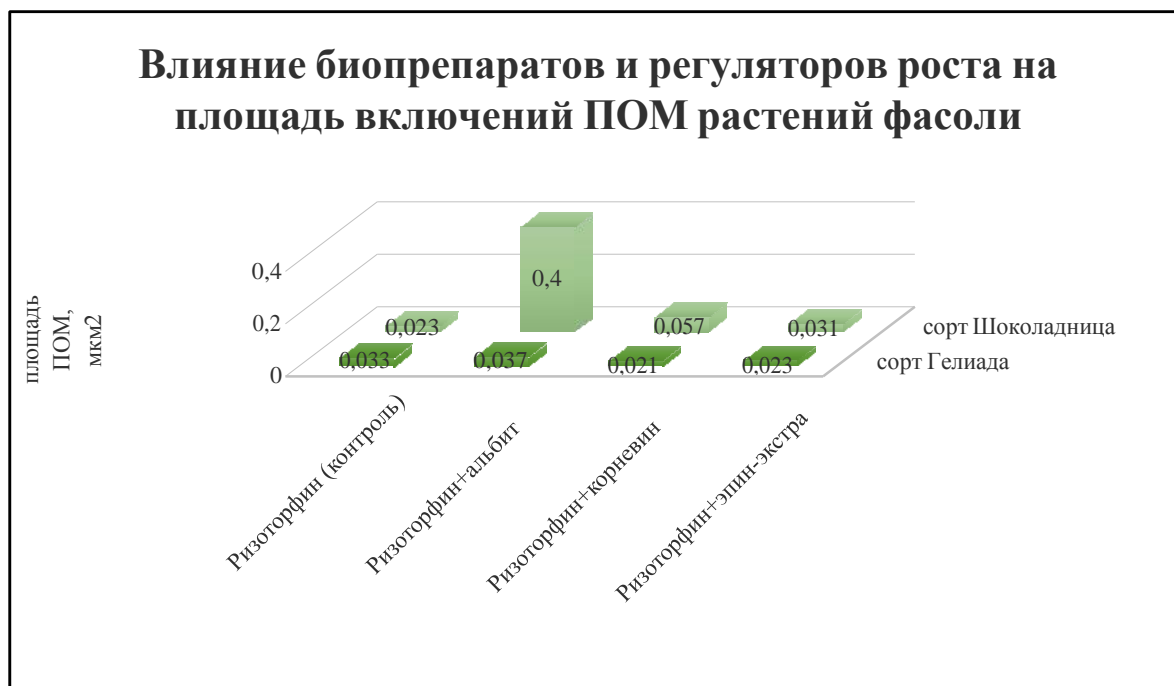


Рисунок 6.15 Влияние биопрепаратов и регуляторов роста на площадь и количество включений ПОМ растений фасоли сортов Гелиада и Шоколадница

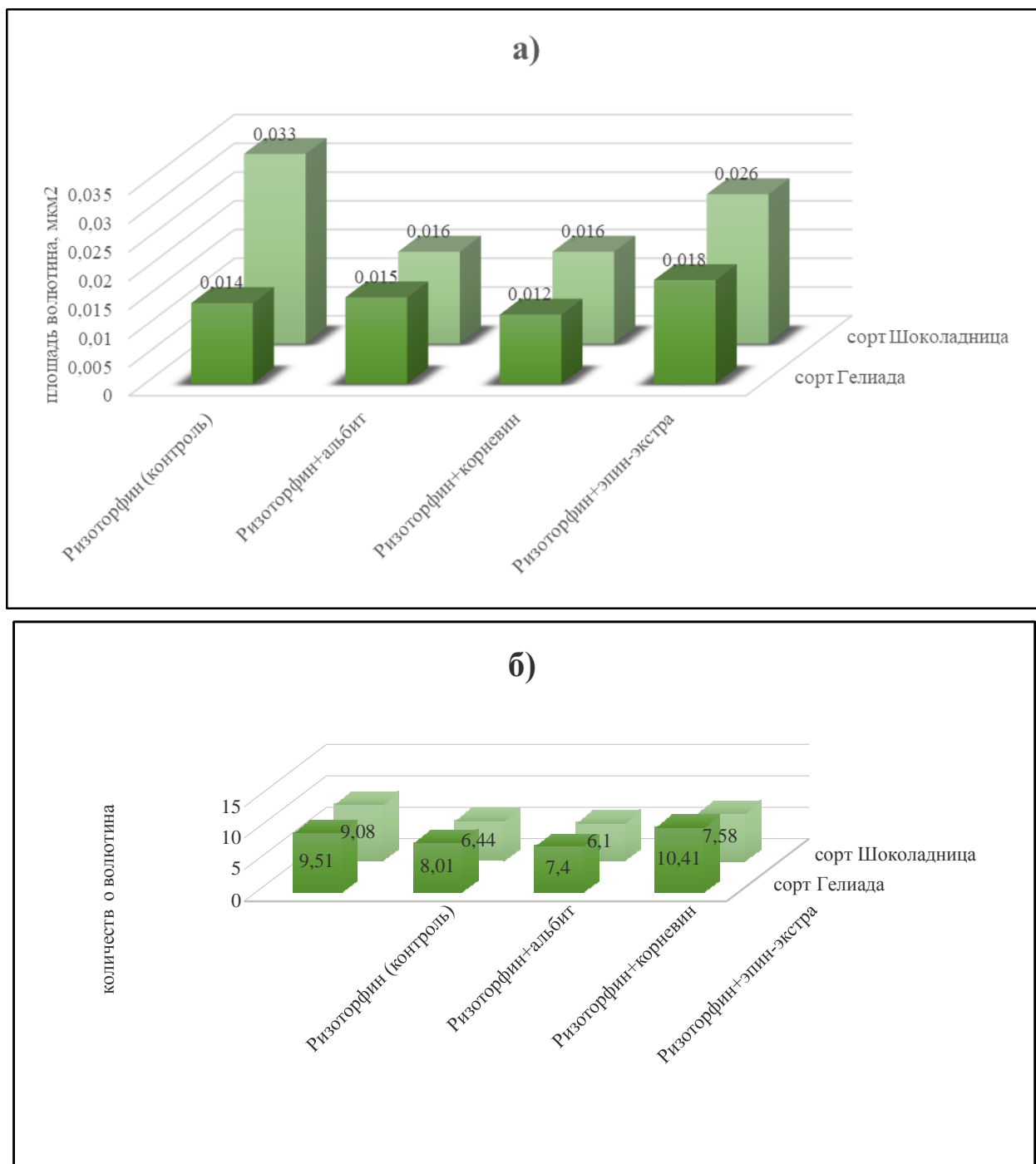


Рисунок 6.16 Влияние биопрепаратов и регуляторов роста на площадь (а) и количество (б) включений волютина растений фасоли сортов Гелиада и Шоколадница (Волобуева, Мирошникова, Наумкина, 2016)

Включения волютина. Данные рис.6.16. и рисунков приложения свидетельствуют о том, что у растений фасоли сорта Гелиада самая большая площадь включений волютина отмечена в варианте с обработкой Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином. У растений фасоли (Волобуева, 2011, 2012, 2014, 2015, 2016, 2018) сорта Шоколадница самая большая площадь

волютина отмечена в варианте с обработкой только биопрепаратом Ризоторфин. Самое большое количество включений волютина отмечено у растений фасоли сорта Гелиада при обработке Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином (Волобуева, Мирошникова, Наумкина, 2016). Самое большое количество включений волютина у сорта фасоли Шоколадница отмечено в варианте с обработкой только Ризоторфином.

Сорт Гелиада. Во всех вариантах были сформировавшиеся бактериоды. Однако симбиосомы были только в вариантах с обработкой Альбитом и препаратом Эпин- Экстра. Площадь симбиосом у растений сорта Гелиада, семена которых были обработаны препаратом Эпин-Экстра, вдвое превышала площадь симбиосом (Волобуева, 2015) у сорта Гелиада, семена которых были обработаны Альбитом, хотя количество симбиосом было бóльшим именно в этом варианте, по сравнению с вариантом обработки Эпином-Экстра.

Площадь бактериодов возрастала при обработке Корневином, Эпином-Экстра, Альбитом, по сравнению с вариантом обработки только Ризоторфином. При этом их количество было большим при обработке Ризоторфином и меньшим при обработке Альбитом (рис.6.14; табл.6.4).

Площадь и количество включений волютина было бóльшим при обработке семян сорта Гелиада Эпином-Экстра и меньшим при обработке Корневином. Площадь включений ПОМ была минимальной при обработке Корневином и Эпином-Экстра, а количество ПОМ было меньшим в варианте с обработкой Эпином-Экстра и Ризоторфином (рис. 6.15., 6.16; табл.6.4).

Сорт Шоколадница. В клубеньках растений, семена которых были обработаны Альбитом, отмечается наличие симбиосом. Бактериоды были во всех вариантах. При этом самая большая площадь и количество бактериодов отмечены в клубеньках растений, семена которых были обработаны только Ризоторфином, а самая минимальная площадь бактериодов и их количество – в клубеньках растений, семена которых были обработаны Альбитом. Увеличение площади и количества бактериодов отмечено также в вариантах с обработкой

Эпином-Экстра и Корневином (рис. 6.13, 6.14; табл. 6.4, 6.5).

Таблица 6.4 – Изменение ультраструктуры клубеньков растений фасоли сортов Гелиада и Шоколадница (Волобуева, 2015, 2018)

Вариант	Площадь, мкм ²			
	Симбиосом	Бактероидов	ПОМ	Волютина
	Сорт Гелиада			
Ризоторфин	-	0,091±0,0027	0,033±0,0019	0,014±0,0002
Альбит	1,21±0,05	0,21±0,0058	0,037±0,0020	0,015±0,0004
Корневин	-	0,58±0,027	0,021±0,0013	0,012±0,0003
Эпин-Экстра	2,7±0,13	0,47±0,017	0,023±0,0013	0,018±0,0004
	Сорт Шоколадница			
Ризоторфин	-	0,56±0,028	0,023±0,0012	0,033±0,0007
Альбит	2,08±0,085	0,40±0,011	0,40±0,0026	0,016±0,0004
Корневин	-	0,46±0,021	0,057±0,0017	0,016±0,0005
Эпин-Экстра	-	0,51±0,013	0,031±0,0009	0,026±0,0007

Примечание: < - > прочерк здесь и в табл.6.5. – отсутствие структуры

Площадь включений волютина была максимальной в варианте с обработкой только Ризоторфином, увеличивалась в варианте с Эпином-Экстра и была минимальной в вариантах с обработкой Альбитом и Корневином. Количество волютиновых гранул было бóльшим в варианте с обработкой Ризоторфином, а также Эпином-Экстра и минимальным в варианте с обработкой Корневином и Альбитом. Площадь включений ПОМ и их количество было минимальным в варианте с обработкой Ризоторфином, а также в варианте с обработкой Эпином-Экстра. Наличие ПОМ с бóльшей площадью и их количеством отмечены в клубеньках растений, семена которых были обработаны Корневином и Альбитом (Волобуева, 2015) (рис. 6.15, 6.16; табл.6.4, 6.5).

Таблица 6.5 – Изменение ультраструктуры клубеньков растений фасоли сортов Гелиада и Шоколадница (Волобуева, 2018)

Вариант	Количество			
	Симбиосом	Бактероидов	ПОМ	Волютина
	Сорт Гелиада			
Ризоторфин	-	23,56±2,28	1,62±0,08	9,51±0,37
Альбит	10,83±0,78	3,46±0,12	3,21±0,15	8,01±0,46
Корневин	-	11,4±1,49	2,48±0,14	7,40±0,49
Эпин-Экстра	14,22±0,42	4,28±0,14	0,62±0,10	10,41±0,28
	Сорт Шоколадница			
Ризоторфин	-	24,70±1,93	1,09±0,06	9,08±0,37
Альбит	7,2±0,61	3,88±0,11	1,69±0,06	6,44±0,25
Корневин	-	15,85±1,97	1,72±0,12	6,10±0,22
Эпин-Экстра	-	16,41±1,05	1,52±0,09	7,58±0,37

Итак, у растений фасоли разных сортов биопрепарат и регуляторы роста по-разному оказали свое влияние на ультраструктуру клубеньков.

Таким образом, изучение ультраструктуры клубеньков растений фасоли сортов Гелиада и Шоколадница, семена которых были обработаны Ризоторфином, Альбитом, Корневином и Эпином-Экстра показало:

В клубеньках растений фасоли симбиосомы образовывались не во всех вариантах. У растений фасоли сорта Гелиада самая большая площадь симбиосом и их количество были в варианте с обработкой Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином.

Самая большая площадь бактериоидов была у растений фасоли сорта Гелиада при обработке Корневином на фоне инокуляции Ризоторфином. Однако количество бактериоидов у растений этого сорта было наибольшим в контроле. У растений фасоли сорта Шоколадница наибольшая площадь и количество бактериоидов отмечено в варианте с обработкой только

биопрепаратом *Ризоторфин* (Волобуева, Мирошникова, Наумкина, 2016; Волобуева, 2018).

У растений фасоли сорта Гелиада наибольшая *площадь включений* (Волобуева, 2011-2020) *ПОМ* и их количество отмечено в контроле. У растений фасоли сорта Шоколадница большая *площадь ПОМ* и их количество отмечено в варианте с обработкой *Корневином* на фоне инокуляции Ризоторфином.

Большая *площадь включений волютина* и их количество отмечено в варианте с обработкой препаратом *Эпин-Экстра* на фоне инокуляции *Ризоторфином* у растений фасоли сорта Гелиада. У растений фасоли сорта Шоколадница большая *площадь включений волютина* и их количество отмечено в варианте с обработкой только *Ризоторфином* (Волобуева, 2015, 2018).

Таким образом, содержание в симбиосомах таких структур как включения волютина, ПОМ, ПБП, для некоторых видов клубеньковых бактерий, может рассматриваться как дополнительная характеристика эффективности бобово-ризобиального симбиоза. Полученные данные ультраструктуры клубеньков позволили в дальнейшем охарактеризовать показатели эффективности симбиотической системы бобовых растений.

6.2 Эффективность симбиотической системы (масса и количество клубеньков, активность нитрогеназы в клубеньках)

В этом разделе отражены материалы, представленные в моих публикациях и в соавторстве (Волобуева, 2007, 2009; Волобуева, Скоробогатова, Мирошникова, 2009; Волобуева, 2010; Волобуева, Скоробогатова, 2010; Волобуева, 2011, 2013, 2015; Волобуева, Мирошникова, 2015; Волобуева, Мирошникова, Наумкина, 2016; Волобуева, 2016, 2017, 2018, 2020).

Эффективность симбиотической системы растений фасоли изучали по массе корней с клубеньками, массе клубеньков и их количеству, активности фермента нитрогеназы в клубеньках (Волобуева, 2007, 2009, 2010, 2011, 2014, 2015, 2016,

2017, 2018, 2020). Это одни из основных факторов, от которых зависит эффективность симбиотической системы. Однако самым важным из них является – активность фермента нитрогеназы.

Эффективность азотфиксирующей активности растений фасоли сортов Гелиада и Шоколадница, семена которых были обработаны Ризоторфином, Альбитом, Корневином, Эпином-Экстра, различалась в различные годы.

Анализ азотфиксирующей активности растений фасоли в 2006 г. показал (рис. 6.17, рис. 37 и табл. приложения), что масса корней с клубеньками у сорта Гелиада была примерно одинаковой во всех вариантах. У сорта фасоли Шоколадница масса корней с клубеньками была выше в вариантах с обработкой семян препаратами Альбит и Ризоторфин (Волобуева, 2013). Такие показатели активности симбиотической системы, как количество клубеньков, масса клубеньковой ткани и активность фермента нитрогеназы, увеличивались у растений, обработанных биопрепаратом и регуляторами роста, по сравнению с контролем. Самое большое количество клубеньков, масса клубеньковой ткани и высокие значения активности нитрогеназы отмечены в вариантах с обработкой растений сорта Гелиада Эпином- Экстра и Корневином.

У сорта фасоли Шоколадница в большей степени проявилось действие препарата Ризоторфин. В варианте с обработкой Ризоторфином отмечены наивысшие значения активности фермента нитрогеназы, количества клубеньков и массы клубеньковой ткани. Активность фермента нитрогеназы увеличивалась в клубеньках растений фасоли Шоколадница, семена которой были обработаны Корневином и Эпином- Экстра.

В 2007 г. наивысшие показатели симбиотической активности отмечены в клубеньках фасоли Гелиада, семена которой были обработаны Альбитом и Корневином, а у сорта Шоколадница – Эпином-Экстра.

В 2008 г. обработка семян фасоли Гелиада Ризоторфином, Эпином-Экстра и в особенности комбинацией Эпин-Экстра и Ризоторфин, увеличивала массу корней с клубеньками, количество клубеньков и особенно активности в них

фермента нитрогеназы. Обработка семян фасоли Шоколадница Ризоторфином приводила к увеличению массы корней с клубеньками, количества и массы клубеньков и активности в них фермента нитрогеназы (рис. 6.17, рис. 37 и табл. приложения) (Волобуева, 2015, Волобуева, Мирошникова, Наумкина, 2016).

При формировании клубеньков на корнях бобовых растений пролиферация клеток под влиянием *Rhizobium* обычно начинается на расстоянии 1-2-х клеточных слоев от конца инфекционной нити (Шильникова, Тагиев, 1969; Тихонович и др., 2005). Первый фитогормональный импульс, по многим наблюдениям (Мишустин, Шильникова, 1973; Сабельникова, 1979, 1983) осуществляется ауксинами. Возможно, происходит конверсия триптофана в β -ИУК, оказывающую на все жизнедеятельные ткани растения активное гормональное воздействие.

В дальнейшем основную формативную функцию приобретают зоны активного функционирования меристем в местах возможного образования боковых корней. Высокий уровень ауксинов в зоне активного инфицирования (верхняя и средняя части корня в первые сроки инокуляции) определяет растяжение клеток растения-хозяина и способствует внедрению клеток ризобий в ткань корня. В дальнейшем симбиотическое взаимодействие между бобовым растением и клубеньковыми бактериями приводит к развитию на их корнях новых органов – азотфиксирующих клубеньков. Этот процесс у бобовых растений инициируется сигнальными молекулами липохитоолигосахаридной природы – Nod-факторами, которые выделяют ризобии (Spaink et.al., 1991).

Физиологические и генетические данные свидетельствуют о том, что индуцируемые Nod-факторами изменения в фитогормональном балансе представляют собой необходимое условие для успешного развития клубеньков (Rightmyer, Long., 2011; Held et.al., 2014; Ferguson, Mathesius., 2014). Эти изменения связаны с регуляцией генов, контролирующих биосинтез,

активацию и транспорт фитогормонов в самом растении. Синтезируемые ризобиями гормоны способны влиять на эффективность симбиоза, но не влияют на формирование клубеньков (Kisiala et. al., 2013). Вместе с тем известно, что цитокинины, синтезируемые клубеньковыми бактериями, играют важную роль в пролиферации клубеньковой ткани (Кулаева, 1973; Ломин, Романов, 2008; Frugier et.al., 2008).

Итак, проявились сортовые особенности растений фасоли на действие биопрепарата и регуляторов роста. Уместно обратить внимание на эффект ризобактерий (PGPR –Plant Growth Promoting Rhizobacteria) Альбита, возможно, оказывающих влияние на метаболизм клубеньковых бактерий. Вероятно, это связано и с тем, что большая часть ризосферных бактерий, входящих в состав препарата Альбит, совместно с ризобиями, входящими в состав биопрепарата Ризоторфин, оказывают стимулирующий эффект на растения. Это отразилось на повышении нитрогеназной активности, количества и массы клубеньков. Ризобактерии активно колонизируют поверхность корня, вытесняя с неё патогенов и лишая их источников питания. Наилучшими экологическими нишами для ризосферных бактерий являются участки максимального выброса корневых экссудатов, через которые может экскретироваться до 30% продуктов растительного фотосинтеза. Большая часть PGPR находится на поверхности корня, образуя микроколонии или биопленки, и обычно концентрируется на стыках эпидермальных клеток. Процессы колонизации корневой поверхности бактериями не отличаются высокой избирательностью, и многие почвенные микроорганизмы могут заселять корни самых разных растений, что создает условия для «селекции» растением потенциально полезных штаммов. В то же время, бактерии могут синтезировать антибиотические факторы, которые индуцируются в ризосфере лишь некоторых растений.

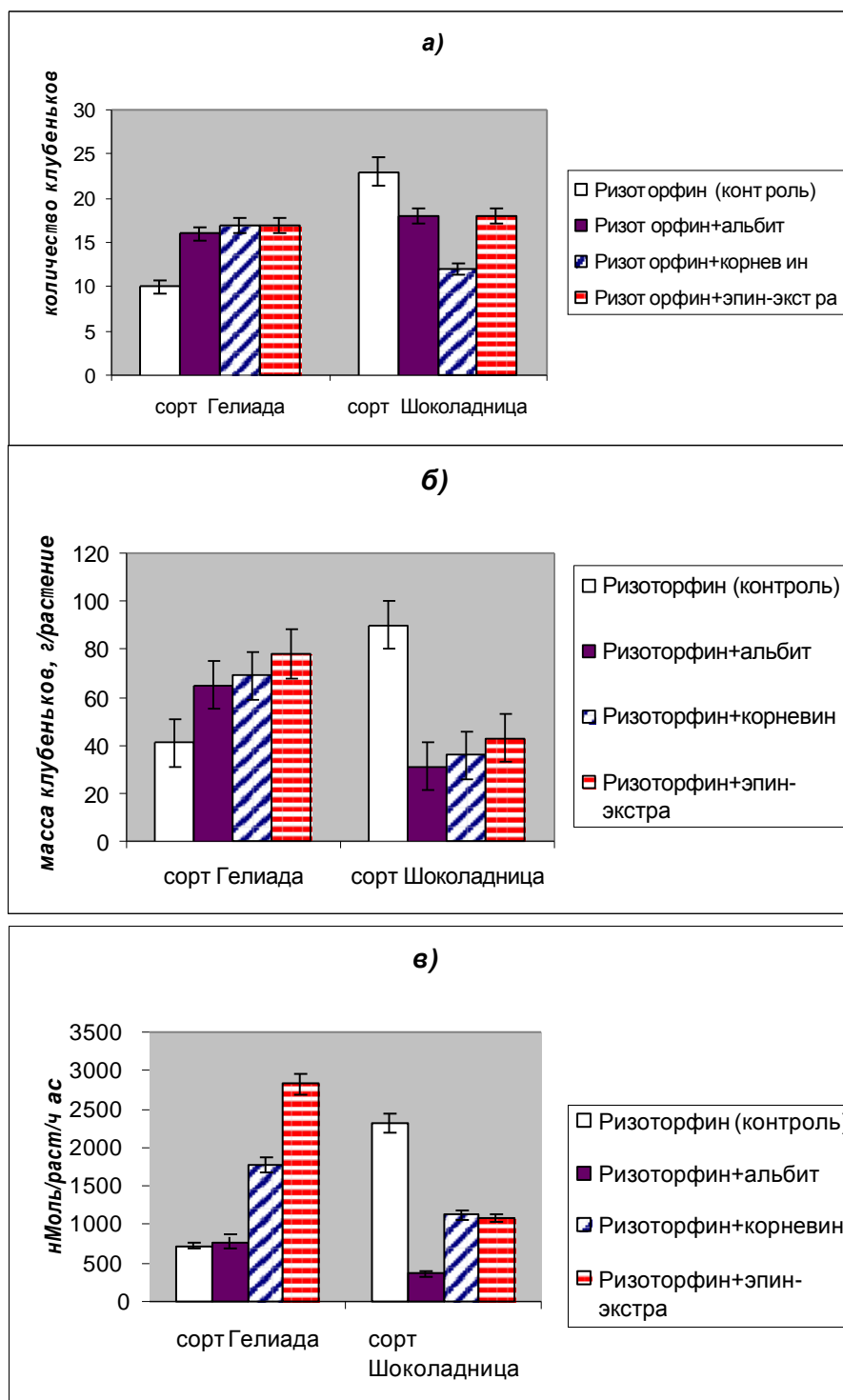


Рисунок 6.17 Влияние биопрепарата и регуляторов роста на количество (а), массу (б) клубеньков и на нитрогеназную активность (в) клубеньков растений фасоли сортов Гелиада и Шоколадница. Полевой опыт

Активность ростстимулирующих ризобактерий находится под непосредственным контролем растения, в экссудатах которого содержится много питательных веществ, обеспечивающих размножение ризобактерий в прикорневой зоне и проявление ими биоконтрольных свойств. Наиболее активное выделение этих веществ наблюдается в зоне элонгации корня, где численность бактерий максимальна. В результате синтеза экссудатов концентрация бактерий в прикорневой зоне может повышаться по сравнению с почвой в 10-100 раз (ризосферный эффект), при этом существенно изменяется и качественный состав микробного сообщества. Одним из механизмов поступления питательных веществ от растений в ризобактерии могут быть белковые каналы или поры. Они образуются при тесном контакте бактерий с растительными клетками и гомологичны каналам, участвующим в формировании систем секреции третьего типа, которые многие фитопатогены и некоторые ризобии используют для доставки в растительные клетки сигнальных белков – эффекторов.

Таким образом, анализ эффективности симбиотической системы растений фасоли сортов Гелиада и Шоколадница, районированных в Орловской области, при обработке биопрепаратом и регуляторами роста показал, что наивысшие показатели массы и количества клубеньков и активности в них нитрогеназы отмечены у растений фасоли сорта Гелиада при обработке семян Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином, а также Корневином и Альбитом, по сравнению с контролем.

Протекторное действие Ризоторфина отмечено для сорта Шоколадница. Наивысшие показатели массы клубеньков, нитрогеназной активности отмечены в клубеньках этих растений, семена которых были обработаны только Ризоторфином, а низкие показатели у растений, семена которых были обработаны Альбитом на фоне инокуляции Ризоторфином (Волобуева, 2017). Эти данные подтвердили исследования ультраструктуры их клубеньков (рис. 6.13-18; табл. 6.4-5).

6.3 Влияние биопрепарата и регуляторов роста на ростовые показатели растений, урожай и его качество

В этом разделе представлены материалы исследований, которые отражены в моих публикациях и в соавторстве (Волобуева, 2007, 2010; Волобуева, Скоробогатова, Шильникова, 2008, 2010; Волобуева, Мирошникова, 2009, 2016; Волобуева, 2012, 2015, 2017, 2018).

Влияние регуляторов роста на ростовые показатели растений фасоли разных сортов, урожайность и его качество зависило от погодных условий вегетационного периода.

2006 г. характеризовался как избыточно увлажненный. У сорта Гелиада обработка биопрепаратом и регуляторами роста приводила к увеличению надземной массы и высоты растений. Наивысшие показатели отмечены при обработке Альбитом и Эпином-Экстра, а у сорта Шоколадница – при обработке Ризоторфином (табл. 6.6).

Обработка семян растений фасоли обоих сортов препаратом Эпин-Экстра приводила к отсутствию корневых гнилей на корнях растений.

2007 г. характеризовался как засушливый. В этот период для сорта фасоли Гелиада увеличение надземной массы и высоты растений отмечено при обработке регулятором роста Альбитом. У сорта Шоколадница обработка биопрепаратом Ризоторфин приводила к повышению надземной массы и высоты растений. Корневые гнили отсутствовали у сорта фасоли Гелиада в варианте с обработкой Ризоторфином и Эпином-Экстра, а у сорта Шоколадница – в варианте с обработкой Ризоторфином (табл.6.6).

Таблица 6.6 – Ростовые показатели растений фасоли в фазу бутонизации-начала цветения, при обработке биопрепаратом и регуляторами роста (среднее).

Полевой опыт

Вариант	2006 г.		2007 г.		2008 г.	
	Надземная масса, г/растение	Высота, см	Надземная масса, г/растение	Высота, см	Надземная масса, г/растение	Высота, см
Сорт Гелиада						
Контроль (без обработки)	13,0±1,02	30,05±1,06	20,05±1,01	40,0±1,7	35,0±2,3	42,0±0,8
Ризоторфин	15,9±2,03	33,5±2,05	21,07±1,63	42,0±1,6	50,5±2,7	45,0±0,6
Альбит	20,1±1,53	39,5±1,15	23,10±1,84	46,0±1,85	48,6±2,5	44,0±0,5
Корневин	15,4±3,06	32,5±2,06	23,75±1,92	41,0±1,47	46,7±3,2	43,0±0,4
Эпин-Экстра	18,2±2,31	37,5±3,19	17,86±1,27	37,0±1,14	49,1±2,8	48,0±0,3
Сорт Шоколадница						
Контроль (без обработки)	12,7±0,06	27,5±1,08	15,40±1,24	32,0±1,01	33,8±2,4	37,0±0,2
Ризоторфин	17,6±1,67	30,5±2,58	26,51±1,23	38,0±1,23	59,6 ±2,6	43,0±0,3
Альбит	14,2±2,08	26,0±2,15	25,63±1,91	30,0±2,53	46,5±3,2	40,0±0,4
Корневин	13,2±2,04	29,5±2,49	22,72±1,82	35,0±3,08	45,4±3,1	39,0±0,1
Эпин-Экстра	9,9 ±3,08	24,5±2,01	17,52±2,21	34,0±3,01	42,4±2,8	42,0±0,2

2008 г. по своим климатическим показателям характеризовался, как благоприятный для развития растений фасоли и наибольшее накопление вегетативной массы растений отмечено в этом году. Наивысшие ростовые показатели отмечены при обработке всеми испытанными препаратами, но наибольшие – при обработке Ризоторфином растений фасоли обоих сортов (табл. 6.6.).

В варианте с обработкой семян Эпином-Экстра наблюдалась очень мощная листовая поверхность, сильно отличающаяся от других растений. В 2008 г. в варианте с обработкой семян растений фасоли сорта Шоколадница Эпином-Экстра корневые гнили отсутствовали (Волобуева, Мирошникова, Наумкина, 2016).

Условия и годы проведения исследования оказали влияние на продуктивность сортов фасоли. В избыточно увлажненном 2006 г. наибольший урожай получен при обработке семян Корневином (2,28 т/га). В 2006 г. РР привели к достоверному снижению урожая, что вероятно было связано с погодными условиями (избыточная увлажненность). В 2007 г. у сорта Гелиада наибольший урожай отмечен при обработке Альбитом (3,69 т/га), у сорта Шоколадница – при обработке Ризоторфином (3,0 т/га). В 2008 г. благоприятном для развития растений фасоли, наибольший урожай у растений сорта Гелиада отмечен при обработке Ризоторфином (3,9 т/га), а у сорта Шоколадница при обработке Эпином-Экстра (3,9 т/га) (табл. 6.7).

У бобовых растений качество семян определяется, прежде всего, наличием белка. Фасоль – это высокобелковая ценная культура.

В листьях и семенах растений фасоли сортов Гелиада и Шоколадница семена, которых были обработаны биорепаратом и регуляторами роста, определяли содержание белка. Результаты данных представлены в таблице 6.8.

Результаты исследования по влиянию биопрепаратов и регуляторов роста на содержание белка свидетельствуют о том, что содержание белка в листьях растений фасоли сорта Гелиада было большим в варианте с обработкой

Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризотофином, по сравнению с контролем; в семенах большее содержание белка было в варианте с обработкой Корневином на фоне инокуляции Ризоторфином. У растений фасоли сорта Шоколадница наибольшее содержание белка в листьях отмечено при обработке Ризоторфином и Эпином-Экстра, в семенах – при обработке только Ризоторфином (табл. 6.8) (Волобуева, Мирошникова, Наумкина, 2016).

Таблица 6.7 - Урожайность растений фасоли при обработке биопрепаратом и регуляторами роста (среднее), (т/га). Полевой опыт

Вариант	2006 г.	2007 г.	2008 г.	Среднее за года
Сорт Гелиада				
Контроль (без обработки)	1,45±0,15	2,80±0,81	2,50±0,05	2,25±0,33
Ризоторфин	1,89±0,61	3,56±0,32	3,94±0,11	3,13±0,34
Альбит	2,06±0,31	3,96±0,19	3,00±0,21	2,92±0,23
Корневин	2,28±0,47	3,20±0,52	3,23±0,08	2,90±0,35
Эпин-Экстра	1,83±0,37	3,50±0,21	3,77±0,21	3,03±0,26
Сорт Шоколадница				
Контроль (без обработки)	1,68±0,13	2,75±0,32	2,70±0,08	2,38±0,17
Ризоторфин	2,57±0,14	3,00±0,21	3,33±0,05	2,97±0,13
Альбит	1,24±0,21	2,81±0,32	3,00±0,21	2,35±0,24
Корневин	0,80±0,18	2,75±0,21	3,11±0,07	2,22±0,15
Эпин-Экстра	1,22±0,19	2,813±0,31	3,95±0,21	2,66±0,23
НСР ₀₅	0,276	0,342	0,128	0,253

В семенах растений фасоли обоих сортов определяли содержание амилозы и крахмала. Исследования показали, что содержание амилозы и крахмала в семенах растений фасоли сортов Гелиада и Шоколадница во всех вариантах с обработкой биопрепаратом и регуляторами роста было выше по сравнению с контролем (табл. 6.9).

Таблица 6.8 – Содержание сырого протеина (%) в листьях и семенах растений фасоли при обработке биопрепаратом и регуляторами роста (среднее).

Полевой опыт

Вариант	Содержание сырого протеина (%)	
	листья	семена
	Сорт Гелиада	
Контроль (без обработки)	20,03±0,02	20,15±0,01
Ризоторфин	23,71±0,12	22,75±0,11
Альбит	21,35±0,10	23,80±0,20
Эпин-Экстра	25,64±0,03	23,80±0,04
Корневин	23,10±0,14	26,16±0,15
	Сорт Шоколадница	
Контроль (без обработки)	21,04±0,02	19,18±0,01
Ризоторфин	25,73±0,03	23,88±0,02
Альбит	24,41±0,12	21,53±0,13
Корневин	24,15±0,13	21,0 ± 0,12
Эпин-Экстра	25,73±0,15	21,26±0,16

Таблица 6.9 – Содержание амилозы и крахмала в семенах растений фасоли при обработке биопрепаратом и регуляторами роста (среднее).

Полевой опыт

Вариант	Амилоза, г		%	
	Сорт Гелиада	Сорт Шоколадница	Сорт Гелиада	Сорт Шоколадница
	Контроль (без обработки)	4,0±0,05	3,89±0,05	35,18±0,01
Ризоторфин	4,86±0,06	4,84±0,04	43,10±0,02	42,92±0,01
Альбит	5,0±0,03	4,69±0,06	44,39±0,01	41,54±0,02
Корневин	4,78±0,04	5,10±0,14	42,37±0,02	45,31±0,03
Эпин-Экстра	4,90±0,04	4,96±0,06	43,47±0,02	44,02±0,01

Итак, обработка биопрепаратом и регуляторами роста оказала влияние на показатели роста, урожай и качество семян растений фасоли сортов Гелиада и Шоколадница, районированных в Орловской области, особенно в неблагоприятный погодный период для развития этих растений.

* * *

Таким образом, анализируя исследования особенностей ультраструктуры клубеньков растений фасоли сортов Гелиада и Шоколадница, эффективность симбиотической системы, показатели роста, урожайность и его качество при обработке семян этих растений *Ризоторфином*, *Альбитом*, *Корневином* и препаратом *Эпин-Экстра*, установлены некоторые закономерности, а также взаимосвязи с изменением гормонального статуса этих растений (Волобуева, 2010, 2012, 2015, 2016, 2017, 2018, 2020).

Установлена сортовая реакция растений фасоли на обработку препаратом *Эпин-Экстра*: наибольшей отзывчивостью характеризовался сорт фасоли *Гелиада*. У растений фасоли сорта *Шоколадница* в большей степени проявилось действие *Ризоторфина*.

Обработка семян растений фасоли сорта *Гелиада* регулятором роста *Эпин-Экстра* на фоне инокуляции *Ризоторфином* увеличивала показатели *роста*, *количество и массу клубеньков*, *нитрогеназную активность в клубеньках*. Это происходило на фоне увеличения содержания *ауксинов* в листьях, стеблях и корнях с клубеньками, а также на фоне увеличения *зеатина* – в корнях с клубеньками.

У растений фасоли сорта *Шоколадница* проявилось протекторное действие *Ризоторфина*. В клубеньках растений этого сорта наблюдали увеличения площади и количества *бактероидов*, площади и количества включений *волютина*. Площадь и количество *ПОМ* в этом варианте было минимальным. Показатели роста и нитрогеназная активность растений фасоли сорта

Шоколадница увеличивались при обработке *Ризоторфином*. Это происходило на фоне увеличения *зеатина* – в листьях, стеблях и корнях с клубеньками (Волобуева, 2015).

Наиболее активно процессы азотфиксации протекали в вариантах с бóльшим количеством бактериоидов, с бóльшим количеством и бóльшей площадью гранул включений волютина. Содержание в клетках включений волютина и ПОМ может служить для некоторых видов ризобий дополнительной характеристикой активности симбиотической системы.

Содержание белка в листьях растений фасоли сорта Гелиада было бóльшим в варианте с обработкой Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином; в семенах бóльшее содержание белка было в варианте с обработкой Корневином на фоне инокуляции Ризоторфином. У растений фасоли сорта Шоколадница наибольшее содержание белка в листьях отмечено при обработке Ризоторфином и Эпином-Экстра, в семенах – при обработке только Ризоторфином.

Содержание амилозы и крахмала в семенах растений фасоли сортов Гелиада и Шоколадница во всех вариантах с обработкой биопрепаратом и регуляторами роста было выше по сравнению с контролем.

На урожай и его качество оказывают влияние факторы внешней среды. В неблагоприятные погодные условия биопрепарат и регуляторы роста повышали урожай растений фасоли обоих сортов: наивысший урожай у растений фасоли сорта *Гелиада* получен при обработке *Альбитом* на фоне инокуляции Ризоторфином (3,68 т/га); у сорта *Шоколадница* – при обработке *Эпином-Экстра* и *Альбитом* на фоне инокуляции Ризоторфином (2,81 т/га). При благоприятных условиях наивысший урожай у сорта *Гелиада* получен при обработке *Эпином-Экстра* на фоне инокуляции Ризоторфином (3,94 т/га), у сорта *Шоколадница* – при обработке только *Эпином-Экстра* (3,94 т/га) (Волобуева, Мирошникова, Наумкина, 2016).

ГЛАВА 7 ВЛИЯНИЕ БИОПРЕПАРАТА РИЗОТОРФИНА И РЕГУЛЯТОРА РОСТА ЭПИН-ЭКСТРА НА БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНЫЙ СИМБИОЗ РАСТЕНИЙ СОИ РАЗНЫХ СОРТОВ

7.1 Микроскопическое строение клубеньков (площадь и количество симбиосом, бактериоидов, включений)

Материал исследований проведенных мною и представленный в этом разделе, опубликован в моих статьях и в соавторстве (Волобуева, 2012, 2014).

Электронно-микроскопическое изучение клубеньков растений сои сортов Магева и Свапа показало наличие во всех вариантах симбиосом и находящихся в них бактериоидов (рис.7.28). Ризобии, в процессе образования клубенька превращаются в бактериоиды, которые вместе с окружающей их симбиосомной мембраной составляют симбиосому. Симбиосомная мембрана играет ключевую роль во взаимоотношениях микро – и макросимбионта. По происхождению симбиосомная мембрана является симбиотической, т.к. её биогенез происходит посредством дифференцированной экспрессии генов обоих партнеров бобово-ризобиального симбиоза при биосинтезе нодулинов, бактериоидинов, полисахаридов и других компонентов. На стадии эффективной азотфиксации клубеньков бобовых СМ обеспечивает избирательность транспорта метаболитов и ионов, поддерживает необходимый гомеостаз, участвует в реализации сигнальных механизмов различных внутриклеточных процессов в клетках микро – и макросимбионта (Udvardi, Day, 1997; Проворов, 2001). Мутуалистический тип взаимоотношений симбионтов обеспечивается симбиосомной мембраной не только на основе метаболитов, но и ионов, в частности Ca^{2+} . Поскольку у бобовых растений в процессе формирования и функционирования симбиоза в клетках клубеньков происходит редукция или утрата вакуолярного аппарата, участвующего в статировании наномолярных концентраций ионов кальция в цитозоле, эту функцию берет на себя симбиосома. (Измайлов, 2014).

Электронно-микроскопические исследования показывают, что у разных бобовых культур, например, люпина, в клубеньках которого каждый бактериоид

окружен перибактероидным пространством, или у сои, где в зоне перибактероидного пространства оказывается несколько бактериоидов, площадь симбиосомной мембраны в клетке, как правило, значительно больше, чем плазмалеммы (Андреева и др., 1989; Verma et al., 1992). Объем перибактероидного пространства и, что более важно, соотношение объемов ПБП/цитозоль существенно варьирует у разных генотипов бобовых культур. Оно зависит также от их возраста и условий окружающей среды. Обычно, чем менее эффективна симбиотическая система, тем доля перибактероидного пространства больше. Как при старении клетки, так и при неэффективном симбиозе происходит увеличение доли ПБП за счет сокращения цитозоля растительной клетки и числа её органелл, что говорит о резком снижении пространства, занимаемого в инфицированной клетке эукариотом (Измайлов, 2014). Это в свою очередь приводит к накоплению запасных веществ в бактериоидах, перибактероидном пространстве и пластидах (Андреева, 1985). Вероятно, что размер перибактероидного пространства, являющийся генотипическим признаком, и в то же время зависящий от действия факторов внешней среды, характеризует эффективность симбиотических отношений макро- и микросимбионтов в клубеньках и может быть одним из её критериев.

У растений сои сорта Свапа, семена которой были обработаны препаратом Эпин- Экстра, отмечено наличие в клубеньках симбиосом, бактериоидов, включений волютина, имеющих бóльшую площадь и количество, по сравнению с вариантом обработки семян только Ризоторфином. Площадь включений ПОМ и её количество в варианте с обработкой Эпином-Экстра было меньше, чем в варианте с обработкой Ризоторфином (рис. 7.21-7.25; табл.7.9) (Волобуева, 2015).

В клубеньках растений сои сорта Магева, семена которой были обработаны только Ризоторфином, наблюдали увеличение площади и количества симбиосом, бактериоидов, включений волютина; площадь и количество ПОМ в этом варианте были минимальными по сравнению с растениями, семена которых были обработаны препаратом Эпин-Экстра (Волобуева, 2015).

Таблица 7.10 – Изменение ультраструктуры симбиосом и бактериоидов

(Волобуева, 2012, 2015)

Вариант	Площадь (мкм ²), AREA				Количество, POINT			
	Сорт Магева							
	Симб и-осом	Бакте-роидов	ПОМ	Волю-тина	Симби-осом	Бакте-роидов	ПОМ	Волю-тина
Ризоторфин	1,89	0,33	0,023	0,039	8,43	3,60	1,19	3,25
	± 0,088	± 0,012	± 0,001	± 0,002	± 0,410	± 0,18	± 0,040	± 0,130
Эпин-Экстра и Ризоторфин	1,33	0,26	0,026	0,026	7,23	2,57	1,46	2,51
	± 0,049	± 0,008	± 0,001	± 0,002	± 1,430	± 0,082	± 0,074	± 0,140
	Сорт Свапа							
Ризоторфин	1,55	0,34	0,021	0,030	5,64	2,73	1,64	3,98
	± 0,070	± 0,013	± 0,002	± 0,002	± 0,800	± 0,140	± 0,110	± 0,230
Эпин-Экстра и Ризоторфин	3,30	0,49	0,016	0,034	8,08	3,63	1,61	6,30
	± 0,240	± 0,054	± 0,001	± 0,001	± 0,87	± 0,220	± 0,098	± 0,49

Включение ПОМ представляет собой запасное вещество. Это эндогенный накопитель энергии и углерода прокариот. Наличие этого эндогенного резерва определяет бóльшую пластичность метаболизма ризобий. Обычно при активной азотфиксации содержание ПОМ в клетках бактерий минимально, поскольку её синтез и распад при этом наиболее интенсивны. Вероятно, что депонирование ПОМ в варианте с обработкой семян сои сорта Магева Ризоторфином, свидетельствовало о невысоком уровне азотфиксации.

Включения волютина, являясь источником азота и фосфора, вовлекаются в процесс образования АТФ. Процесс симбиотической азотфиксации, осуществляемый клубеньковыми бактериями, представляет собой достаточно энергозатратный. В результате фиксации азота ризобиями, расходуется значительное количество энергии АТФ. В связи с этим, наличие гранул

волютина можно рассматривать как один из возможных источников энергии для этого процесса. Наши исследования показали, что площадь и количество включений волютина было большим в клубеньках тех растений, в вариантах которых наблюдали наивысшие показатели азотфиксирующей активности в клубеньках растений сои (Волобуева, 2015).

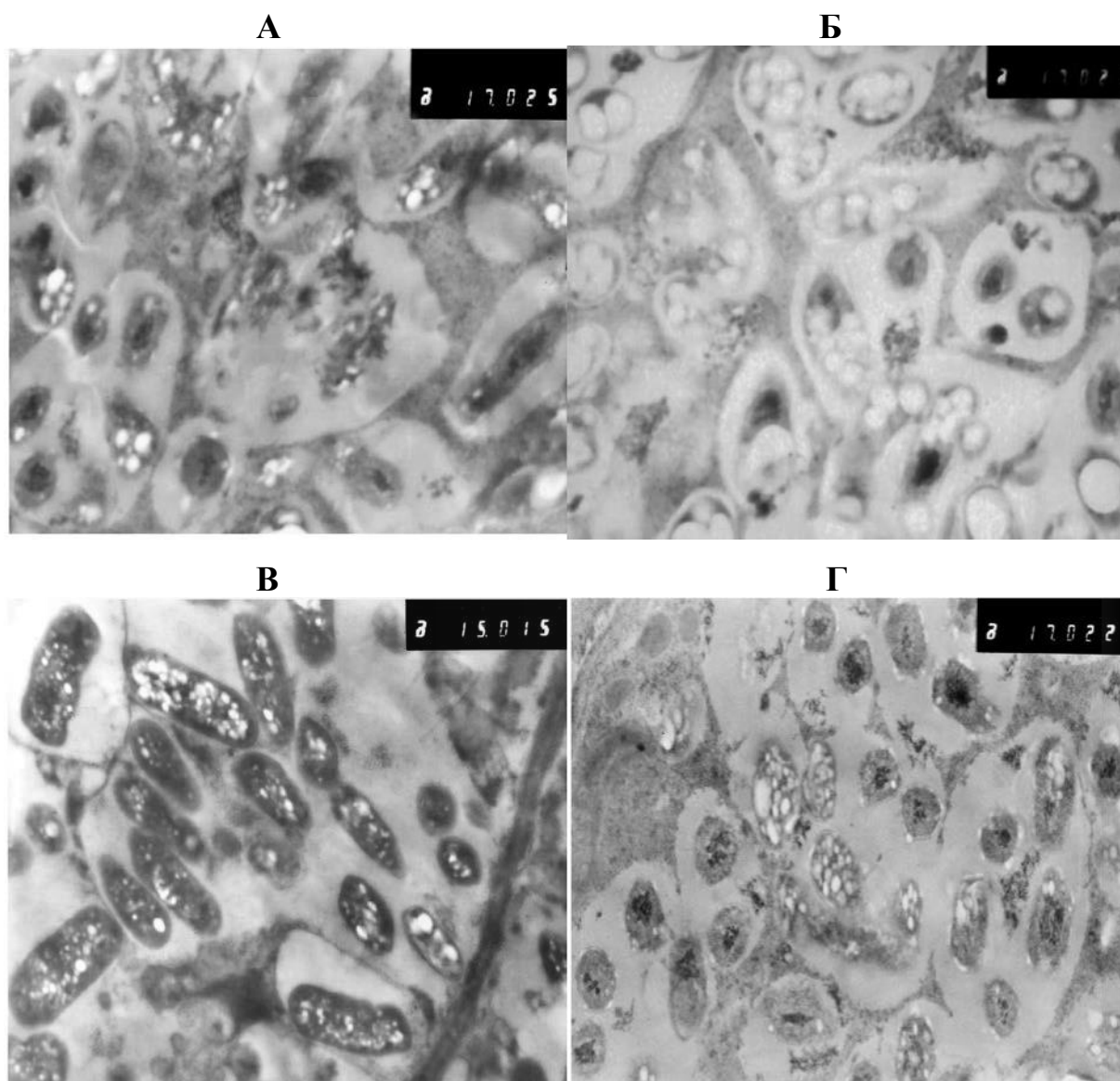


Рис. 7.18 Ультраструктура клубеньков сои (Волобуева, 2015)

А – клубеньки сои сорта Магева, образованные при инокуляции семян Ризоторфином, увеличение 17000;

Б – клубеньки сои сорта Магева, образованные при обработке семян Эпином-экстра, увеличение 20000;

В – клубеньки сои сорта Свапа, образованные при инокуляции семян Ризоторфином, увеличение 15000;

Г – клубеньки сои сорта Свапа, образованные при обработке семян Эпином-экстра, увеличение 17000.

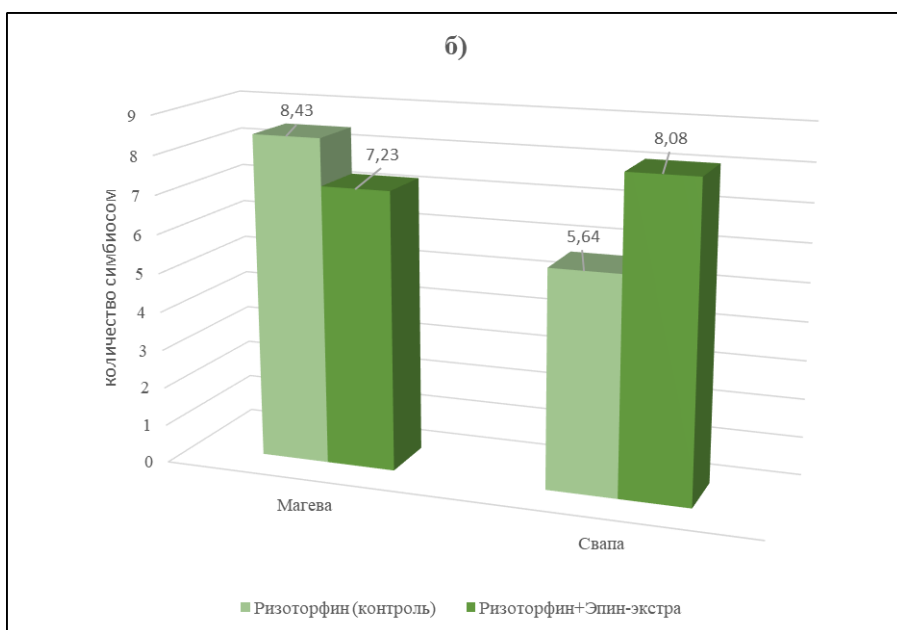
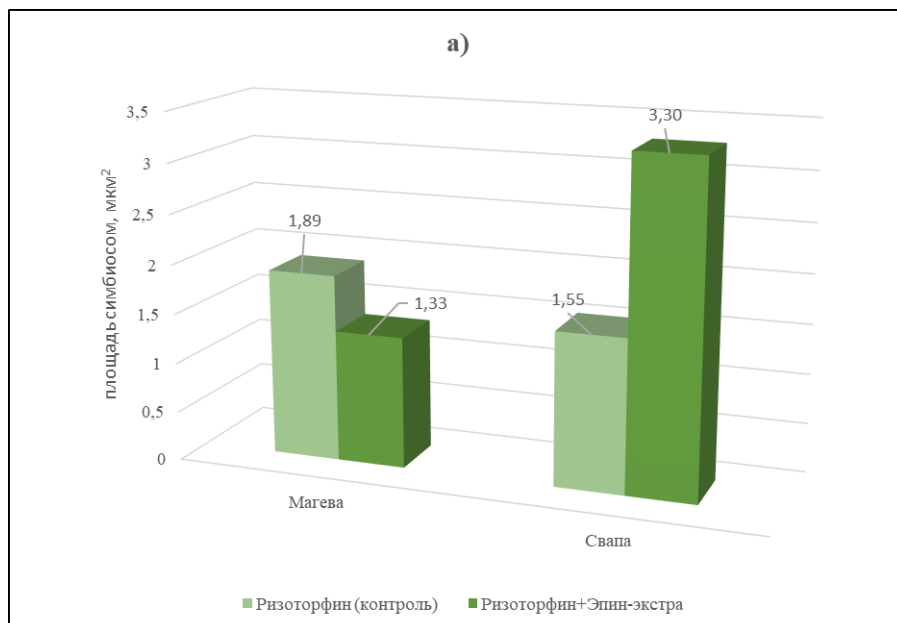


Рисунок 7.19 Влияние Эпина-экстра и Ризоторфина на площадь (а) и количество (б) симбиосом растений сои сортов Магева и Свапа

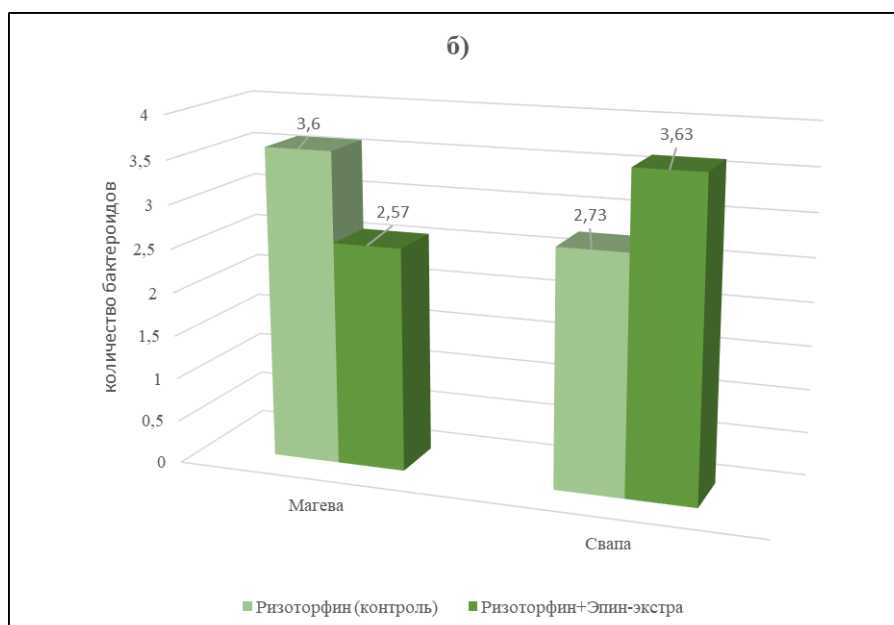
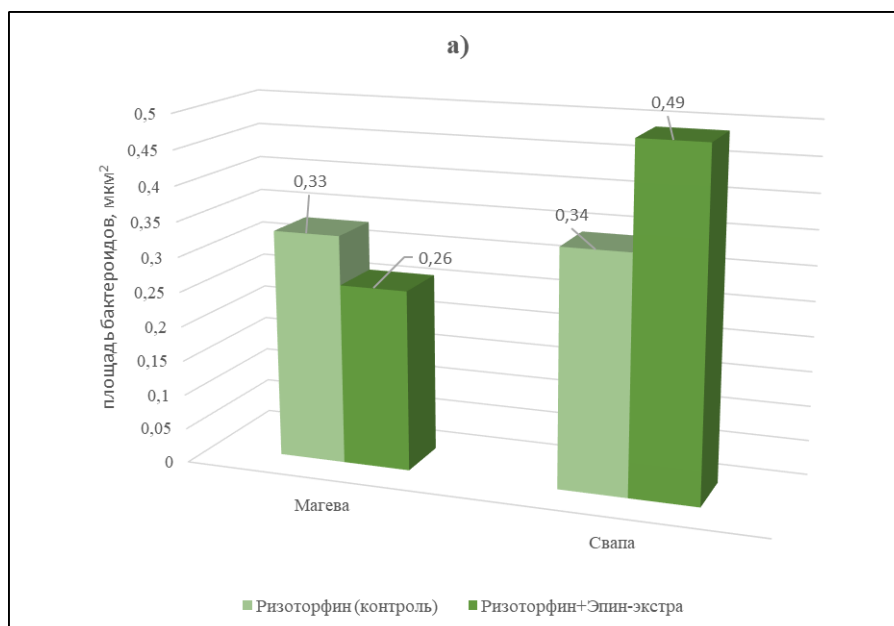


Рисунок 7.20 Влияние Эпина-экстра и Ризоторфина на площадь (а) и количество (б) бактериоидов растений сои сортов Магева и Свапа

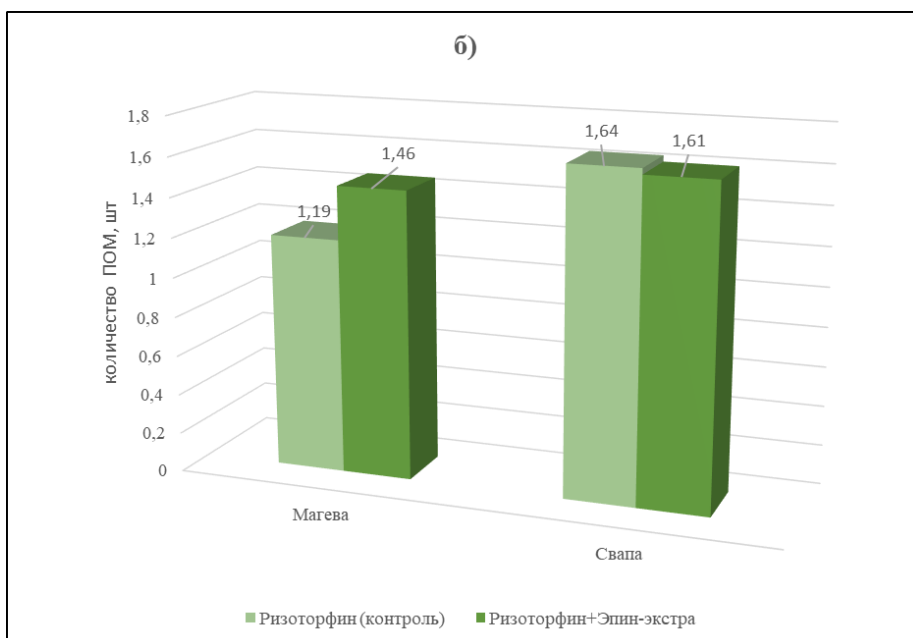
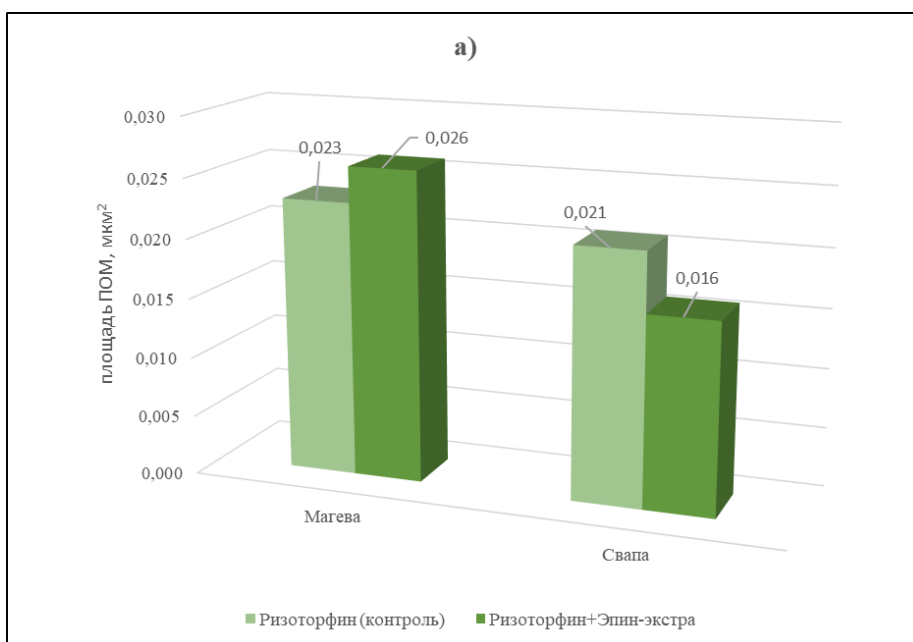


Рисунок 7.21 Влияние Эпина-экстра и Ризоторфина на площадь (а) и количество (б) включений ПОМ растений сои сортов Магева и Свапа (Волобуева, 2015)

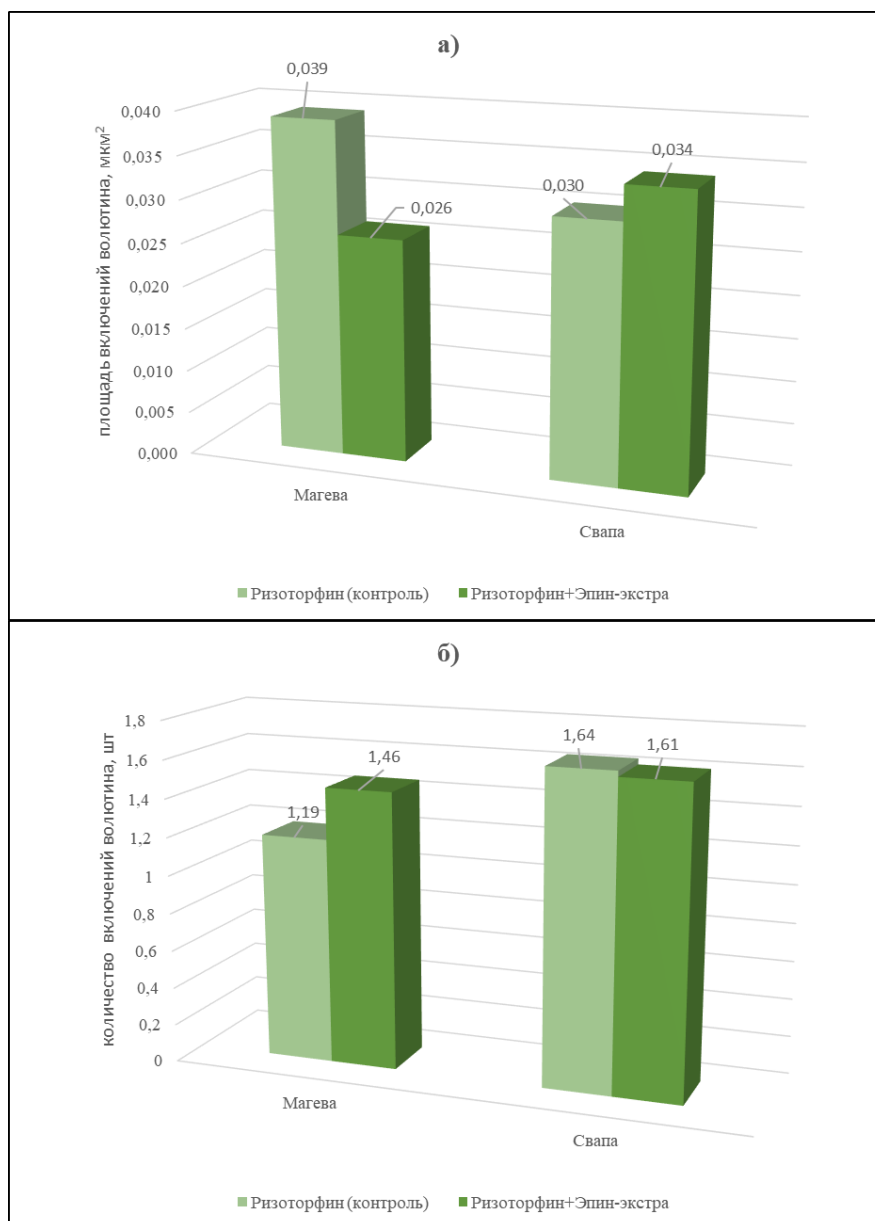


Рисунок 7.22 Площадь (а) и количество (б) включений волютина растений сои сортов Магева и Свапа, семена которых обработаны Эпином-Экстра и Ризоторфином (Волобуева, 2012, 2015)

Таким образом, в результате проведенных электронно-микроскопических исследований было установлено:

1. В клубеньках растений сои сорта *Свапа*, семена которой были обработаны препаратом *Эпин-Экстра*, на фоне инокуляции Ризоторфином, наблюдали наличие большого числа *симбиосом*, *бактероидов*, *включений волютина*, которые имели бóльшую площадь и минимальное количество включений ПОМ (Волобуева, 2012, 2015).

2. У растений сои сорта *Магева* проявилось протекторное действие *Ризоторфина*. В клубеньках растений этого сорта, семена которой были обработаны только *Ризоторфином*, наблюдали увеличение *площади и количества симбиосом, бактериоидов, включений волютина*. Площадь и количество *ПОМ* в этом варианте было минимальным, что свидетельствовало об активной азотфиксации (Волобуева, 2015).

3. Такие показатели, как включения волютина и *ПОМ*, для некоторых видов ризобий могут рассматриваться дополнительным признаком активности симбиотической соево-ризобиальной системы (Волобуева, 2015).

7.2 Особенности симбиотической системы в процессе онтогенеза

В данных исследованиях проводилась обработка семян *Ризоторфином* и *Эпином- Экстра*.

Формирование клубеньков у растений сои начинается с фазы бутонизации и продолжается до фазы плодообразования, т.е. достаточно длительный вегетационный период клубеньки находятся в активном состоянии, осуществляют процесс азотфиксации и происходит формирование симбиотической системы соево- ризобиального симбиоза.

Анализ данных по влиянию обработки семян биопрепаратом *Ризоторфин* и регулятором роста *Эпин-Экстра* на симбиотическую систему растений сои сортов *Магева* и *Свапа* показал следующее. В фазу бутонизации у растений сорта *Магева* масса корней с клубеньками была несколько выше в варианте с обработкой препаратом *Эпин-Экстра*. Однако бóльшая масса и количество клубеньков были в варианте с обработкой *Ризоторфином*. У сорта *Свапа* в эту фазу масса корней с клубеньками в вариантах с обработкой *Ризоторфином* и препаратом *Эпин-Экстра* были на одном уровне (Волобуева, 2010, 2012; Волобуева, Белопухов, 2013). Однако количество и масса клубеньков были выше в варианте с обработкой препаратом *Эпин-Экстра* (табл. 7.11). В фазу цветения у сорта *Магева* масса корней с клубеньками незначительно была выше в варианте с обработкой *Эпином-Экстра*.

Однако масса клубеньков и их количество были выше в варианте с обработкой Ризоторфином. У сорта Свапа обработка препаратом Эпин-Экстра приводила к повышению массы корней с клубеньками, количеству и массе клубеньков (табл.7.10) (Волобуева, 2015).

Таблица 7.11 – Влияние обработки семян биопрепаратом Ризоторфин и регулятором роста Эпин-экстра на азотфиксирующую активность растений сои сортов Магева и Свапа в процессе онтогенеза (Волобуева 2015)

Вариант	Масса корней с клубеньками, г/растение	Количество клубеньков, шт/растение	Масса клубеньков, мг/растение
Сорт Магева			
Ризоторфин	1,7 ± 0,9 ¹	24 ± 3,5 ¹	345 ± 13,2 ¹
	2,6 ± 1,2 ²	36 ± 4,2 ²	660 ± 18,4 ²
	4,9 ± 1,5 ³	21 ± 3,2 ³	1403 ± 26,7 ³
Эпин-Экстра и Ризотофин	2,1 ± 1,0	16 ± 2,8	289 ± 12,1
	2,8 ± 1,2	27 ± 3,7	460 ± 15,3
	3,0 ± 1,2	21 ± 3,2	1203 ± 24,7
Сорт Свапа			
Ризоторфин	2,7 ± 1,1	26 ± 3,6	463 ± 15,4
	3,7 ± 1,3	38 ± 4,4	620 ± 17,7
	3,1 ± 1,2	27 ± 3,7	882 ± 21,2
Эпин-Экстра и Ризоторфин	2,7 ± 1,1	30 ± 3,9	550 ± 16,7
	4,9 ± 1,5	42 ± 4,6	724 ± 19,2
	4,3 ± 1,5	33 ± 4,1	1163 ± 24,3

Примечание: ¹ – фаза бутонизации, ² – фаза цветения,

³ – фаза плодообразования

Фаза плодообразования – это фаза наиболее активной азотфиксации у растений сои. Количество клубеньков на корнях не увеличивается, однако сами клубеньки увеличиваются в размерах, становятся крупными, в виде «муфточек», большие и розовые. Розовая окраска клубеньков говорит о том, что там присутствует пигмент леглобин и активно протекает азотфиксация.

У сорта Магева в эту фазу в варианте с обработкой Ризоторфином масса корней с клубеньками была выше, по сравнению с вариантом, где семена были обработаны Эпином-Экстра. Количество клубеньков не изменялось, а их масса была значительно выше не только по сравнению с вариантом, где семена растений сои сорта Магева были обработаны Эпином-Экстра, но и по сравнению с растениями Свапа обоих вариантов. У растений Свапа обработка препаратом Эпин-Экстра приводила к повышению массы корней с клубеньками, количества и массы клубеньков, по сравнению с вариантом обработки только Ризоторфином (Волобуева, 2010, 2012, 2015, 2017; Волобуева, Белопухов, 2013).

Таким образом, изучая особенности формирования симбиотической системы соево-ризобияльного симбиоза, на примере растений сои сортов Свапа и Магева, можно заключить следующее:

1. Наивысшая азотфиксирующая активность в клубеньках растений сои сортов Магева и Свапа отмечена в фазу плодообразования.

2. Проявилась сортоспецифичность на действие Ризоторфина и препарата Эпин-Экстра. Наибольшей отзывчивостью на действие Ризоторфина характеризовался сорт сои Магева. Под влиянием Ризоторфина у растений этого сорта отмечены наивысшие показатели азотфиксирующей активности клубеньков.

3. У сорта сои Свапа отмечено протекторное действие регулятора роста Эпин-Экстра. Обработка Эпином-Экстра приводила к повышению азотфиксирующей активности клубеньков растений этого сорта.

Результаты исследований по азотфиксирующей активности клубеньков

растений сои сортов Магева и Свапа подтвердила данные наших исследований ультраструктуры клубеньков этих растений (гл.7.1.).

7.3 Влияние биопрепарата Ризоторфин и регулятора роста Эпин-Экстра на ростовые показатели растений в процессе онтогенеза и содержание белка

Наблюдения за динамикой роста и развития растений сои сортов Магева и Свапа, семена которых были обработаны биопрепаратом Ризоторфин и регулятором роста Эпин-Экстра показали следующее. В фазу бутонизации у растений сорта Магева надземная масса и высота растений, семена которых были обработаны Ризоторфином, незначительно превышала растения, семена которых были обработаны РР Эпин-Экстра. Для растений сорта Свапа, семена которых были обработаны Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином, наблюдается увеличение показателей надземной массы. Однако высота растений остается почти на уровне с вариантом обработки только Ризоторфином (табл. 7.11, рис. 7.25).

В фазу цветения отмечено увеличение надземной массы растений сорта Магева, семена которой были обработаны Ризоторфином, а увеличение высоты растений у этих растений отмечается при обработке семян РР Эпин-экстра на фоне инокуляции Ризоторфином. Обработка семян сои Свапа Эпином-экстра на фоне инокуляции Ризоторфином, увеличивала показатели надземной массы. Высота этих растений была больше в варианте с обработкой Ризоторфином (Волобуева, 2015).

Обработка семян сои Магева Ризоторфином приводила к достоверному увеличению надземной массы и высоты растений в фазу плодообразования. Для растений сои Свапа, семена которой были обработаны Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином, наблюдалось достоверное увеличение надземной массы, однако высота растений была больше в варианте с обработкой

Ризоторфином (табл. 7.11, рис. 7.25.) (Волобуева, Мирошникова, Наумкина, 2016).

Соя – ценнейшая белково-масличная культура известная в мировом земледелии. Она используется в пищевой и технической промышленности. Особое место занимает в кормопроизводстве. В семенах сои содержание белка доходит до 45%, а масла – больше 20%. Белок сои отличается высокой физиологической полноценностью, большим содержанием незаменимых аминокислот – лизина, метионина, триптофана, которых в одной кормовой единице сои на 42% больше, чем у гороха, в 3 раза больше, чем у овса и в 9 раз больше, чем у кукурузы.

В своей работе мы определяли содержание белка (% сырого протеина) в листьях, стеблях и корнях с клубеньками растений сои сортов Магева и Свапа в процессе онтогенеза.

Анализируя содержание белка в листьях, стеблях и корнях с клубеньками в процессе онтогенеза установлено, что в фазу бутонизации содержание белка в листьях растений Магева, обработанных Ризоторфином и Эпином-Экстра практически не отличалось, и несколько было выше в листьях растений сорта Свапа, семена которых были обработаны Эпином-Экстра. В стеблях содержание белка было выше у растений сорта Магева, семена которых были обработаны Ризоторфином, а у растений сорта Свапа, семена которых были обработаны РР Эпин-Экстра. Содержание белка было высоким в корнях с клубеньками растений обоих сортов, семена которых были обработаны биопрепаратом Ризоторфин (табл. 7.12, рис. 7.26- 7.27) (Волобуева, 2015).

В фазу цветения содержание белка в листьях было выше у растений сои сортов Магева и Свапа при обработке Ризоторфином. Обработка семян сои обоих сортов препаратом Эпин-Экстра приводила к повышению содержания белка в стеблях и корнях с клубеньками. В фазу плодообразования содержание белка у сорта сои Магева в вариантах с обработкой Ризоторфином и Эпином-Экстра практически не различалось. Обработка семян сои Свапа Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином увеличивала в листьях содержание

белка.

Таблица 7.12 – Влияние Ризоторфина и препарата Эпин-Экстра на показатели роста растений сои сортов Магева и Свапа в процессе онтогенеза (Волобуева, 2015)

Показатель	Фаза вегетации	Варианты			
		сорт Магева, Ризоторфин	сорт Магева, Эпин-Экстра	сорт Свапа, Ризоторфин	сорт Свапа, Эпин-Экстра
Надземная масса, г/растение	1	4,8 ± 1,5	4,7 ± 1,5	4,6 ± 1,5	6,4 ± 1,8
	2	8,0 ± 2,0	5,0 ± 1,5	5,7 ± 1,7	7,5 ± 1,9
	3	15,2 ± 2,8	13,9 ± 2,6	9,3 ± 2,1	13,9 ± 2,6
Высота растений, см	1	24,0 ± 3,5	23,7 ± 3,4	32,0 ± 4,0	31,4 ± 4,0
	2	30,4 ± 3,9	33,7 ± 4,1	39,0 ± 4,4	36,4 ± 4,3
	3	54,0 ± 5,2	40,0 ± 4,5	70,0 ± 5,9	66,0 ± 5,8

Примечание. 1 - фаза бутонизации, 2 - фаза цветения, 3 - фаза плодообразования.

Таблица 7.13 – Содержание белка в вегетативных органах растений сои сортов Магева и Свапа (% сырого протеина)
(Волобуева, 2010, 2015)

Вариант	Вегетативные органы	Содержание белка (% сырого протеина)		
		1*	2*	3*
Сорт Магева				
Ризоторфин	Листья	20,13	22,58	23,63
	Стебли	10,15	12,95	14,61
	Корни с клубеньками	9,98	7,88	8,66
Эпин-Экстра и Ризоторфин	Листья	20,83	19,16	23,98
	Стебли	9,80	13,56	15,31
	Корни с клубеньками	8,66	9,28	9,01
Сорт Свапа				
Ризоторфин	Листья	22,40	22,58	22,81
	Стебли	10,68	9,80	12,51
	Корни с клубеньками	9,10	7,96	9,01
Эпин-Экстра и Ризоторфин	Листья	23,01	22,43	25,46
	Стебли	11,99	12,43	11,64
	Корни с клубеньками	8,75	9,19	9,89

*Примечание. 1 - фаза бутонизации, 2 - фаза цветения, 3 - фаза плодообразования

Для растений сои Магева, семена которой были обработаны Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином, наблюдается повышение содержания белка в стеблях, а для сои Свапа – при обработке семян Ризоторфином. Содержание белка у растений сои Магева в фазу плодообразования в обоих вариантах, практически не различалось. У сорта Свапа, семена которой были обработаны РР Эпин-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином, происходило увеличение содержания белка в листьях. В стеблях растений сои Магева, семена которой

были обработаны РР Эпин- Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином, содержание белка повышалось, а у сои Свапа – при обработке семян только Ризоторфином (Волобуева, 2015).

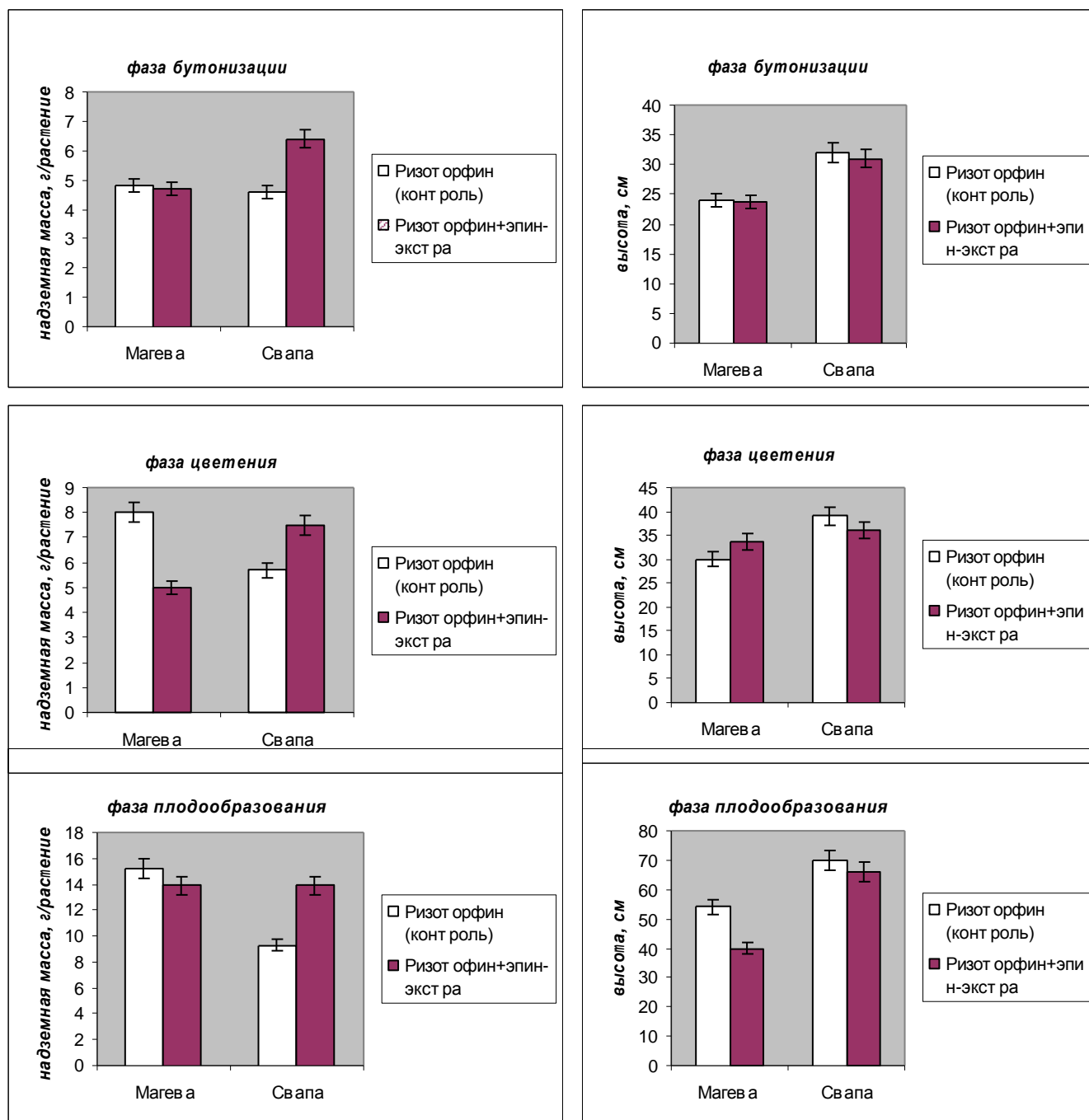


Рисунок 7.23 Показатели роста растений сои сортов Магева и Свапа. Вегетационный опыт

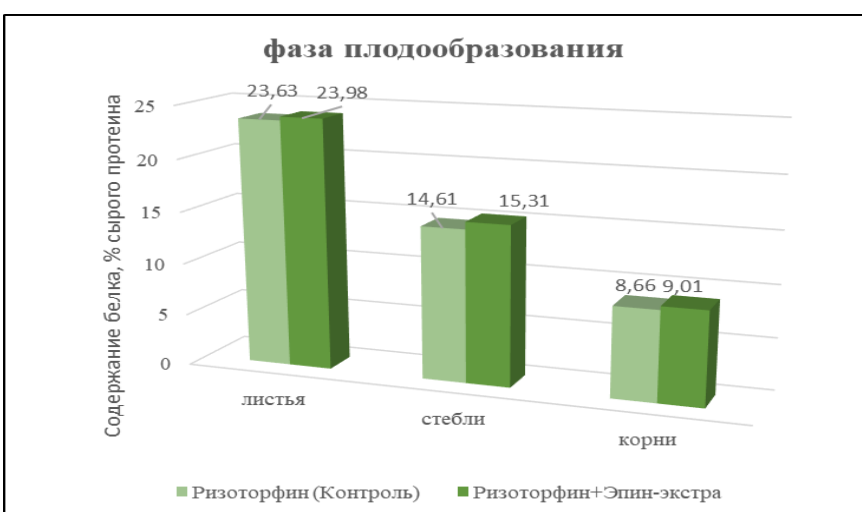
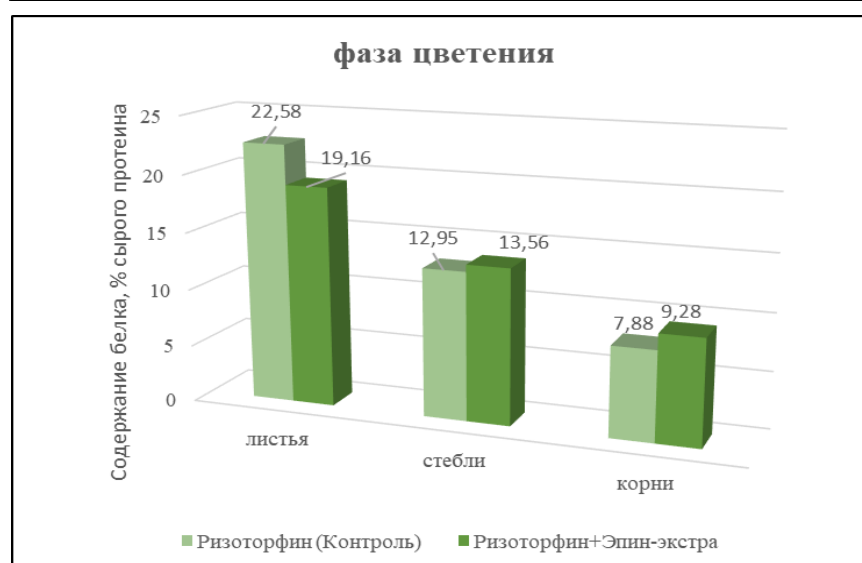


Рисунок 7.24 Содержание белка в вегетативных органах растений сои сорта Магева в онтогенезе. Вегетационный опыт



Рисунок 7.25 Содержание белка в вегетативных органах растений сои сорта Свапа в онтогенезе. Вегетационный опыт

Сравнение показателей роста и азотфиксирующей активности растений сои с содержанием и соотношением четырех основных групп фитогормонов показало, что эти процессы зависят от соотношения фитогормонов (табл. 5.3). Так, наивысшие показатели роста и азотфиксирующей активности растений сои сорта Магева при обработке Ризоторфином наблюдались на фоне увеличения соотношений зеатин к АБК и (ГК+зеатин+ИУК) к АБК – в листьях и корнях с клубеньками. У растений сои сорта Свапа, при совместной обработке Эпином-Экстра и Ризоторфином, наивысшие показатели роста и азотфиксирующей активности растений наблюдали на фоне увеличения соотношений зеатин к АБК и (ГК+зеатин+ИУК) к АБК – в листьях, ГК к АБК – в листьях, стеблях и корнях с клубеньками, ИУК к АБК – в корнях с клубеньками.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено:

1. У растений сои сорта Магева наивысшие показатели надземной массы в онтогенезе наблюдали при обработке Ризоторфином. Высота растений была больше при обработке Ризоторфином в фазу плодообразования.
2. У растений сои сорта Свапа наблюдали повышение надземной массы в процессе онтогенеза при обработке Эпином-Экстра. Большая высота была у растений этого сорта при обработке Ризоторфином (Волобуева, 2015, 2017).
3. Содержание белка в фазу бутонизации было большим в листьях растений сои сорта Свапа при обработке Эпином-Экстра, в фазу цветения практически не изменялось и повышалось в листьях при обработке Эпином-Экстра. У сорта Магева содержание белка в фазу бутонизации и плодообразования практически было одинаковым в обоих вариантах, в фазу цветения – было бóльшим в варианте с обработкой Ризоторфином.
4. У растений сои Магева, семена которой были обработаны Ризоторфином, в фазу бутонизации в стеблях содержание белка было выше. В фазу цветения и плодообразования высокие показатели содержания белка отмечаются у растений этого сорта при обработке семян Эпином-Экстра на фоне

инокуляции Ризоторфином. У растений сои сорта Свапа, семена которой были обработаны Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином, содержание белка в стеблях было выше в фазы бутонизации и цветения, а в фазу плодообразования – у растений, семена которых были обработаны только Ризоторфином.

5. В фазу бутонизации в корнях с клубеньками содержание белка было выше у растений сои обоих сортов при обработке семян этих растений Ризоторфином. Большее содержание белка в корнях с клубеньками было у растений сои обоих сортов в фазы цветения и плодообразования (Волобуева, 2015).

Таким образом, изучение влияния биопрепарата Ризоторфин и регулятора роста Эпин-экстра на бобово-ризобиальный симбиоз растений сои разных сортов позволило установить некоторые закономерности взаимосвязи азотфиксирующей активности растений, ультраструктуры клубеньков и содержания фитогормонов (Волобуева, 2015).

1. Обработка семян растений сои сорта *Свапа* Эпином-Экстра на фоне инокуляции увеличивала *показатели роста и азотфиксирующую активность, содержание белка* в вегетативных органах. Это происходило на фоне увеличения содержания *ауксинов* в корнях с клубеньками, *зеатина* – в листьях и стеблях, *гиббереллинов* – в листьях, стеблях и корнях с клубеньками (Волобуева, 2015).

2. В клубеньках растений сои сорта *Свапа*, семена которой были обработаны Эпином-Экстра на фоне инокуляции Ризоторфином, наблюдали

наличие большого числа *симбиосом*, *бактероидов*, *включений волютина*, имеющих бóльшую площадь и минимальное количество включений *ПОМ* (Волобуева, 2015).

3. У растений сои сорта *Магева* проявилось протекторное действие *Ризоторфина*. В клубеньках растений этого сорта, семена которой были обработаны только *Ризоторфином*, наблюдали увеличение площади и количества *симбиосом*, *бактероидов*, *включений волютина*. Площадь и количество *ПОМ* в этом варианте было минимальным, что свидетельствовало об активной азотфиксации. Показатели роста, содержание белка в вегетативных органах и азотфиксирующая активность в клубеньках растений сои сорта *Магева* увеличивались, при обработке биопрепаратом *Ризоторфин*. Это происходило на фоне увеличения *ауксинов* в корнях с клубеньками, *зеатина* – в листьях, стеблях и корнях с клубеньками, *гиббереллинов* – в стеблях и корнях с клубеньками (Волобуева, 2015).

4. Установлена сортовая реакция растений сои на обработку *Эпином-Экстра*. Наибольшей отзывчивостью характеризовался сорт сои *Свапа*, районированный в Орловской области. На основании полученных результатов можно рекомендовать применение регулятора роста *Эпин-Экстра* совместно с биопрепаратом *Ризоторфин* для предпосевной обработки семян в производстве, особенно в районах возделывания сортов сои северного экотипа (Волобуева, 2015).

ГЛАВА 8 ДЕЙСТВИЕ БИОПРЕПАРАТА РИЗОТОРФИНА И РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА АЛЬБИТА, КОРНЕВИНА, ЭПИН-ЭКСТРА НА БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНЫЙ СИМБИОЗ РАСТЕНИЙ ГОРОХА

В данной главе представлен материал исследований, который отражен в моих публикациях и в соавторстве (Волобуева, 2003, 2004, 2006; Волобуева, Мирошникова, Кондыков, 2007; Волобуева, Скоробогатова, Шильникова, 2008; Волобуева, 2010, 2011, 2013, 2015, 2017; Гуро, Волобуева, 2018, Волобуева, 2019).

8.1 Влияние биопрепарата и регуляторов роста на формирование симбиотической системы

Горох является одной из важнейшей продовольственной зернобобовой культурой, обладает уникальной способностью фиксировать азот атмосферы, что делает эту культуру экономически и экологически эффективной. Теоретически горох может удовлетворять свои потребности в азоте на $2/3$ за счет азота атмосферы и на $1/3$ – из почвы.

Главная особенность этой культуры – это осуществление симбиотической азотфиксации, благодаря клубеньковым бактериям.

С целью изучения влияния биопрепарата и регуляторов роста на формирование симбиотической системы растений гороха были проведены полевые и вегетационные исследования.

В вегетационном опыте изучали влияние Ризоторфина и Альбита на гормональный баланс (см. гл. 5), на показатели роста и азотфиксирующую активность растений гороха сортов Норд и Мультик (Волобуева, 2019).

Было установлено, что обработка семян Альбитом растений гороха сорта Мультик приводила к увеличению массы корней с клубеньками, количества и массы клубеньков. У сорта Норд проявилось протекторное действие Ризоторфина. Под его влиянием происходило увеличение массы корней с клубеньками, количества и массы клубеньков (рис. 8.28) (Волобуева, 2019).

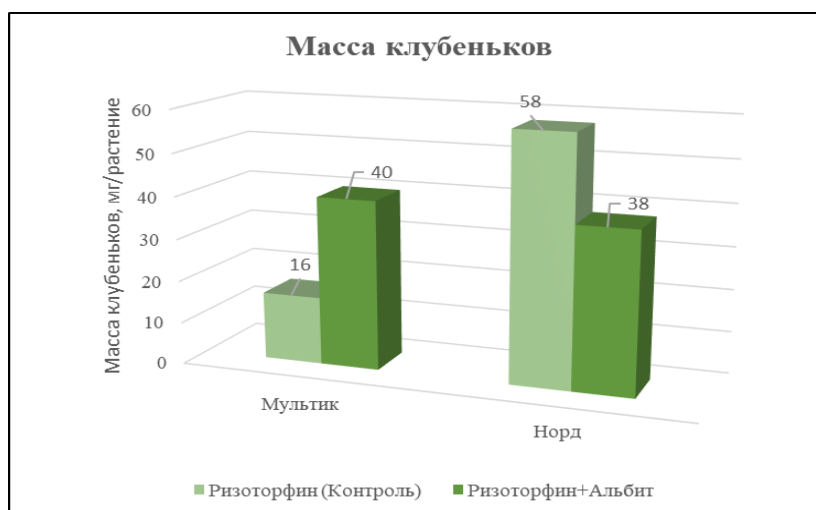
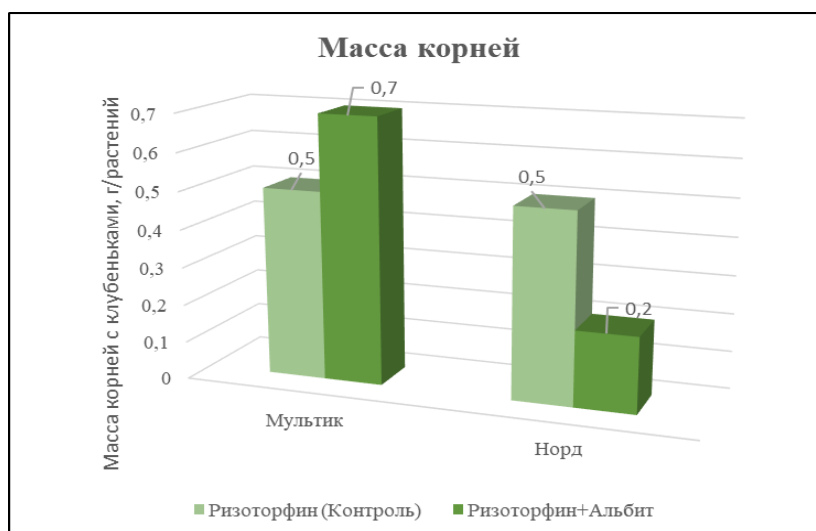


Рисунок 8.26 Азотфиксирующая активность растений гороха сортов Норд и Мультик. Вегетационный опыт, 2008 г

Таким образом, наибольшая азотфиксирующая активность в клубеньках растений гороха сорта Мультик наблюдалась при обработке Альбитом. Это происходило на фоне увеличения содержания ИУК в листьях, стеблях и корнях с клубеньками, повышенного содержания зеатина в стеблях и на фоне увеличения содержания гиббереллинов в листьях растений гороха этого сорта. Наибольшая азотфиксирующая активность в клубеньках растений гороха сорта Норд отмечена при обработке Ризоторфином, которая наблюдалась на фоне повышенного содержания зеатина в корнях с клубеньками (Волобуева, 2015).

Полевые исследования проводили в ФГБНУ ФНЦЗБК (г. Орёл). Первые исследования по симбиотической азотфиксации у гороха начаты одновременно с образованием института. Уже первые исследования (Черемисов, 1966) показали, что нитрагинизация гороха не давала положительных результатов по сравнению с контролем. В то же время на долю фиксированного горохом азота атмосферы по разным данным может достигать до 40-70%, а в абсолютном выражении до 150 кг/га. Так, в книге Н.В. Парахина и С.Н. Петровой (2006) отмечается, что доля биологического азота в формировании урожая гороха составляет 35-40%, а количество биологического азота 80-110 кг/га. Приведенные в книге П.П. Вавилова и Г.С. Посыпанова (1983) цифры зависели от урожая зерна. Так, горох в случае урожая семян 15-17 ц/га усваивает 50-60, 35 ц/га – 140, а 50 ц/га – до 180 кг/га азота воздуха.

Наши полевые опыты, проведенные в 2006-2008 гг. по изучению влияния биопрепарата Ризоторфин и регуляторов роста Альбит, Корневин, Эпин-Экстра на формирование симбиотической системы растений гороха сортов Норд и Мультик показали (Волобуева, 2019), что клубеньки практически не образовывались, или был очень короткий период симбиоза и быстрый лизис клубеньков. Возможно, это связано с тем, что в почве присутствовало большое количество местных штаммов клубеньковых бактерий, и азотфиксация не протекала.

Возможно, это связано с тем, что в полевых условиях факторы

определяющие эффективность азотфиксации и оказывающие влияние на процессы роста и развития большинства сельскохозяйственных культур и, в частности гороха, часто бывают неблагоприятными и азотфиксация может быть подавлена или не происходить. Возможно, вероятной причиной разрушения клубеньков в полевых условиях явилось действие клубеньковых долгоносиков. Так, имеются данные (Зотиков, Голопятов и др., 2009, Гурьев, 2014), что формирование клубеньков гороха напрямую зависит от деятельности вредителей, в частности клубеньковых долгоносиков (рода *Sitona lineatus* L и *S. erinitus* Hrbst), личинки которых могут съесть от 2 до 6 клубеньков. С учетом того, что одна самка может откладывать более 100 яиц, при отсутствии мер борьбы, на симбиотическую азотфиксацию можно не рассчитывать. Наши полевые исследования были проведены после черного пара. Как показали исследования Г.П. Гурьева (Гурьев, 2012, 2014), размещение посевов гороха большинства сортов по черному пару, неблагоприятно влияет на формирование клубеньков. Поэтому, возможно, отсутствие азотфиксации у гороха, связано и с этим фактором.

Таким образом, в полевых условиях факторы, определяющие эффективность симбиоза, часто бывают неблагоприятными, и азотфиксация может быть подавлена или не происходить вообще. Биопрепараты и регуляторы роста не оказали стимулирующего влияния на симбиотическую азотфиксацию и на формирование клубеньков в полевых условиях.

Симбиотическая азотфиксация у гороха успешно протекает в условиях нормального формирования симбиотического аппарата и при благоприятных факторах его функционирования. Благоприятные условия, позволяющие контролировать влажность, минеральное питание, заселение вредителями, можно создать в условиях вегетационного опыта.

Нами было проведено несколько вегетационных опытов с растениями гороха разных сортов.

В условиях вегетационного домика кафедры агрохимии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева изучали влияние биопрепаратов и регуляторов роста на азотфиксирующую активность растений гороха сортов Норд и Мультик. Описание сортов приведено ранее (глава 4) (Волобуева, 2010, 2011, 2017). Было установлено, что у сорта Норд исследуемый биопрепарат Ризоторфин и регуляторы роста (Альбит, Корневин и Эпин-Экстра) (Волобуева, 2017) увеличивали количество клубеньков, массу клубеньковой ткани и активность фермента нитрогеназы, причём в большей степени это увеличение происходило под влиянием Корневина на фоне инокуляции Ризоторфином (рис. 8.29). У сорта Мультик, районированного в Орловской области, Ризоторфин, Альбит, Корневин и Эпин-Экстра увеличивали количество и массу клубеньков, и активность в них фермента нитрогеназы. В большей степени это увеличение происходило под влиянием Альбита, на фоне инокуляции Ризоторфином (рис. 8.29).

В другом вегетационном опыте использовался биопрепарат Ризоторфин, а также регулятор роста Агростимулин на растениях гороха сортов Норд и Юниор (Волобуева, 2013). Описание сортов даны в главе 4. Основные отличия сортов: Норд имеет листья усатого типа, а Юниор – листочкового типа. Сорт Юниор отличается также повышенной азотфиксирующей способностью. Анализ данных вегетационного опыта показал, что обработка Ризоторфином и Агростимулином на фоне инокуляции семян гороха сортов Норд и Юниор в разные фазы развития, увеличивала высоту растений обоих сортов, по сравнению с контролем. Однако бóльшая высота растений отмечена у сорта Юниор (табл. приложения). У растений гороха обоих сортов наблюдается увеличение надземной массы при обработке семян этих растений Ризоторфином и Агростимулином во все фазы развития. Увеличение надземной массы растений гороха Норд происходило под влиянием обработки семян Ризоторфином в фазу начала бутонизации, у сорта Юниор – в фазу бутонизации- начала цветения.

Усатые сорта, каким является сорт Норд, формируют неполегающий или слабо полегающий стеблестой, обеспечивающий более благоприятные условия

освеще - ния и аэрации. Все это дает усатым сортам большие преимущества по сравнению с листочковыми при реализации их генетического потенциала. У листочковых форм, каким является сорт Юниор, в период налива семян часто наблюдается потеря биомассы из-за полегания растений в полевых условиях (Наумкина, 2007). Ризоторфин и Агростимулин на фоне инокуляции увеличивали массу корней с клубеньками растений гороха сортов Норд и Юниор во все фазы развития. Наивысшие значения этих показателей отмечены в фазу налива плодов у сорта Юниор (табл. приложения) (Волобуева, 2013, 2017).

Азотфиксирующую активность растений гороха определяли по количеству и массе клубеньков и активности в них фермента нитрогеназы. Обработка Ризоторфином и Агростимулином на фоне инокуляции, растений гороха обоих сортов, приводила к увеличению количества, массы клубеньков и активности в них фермента нитрогеназы, по сравнению с контролем (табл. приложения). В варианте, где семена не инокулировали (контроль), клубеньки практически отсутствуют. Лишь небольшое количество клубеньков в контроле наблюдалось в фазу бутонизации – начала цветения, т.е. в фазу, когда обычно наиболее активно происходит азотфиксация у гороха. Возможно, образование клубеньков в этом варианте происходило за счет деятельности спонтанно обитающих в почве и ризосфере растений микроорганизмов (Волобуева, 2013).

Наивысшие значения показателей массы клубеньков и их количества отмечены у сорта гороха Юниор в фазу – начало бутонизации при обработке Агростимулином на фоне инокуляции Ризоторфином (табл. приложения). Однако в фазу цветения высокий показатель массы клубеньковой ткани отмечен у сорта Юниор при инокуляции только Ризоторфином. Не всегда показатели: количество клубеньков и масса клубеньковой ткани коррелируют. Так, в фазу цветения у инокулированных растений гороха сорта Юниор наблюдалась ббольшая масса клубеньковой ткани, но количество клубеньков было невысоким. Клубеньки в этом варианте были крупные, розовые, активность в них нитрогеназы была высокая. Наивысшие значения показателей



Рис. 8.29 Влияние биопрепаратов и регуляторов роста на азотфиксирующую активность растений гороха сортов Норд и Мультик в фазу бутонизации. Вегетационный опыт (среднее за 2006-2008 гг.)

массы клубеньков и их количества отмечены у сорта гороха Юниор в фазу начало бутонизации (табл. приложения) (Волобуева, 2013).

Как показали наши исследования, активность нитрогеназы, один из основных показателей активности симбиотической системы, была высокой в клубеньках растений гороха обоих сортов, семена которых были обработаны Ризоторфином и Агростимулином на фоне инокуляции Ризоторфином. Наивысшие показатели активности нитрогеназы отмечены у сорта Юниор при обработке Агростимулином на фоне инокуляции Ризоторфином в фазу бутонизации – начало цветения (табл. приложения).

Таким образом, регуляторы роста и биопрепараты по-разному оказали влияние на формирование симбиотической системы растений гороха разных сортов. В полевых условиях биопрепараты и регуляторы роста не оказали влияния на азотфиксирующую активность растений гороха. В условиях вегетационных опытов биопрепарат Ризоторфин и регуляторы роста Альбит, Корневин, Эпин-Экстра, Агростимулин оказали положительное влияние на азотфиксирующую активность растений гороха разных сортов и в целом на формирование бобово-ризобиального симбиоза (Волобуева, 2013, 2015, 2017; Гуро, Волобуева, 2018).

8.2 Влияние биопрепарата и регуляторов роста на ростовые показатели растений, урожайность и его качество

Анализ ростовых показателей гороха сортов Норд и Мультик в вегетационном опыте позволил констатировать, что обработка семян растений гороха сорта Мультик Альбитом, приводила к увеличению высоты растений и надземной массы. Увеличение высоты и надземной массы растений сорта Норд наблюдалось при обработке семян этих растений Ризоторфином (рис. 8.30).

Данная тенденция отмечена и для азотфиксирующей активности этих растений (рис. 8.28). Наиболее отзывчивым на действие Альбита оказался сорт гороха Мультик, в его листьях, стеблях и корнях с клубеньками значительно

возрастало содержание ИУК (на 97,4%, 50,4%, 34% соответственно) (рис. 5.1) (Волобуева, Скоробогатова, Шильникова, 2008; Волобуева, 2019). Ризоторфин повышал содержание зеатина в корнях с клубеньками обоих сортов. Под влиянием Альбита на фоне инокуляции Ризоторфином содержание зеатина повышалось в стеблях растений гороха сортов Норд и Мультик (в 2 и 4 раза соответственно) по сравнению с контролем (рис. 5.2).



Рис. 8.30 Показатели роста растений гороха сортов Мультик и Норд (вегетационный опыт) (Волобуева, 2019)

Совместная обработка Ризоторфином и Альбитом усиливала синтез гиббереллинов в листьях растений обоих сортов и в корнях с клубеньками растений гороха сорта Норд. Так, у растений гороха сорта Норд, содержание

гиббереллинов под влиянием Альбита на фоне инокуляции Ризоторфином повышалось в листьях (на 17,2%), в стеблях и корнях с клубеньками (в 2 раза), по сравнению с контролем. Содержание ГК в листьях растений гороха Мультик увеличивалось почти в 3 раза, при обработке семян этих растений Альбитом на фоне инокуляции Ризоторфином (рис. 5.3).

Уровень АБК был низким в наземных органах растений гороха Норд и несколько повышался в корнях с клубеньками на 3,9%, по сравнению с контролем, при обработке семян этих растений Альбитом на фоне инокуляции Ризоторфином. Уровень АБК увеличивался в стеблях и корнях с клубеньками гороха Мультик, при обработке семян этих растений Альбитом на фоне инокуляции Ризоторфином (рис. 5.4) (Волобуева, 2015).

Таким образом, наибольшую отзывчивость на совместную обработку Альбитом и Ризоторфином проявил сорт Мультик, районированный в Орловской области. По-видимому, клубеньковые бактерии и ризобактерии, синтезируя физиологически активные макромолекулы, влияли также и на перераспределение эндогенных гормонов в органах растений. Несомненно, что фитогормоны вызывали усиление метаболизма ризобий и ризобактерий, что позволило характеризовать их действие как фактор, способствующий формированию эффективного симбиоза.

В вегетационном опыте с растениями гороха сортов Норд и Мультик показано, что под влиянием Альбита на фоне инокуляции Ризоторфином у растений гороха сорта Норд происходило увеличение надземной массы, высоты растений, массы бобов и семян, количества семян. У растений гороха сорта Мультик проявилось протекторное действие Ризоторфина. Под влиянием Ризоторфина происходило увеличение надземной массы, высоты растений, массы бобов и семян, количества семян (табл. 8.13) (Волобуева, 2019).

Таблица 8.14 – Влияние Альбита и Ризоторфина на ростовые показатели растений гороха сортов Норд и Мультик. Вегетационный опыт (сводная таблица по данным 2007-2009 гг) (Волобуева, 2013, 2015, 2019)

Показатель	Вариант Норд + Ризоторфин	Норд + Альбит	Мультик + Ризоторфин	Мультик + Альбит
Надземная масса, г/растение	7,9 ± 1,0	9,0 ± 0,7	8,4 ± 0,9	5,7 ± 0,9
Высота, см	43,5 ± 2,2	54,5 ± 0,8	50 ± 1,9	49,0 ± 1,3
Масса корней с клубеньками, г/растение	0,64 ± 0,1	0,56 ± 0,1	0,45 ± 0,1	0,64 ± 0,1
Кол-во бобов, шт/растение	5 ± 0,8	7 ± 1,0	7 ± 0,7	5 ± 0,7
Масса бобов, г/растение	3,9 ± 0,8	9,39 ± 0,7	4,34 ± 0,5	2,66 ± 0,5
Кол-во семян, шт/растение	12 ± 2,2	19 ± 0,9	26 ± 1,9	18 ± 0,7
Масса семян, г/растение	2,83 ± 1,0	3,8 ± 0,7	3,75 ± 0,7	2,19 ± 0,6

Таблица 8.15 – Урожайность растений гороха сортов Норд и Юниор в вегетационном опыте (сводная таблица по данным 2007-2009 гг) (Волобуева, 2010, Волобуева, 2013)

Показатель	Вариант*					
	I		II		III	
	Норд	Юниор	Норд	Юниор	Норд	Юниор
Средняя высота, см	55 ± 5,2	77 ± 6,7	61,5 ± 6,17	93,8 ± 5,9	57,4 ± 5,1	80,33 ± 9,73
Надземная масса, г/сосуд	7,5 ± 1,02	8,2 ± 1,5	8,68 ± 1,03	9,8 ± 1,0	8,3 ± 1,1	11,3 ± 2,7
Количество бобов	5 ± 1	6 ± 1	7 ± 1	8 ± 2	7 ± 1	8 ± 2
Масса бобов, г	2,41 ± 0,5	3,2 ± 0,6	3,85 ± 0,7	4,34 ± 0,9	3,33 ± 0,6	4,66 ± 0,6
Масса семян, г	1,89 ± 0,5	2,89 ± 0,7	3,02 ± 0,6	3,53 ± 0,8	2,84 ± 0,5	3,7 ± 0,5
Количество семян	10 ± 1	16 ± 2	15 ± 1	18 ± 4	12 ± 2	21 ± 2

*Примечание: I – контроль, без обработки; II – обработка Ризоторфином; III – обработка Агростимулином на фоне инокуляции Ризотофином

Структурный анализ урожайных данных выявил сортовые особенности растений гороха (Волобуева, 2013). Так, у растений гороха сорта Юниор, под влиянием Агростимулина на фоне инокуляции Ризоторфином, происходило увеличение таких показателей как, надземная масса, высота растений, масса бобов и семян и их количество (табл. 8.14)(Волобуева, 2013, Волобуева, 2019).

В полевых условиях (Волобуева, Мирошникова, Кондыков, 2007; Волобуева, 2010, 2011, 2013, 2015, 2017) с растениями гороха сортов Норд и Мультик, семена которых были обработаны Ризоторфином, Альбитом, Корневином и Эпином-Экстра проводили анализ содержания белка в листьях и стеблях, содержания белка и жира в семенах, а также содержание амилозы и крахмала в семенах. Анализ данных по содержанию белка в семенах, листьях и стеблях растений гороха сортов Норд и Мультик показал, что обработка семян растений гороха сорта Норд Ризоторфином, прежде всего, а также Альбитом, Корневином и Эпином-Экстра, приводила к увеличению содержания белка в семенах, по сравнению с контролем (Волобуева, 2019). У растений сорта Мультик отмечена тенденция повышения содержания белка в семенах при обработке Корневином, Эпином-Экстра и Альбитом (рис. 8.29-8.30) (Волобуева, 2010-2019).

Содержание сырого протеина в листьях и стеблях растений гороха сортов Норд возрастало при обработке биопрепаратами и регуляторами роста. Самое большое содержание белка в листьях было при обработке Корневином (18,20%) и Ризоторфином (17,85%) (Волобуева, Мирошникова, Наумкина, 2016). У сорта гороха Мультик содержание белка в листьях возрастало при обработке регуляторами роста Эпин-Экстра (19,78%), Альбитом (18,99%) и биопрепаратом Ризоторфин (18,55%). В стеблях растений гороха сорта Мультик содержание белка возрастало при обработке биопрепаратами и регуляторами роста, по сравнению с контролем, но особенно при обработке биопрепаратом Ризоторфин (11,03%) и регулятором роста Эпин-Экстра (10,94%) (Рис. 8.32).

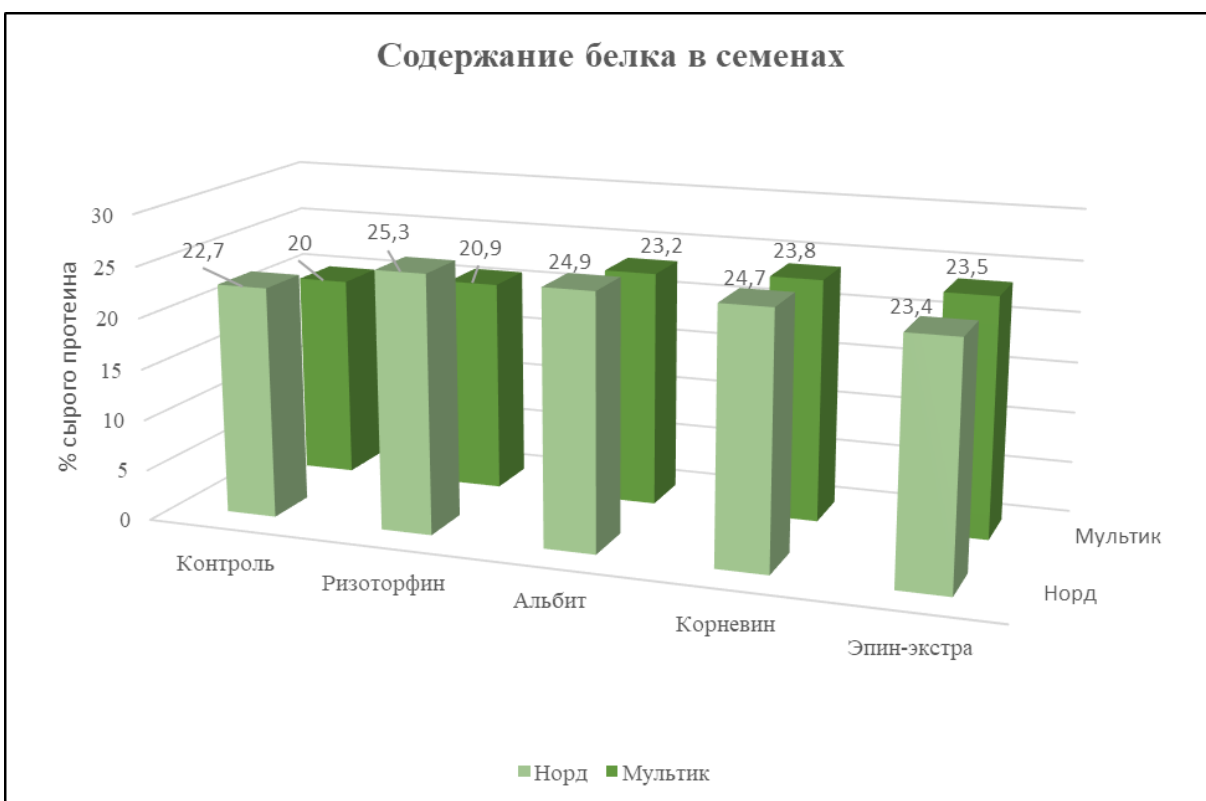


Рис. 8.29 Содержание белка (% сырого протеина) в семенах растений гороха сортов Норд и Мультитк. Полевой опыт (среднее за 2006-2008 гг.)

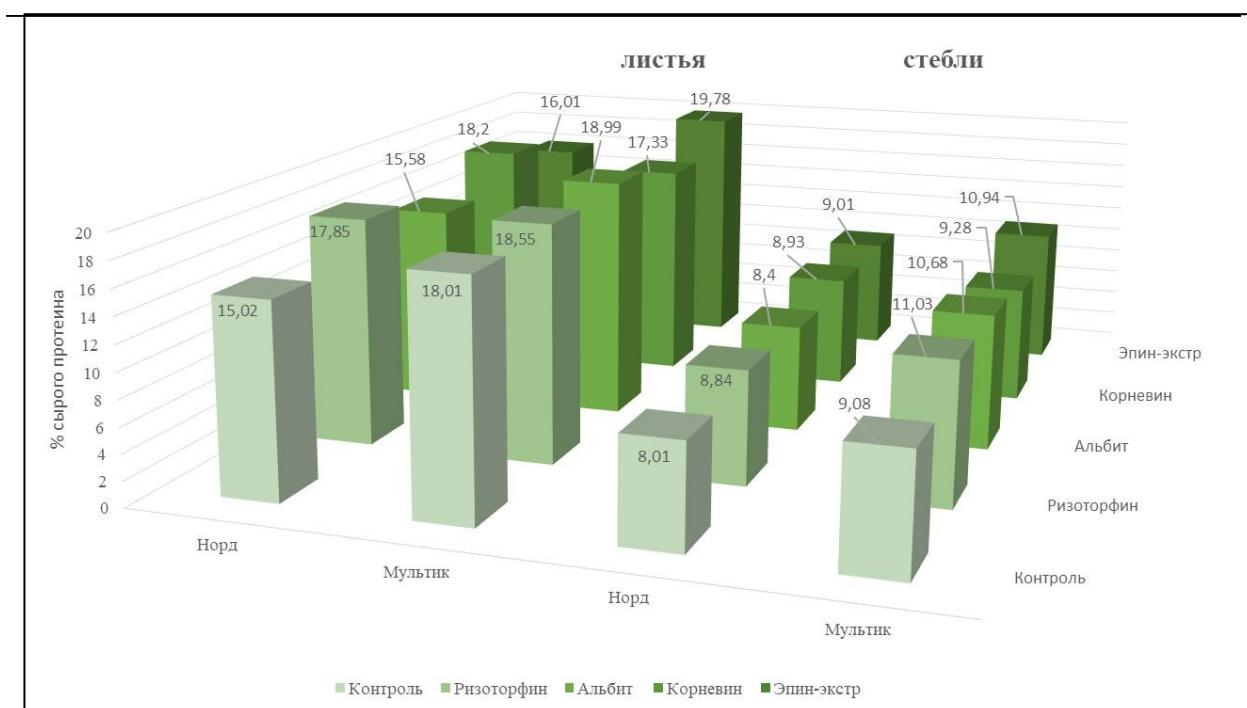


Рис. 8.30 Содержание белка (% сырого протеина) в листьях и стеблях растений гороха сортов Норд и Мультитк. Полевой опыт

Анализ данных по содержанию жира в семенах растений гороха сортов Норд и Мультик показал, что обработка биопрепаратами и регуляторами роста приводила к повышению его содержания в семенах растений гороха сорта Норд, особенно при обработке семян биопрепаратом Ризоторфин (1,9 г) и РР Корневин (1,86 г) (Волобуева, 2019). У сорта гороха Мультик содержание липидов повышалось в семенах при обработке биопрепаратами и регуляторами роста, по сравнению с контролем, но в большей степени проявилось действие регулятора роста Эпин- Экстра (1,77 г) и биопрепарата Ризоторфин (1,71 г) (рис.8.31).

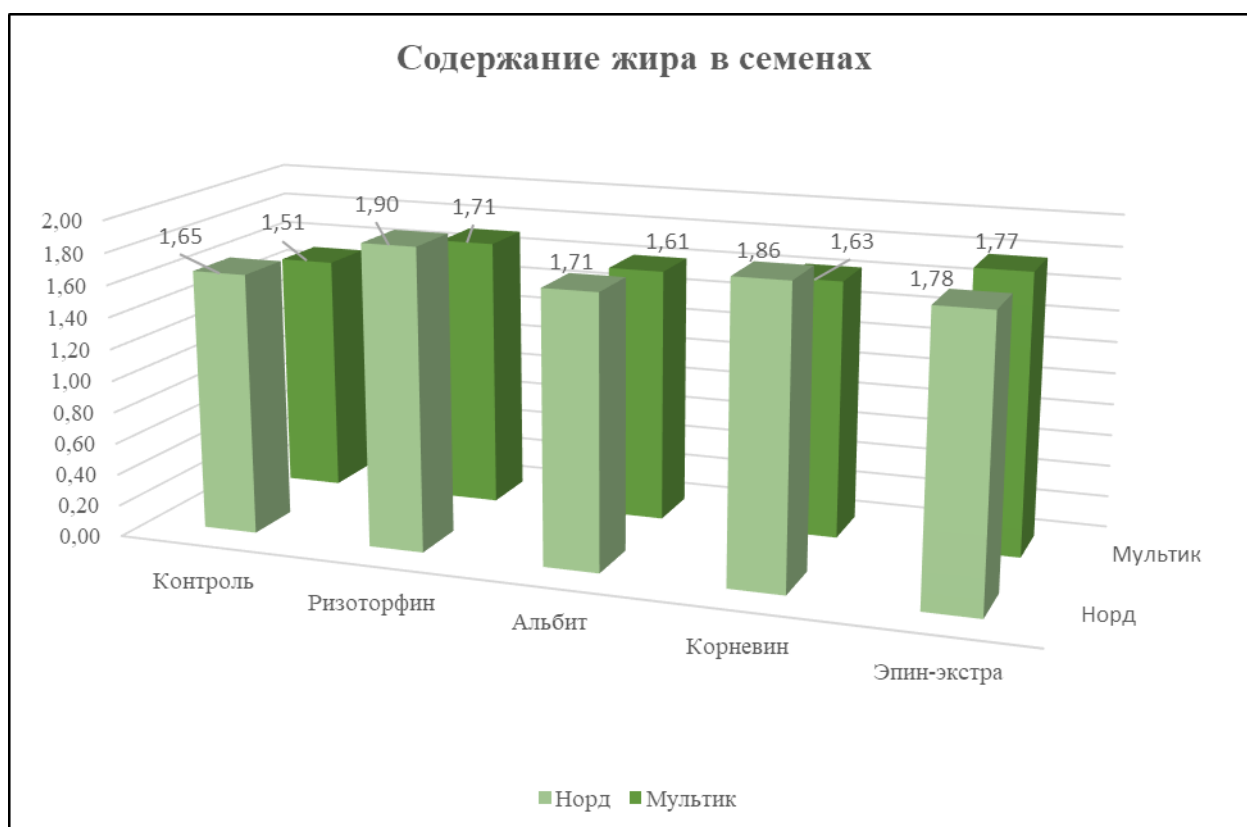


Рис.8.31 Содержание жира в семенах растений гороха сортов Норд и Мультик. Полевой опыт (среднее за 2006-2007 гг.) (Волобуева, 2010-2019)

В последние годы возрастает интерес к гороховому крахмалу, особенно генотипов с морщинистыми семенами, что объясняется высоким содержанием в нём линейного полимера – амилозы. Кроме того, что горох имеет важное пищевое и продовольственное значение, он также является перспективной

культурой для получения высококачественного сырья для производства биологически разлагаемой пластмассы. Амилоза, содержащаяся в семенах гороха и её пространственно-молекулярная структура, обеспечивает получение наиболее качественной пластмассы.

В наших исследованиях поляриметрически определяли содержание крахмала и амилозы в семенах растений гороха сортов Норд и Мультик. Анализ проведенных исследований показал, что содержание амилозы было больше в семенах сорта Мультик, по сравнению их содержания в семенах растений сорта Норд. Обработка биопрепаратами и регуляторами роста приводила к увеличению содержания амилозы и крахмала в семенах растений гороха обоих сортов (Волобуева, Мирошникова, Наумкина, 2016). Наибольшее содержание амилозы и крахмала у растений гороха сортов Норд отмечено при обработке Корневином и Альбитом, у растений сорта Мультик при обработке Корневином, Ризоторфином, Альбитом (рис. 8.32-8.33).

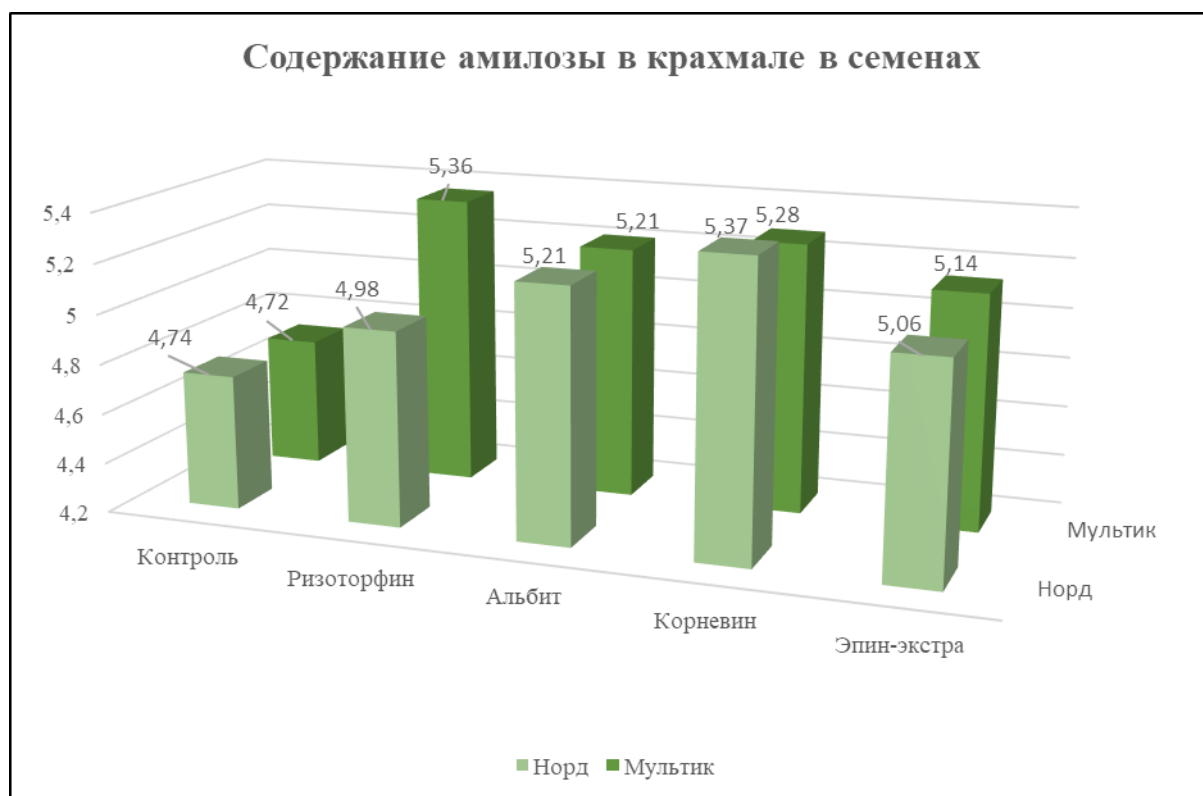


Рис. 8.32 Содержание амилозы в крахмале в семенах растений гороха сортов Норд и Мультик. Полевой опыт (среднее за 2006-2007 гг.)

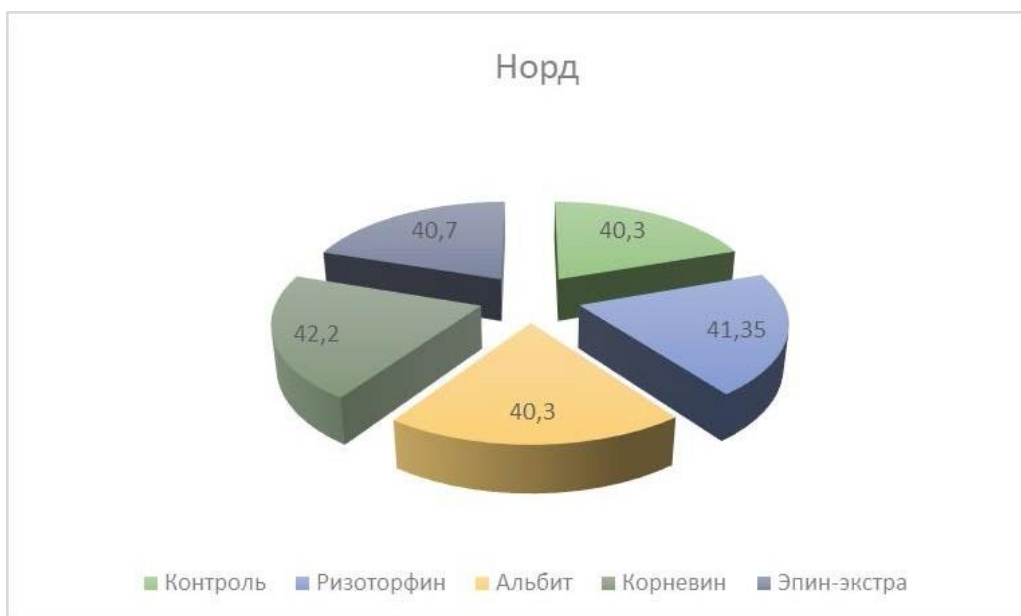
Анализ урожайных данных показал, в 2006 г. у растений гороха сорта

Норд наивысший урожай 4,22 т/га получен в варианте с обработкой семян Корневином, а у сорта Мультик 4,30 т/га – при обработке Ризоторфином. 2006 год характеризовался как избыточно увлажненный (рис.8.34, табл. приложения).

2007 год по погодным условиям характеризовался как засушливый. Это в целом сказалось на урожае – он был ниже, чем в 2006 г. В засушливом 2007 г. проявилось протекторное действие «антистрессового» регулятора роста Эпин-Экстра. Обработка семян растений гороха сорта Норд препаратом Эпин-Экстра приводила к повышению урожая (2,14 т/га), по сравнению с контролем (1,54 т/га). Урожай повышался также у растений этого сорта и при обработке семян Корневином (2,07 т/га), Ризоторфином (1,82 т/га) и Альбитом (1,66 т/га). У сорта гороха Мультик повышение урожая отмечено при обработке Ризоторфином (1,68 т/га), Корневином (1,67 т/га), препаратом Эпин-Экстра (1,61 т/га), по сравнению с контролем (1,02 т/га) (рис.8.35, табл. приложения).



Рис. 8.33 Содержание крахмала в семенах растений гороха сортов Норд и Мультик. Полевой опыт (среднее за 2006-2007 гг.)



НСР₀₅ для сорта Норд 1,6; для сорта Мультик 1,4

**Рис. 8.34 Урожайность растений гороха сортов Норд и Мультик (ц/га)
Полевой опыт 2006 г**



НСР₀₅ для сорта Норд 0,8; для сорта Мультик 1,1

**Рис. 8.35 Урожайность растений гороха сортов Норд и Мультик (ц/га)
Полевой опыт 2007 г**

Таким образом, регуляторы и биопрепарат по-разному оказали влияние на показатели роста, урожай и его качество растений гороха разных сортов, выращенных в разных условиях.

1. Обработка семян растений гороха сорта *Мультик Альбитом* на фоне инокуляции Ризоторфином приводила к увеличению *высоты и надземной массы* на фоне возрастания содержания *ауксинов* в листьях, стеблях и корнях с клубеньками (на 97,4%, 50,4%, 34,0% соответственно), а также на фоне повышения содержания *зеатина* в стеблях и *гиббереллинов* в листьях. При этом наблюдалось увеличение азотфиксирующей активности в клубеньках (Волобуева, 2019). У сорта *Норд* увеличения *высоты и надземной массы* происходило под влиянием *Ризоторфина* на фоне повышения *ауксинов и цитокининов* в корнях с клубеньками и снижения *гиббереллинов* и *АБК* в листьях, стеблях и корнях с клубеньками.

2. В вегетационных опытах под влиянием *Альбита* на фоне инокуляции Ризоторфином повышалась *продуктивность* растений гороха сорта *Норд* (масса и количество бобов, масса и количество семян). У сорта *Мультик* проявилось протекторное действие *Ризоторфина* (Волобуева, 2019). У растений гороха сорта *Юниор* под влиянием регулятора роста *Агростимулина* на фоне инокуляции Ризоторфином происходило увеличение массы снопа, бобов и количества семян (Волобуева, 2013). У сорта *Норд* увеличение показателей структуры урожая и продуктивности отмечены при обработке *Ризоторфином*.

3. В полевых опытах под влиянием биопрепарата *Ризоторфина* и регуляторов роста *Альбита*, *Корневина* и *Эпина-Экстра* отмечено повышение содержания *белка* в семенах, у растений гороха сорта *Норд* и *Мультик*; в листьях у сорта *Норд* – повышение под влиянием *Корневина* и *Ризоторфина*; у сорта *Мультик* – под влиянием *Эпина-Экстра* (Волобуева, 2011, 2013). Содержание *жира* незначительно повышалось под влиянием биопрепарата и регуляторов роста: у сорта *Норд* - под влиянием *Ризоторфина*, у сорта *Мультик* – под влиянием *Эпина-Экстра*. Содержание *амилозы и крахмала* в семенах

повышалось у сорта Мультик под влиянием *Корневина* и *Ризоторфина*; у сорта Норд – под влиянием *Корневина*.

4. При неблагоприятных погодных условиях в полевых опытах у растений гороха сорта *Норд* отмечено повышение урожая под влиянием *Этин-Экстра* (21,4 ц/га), у сорта *Мультик* – при обработке *Ризоторфином* (16,8 ц/га). В благоприятный период у растений гороха сорта *Норд* наивысший урожай получен при обработке *Корневином* (42,2 ц/га), у сорта *Мультик* – при обработке *Ризоторфином* (43 ц/га).

ГЛАВА 9 ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВОЗДЕЛЫВАНИЯ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ БИОПРЕПАРАТОВ И РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА

В работе была проведена оценка экономической эффективности возделывания бобовых растений при использовании Ризоторфина, Альбита, Корневина и Эпин- Экстра. Расчеты экономической эффективности возделывания гороха сорта Норд показывают, что рентабельным приемом является возделывание гороха с использованием биопрепарата Ризоторфин. Уровень рентабельности производства при этом составляет 80%, что на 15% больше, чем в контроле, где семена не обрабатывались (табл. 9.16). При этом получена чистая прибыль в размере 24386 руб/га. Наиболее рентабельным приемом является возделывание гороха с использованием регуляторов роста Корневин и Эпин- Экстра. Уровень рентабельности производства в обоих случаях составил 82%, что на 17% больше, чем в контроле (табл. 9.16) и получена чистая прибыль 25136 руб/га и 25086 руб/га (соответственно). Рентабельным приемом является и возделывание гороха с использованием регулятора роста Альбит. Уровень рентабельности производства при этом составляет 78%, что на 13% больше, чем в контроле и при этом получена чистая прибыль в размере 23746 руб/га (табл. 9.16).

Расчеты экономической эффективности возделывания гороха сорта Мультик показывают, что наиболее рентабельным приемом является возделывание гороха с использованием биопрепарата Ризоторфин. Уровень рентабельности производства составляет 80%, что на на 15% больше, чем в контроле и получена чистая прибыль 24461 руб/га (табл. 9.17). Рентабельным приемом также является возделывание гороха этого сорта при использовании регуляторов роста Альбит, Корневин и Эпин- Экстра. Уровень рентабельности производства составляет 73%, 78%. 77 % соответственно, что на 8%, 13%, 12% выше, чем в контроле и при этом получена чистая прибыль в размере – 22121 руб/га, 23961 руб/га, 23536 руб/га соответственно.

Таблица 9.16 – Экономическая эффективность возделывания гороха сорта Норд при использовании биопрепарата и регуляторов роста

Показатели	Вариант Контроль (без обра- ботки)	Ризото- рфин	Альбит	Корневин	Эпин- Экстра
1. Урожайность, т/га	2,7	3,0	2,9	3,2	3,1
2. Стоимость валовой продукции, руб/га	49925	54875	54225	55725	55525
3. Затраты на получение продукции, руб/га	30289	30489	30479	30589	30439
4. Прибыль, руб/га	19636	24386	23746	25136	25086
5. Окупаемость на 1 руб. затрат	0,64	0,80	0,78	0,82	0,82
6. Себестоимость, руб/т	11218,1	10163	10510	9559,1	9819
7. Чистый доход, руб/га	15708,8	19508,8	18996,8	20108,8	20068,8
8. Рентабельность, %	65	80	78	82	82

Таблица 9.17 – Экономическая эффективность возделывания гороха сорта Мультик при использовании биопрепарата и регуляторов роста

Вариант	Контроль (без обра- ботки)	Ризото- рфин	Альбит	Корневин	Эпин- Экстра
Показатели					
1. Урожайность, т/га	2,3	3,0	2,6	2,9	2,8
2. Стоимость валовой продукции, руб/га	50100	54950	52600	54550	53975
3. Затраты на получение продукции, руб/га	30290	30489	30479	30589	30439
5. Прибыль, руб/га	19810	24461	22121	23961	23536
5. Окупаемость на 1 руб. затрат	0,65	0,80	0,73	0,78	0,77
6. Себестоимость, руб/т	13169,6	10163	11722,7	105447,9	10871,1
7. Чистый доход, руб/га	15848	19568,8	17696,8	19168,8	18828,8
8. Рентабельность, %	65	80	73	78	77

Расчеты экономической эффективности возделывания фасоли сорта Гелиада показывают, что наиболее рентабельным приемом является возделывания фасоли с использованием биопрепарата Ризоторфин. Уровень рентабельности производства при этом составляет 67%, что на 15% больше, чем в контроле. При

этом получена чистая прибыль в размере 27732 руб/га (табл. 9.18). Рентабельным приемом также является возделывание фасоли с использованием регуляторов роста Альбит, Корневин и Эпин-Экстра. Уровень рентабельности производства при использовании этими препаратами составляет – 62%, 60% и 62% (соответственно), что на 10%, 8% и 10% больше чем в контроле и при этом получена чистая прибыль 25582 руб/га, 24992 руб/га и 25512 руб/га (соответственно) (табл. 9.18).

Таблица 9.18 – Экономическая эффективность возделывания фасоли сорта Гелиада при использовании биопрепарата и регуляторов роста

Вариант	Контроль (без обра- ботки)	Ризото- рфин	Альбит	Корневин	Эпин- Экстра
Показатели					
1. Урожайность, т/га	2,3	3,8	3,2	3,0	3,7
2. Стоимость валовой продукции, руб/га	60900	69050	66890	66410	66780
3. Затраты на получение продукции, руб/га	40118	41318	41308	41418	41286
6. Прибыль, руб/га	20782	27732	25582	24992	25512
5. Окупаемость на 1 руб. затрат	0,51	0,67	0,62	0,60	0,62
6. Себестоимость, руб/т	17442,6	10873,2	12908,8	13806	11153,5
7. Чистый доход, руб/га	16625,6	22185,6	20465,6	19993,6	20409,6
8. Рентабельность, %	52	67	62	60	62

Таблица 9.19 – Экономическая эффективность возделывания фасоли сорта Шоколадница при использовании биопрепарата и регуляторов роста

Показатели	Вариант Контроль (без обра- ботки)	Ризото- рфин	Альбит	Корневин	Эпин- Экстра
1. Урожайность, т/га	2,1	3,8	2,8	3,2	3,4
2. Стоимость валовой продукции, руб/га	60780	70250	66500	66860	67300
3. Затраты на получение продукции, руб/га	40118	41318	41308	41418	41286
7. Прибыль, руб/га	20662	28932	25192	25442	26032
5. Окупаемость на 1 руб. затрат	0,52	0,70	0,61	0,61	0,63
6. Себестоимость, руб/т	19103,8	10873,2	14752,9	12943,1	12137,7
7. Чистый доход, руб/га	16529,6	23145,6	20153,6	20353,6	20825,6
8. Рентабельность, %	52	70	61	61	63

Расчеты экономической эффективности возделывания фасоли сорта Шоколадница показывают, что наиболее рентабельным приемом является возделывания фасоли с использованием биопрепарата Ризоторфин. Уровень

рентабельности производства при этом составляет 70%, что на 18% больше, чем в контроле. При этом получена чистая прибыль в размере 28932 руб/га (табл. 9.19). Рентабельным приемом также является возделывание фасоли этого сорта с использованием регуляторов роста Альбит, Корневин и Эпин-Экстра. Уровень рентабельности производства при использовании этими препаратами составляет – 61%, 61% и 66% (соответственно), что на 9%, 9% и 11% больше чем в контроле и при этом получена чистая прибыль – 25192 руб/га, 25442 руб/га и 26032 руб/га (соответственно) (табл. 9.19).

Итак, использование биопрепарата Ризоторфин и регуляторов роста Альбит, Корневин и Эпин-Экстра при предпосевной обработке семян гороха сортов Норд и Мультик и семян фасоли сортов Гелиада и Шоколадница экономически обосновано, так как приводит к возрастанию чистого дохода. Особенно выгодна обработка семян растений фасоли обоих сортов и гороха сорта Мультик биопрепаратом Ризоторфин, так как в среднем повышает рентабельность производства на 15-18%. У растений гороха сорта Норд наиболее перспективным является применение регуляторов роста Корневин и Эпин-Экстра. Рентабельность при этом повышается на 17%. Таким образом, возделывание бобовых растений разных сортов биопрепаратом и регуляторами роста является рентабельным, а, следовательно, экономически выгодным приемом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование биопрепаратов и регуляторов роста с целью повышения эффективности бобово-ризобиального симбиоза можно рассматривать как один из агротехнических приемов современного растениеводства. Экзогенная обработка биопрепаратами и регуляторами роста воздействует на работу гормональной системы растений, на физиологические процессы и метаболизм макросимбионта и ризобий, что, по-видимому, оказывает влияние на активность симбиотической азотфиксации и как следствие на урожайность бобовых растений.

Симбиотическая азотфиксация находится под контролем регуляторных систем растения-хозяина. Знание закономерностей роста и развития растений гороха, фасоли и сои разных сортов, особенностей функционирования и изменения их симбиотических систем при использовании Ризоторфина и регуляторов роста создает основу для дальнейшей разработки приемов оптимизации продукционного процесса. Обработка семян гороха, фасоли и сои разных сортов биопрепаратом Ризоторфин и регуляторами роста – Альбит, Эпин-Экстра, Корневин оказала различное влияние на гормональный статус этих растений.

Отмечены сортовые особенности бобовых растений по содержанию эндогенных фитогормонов, что свидетельствует о возможности влияния на их биосинтез. Установленные закономерности повышения эффективности бобово-ризобиального симбиоза связаны с изменением ультраструктуры клубеньков на фоне изменения соотношения разных групп фитогормонов при влиянии биопрепарата и регуляторов роста. Особенности ультраструктуры клубеньков бобовых растений могут служить показателями эффективности бобово-ризобиального симбиоза. Примененный в работе системный подход позволил дать общую картину гормонального статуса растений гороха, фасоли, сои, а также процессов симбиотической азотфиксации, показателей ростовой активности, урожая и его качества под влиянием биопрепарата и регуляторов

роста, что дает возможность управлять бобово-ризобияльным симбиозом.

1. Изучено содержание и соотношение разных групп фитогормонов (ИУК, ЦК, ГК, АБК) в листьях, стеблях и корнях с клубеньками в период наивысшей азотфиксирующей активности трех видов бобовых растений при обработке биопрепаратом и регуляторами роста.

2. В вегетативных органах растений гороха сорта Мультик отмечено значительное возрастание содержания *ИУК* под влиянием *Альбита* на фоне инокуляции *Ризоторфином*, что сопровождалось увеличением азотфиксирующей активности этих растений. У сорта Норд повышение *ИУК* и *ЦК* в корнях с клубеньками отмечено под влиянием *Ризоторфина*, сопровождающееся повышением азотфиксирующей активностью этих растений. Совместная обработка *Альбитом* и *Ризоторфином* увеличивала содержание *ГК* в листьях сортов Норд и Мультик, а также в стеблях и корнях с клубеньками у сорта Норд.

3. У растений фасоли сорта Гелиада обработка *Корневином* повышала в листьях содержание *ИУК*, *ЦК*, но снижала содержание *ГК*; в корнях с клубеньками увеличивала содержание *ЦК*. Обработка *Альбитом* повышала уровень *ЦК* в листьях и корнях с клубеньками, *ГК* в листьях и стеблях и снижала содержание *ИУК*, *ГК* и *АБК* в корнях с клубеньками у сорта Гелиада. Обработка семян *Эпином-Экстра* приводила к увеличению содержания *ИУК* и *ЦК* в корнях. Вероятно, с этим связано усиление процессов фотосинтеза и азотфиксации, поскольку у растений этого сорта под влиянием *Корневина* и *Эпин-Экстра* отмечены наивысшие показатели нитрогеназной активности.

4. У сорта фасоли Шоколадница *Корневин* повышал содержание *ГК* в стеблях и снижал содержание *АБК* и *ЦК* в корнях с клубеньками; обработка *Альбитом* повышала содержание *ИУК* и *ГК* в корнях с клубеньками и снижала содержание *ЦК* во всех вегетативных органах. Обработка *Эпином-Экстра* повышала содержание *ИУК* и снижала содержание *АБК* во всех вегетативных

органах. Под влиянием Ризоторфина происходило увеличение ЦК во всех вегетативных органах. Цитокинины, усиливая отток ассимилятов и оказывая влияние на азотный обмен, вероятно, повлияли и на повышение нитрогеназной активности и урожайности этих растений при обработке Ризоторфином.

5. Показано стимулирующее влияние регулятора роста Эпин-Экстра на содержание ИУК в корнях с клубеньками, ЦК в листьях, ГК – во всех изученных органах растений сои сорта Свапа и отмечено повышение азотфиксирующей активности этих растений. У сорта Магева под влиянием Ризоторфина происходило увеличение содержания ИУК в корнях с клубеньками, ЦК – во всех вегетативных органах, ГК – в стеблях и корнях с клубеньками и как следствие – повышение симбиотической активности этих растений.

6. Исследованы особенности ультраструктуры клубеньков растений фасоли и сои разных сортов при обработке семян этих растений биопрепаратом и РР. Так, у растений фасоли сорта Гелиада под влиянием Корневина происходило увеличение площади бактериоидов и включений волютинина при минимальном количестве ПОМ. Эти показатели у растений фасоли сорта Шоколадница и сои сорта Магева увеличивались под влиянием Ризоторфина. Обработка семян Эпином-Экстра повышала площадь и количество бактериоидов, включений волютинина и снижала площадь и количество ПОМ у растений фасоли сорта Гелиада и сои сорта Свапа. Наличие в симбиосомах бактериоидов, включений волютинина и ПОМ может служить дополнительной характеристикой активности симбиотической системы.

7. Выявлено влияние Ризоторфина и РР на азотфиксирующую активность клубеньков растений фасоли, сои и гороха разных сортов. Наивысшие показатели азотфиксирующей активности в клубеньках растений фасоли сорта Гелиада и сои сорта Свапа отмечены при совместной обработке семян Эпином-Экстра и Ризоторфином; у сорта фасоли Шоколадница и сои сорта Магева - при обработке Ризоторфином. В полевом опыте биопрепарат и РР не оказали влияние на азотфиксирующую активность растений гороха. В условиях

вегетационных опытов Ризоторфин и РР Альбит, Корневин и Эпин-Экстра оказали положительное влияние на азотфиксирующую активность клубеньков растений гороха разных сортов и в целом на формирование бобово-ризобиального симбиоза.

8. Выявлено влияние биопрепарата и РР на ростовые показатели растений гороха, фасоли и сои. Показатели роста увеличивались у растений гороха сорта Мультик под влиянием *Альбита*, у гороха сорта Норд, фасоли сорта Шоколадница и сои сорта Магева – под влиянием *Ризоторфина*, сои сорта Свапа – под влиянием *Эпин-Экстра*; у растений фасоли сорта Гелиада увеличение показателей роста происходило под влиянием *Ризоторфина* и регуляторов роста. Эти результаты взаимосвязаны с данными азотфиксирующей активности этих растений.

9. Определено влияние Ризоторфина, Альбита, Корневина и Эпин-экстра на урожайность бобовых растений. Так, в неблагоприятных погодных условиях наивысший урожай у фасоли сорта Гелиада получен при обработке Альбитом на фоне инокуляции Ризоторфином (3,69 т/га), у сорта Шоколадница – при обработке Эпином-Экстра и Альбитом на фоне инокуляции Ризоторфином (3,0 т/га); у растений гороха сорта Норд отмечено повышение урожая под влиянием Эпин-Экстра (2,14 т/га), у сорта гороха Мультик – при обработке Ризоторфином (1,68 т/га). В благоприятный период наивысший урожай у фасоли сорта Гелиада и гороха сорта Мультик получен при обработке Ризоторфином – 3,90 т/га и 4,30 т/га соответственно; у фасоли сорта Шоколадница – при обработке Эпином-Экстра (3,95 т/га), у гороха сорта Норд при обработке Корневином (4,22 т/га).

10. Изучено влияние биопрепарата и РР на биохимические показатели макросимбиотнта. У растений сои сорта Магева происходило повышение содержания белка в вегетативных органах под влиянием *Ризоторфина*, у сорта Свапа – под влиянием *Эпина-Экстра*. У растений гороха обоих сортов происходило повышение содержания белка в семенах под влиянием

биопрепарата *Ризоторфин* и регуляторов роста *Альбита*, *Корневина* и *Эпин-Экстра*; в листьях гороха сорта Норд отмечено повышение содержания белка под влиянием *Корневина* и *Ризоторфина*, у сорта Мультик – под влиянием *Эпин-Экстра*. У растений фасоли обоих сортов отмечена тенденция увеличения содержания амилозы и крахмала в семенах при обработке *Ризоторфином* и регуляторами роста *Альбитом*, *Корневином* и *Эпином-Экстра*. Содержание амилозы и крахмала в семенах растений гороха сорта Мультик повышалось под влиянием *Корневина* и *Ризоторфина*, у сорта Норд – под влиянием *Корневина*.

11. Установлен характер взаимосвязи между содержанием и соотношением фитогормонов и показателями ультраструктуры клубеньков, азотфиксирующей активности и продуктивностью бобовых растений. Нитрогеназная активность в клубеньках бобовых растений усиливается там, где содержание таких параметров как площадь и количество симбиосом, бактериоидов, включений волютина возрастает при минимальной площади и количестве ПОМ. Наивысшие показатели *азотфиксирующей активности* растений *фасоли* сорта Гелиада и сои сорта Свапа отмечены при совместной обработке семян *Эпином-экстра* и *Ризоторфином*, на фоне увеличений *ауксинов* в корнях с клубеньками. Под влиянием *Ризоторфина* выявлены наивысшие показатели азотфиксирующей активности клубеньков, на фоне увеличения в них *цитокининов*, у сорта фасоли Шоколадница и сорта сои Магева. Эти показатели взаимосвязаны с продуктивностью этих растений.

12. Выявлена сортоспецифичность бобовых растений по действию биопрепарата и РР. Установлена сортовая реакция растений фасоли и сои на обработку *Эпином-Экстра*: наибольшей отзывчивостью характеризовался сорт фасоли Гелиада и сорт сои Свапа. У растений фасоли сорта Шоколадница, сои сорта Магева и гороха сорта Норд в большей степени проявилось действие *Ризоторфина*. Наибольшей отзывчивостью на действие *Альбита* характеризовался сорт гороха Мультик.

13. Использование биопрепарата *Ризоторфин* и регуляторов роста

Альбит, Корневин и Эпин-Экстра при предпосевной обработке семян гороха сортов Норд и Мультик и семян фасоли сортов Гелиада и Шоколадница экономически обосновано, так как приводит к возрастанию чистого дохода. Наиболее выгодна обработка семян растений фасоли обоих сортов и гороха сорта Мультик биопрепаратом Ризоторфин, которая в среднем повышает рентабельность производства на 15-18%. У растений гороха сорта Норд наиболее перспективным является применение регуляторов роста Корневина и Эпин-Экстра, при которой рентабельность повышается на 17%.

Рекомендации производству

1. С целью повышения бобово-ризобиального симбиоза и урожайности растений фасоли сортов Гелиада и Шоколадница рекомендуется предпосевная обработка семян этих растений биопрепаратом Ризоторфин на основе *Rhizobium leguminosarum* *bv. phaesoli*, штамм 700 из расчета 200 г на гектарную норму семян.

2. Для максимальной реализации продуктивности растений гороха сортов Норд и Мультик рекомендуется предпосевная обработка семян этих растений биопрепаратом Ризоторфин на основе *Rhizobium leguminosarum* *bv. viciae*, штамм 250а из расчета 200 г на гектарную норму семян.

3. Для повышения урожайности растений гороха сортов Норд и Мультик и фасоли сортов Гелиада и Шоколадница рекомендуется предпосевная обработка семян препаратами – Альбитом, Корневином, Эпином-Экстра, из расчета 100 г семян на 1л препарата.

4. Рекомендуется применять предпосевную обработку семян сои Эпином-Экстра из расчета 100 г семян на 1л препарата совместно с биопрепаратом Ризоторфин на основе *Bradirhizobium japonicum*, содержащим штамм ризобий 643б, что оказывает положительное влияние на симбиотическую активность и способствует активизации физиологических процессов, особенно в районах возделывания сортов сои северного экотипа.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

Б – бактериод

ПБП – перибактероидное пространство

ПМ – перибактероидная мембрана

С – симбиосома В - волютин

СМ – симбиосомная мембрана

ПОМ – поли-β-оксимасляная кислота

РР – регуляторы роста растений

ГК – гиббереллины

ИУК – индолилуксусная кислота

АБК – абсцизовая кислота

ЦК – цитокинины

Б – brassinosteroids

ЭПБ – эпибрасинолид

САФ – симбиотическая азотфиксация

БА – бобовый агар

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

PGPB – Plant Growth Promoting Bacteria

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Абаев, А.А. Влияние биопрепаратов на продуктивность сои /А.А. Абаев, А.А.Завалин //Агрехимический вестник. – 2007. - № 6. – С. 26-28.
2. Агаркова, С.Н. Влияние парааминобензойной кислоты (ПАБК) на изменчивость морфологических и хозяйственно ценных признаков зернобобовых культур /С.Н. Агаркова, О.Г. Волобуева //Регуляторы роста и развития растений. Тезисы 3-ей Международной конференции, - М.: 1995. – С.43.
3. Акимова, Г.П. Влияние инокуляции *Rhizobium leguminosarum* на содержание полимеров клеточных стенок корней гороха /Г.П. Акимова, М.Г.Соколова, Л.Ф. Нечаева //Физиология растений. – 2000. - Т.47, № 2. – Т.47. – С. 226 – 230.
4. Акимова, Г.П. Роль ИУК и пероксидазы в инфицировании ризобиями растений гороха с разной степенью нодуляции /Г.П.Акимова, М.Г. Соколова, Л.В. Нечаева, Г.Б. Лузова, К.К. Сидорова //Физиология и биохимия культурных растений. – 2005. – Т.37, № 1. – С. 58-65.
5. Алисова, С.М. Использование хлорофильных мутантов гороха как модель в изучении взаимосвязи между фотосинтезом и симбиотической азотфиксацией /С.М. Алисова, И.А. Тихонович //Генетика. – 1983. – Т. 19, №9. – С.1512.
6. Алехин, В.Г. Биопрепарат Альбит: результаты и особенности применения / В.Г. Алехин, А.Е. Злотников //Главный агроном. - 2007. - № 3. - С. 55-59.
7. Ананьева, Н.Д. Микробиологические аспекты самоочищения и устойчивости почв /Н.Д. Ананьева. – М.: Наука, 2003. – 223с.
8. Андреева, И.Н. Структурно-функциональная организация взаимоотношений растительной клетки и эндофита в клубеньках бобовых и небобовых (актиноризных) растений: диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук /Андреева Ирина Николаевна. – М., 1986. – 301с.
9. Андреева, И.Н. Перибактероидное пространство корневых клубеньков

бобовых: электронно-микроскопическое исследование /И.Н.Андреева, Г.И. Козлова, Г.И. Ливанова //Физиология растений. – 1989. – Т. 36, № 3. – С.552-552.

10. Антипчук, А.Ф. Испытание клубеньковых бактерий сои в вегетационном опыте с использованием некоторых математических методов для оценки значимости полученных результатов /А.Ф. Антипчук, Ю.С. Садовников, Н.Н. Скочинская //Микробиологический журнал. – 1986. – Т.48, №1. – С.25-30.

11. Антипчук, А.Ф. Связь между симбиотической азотфиксацией и урожаем / А.Ф. Антипчук, Р.М. Канцелярук, Рангелова //Микробиология. – 1989. – Т.58, №4. – С. 239-248.

12. Антипчук, А.Ф. Чувствительность клеток *Rhizobium leguminosarum* к экстрактивным веществам семян гороха /А.Ф. Антипчук, Р.М. Канцелярук //Микробиологический журнал. – 1991. – Т. 53. № 3. – С.289-293.

13. Антипчук, А.Ф. Пектинолитическая активность ризобий и её роль в формировании эффективного симбиоза /А.Ф.Антипчук, Е.И.Андреюк //Микробиологический журнал. – 1997. – Т.59, № 3. – С. 59-65.

14. Антонюк, Л.П. Лектин пшеницы как фактор растительно-микробной коммуникации и белок стрессового ответа /Л.П. Антонюк, Н.В. Евсеева // Микробиология. – 2006. – Т.73, №4. – С.544-547.

15. Артамонов, В.И. Некоторые аспекты практического использования кинетина /В.И. Артамонов //Физиология растений. – 1975. – Т.22, №6. – С.1283-1290.

16. Арутюнян, Р.М. Влияние регуляторов роста на образование клубеньков у бобовых растений /Р.М. Арутюнян, Н.А. Карапетян, Н.Л. Каладжанян //Проблемы онтологии и теротологии растений. – Л., 1975. - С.223-225.

17. Архипова, Т.Н. Участие цитокининов в реакции растений на присутствие конкурентов /Т.Н. Архипова, Л.Б. Высоцкая, Е.В. Мартыненко, И.И.

Иванов, Г.Р. Кудоярова // Физиология растений. – 2015. – Т. 62, №4. – С. 560-570.

18. Амелин, А.В. Морфофизиологические основы повышения эффективности селекции гороха: диссертация на соискание ученой степени доктора сельскохозяйственных наук /Амелин Александр Васильевич. – Орел, 2001. – 371 с.

19. Амелин, А.В. Морфофизиологические основы моделирования перспективных сортов гороха /А.В. Амелин, Н.Е.Новикова, Н.В.Парахин, А.П.Лаханов, А.Н.Зеленов, В.Н.Уваров. – Методические рекомендации. – Орел, 2004. – 51с.

20. Бабаян, Р.С. Проращивание семян в рулонах из фильтровальной бумаги и полиэтиленовой пленки /Р.С. Бабаян //Сельскохозяйственная биология. – 1981. – Т. 16, № 3. – С. 473-475.

21. Барбашов, М.В. Оценка исходного материала фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.) для создания высокоэффективных растительно-микробных систем: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. / Барбашов М.В. – Орёл, 2012. – 21 с.

22. Баймиев, Ан.Х. Генетическое разнообразие и филогения клубеньковых бактерий, вступающих в симбиоз с чинной весенней *Lathyrus vernus* (L.) bernh / Ан.Х. Баймиев, К.Г. Птицын, Д.К. Благова, А.А. Мулдашев, Ал.Х. Баймиев // Микробиология – 2011. – Т. 80, № 1. – С. 100-104.

23. Баскаков, Ю.А. Новые синтетические регуляторы роста растений и гербициды /Ю.А. Баскаков //Журнал Всесоюзного химического общества. – 1978. – Т. 23, № 2. – С. 149-159.

24. Баскаков, Ю.А. Синтетические регуляторы роста растений в свекловодстве / Ю.А. Баскаков //Агрохимия. – 1984. - № 9. – С. 127-136.

25. Баскаков, Ю.А. Новый антистрессовый препарат цитокининового типа действия / Ю.А. Баскаков //Агрохимия. – 1988. - № 4. – С. 103-105.

26. Белимов, А.А. Взаимодействие ассоциативных бактерий и растений в зависимости от биотических и абиотических факторов: автореф. дис. д-ра. биол. наук / Белимов Андрей Алексеевич. - Санкт-Петербург. – 2008. – 46 с.
27. Белимов, А.А. АЦКдеаминаза и растительно-микробные взаимодействия /А.А. Белимов, В.И. Сафронова //Сельскохозяйственная биология. – 2011. – № 3. - С.23-28.
28. Белоголова, Г.А. Влияние ризосферных бактерий на миграцию и биодоступность тяжелых металлов, мышьяка и фосфора в техногенно-загрязненных экосистемах /Г.А.Белоголова, М.Г.Соколова, О.Н. Гордеева //Агрохимия. – 2013. - № 6. – С. 69-77.
29. Белопухов, С.Л. Действие защитных стимулирующих комплексов с эпином на рост и развитие льна-долгунца (*Linum usitatissimum* L.) / С.Л. Белопухов, Е.Ф. Фокин //Изв. ТСХА. – 2004. – Вып. 1. – С. 32-39.
30. Берестецкий, О.А. Эффективность препаратов клубеньковых бактерий в Географической сети опытов /О.А. Берестецкий, Л.М. Доросинский, А.П. Кожемяков //Изв. АН СССР. Сер. Биология. – 1987. - № 5. – С. 670-679.
31. Билова, Т.Е. Молекулярные основы формирования карликовости у культурных растений. Сообщение 1. Нарушение роста из-за мутаций генов метаболизма и сигналинга гиббереллинов (обзор) /Т.Е. Билова, Д.Н. Рябова, И.Н. Анисимова //Сельскохозяйственная биология. – 2016. – Т.51, №1. – С. 3-16.
32. Борисов, А.Ю. Генетическая система гороха посевного (*Pisum sativum* L.), контролирующая развитие симбиозов с клубеньковыми бактериями (*Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*) и эндомикоризными грибами (*Glomus* sp.): ввтореф. дис.... доктора биолог. наук / А.Ю.Борисов – С.-П., 1999. – 38 с.
33. Борисов, А.Ю. Генетический контроль взаимодействия бобовых / А.Ю. Борисов, Н.А. Проворов, И.А. Тихонович Генетика симбиотической азотфиксации с основами селекции: Под ред. Тихоновича И.А. и Проворова Н.А.

СПб.: Наука, 1998. – 194 с.

34. Борисова, Г.А. Влияние регуляторов роста и бактериальных препаратов на морфологические особенности и продуктивность проса: автореф. дис. ... к.б.н./Борисова Г.А. – М.- 1999. – 23 с.

35. Борцова, Е.Б. Совершенствование технологии возделывания сортов сои северного экотипа в условиях Северо-западного региона России: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук /Борцова Е.Б. – Немчиновка, 2013. – 19 с.

36. Бочарова, М.А. Влияние картолина на морозостойкость озимой пшеницы / М.А.Бочарова, Т.М. Трунова, А.А. Шаповалов //Физиология растений. – 1983. – Т. 30, № 2. – С.360-365.

37. Бровко, Ф.А. Преимущественная локализация цитокининсвязывающего белка (70 кДа) в апикальной меристеме корня /Ф.А Бровко, А.О. Шепеляковская, Э.А. Бурханова, Х.М. Бозиев, А.Г.Ломан, В.С. Васильева, М.А. Холл, О.Н. Кулаева //Доклады РАН. - 2001. - Т. 381, № 5. - С. 684-686.

38. Бревин, Н. Колонизация клеток и тканей *Rhizobium*: структура и развитие инфекционных нитей и симбиосом //Rhizobiacea. Молекулярная биология бактерий взаимодействующих с растениями /Под ред. Г.Спайка и др. СПб.: Бионт. 2002. – С. 451-465.

39. Будыкина, Н.П. Оценка биопотенциала новых регуляторов роста растений / Н.П. Будыкина, Т.Ф.Алексеева, Н.И. Хилков //Агрохимический вестник. – 2007. - № 6. – С. 24-26.

40. Будыкина, Н.П. Эффективность фиторегулятора Эпин экстра и микроэлементного препарата цитовит в защищенном грунте /Н.П. Будыкина, Т.Ф. Алексеева, Н.И. Хилков //Агрохимический вестник. – 2010. - № 2. – С. 27-29.

41. Будыкина, Н.П. Действие препарата эпин-экстра на растение огурца в защищенном грунте / Н.П. Будыкина, Т.Ф. Алексеева, Н.И. Хилков //Агрохимия.–

2011. – № 1. – С. 28-34.

42. Будыкина, Н.П. Эффективность препарата Эпин-экстра при выращивании сладкого перца (*Capsicum annuum* L.) в защищенном грунте в условиях Северо-Запада России / Н.П. Будыкина, Т.Г. Шибеева, А.Ф. Титов //Агрохимия. – 2013. - № 11. – С. 38-44.

43. Бухарин, О.В. Механизмы выживания бактерий /О.В.Бухарин, А.Л.Гинцбург, Ю.М. Романова, Г.И. Эль-Регистан – М.: Медицина. 2005. – 367 с.

44. Вакуленко, В.В. Регуляторы роста /В.В.Вакуленко //Защита и карантин растений. –2004. - № 1. – С. 24-26.

45. Ванюшин, П.Ф. Молекулярные механизмы действия фитогормонов /П.Ф. Ванюшин //Сельскохозяйственная микробиология. – 1985. - № 5. – С. 110-112.

46. Васильчиков, А.Г. Поиск комплементарных пар симбионтов для сои /А.Г. Васильчиков //Регуляция продукционного процесса сельскохозяйственных растений. - Орел, 2006. - Ч.2. - С. 308-310.

47. Васильчиков, А.Г. Повышение эффективности биологической фиксации азота у фасоли /А.Г.Васильчиков, В.П.Орлов //Биологический и экономический потенциал зернобобовых, крупяных культур и пути его реализации. – Орел, 1999. – С.176-179.

48. Васинская, А.Н. Влияние этилена на рост побегов и корней, соотношение их биомассы и содержание цитокининов в растениях арабидопсиса /А.Н.Васинская, А.В. Коробова //Агрохимия. 2012. - № 5. - С. 16-20.

49. Вахитов, Т.Я. Регуляторные функции экзометаболитов бактерий. Теоретические и практические аспекты /Т.Я.Вахитов, Л.Н.Петров //Микробиология. 2006. - Т.75. № 4. - С. 483 – 488.

50. Веселов, С.Ю. Исследование цитокининов, продуцируемых

ризосферными микроорганизмами /С.Ю. Веселов, Т.Н. Иванова, М.В. Саминян, А.И Мелентьев //Прикладная биохимия и микробиология. – 1998. - № 2. – Т.34. – С. 175-179.

51. Вершинина, З.Р. Биоинженерия симбиотических систем: создание новых ассоциативных симбиозов с помощью лектинов на примере табака и рапса /З.Р. Вершинина, Ан.Х. Баймиев, Д.К. Благова, А.В. Князев, Ал.Х.Баймиев, А.В. Чемерис //Прикладная биохимия и микробиология. – 2011. – Т.47, №3. - С. 336-342.

52. Вильдфлуш, И.Р. Ресурсосберегающие приемы повышения эффективности удобрений при возделывании сельскохозяйственных культур / И.Р. Вильдфлуш, Т.Ф. Персикова, А.Р. Цыганов //Пробл. агрохим. и экологии. 2008. - № 2. - С. 7 - 12.

53. Вильдфлуш, И.Р. Эффективность применения бактериальных препаратов, микроудобрений и регуляторов роста растений при возделывании озимой ржи на дерново-подзолистой легкосуглинистой почве /И.Р. Вильдфлуш, А.А. Цыганова // Агрохимия. – 2012. - № 1. – С. 65-73.

54. Волкогон, В.В. Ассоциативные азотфиксирующие микроорганизмы /В.В.Волкогон //Микробиология. – 2000. – Т. 62, № 2. – С. 51-68.

55. Волобуева, О.Г. Влияние пара-аминобензойной кислоты (ПАБК) на симбиотическую активность растений люпина сорт Тимир-1 и гороха сорт Норд /О.Г.Волобуева, Г.П.Гурьев, В.К.Шильникова //Материалы межвузовской республиканской конференции «Биологическая фиксация молекулярного азота и азотный метаболизм». - Киев, 1991. – С.17.

56. Волобуева, О.Г. Использование синтетических регуляторов роста для обработки семян гороха /О.Г.Волобуева, Г.П.Гурьев, В.К.Шильникова //Материалы всесоюзной научной конференции «Биологический азот», Калуга, 1991. – С.25.

57. Волобуева, О.Г. Эффективность инокуляции семян гороха при обработке растений синтетическими регуляторами роста /О.Г.Волобуева, В.К.Шильникова, Г.П.Гурьев //Известия ТСХА. – 1992. – В. 1. – С. 85 – 91.

58. Волобуева, О.Г. Изменение симбиотической активности и урожайности гороха и люпина под действием пара-аминобензойной кислоты /О.Г.Волобуева, В.К.Шильникова //Известия ТСХА. – 1993. – Вып. 1. – С. 102-109.

59. Волобуева, О.Г. Симбиотическая активность и урожайность растений гороха под действием пара-аминобензойной кислоты и синтетических регуляторов роста /О.Г.Волобуева //Материалы конференции институтов Орловской области «Биологические основы интенсивного растениеводства», Орел, 1993. – С.79-80.

60. Волобуева, О.Г. Применение метода электронной микроскопии для изучения бобово-ризобиального симбиоза /О.Г.Волобуева // Материалы второй конференции институтов Орловской области «Использование физиолого-биохимических методов и приемов в селекции и растениеводстве», Орел, 1994. – С.73.

61. Волобуева, О.Г. Регуляторы роста в повышении эффективности бобово-ризобиального симбиоза /О.Г.Волобуева //Тезисы Российской конференции «Фундаментальная и методическая подготовка будущего специалиста по экологии и охране природы». Ч.1, Орел, 1994. – С. 164.

62. Волобуева, О.Г. Экологические аспекты использования ПАБК на бобовых растениях /О.Г.Волобуева // Материалы межвузовской конференции «Биология и экология в системе современного педагогического образования». Ч.1, Санкт-Петербург – Ставрополь, 1994. – С.30.

63. Волобуева, О.Г. Эффективность действия регуляторов роста на симбиотическую активность бобовых растений /О.Г.Волобуева //Регуляторы роста и развития растений. Тезисы 3-ей Международной конференции. – М.: МСХА. 1995. – С.96.

64. Волобуева, О.Г. Использование природных регуляторов роста в повышении эффективности бобово-ризобиального симбиоза /О.Г.Волобуева, В.К.Шильникова //Тезисы Международной конференции «Биологический азот в растениеводстве», Москва, 1997. – С. 118 (уточнить)

65. Волобуева, О.Г. Эффективность инокуляции семян фасоли при обработке фиторегуляторами /О.Г.Волобуева //Регуляторы роста и развития растений. Тезисы 4-ей Международной конференции. – М.: МСХА. 1997. – С.253.

66. Волобуева, О.Г. Влияние ПАБК и ИУК на физиологические процессы у фасоли /О.Г.Волобуева //Тезисы 7 координационного совещания «Проблемы и достижения современной физиологии растений и их использование в вузовском и школьном преподавании», Пермь, 1997. – С.25-26.

67. Волобуева, О.Г. Влияние природных регуляторов роста на урожай растений гороха /О.Г.Волобуева //Тезисы конференции «Физиология растений – основа рационального земледелия», Москва, 1999. – С.69-70.

68. Волобуева, О.Г. Влияние пара-аминобензойной кислоты (ПАБК) на симбиотическую активность бобовых растений /О.Г.Волобуева //Тезисы Международной конференции «Физиология растений – наука ||| тысячелетия», Москва, 1999. – С. 548.

69. Волобуева, О.Г. Пара-аминобензойная кислота как фактор повышения урожайности растений гороха /О.Г.Волобуева //Регуляторы роста и развития растений. Тезисы 5-ой Международной конференции. – М.: МСХА. 1999. – С.164.

70. Волобуева, О.Г. Различные пути регулирования эффективности бобово-ризобиального симбиоза /О.Г.Волобуева //Продукционный процесс сельскохозяйственных культур. – Орел: ОрелГАУ. – Ч.1. – 2001. – С. 157-164.

71. Волобуева, О.Г. Влияние пара-аминобензойной кислоты (ПАБК) и штаммов клубеньковых бактерий на эффективность бобово-ризобиального

симбиоза растений гороха /О.Г.Волобуева //Рациональные технологии в современном сельскохозяйственном производстве. – Орел: ОрелГАУ. – 2003. – С.17-20.

72. Волобуева, О.Г. Особенности регулирования бобово-ризобияльного симбиоза у гороха /О.Г.Волобуева //Тезисы Международной конференции «Физиология растений – основа фитобиотехнологий», Пенза, 2003. – С.174-175.

73. Волобуева, О.Г. Влияние штаммов клубеньковых бактерий на урожай бобовых растений /О.Г.Волобуева //Физиологические аспекты продуктивности растений. – Орел. – 2004. – С.63-65.

74. Волобуева, О.Г. Влияние ИУК и ПАБК на азотфиксацию у гороха /О.Г.Волобуева // Доклады ТСХА, Вып. 276, 2004. – С.292-296.

75. Волобуева, О.Г. Влияние природных регуляторов роста ПАБК и ИУК на урожай бобовых растений /О.Г.Волобуева// Тезисы Международной конференции «Проблемы физиологии растений Севера», Петрозаводск, 2004. – С.44.

76. Волобуева, О.Г. Пути регулирования бобово-ризобияльного симбиоза /О.Г.Волобуева // Доклады ТСХА, Вып. 278, 2006. – С.509-511.

77. Волобуева, О.Г. Роль регуляторов роста в повышении эффективности бобово-ризобияльного симбиоза /О.Г.Волобуева //Сборник статей региональной конференции «Вторые чтения, посвященные памяти Ефремова С.И.», Орел, 2006. – С.97-98.

78. Волобуева, О.Г., Мирошникова М.П., Кондыков И.В. Изменение азотфиксирующей системы бобовых растений под влиянием биопрепарата альбита и регуляторов роста ИУК и эпина / О.Г.Волобуева, М.П.Мирошникова, И.В. Кондыков //Доклады ТСХА, Вып. 279, 2007. – С.194-196.

79. Волобуева, О.Г. Влияние биопрепарата альбит и регуляторов роста ИУК и эпина на урожайность бобовых растений /О.Г.Волобуева //Тезисы

Международной конференции «Современная физиология растений: от молекул до экосистем». Ч.3, Сыктывкар, 2007. – С.314-315.

80. Волобуева, О.Г. Влияние биопрепарат альбит и регуляторов роста ИУК и эпина на бобово-ризобиальный симбиоз /О.Г.Волобуева //Тезисы Всероссийской конференции с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты исследования симбиотических систем», Саратов, 2007. – С.75.

81. Волобуева, О.Г. Изменение содержания фитогормонов у бобовых растений под влиянием ризобий и ризобактерий /О.Г.Волобуева, И.В.Скоробогатова //Тезисы Международной конференции «Научное наследие Н.И.Вавилова – фундамент развития отечественного и мирового сельского хозяйства», - Москва, 2007. - С.45.

82. Волобуева, О.Г. Взаимодействие биологически активных веществ ризобий и ризобактерий с эндогенными фитогормонами растений гороха разных сортов /О.Г.Волобуева, И.В. Скоробогатова, В.К.Шильникова //Агрехимия. – 2008. - № 8. – С.42-45.

83. Волобуева, О.Г. Изменение содержания эндогенного уровня фитогормонов бобовых растений под влиянием ризобий и ризобактерий и эффективность симбиоза /О.Г.Волобуева, И.В.Скоробогатова, М.П.Мирошникова //Доклады ТСХА, Вып. 281, - 2009. – С.165-167.

84. Волобуева, О.Г. Влияние биопрепаратов альбит и ризоторфин на бобово-ризобиальный симбиоз и продуктивность растений фасоли /О.Г.Волобуева, М.П.Мирошникова //Роль генетических ресурсов и селекционных достижений в обеспечении динамичного развития сельскохозяйственного производства. Материалы Международной научно-практической конференции Дня поля и Ярмарки сортов, Орел, 2009. – С.233-240.

85. Волобуева, О.Г. Влияние экзогенной ИУК на содержание фитогормонов и эффективность симбиоза в растениях фасоли /О.Г.Волобуева //Роль генетических ресурсов и селекционных достижений в обеспечении динамичного развития

сельскохозяйственного производства. Материалы Международной научно-практической конференции Дня поля и Ярмарки сортов, Орел, 2009. – С.241-254.

86. Волобуева, О.Г. Использование биопрепаратов и регуляторов роста в повышении эффективности бобово-ризобиального симбиоза /О.Г.Волобуева// Доклады ТСХА. - М.: МСХА, Вып. 282. – Ч. 1. - 2010. – С. 707-710.

87. Волобуева, О.Г. Гормональная регуляция бобово-ризобиального симбиоза растений фасоли разных сортов /О.Г.Волобуева //Современные аспекты структурно-функциональной биологии растений и грибов. Сборник статей. Орел, 2010. – С.85-90.

88. Волобуева, О.Г. Влияние биопрепарата альбит на содержание фитогормонов в растениях фасоли разных сортов и эффективность симбиоза /О.Г.Волобуева, И.В.Скоробогатова, В.К.Шильникова //Известия ТСХА. – 2010. – Вып.1. – С.105-113.

89. Волобуева, О.Г. Изменение содержания фитогормонов и эффективность симбиоза в растениях фасоли при обработке эпином /О.Г.Волобуева, И.В.Скоробогатова //Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2010. - № 4. – С.19-22.

90. Волобуева, О.Г. Влияние эпина на содержание фитогормонов и симбиотическую активность растений сои разных сортов /О.Г.Волобуева // Ученые записки Орловского государственного университета. – 2010. - № 2 (36) - С.98-104.

91. Волобуева, О.Г. Взаимодействие микро- и макросимбионта в бобово-ризобиальной системе при использовании биопрепаратов /О.Г.Волобуева // Ученые записки Орловского государственного университета. – 2010. - № 4 (38) - С.71-76.

92. Волобуева, О.Г. Симбиотическая азотфиксация как фактор экологической безопасности и плодородия почвы /О.Г.Волобуева //Вестник РУДН. – 2011.- №1.

–С.53-60.

93. Волобуева, О.Г. Влияние альбита на гормональную регуляцию бобово-ризобиального симбиоза /О.Г.Волобуева //Современное состояние и перспективы биотехнологических исследований, Вестник КазНУ, серия биологическая. Казахстан, 2011, № 2(48) – С.31-35.

94. Волобуєва, О.Г. Вплив Епіну на бобово-ризобіальний симбіоз /О.Г.Волобуєва, І.В.Скоробогатова //Зб. наукових праць «Сільськогосподарська мікробіологія: здобутки та перспетиви», Чернігів, 2011. – С.156-162.

95. Волобуева, О.Г. Влияние корневина на бобово-ризобиальный симбиоз /О.Г.Волобуева //Ученые записки Орловского государственного университета. – 2011. - № 3 (41) – С.124-129.

96. Волобуева, О.Г. Взаимодействие биологически активных веществ ризобий с эндогенными фитогормонами бобовых растений /О,Г,Волобуева //Тезисы материалов Всероссийского симпозиума с международным участием «Биологически активные вещества микроорганизмов. Прошлое, настоящее, будущее», М.: Изд-во МГУ, 2011. – С.25.

97. Волобуева, О.Г. Влияние эпина на бобово-ризобиальный симбиоз растений сои разных сортов /О.Г.Волобуева, В.В.Крылова //Тезисы Международной конференции «Физиология растений – фундаментальная основа экологии и инновационных биотехнологий», Нижний Новгород, 2011. – С.147-148.

98. Волобуева, О.Г. Гормональная регуляция бобово-ризобиального симбиоза /О.Г.Волобуева, И.В.Скоробогатова //Тезисы Международной конференции «Физиология растений – фундаментальная основа экологии и инновационных биотехнологий», Нижний Новгород, 2011. – С.148-149.

99. Волобуева, О.Г. Влияние ризоторфина и эпина на ультраструктуру клубеньков сои /О.Г.Волобуева //Ученые записки Орловского государственного

университета. – 2012. - № 3 (47) – С.88-92.

100. Волобуева, О.Г. Влияние эпина на бобово-ризобиальный симбиоз /О.Г.Волобуева //Доклады ТСХА, Ч.1. Вып. 284, 2012. – С.707-710.

101. Волобуева О.Г. Влияние эпина на азотфиксирующую активность растений сои разных сортов /Волобуева О.Г., Белопухов С.Л. //Вестник Иркутского государственного технического университета. – 2013. - № 1. – С.93-97.

102. Волобуева, О.Г. Эффективность инокуляции семян гороха разных сортов при обработке агростимулином /О.Г.Волобуева //Ученые записки Орловского государственного университета. – 2013. - № 3 (53) – С.153-158.

103. Волобуева, О.Г. Роль ростовых веществ в формировании бобово-ризобиального симбиоза /О.Г.Волобуева //Продукционный процесс растений и его регуляция. Сборник статей. Орел, - 2014. – С.275-278.

104. Волобуева, О.Г. Изменение ультраструктуры симбиосом и бактериоидов ризобий /О.Г.Волобуева //Тезисы материалов Всероссийского симпозиума с международным участием «Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии микроорганизмов», М.: Изд-во МГУ, - 2014. – С.54.

105. Волобуева, О.Г. Влияние препарата эпин-экстра и ризоторфина на содержание фитогормонов в растениях фасоли разных сортов и эффективность симбиоза /О.Г.Волобуева, М.П.Мирошникова //Тезисы Международной конференции «Генетическая интеграция прокариот и эукариот: фундаментальные исследования и современные агротехнологии». - Санкт- Петербург, 2015. – С.65.

106. Волобуева, О.Г. Влияние биопрепаратов и регуляторов роста на бобово-ризобиальный симбиоз растений фасоли /О.Г.Волобуева //Современные проблемы науки и образования. – 2015. - № 1; URL: <http://www.science-education.ru/125-20063> (электронный журнал).

107. Волобуева, О.Г. Влияние препарата эпин-экстра на содержание

фитогормонов в растениях сои разных сортов и эффективность симбиоза /О.Г.Волобуева //Агрoхимия. – 2015. - № 7. – С.34-41.

108. Волобуева, О.Г. Эффективность инокуляции семян фасоли при обработке препаратом эпин-экстра /О.Г.Волобуева //Зернобобовые и крупяные культуры. – 2015. - № 4. – С. 42-47.

109. Волобуева, О.Г. Влияние ризоторфина и препарата эпин-экстра на ультраструктуру клубеньков растений фасоли разных сортов /О.Г.Волобуева //Тезисы 5 Всероссийского симпозиума с международным участием «Автотрофные микроорганизмы», Москва: МАКС Пресс, 2015. - С.

110. Волобуева, О.Г. Сравнительное изучение ультраструктуры клубеньков растений сои и фасоли разных сортов при инокуляции ризоторфином /О.Г.Волобуева //Тезисы научной конференции с международным участием «Сигнальные системы растений: от рецептора до ответной реакции организма», Санкт-Петербург, 2016. – С.428-429.

111. Волобуева, О.Г. Влияние биопрепаратов и регуляторов роста на эффективность бобово-ризобиального симбиоза фасоли /О.Г.Волобуева, М.П.Мирошникова, Т.С.Наумкина //Научно-производственный журнал «Зернобобовые и крупяные культуры. – 2016. - №3 (19). – С. 56- 62.

112. Волобуева, О.Г. Влияние регуляторов роста и биопрепаратов на бобово-ризобиальный симбиоз /О.Г.Волобуева //Тезисы Международной конференции «Современные аспекты сельскохозяйственной микробиологии». – М.:МСХА. 2016. – С. 33-34.

113. Волобуева, О.Г. Изменение содержания фитогормонов у бобовых растений под влиянием ризоторфина /О.Г.Волобуева, И.В.Скоробогатова // Тезисы Международной конференции «Современные аспекты сельскохозяйственной микробиологии». – М.:МСХА. 2016. – С. 34.

114. Волобуева, О.Г. Влияние биопрепаратов и регуляторов роста на

урожайность растений фасоли сортов Гелиада и Шоколадница /О.Г.Волобуева, М.П.Мирошникова //Тезисы Международной конференции «Современные аспекты сельскохозяйственной микробиологии». – М.:МСХА. 2016. – С. 35.

115. Волобуева, О.Г. Влияние биопрепаратов ризоторфин и Альбит на содержание фитогормонов в растениях гороха разных сортов и эффективность симбиоза /О.Г.Волобуева //Научно-производственный журнал «Зернобобовые и крупяные культуры». – 2019. - №2 (30). – С.14-20.

116. Волобуева, О.Г. Влияние Корневина и Ризоторфина на гормональный статус и эффективность симбиотической системы растений фасоли /О.Г.Волобуева //Научно-производственный журнал «Зернобобовые и крупяные культуры». – 2020. - №2 (34). – С. 29-34.

117. Воробьев, В.А. Симбиотическая азотфиксация и температура. Монография /В.А.Воробьев. - Новосибирск: Наука, 1998. – 126 с.

118. Воробьев, Н.И. Quorum sensing и нодуляционная конкурентоспособность ризобий при инфицировании бобовых растений /Н.П.Воробьев, Н.А. Проворов //Сельскохозяйственная биология. – 2015. – Т. 50. - № 3. – С. 298-304.

119. Воронина, Л.П. Влияние эпибрассинолида на адаптацию растений к низким температурам /Л.П.Воронина, В.В.Чурикова, А.Ф.Закирова //Докл. РАСХН. – 2006. - № 3. – С. 18 - 20.

120. Воронина, Л.П. Влияние обработок гиббереллином и брассинолидом на растения ячменя и райграса при различных условиях минерального питания /Л.П.Воронина, А.Ф.Закирова //Агрохимия – 2008 - № 3. – С.27 – 33.

121. Волошин, С.А. Межклеточные взаимодействия в бактериальных популяциях /С.А. Волошин, А.С.Капрельянц //Биохимия. – 2004. - № 11. – С.1555-1564.

122. Вудсайд, Е. Полисахариды микроорганизмов /Е.Вудсайд, Е.Квапинский //Молекулярная микробиология. – М.: Мир, 1977. – С.145-200.

123. Высоцкая, Л.Б. Роль ауксинов и цитокининов в формировании боковых корней у растений пшеницы с частично удаленными первичными корнями /Л.Б.Высоцкая, А.В.Черкозьянова, С.Ю.Веселов, Г.Р.Кудоярова //Физиология растений, 2007. Т. 54, № 3. - С. 455-460.

124. Высоцкая, Л.Б. Роль этилена в ростовой и устьичной реакции растений салата при их совместном выращивании /Л.Б.Высоцкая, Г.Р.Кудоярова //Физиология и биохимия культурных растений. – 2011. – Т.43. – С. 143-148.

125. Вэнс, К. Симбиотическая азотфиксация у бобовых сельскохозяйственные аспекты /К.Вэнс //Rhizobiaceae молекулярная биология бактерий, взаимодействующих с растениями. – Санкт-Петербург. – 2002. – С.561-563.

126. Гамбург, К.З. Регуляторы роста растений /К.З. Гамбург, О.Н.Кулаева, Г.С.Муромцев, Л.Д.Прусакова, Д.И.Чкаников. - М.: Колос. – 1979. – 246 с.

127. Гарипова, С.Р. Изучение бактериальных ассоциаций эндофитов клубеньков, способствующих увеличению продуктивности бобовых растений /С.Р.Гарипова, Д.В.Гарифуллина, О.В.Маркова, Н.В.Иванчина, Р.М.Хайфулина //Агрехимия. - 2010. - № 11. - С. 50-58.

128. Гарипова, С.Р. Продуктивность и клубенькообразующая способность у сортов фасоли обыкновенной в условиях предуралья /С.Р.Гарипова, О.В.Маркова, С.Н.Самигуллин //Сельскохозяйственная биология. – 2015. – Т. 50, № 1. – С. 55-62.

129. Генетика симбиотической азотфиксации с основами селекции / Под ред. И.А. Тихоновича, Н.А. Проворова. – СПб: Наука, 1998. – 208 с.

130. Генетические основы селекции клубеньковых бактерий /Под ред. Б.В.Симарова. – Л.: Агропромиздат, Ленинградское отделение. 1990. – 192 с.

131. Глик, Б. Молекулярная биотехнология: принципы и применение /Б.Глик, Дж. Пастернак. М.: Мир, 2002. – 592 с.

132. Глянько, А.К. Защитно-регуляторные механизмы при развитии бобово-ризобиального симбиоза /А.К.Глянько, Г.П.Акимова, М.Г.Соколова, Л.Е.Макарова, Г.Г.Васильева //Прикладная биохимия и микробиология. – 2007. – Т. 43, № 3. – С. 283-297.

133. Глянько, А.К. Окислительные процессы на начальных этапах взаимодействия клубеньковых бактерий *Rhizobium leguminosarum* и гороха (*Pisum sativum* L.): Обзор лит. /А.К. Глянько, Г.П.Акимова, Л.Е.Макарова и др. //Прикладная биохимия и микробиология. – 2007. – Т. 43, № 5. – С. 576-582.

134. Глянько, А.К. Иммуитет бобового растения, инфицированного клубеньковыми бактериями *Rhizobium spp.* F.: (обзор) /А.К. Глянько, А.А.Ищенко //Прикладная биохимия и микробиология. – 2017. – Т.53, №2. – С. 136-145.

135. Головацкая, И.Ф. Рост и продуктивность растений арабидопсиса в зависимости от их чувствительности к свету и способа обработки брассинолидом /П.Ф.Головацкая, И.М.Никонорова //Агрехимия. – 2008. - № 1. – С. 46-51.

136. Головацкая, И.Ф. Динамика роста растений и содержание эндогенных фитогормонов в процессе ското- и фотоморфогенеза фасоли /И.Ф.Головацкая, Р.А.Карначук //Физиология растений. - 2007. - Т. 54, № 3. - С. 461-468.

137. Голопятов, М.Т. Влияние техногенных и биологических факторов на урожай и качество морщинистых высокоамилозных сортов гороха / М.Т.Голопятов, Н.О.Костикова //Зернобобовые и крупяные культуры. – Орел. – 2012. - № 2. – С. 61-66.

138. Горелова, О.А. Коммуникации цианобактерий с растительными партнерами при формировании ассоциаций /О.А.Горелова //Микробиология. – 2006. - Т.73, № 4. – С.538-543.

139. Гринченко, А.Л. Применение ретардантов в растениеводстве /А.Л.Гринченко //Итоги науки и техники, серия: растениеводство. – М.:

ВИНИТИ, 1983. – Т. 6. – С. 197.

140. Гришечкина, С.Д. Механизмы действия и эффективность микробиологического препарата Бацикола /С.Д.Гришечкина // Сельскохозяйственная биология. – 2015. – Т.50, №5. – С.685-693.

141. Груодиене, Я.П. О возможной роли β - индолилуксусной кислоты и цитокининов в жизнедеятельности клубеньковых бактерий /Я.П.Груодиене// Регуляция роста и питания растений. – Вильнюс: Моклас, 1980. – С. 26-32.

142. Груздева, Л.Г. Перспективы применения регуляторов роста и развития растений /Л.Г.Груздева //Химия в сельском хозяйстве. - 1985. - Т. 23, № 8. - С. 68-74.

143. Гуреева, Е.В. Формирование урожая семян новых скороспелых сортов сои в зависимости от норм высева и способов посева в условиях Центрального района Нечерноземной зоны РФ: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. /Гуреева Е.В. - М., 2009. – 26 с.

144. Гурьев, Г.П. К вопросу о симбиотической азотфиксации у гороха в условиях Орловской области /Г.П.Гурьев //Зернобобовые и крупяные культуры. – 2012. - № 2. – С. 6-71.

145. Гурьев, Г.П. Некоторые аспекты формирования симбиотического потенциала у гороха /Г.П.Гурьев //Зернобобовые и крупяные культуры. – 2014. - № 1. – С.11-16.

146. Гуськов, А.В. Метаболизм ауксинов в растениях и его регуляция /А.В.Гуськов //Итоги науки и техники. Серия Физиология растений. М.: ВИНТИ, 1991. - Т. 8. – 156 с.

147. Дахмуш, А.С. Активность симбиотической азотфиксации и продуктивности сои в зависимости от доз, форм, сочетания минеральных удобрений и применения биостимулятора: автореф. дис.... канд. биол. Наук /Дахмуш А.С. – Л., 1991. – 15 с.

148. Деева, В.П. Физиология устойчивости сортов растений к гербицидам и ретардантам / В.П.Деева, С.И.Шелег. – Минск: Наука и техника, 1976. – 245 с.
149. Деева, В.П. Ретарданты – регуляторы роста растений. Монография /В.П.Деева. – Минск: Наука и техника, 1980. – 227 с.
150. Деева, В.П. Регуляторы роста и урожай /В.П.Деева, С.П.Шелег. – Минск: Наука и техника, 1985. – 240 с.
151. Деева, В.П. Избирательность действия химических регуляторов роста на растения. Физиологические основы /В.П.Деева, С.И.Шелег, Н.В.Санько. – Минск: Сяйво, 1998. – 252 с.
152. Дерфлинг, К. Гормоны растений. Монография /К.Дерфлинг. – М.: Мир, 1985. – 303 с.
153. Долгих, А.Н. Влияние регуляторов роста на продуктивность льна /А.Н.Долгих, В.С.Петренко, В.П.Шубенко //Химизация сельского хозяйства. – 1990. - № 6. – С. 61-63.
154. Долгих, Е.А. Роль фитогормонов в контроле развития симбиотических клубеньков у бобовых растений /Е.А.Долгих, А.Н.Кириенко, И.В.Леппянен, А.В.Долгих //Сельскохозяйственная биология. – 2016. - № 5. – С. 585-592.
155. Долгополова, Л.Н. Тур на посевах гороха /Л.Н.Долгополова, А.П.Лоханов //Зерновое хозяйство. – 1981. – Т. 4. – С. 25-26.
156. Доросинский, Л.М. Клубеньковые бактерии и нитрагин. Монография /Л.М.Доросинский. – Л.: Колос, 1970. – 191с.
157. Доросинский, Л.М. Повышение продуктивности бобовых культур и улучшение их качества /Л.М.Доросинский / Минеральный и биологический азот в земледелии СССР. – М.: Наука. – 1985. – 316с.
158. Дорожкина, Л.А. Применение регуляторов роста в растениеводстве. /Л.А.Дорожкина, Л.М.Поддымкина, Н.И.Добрева. М.: Изд-во РГАУ-МСХА,

2015. – 137с.

159. Доспехов, В.А. Методика полевого опыта /В.А.Доспехов. – М.: Агропромиздат, 1985. – 336 с.

160. Драговоз, И.В. Синтез экзогенных цитокининов ризобиями сои различной симбиотической активности /И.В. Драговоз, Н.О.Леонова, Г.А.Иутинская //Сільськогосподарська мікробіологія: здобутки та перспективи. Збірник наукових праць. – Чернігів. – 2011. – С. 177-182.

161. Дубровский, Н.Г. Физиологические особенности растений люпина, выращенных из семян, подвергнутых действию неблагоприятных факторов и обработке регуляторами роста (гиббереллином и цитокининами): автореф. дис. ... к.б.н. /Дубровский Н.Г. – М., 1986. – 20 с.

162. Дурынина, Е.П. Влияние биопрепарата альбит на продуктивность ячменя и содержание биофильных элементов в урожае /Е.П. Дурынина, О.А.Пахненко., А.К.Злотников и др. //Агрохимия. - 2006. - № 1. - С. 49-54.

163. Дулин, А.Ф. Влияние регуляторов роста и температуры на прорастание семян луносемянника даурского /А.Ф.Дулин //Изв. ТСХА. – 2002. – Вып. 4. – С. 164 – 167.

164. Дятлова, К.Д. Микробные препараты в растениеводстве /К.Д. Дятлова //Соровский образовательный журнал. – 2001. - Т.7, №5. – С.17-22.

165. Егоров, С.Ю. Регуляция жизнедеятельности микроорганизмов-стимуляторов роста растений /С.Ю. Егоров. – Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2003. – 100 с.

166. Елинов, Н.П. Основы биотехнологии: для студентов институтов, аспирантов и практических работников /Н.П. Елинов – СПб.: Наука, 1995. – 600 с.

167. Ермаков, А.И. Методы биохимического исследования растений.

/В.В.Арасимович, Н.П.Ярош и др. Под ред. А.И. Ермакова. – 3-е изд. – Л.: Агропромиздат., 1987. – 430 с.

168. Жизневская, Г.С. Сравнительное изучение симбиотической азотфиксации у клубеньков различных бобовых растений /Г.С.Жизневская, В.Б.Ильясова, Г.И.Троицкая и др. / Физиология растений. – 1979. – Т. 26, № 1. – С. 92-102.

169. Жолобок, Г.И. Влияние комплексной обработки растений гороха фитогормонами активаторами роста на азотфиксацию, утилизацию азота и продуктивность /Г.И.Жолобок //Физиология и биохимия культурных растений. – 1985. – Т. 18, № 3. – С. 279-283.

170. Журбицкий, З.И. Теория и практика вегетационного опыта /З.И.Журбицкий. – М.: Наука, 1968. – С. 71-75.

171. Жуков, В.А. Генетическое картирование симбиотических генов у гороха посевного (*Pisum sativum* L.) /В.А.Жуков, О.Ю.Штарк, Т.А.Неманкин //Сельскохозяйственная биология. – 2016. - № 5. – С. 593-601.

172. Завалин, А.А. Оценка эффективности микробных препаратов в земледелии /А.А.Завалин, Т.М.Духанина, М.В.Чистотин, В.Ф.Ладонин, Л.Ф.Виноградова, Р.А.Афанасьев, Д.Б.Сологуб, А.П.Кожемяков, Л.В.Васюк, А.В.Хотянович, А.С.Цыгуткин, А.В.Пасынков. – М.: Россельхозакадемия – 2000. – 81 с.

173. Завалин, А.А. Биопрепараты, удобрения и урожай. Монография /А.А.Завалин - М.: ВНИИА. 2005. – 302 с.

174. Завалин, А.А. Вклад биологического азота бобовых культур в азотный баланс земледелия России /А.А.Завалин, Г.Г.Благовещенская, А.П.Кожемяков. - М.: Россельхозакадемия, 2007. - 44с.

175. Завалин, А.А. Вклад биологического азота бобовых культур в азотный баланс земледелия России /А.А.Завалин, Г.Г.Благовещенская //Агрохимия. - 2012. - № 6. - С. 32-37.

176. Завалин, А.А. Влияние биопрепаратов и удобрений на люпин синий при выращивании на зеленую массу и зерно /А.А.Завалин, Г.Г. Благовещенская, П.Н.Калабашкин, Т.Н.Соболева, Е.Н.Прядильщикова //Агрохимия. – 2016. - № 9. – С. 24-32.

177. Завильгельский, Г.Б. «Quorum sensing», или как бактерии «разговаривают» друг с другом /Г.Б.Завильгельский, И.В.Манухов //Молекулярная биология. – 2001. – Т. 35. - С.260-267.

178. Задонцев, А.И. Хлорхолинхлорид в растениеводстве /А.П. Задонцев, Г.Р.Пикуш, А.А. Гринченко. – М.: Колос, 1873. – 355 с.

179. Задорин, А.Д. Экология в земледелие /А.Д. Задорин, В.П.Орлов, П.Д.Бойцов. Орёл - 1996. – 93 с.

180. Задорин, А.Д. Средообразующая роль бобовых культур /А.Д. Задорин, А.П.Исаев, А.П.Лапин. – Орел, 2003. – 128 с.

181. Заленский, А.О. Гены гороха (*Pisum sativum* L.), участвующие в симбиозе с азотфиксирующими бактериями. Сообщ. 1. Исследование экспрессии гена раннего нодулирования E12 с помощью реакции цепной амплификации ДНК /А.О.Заленский, А.В.Козик, Б.Схерес //Молекулярная биология. – 1991. – Т.25, №3. – С.787-794.

182. Зауралов, О.А. Влияние цитокининовых препаратов на рост и продуктивность проса /О.А.Зауралов, Г.А.Соловьев, Т.Г.Ларина //Агрохимия. – 1995. - № 5. – С. 31-33.

183. Зауралов, О.А. Влияние продолжительности предпосевной обработки семян регуляторами роста на прорастание и содержание в них фитогормонов /О.А. Зауралов, Т.С.Калмыкова Л.С. Лукаткин //Сельскохозяйственная биология.– 1997. - №1. – С.80-84.

184. Захарычев, В.В. Фитогормоны, их аналоги и антагонисты в качестве гербицидов и регуляторов роста растений. Монография /В.В.Захарычев. – М.:

РХТУ им. Д.И. Менделеева, 1999. – 56 с.

185. Звягинцев, Д.Г. Почва и микроорганизмы. Монография /Д.Г.Звягинцев. - М.: Изд-во МГУ, 1987. – 256 с.

186. Зеленов, А.Н. Проблемы и перспективы селекции гороха, II съезд ВОГиС /А.Н.Зеленов. – СПб, 1999. – Т.1. – С.27.

187. Зеленов, А.Н. Селекция гороха на высокую урожайность семян: дисс. в форме научн. доклада на соиск. учен. степ. д-ра с.-х. наук: 06.01.05. /Зеленов А.Н. - Брянск, 2001. – 60 с.

188. Зеленов, А.Н. Кормовые достоинства амилозного гороха /А.Н.Зеленов, Н.В.Шелепина //Хранение и переработка сельхозсырья. – 2009. - № 10. – С. 51-53.

189. Зеленов, А.Н. Вавиловские принципы в селекции гороха XXI века /А.Н. Зеленов, И.В.Кондыков, В.Н.Уваров //Научно-производственный журнал Зернобобовые и крупяные культуры. – 2012. - № 4. – С. 19-27.

190. Зерфус, В.М. Факторы, определяющие формирование симбиотического аппарата и его влияние на продуктивность зернобобовых культур в Западной Сибири /В.М.Зерфус, А.Г. Щитов, Г.Я. Козлова //Агрохимия. – 1997. - № 12. – С.27-31.

191. Золотарев, В.Н. Эффективность применения бактериальных биопрепаратов ассоциативных diaзотрофов и азотного удобрения в семенных посевах райграсса однолетнего /В.Н.Золотарев //Агрохимия. – 2015. - № 7. – С. 11-16.

192. Зотиков, В.И. Перспективная ресурсосберегающая технология производства гороха. Методические рекомендации /В.И.Зотиков, М.Т. Голопятов и др. – М.: ФГНУ «Росинфмагротех». – 2009. – 36 с.

193. Злотников, А.К. Антидотная активность регулятора роста Альбит при сочетании с различными функциональными группами пестицидов /А.К.

Злотников, В.Т.Алехин, Е.И.Хрюкина, Н.А.Перов, А.В.Рябчинский, Н.А.Кудрявцев //Земледелие. - 2008. - № 3. - С. 44-45.

194. Злотников, А.К. Альбит на подсолнечнике /А.К.Злотников, К.М.Злотников //Земледелие. – 2009. - № 8. – С. 25.

195. Зубов, А.Е. Изменения в структуре признаков продуктивности и их коррелятивной связи с урожаем зерна у сортов гороха нового агроэко типа // Научные основы создания моделей агроэко типов сортов и зональных технологий возделывания зернобобовых и крупяных культур для различных регионов России /А.Е.Зубов. – Орел: Орелиздат, 1997. – С.50-55.

196. Зубов, А.Е. Особенности селекции гороха на урожайность и технологичность возделывания /А.Е.Зубов //Вестник семеноводства в СНГ. – 2002. - №1. – С.32-35.

197. Иберла, Л. Факторный анализ. Монография /Л.Иберла - М.: Статистика, 1980. – 398 с.

198. Иванова, К.А. Защитные реакции в бобово-ризобийном симбиозе: индукция и супрессия (обзор) /К.А.Иванова, В.Е.Цыганов // Сельскохозяйственная биология. – 2014. - № 3. - С. 3-12.

199. Иванов, И.И. Эндогенные ауксины и ветвление корней при изолированном питании растений пшеницы /И.И.Иванов //Физиология растений. – 2009. – Т.56, № 2. – С.241-246.

200. Иванов, А.Л. Приоритеты научного обеспечения земледелия /А.Л. Иванов, А.А.Завалин //Агрохимия. - 2011. - № 3. - С. 17-23.

201. Иванчина, Н.В. Влияние шаммов *Bacillus subtilis* на продуктивность растений гороха при автономной и совместной инокуляции со штаммом *Rhizobium leguminosarum bv.viciae* 1078 /Н.В. Иванчина, С.Р.Гарипова, Д.В.Шавалеев, Н.А.Уразбахтина, Р.Ш.Захарова, Р.М.Хайруллин //Агрохимия. - 2008. - № 10. - С. 34-39.

202. Иванчина, Н.В. Влияние ростстимулирующих бактерий (PGPB) на продуктивность и устойчивость растений /Н.В.Иванчина, С.Р.Гарипова //Агрохимия. – 2012. - № 7. – С. 87-95.

203. Игнатов, В.В. Биологическая фиксация азота и азотфиксаторы /В.В.Игнатов //Соросовский образовательный журнал. – 1998. - № 9. – С. 28-33.

204. Игнатова, И.Ю. Ультраструктура и способы репродукции морфологически атипичных форм клубеньковых бактерий /И.Ю.Игнатова, В.К.Шильникова //Сборник научных трудов «Биотехнология микроорганизмов в сельском хозяйстве». – М. – 1989. – С. 28-33.

205. Ищенко, А.А. Влияние гербицида паракват на рост, содержание пероксида водорода и активность каталазы в корнях проростков гороха при инокуляции клубеньковыми бактериями /А.А.Ищенко, Г.Г.Васильева, Н.В.Миронова, А.К.Глянько //Агрохимия. - 2006. - № 8. - С. 47-51.

206. Каладжанян, Н.Л. Образование физиологически активных веществ клубеньковыми бактериями и их влияние на высшие растения: автореф. дис. ... д-ра. биол. наук /Каладжанян Н.Л. - Ереван, 1970. – 32 с.

207. Каличава, Г.С. Механизм действия регуляторов роста на уровне клеточных мембран /Г.С.Каличава, Г.В.Тивадзе и др. //Сельскохозяйственная биология. – 1988. - № 5. – С. 21-27.

208. Камински, П. Контроль симбиотической фиксации азота ризобиями // *Rhizobiacea*. Молекулярная биология бактерий, взаимодействующих с растениями / Под ред. Г.Спайка и др. /П.Камински, Ж.Батут, П.Боистард. - СПб.: Бионт. 2002. – С. 465-492.

209. Квиспел, А. Эволюционные аспекты симбиотических адаптаций: вклад *Rhizobium* в эволюцию ассоциаций // *Rhizobiacea*. Молекулярная биология бактерий, взаимодействующих с растениями / Под ред. Г.Спайка и др. /А.Квиспел. - СПб.: Бионт. 2002. – С. 519-540.

210. Канделинская, О.Л. Влияние эпибрассинолида на активность белков лектинового типа и протеиназноингибиторной системы люпина (*Lupinus angustifolius* L.) при натрий-хлоридном засолении /О.Л. Канделинская, В.И.Грищенко, В.И.Домаш, А.Ф.Топунов //Агрохимия. – 2008. - № 9. – С.45-49.

211. Канделинская, О.Л. Влияние эпибрассинолида на морфометрические и биохимические показатели роста корней ячменя и люпина под действием свинца /О.Л. Канделинская, В.И.Грищенко, В.А.Хрипач, В.Н.Жабинский //Агрохимия. – 2011. - № 6. – С. 32-42. Каргин, В.И. Эффективность биопрепаратов в посевах яровой пшеницы /В.И. Каргин, С.Н.Немцев, Р.А.Захаркина, Ю.И.Каргин //Доклады РАСН. – 2011. - № 1. – С. 35 – 38.

212. Каранчук, Р.А. Действие эпибрассинолида на морфогенез и соотношение гормонов у проростков *Arabidopsis* на зеленом свете /Р.А.Каранчук, И.Ф.Головацкая, М.Ф.Ефимова., В.А.Хрипач //Физиология растений. - 2002. – Т.49, № 4. - С. 591-595.

213. Кацы, Е.И. Участие ауксинов в регуляции экспрессии генов бактерий и растений /Е.И.Кацы //Генетика. – 1997. – Т. 33, № 5. – С. 655-676.

214. Кашаева, С.Р. Влияние штаммов клубеньковых бактерий с различными симбиотическими свойствами на урожай гороха /С.Р. Кашаева., Б.Ф.Садыков // Труды ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии. – 1991. – Т.61. – С.42-50.

215. Кашуков, М.В. Фотосинтетическая деятельность, урожайность и белковая продуктивность посевов сои и гороха в зависимости от активности симбиоза (в условиях предгорной зоны Северного Кавказа): ввтореф. дис. ... канд.с.-х.н. /Кашуков М.В. – М. - 1994. – 19 с.

216. Квасов, В.А. Тур на посевах озимой пшеницы /В.А.Квасов //Химизация сельского хозяйства. – 1992. - № 1. – С. 44-46.

217. Квасова, Э.В. Варьирование симбиотических признаков люцерны при инбридинге /Э.В.Квасова, Н.А.Проворов, Б.В.Симаров и др // С.-х. биология. –

1994. –№ 5. – С. 64-68.

218. Квиспел, А. Эволюционные аспекты симбиотических адаптаций: вклад *Rhizobium* в эволюцию ассоциации // *Rhizobiaceae* молекулярная биология бактерий взаимодействующих с растениями /А.Квиспел. – Санкт-Петербург. – 2002. – С.519- 535.

219. Кефели, В.И. Природные ингибиторы роста и фитогормоны. Монография/В.И.Кефели. – М.: Наука, 1974. – 253 с.

220. Кефели, В.И. Рост растений. Монография /В.И.Кефели. - М.: Колос, 1984.- 175 с.

221. Кефели, В.И. Природный ингибитор роста – абсцизовая кислота/В.И.Кефели, Э.М. Коф, П.В.Власов, Е.Н.Кислин. – М.: Наука, 1989. – 484 с.

222. Кефели, В.И. Химические регуляторы растений /В.И.Кефели, Л.Д.Прусакова. - М.: Знание, 1985. – 64 с.

223. Кефели, В.И. Природные ингибиторы как фактор регуляции роста /В.И.Кефели //Фитогормональная регуляция роста и развития растений. – Киев.: Наук. Думка. - 1985. – С. 110-116.

224. Кефели, В.И. Рост растений и его регуляция (генетические и физиологические аспекты) /В.И.Кефели. – Кишинев Штинца, 1985.

225. Кефели, В.И. Физиологические основы конструирования габитуса растений. Монография /В.И.Кефели. - М.: Наука, 1994. – 241 с.

226. Кизилова, А.К. Оценка разнообразия азотфиксирующих бактерий в ризосфере растений сои методом анализа *nifH* гена /А.К.Кизилова, Л.В.Титова, И.К.Кравченко, Г.А.Иутинская //Микробиология. – 2012. – Т.81, № 5. – С.672-681.

227. Киризий, Д.А. Взаимосвязь азотфиксации и фотосинтеза как основных

составляющих продукционного процесса у люцерны /Д.А.Киризий, Н.А.Воробей, С.Я. Коць //Физиология растений. - 2007. - Т. 54, № 5. - С. 666-671.

228. Кириченко, Е.В. Влияние лектинов бобовых растений на проявление симбиотических свойств клубеньковыми бактериями в бобово-ризобиальном симбиозе /Е.В.Кириченко, С.М. Маличенко //Физиология растений. – 2000. - № 2.– Т. 47. – С. 221-225.

229. Кириченко, Е.В. Роль экзометаболитов в процессе формирования и функционирования соево-ризобиального симбиоза /Е.В. Кириченко, Л.В.Титова, С.Я. Коць //Прикладная биохимия и микробиология. – 2004. – Т.40, № 6 – С. 567-570.

230. Кириченко, Е.В. Влияние экзогенного лектина сои на развитие и азотфиксирующую активность корневых клубеньков и diaзотрофных микроорганизмов в ризосферной зоне сои /Е.В.Кириченко, Л.В.Титова//Физиология и биохимия культурных растений. – 2005. – Т. 37, № 2. – С. 139- 146.

231. Кириченко, Е.В. Лектин сои как компонент комплексного биопрепарата на основе *Bradyrhizobium japonicum* 6346 /Е.В. Кириченко, Л.В.Титова//Прикладная биохимия и микробиология. – 2006. – Т. 42, № 2. – С. 219-223.

232. Киселева, А.А. Биосинтез фитогормонов у водорослей /А.А.Киселева, Е.Р.Тараховская, М.Ф.Шишова //Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 5. - С. 643-659.

233. Ковалев, В.М. Технологии будущего в растениеводстве. – Сельскохозяйственная биотехнология. Избранные работы /Под ред. Шевелухи В.С.- М.:Евразия+. – 2000. – С.228-240.

234. Ковалева, Л.В. Ауксин и флавоноиды в программной фазе оплодотворения у петунии /Л.В. Ковалева, Е.В. Захарова,

Ю.В.Минкина//Физиология растений. - 2007. - Т. 54, № 3. - С. 449-454.

235. Ковганко, Н.В. Брассиностероиды в растительном мире /Н.В.Ковганко//Химия природн. соед. – 1991. - № 2. – С. 159-173.

236. Кожемяков, А.П. Эффективность использования препаратов азотфиксирующих микроорганизмов в сельском хозяйстве /А.П.Кожемяков, Л.М.Доросинский //Тр. ВНИИ с.-х. микробиологии. – 1989. – Т. 59. – С. 5-13.

237. Кожемяков, А.П. Приемы повышения продуктивности азотфиксации и урожая бобовых культур /А.П.Кожемяков //Биологический азот в сельском хозяйстве. – М.: Наука. – 1989. – С. 15-27.

238. Кожемяков, А.П. Продуктивность азотфиксации в агроценозах/А.П.Кожемяков //Микробиологический журнал. – 1997. – Т. 59, № 4. – С. 22-28.

239. Кожемяков, А.П. Использование инокулянтов бобовых и биопрепаратов комплексного действия в сельском хозяйстве /А.П. Кожемяков, И.А. Тихонович//Доклады РАСХН, - 1998. - № 6. – С.7-10.

240. Кожемяков, А.П. Эффективность и основные свойства симбиотических и ассоциативных бактерий – инокулятов симбиотических культур /А.П.Кожемяков//Сельскохозяйственная микробиология в XIX-XXI вв. – СПб. - 2001. – С. 25-26.

241. Кожемяков, А.П. Биопрепараты для земледелия //Биопрепараты в сельском хозяйстве /А.П.Кожемяков, В.Н.Чеботарь //Под ред. Тихоновича И.А., Круглова Ю.В. – М. – 2005. – С. 18-54.

242. Кожемяков, А.П. Разработка и перспективы использования биопрепаратов комплексного действия /А.П. Кожемяков, С.В. Тимофеева, Т.А. Попова // Защита и карантин растений. – 2008. - № 2. – С. 42-43.

243. Кожемяков, А.П. Создание и анализ базы данных по эффективности

микробных биопрепаратов комплексного действия /А.П.Кожемяков, С.Н. Белобородова, А.Г.Орлова //Сельскохозяйственная биология. – 2011. - № 3. – С. 112-115.

244. Кожемяков, А.П. Агротехнологические основы создания усовершенствованных форм микробных биопрепаратов для земледелия /А.П. Кожемяков, Ю.В. Лактионов, Т.А.Попова, А.Г.Орлова, А.Л.Кокорина, О.Б.Вайшля, Е.В.Агафонов, С.А.Гужвин, А.А.Чураков, М.Т.Яковлева //Сельскохозяйственная биология. – 2015. – Т.50. - № 3. – С. 360-376.

245. Козакова, В.Н. Перспективные регуляторы роста растений /В.Н.Козакова, Ю.А.Вятсияр, Э.Г.Полужктова //Химия в сельском хозяйстве. – 1986. - № 8. – С. 49-50.

246. Кокорина, А.П. Бобово-ризобиальный симбиоз и применение микробиологических препаратов комплексного действия – важный резерв повышения продуктивности пашни /А.П. Кокорина, А.П.Кожемяков. - СПб.: СПГАУ, 2010. - 50 с.

247. Коломейченко, В.В. Методические указания по изучению основных показателей фотосинтетической деятельности растений в посевах /В.В.Коломейченко. – Орел, 1987. – С. 4-8.

248. Кондыков, И.В. Основные направления и результаты селекции гороха и фасоли во ВНИИЗБК /И.В.Кондыков, А.Н.Зеленов, М.П.Мирошникова и др. //Научное обеспечение производства зернобобовых и крупяных культур: сб. науч. тр.: ВНИИЗБК. - Орел, 2004. – С. 19-28.

249. Колмыкова, Т.С. Эффективность регуляторов роста растений при действии абиотических стрессовых факторов /Т.С.Колмыкова, А.С.Лукаткин //Агрохимия. – 2012. - № 1. – С. 83-94.

250. Коробова, А.В. Связь накопления биомассы корней с содержанием и метаболизмом цитокининов у нечувствительных к этилену растений

/А.В.Коробова, Л.Б. Высоцкая, А.Н.Васинская, Б.Р.Кулуев, С.Ю.Веселов, Г.Р.Кудоярова //Физиология растений. – 2016. – Т. 63, № 5. – С. 636-643.

251. Косенко, Л.В. Влияние экзополисахаридов *Rhizobium leguminosarum* bv. *vicea* на формирование и эффективность симбиоза растений гороха с гомологичными клубеньковыми бактериями /Л.В.Косенко, А.Ф.Антипчук, В.Н.Рангелова //Микробиология. – 1995. – Т. 64, № 2. – С. 205-210.

252. Косенко, Л.В. Влияние стимуляторов роста растений на *Rhizobium leguminosarum* bv. *vicea* 263б и эффективность симбиотической азотфиксации у растений гороха /Л.В.Косенко, А.Ф.Антипчук, В.Н.Рангелова //Микробиологический журнал. – 2001. – Т. 67, № 5. – С. 75-79.

253. Котов, А.А. Роль акропетального водного транспорта в регуляции уровня цитокининов в стеблях проростков гороха /А.А.Котов, Л.М.Котова //Физиология растений. – 2015. – Т.62, №3. – С. 420-431.

254. Коць, С.Я. Особенности взаимодействия растений и азотфиксирующих микроорганизмов /С.Я.Коць, С.К. Береговенко, Н.В.Кириченко, Н.Н.Мельникова. – К.: Наук. Думка, 2007. – 314 с.

255. Кошкин, Е.И. Частная физиология полевых культур /Е.И. Кошкин, Г.Г. Гатаулина, А.Б. Дьяков и др. - М.: КолосС, 2005. - 344 с.

256. Кошкин, Е.И. Физиологические основы селекции растений /Е.И. Кошкин. М.: АРГАМАК-МЕДИА, 2014. – 400 с.

257. Кретович, В.Л. Молекулярные механизмы фиксации азота атмосферы/В.Л.Кретович, З.Г. Евстигнеева, Н.П.Львов и др. //Вест. АН СССР. – 1972. - № 3.– С.38-47.

258. Кретович, В.Л. Обмен азота в растениях /В.Л.Кретович. – М.: Наука, 1972. – 88 с.

259. Кретович, В.Л. Молекулярные механизмы усвоения азота растениями

/В.Л.Кретович, З.Г.Евстигнеева, Т.И.Карякина и др. – М.: Наука. 1983. – 263 с.

260. Кретович, В.Л. Усвоение и метаболизм азота у растений /В.Л.Кретович – М.: Наука, 1987. – 487 с.

261. Кретович, В.Л. Биохимия усвоения азота воздуха растениями /В.Л.Кретович. – М.: Наука. 1994. – 168 с.

262. Крикунец, В.Л. Динамика нитрогеназной (ацетиленвосстанавливающей) активности корневых клубеньков и урожай сои в связи с эффективностью соево-ризобиального симбиоза /В.Л.Крикунец //Связывание молекулярного азот клубеньковыми бактериями в симбиотических и культуральных условиях. – Киев Наук. Думка, 1984. – С. 140-170.

263. Кругова, Е.Д. Сортовая специфичность у гороха при инокуляции растений штаммами клубеньковых бактерий /Е.Д.Кругова, Д.Д. Остапенко, Н.М.Мандровская // Физиология и биохимия культурных растений. – 1994. - Т. 26, №3. – С.245-252.

264. Кравченко, Л.В. Ризосфера область взаимодействия микроорганизмов и растений /Л.В.Кравченко //Сельскохозяйственная микробиология в XIX-XXI вв. СПб.: 2001. – С.59.

265. Кравченко, Л.В. Корневые выделения томатов и их влияние на рост и антифунгальную активность штаммов *Pseudomonas* /Л.В.Кравченко, Т.С. Азарова, Е.И.Леонова-Ерко, А.И.Шапошников, Н.М.Макарова, И.А.Тихонович //Микробиология. – 2003. – Т. 72, № 1. – С. 48-53.

266. Кравченко, Л.В. Роль триптофана в корневых экзометаболитах для фитостимулирующей активности ризобактерий /Л.В. Кравченко, Т.С.Азарова, Н.М.Макарова, И.А.Тихонович //Микробиология. – 2004. – Т. 73, № 2. – С. 195-198.

267. Кравченко, Л.В. Состав корневых экзометаболитов мягкой пшеницы и томата, влияющих на растительно-микробные взаимодействия в ризосфере /Л.В.

Кравченко, А.И. Шапошников, Н.М.Макарова, Т.С.Азарова, К.А.Львова, И.И.Костюк, О.А.Ляпунова, И.А.Тихонович //Физиология растений. – 2011. – Т. 58. – С. 781 – 786.

268. Крылова, В.В. Транспорт Ca^{2+} через перибактероидную мембрану, его аккумуляция в симбиосомах и включение в контроль нитрогеназной активности в корневых клубеньках бобов и люпина желтого: дис. ...к.б.н. / Валерия Валерьевна Крылова. – М., 2004. – 153 с.

269. Крылова, В.В. Транспорт метаболитов через перибактероидную мембрану в онтогенезе бобов /В.В.Крылова, П.Н.Дуброво, С.Ф.Измайлов //Физиология растений. - 2007. - Т. 54, № 2. - С. 209-216.

270. Крылова, В.В. Гипоксический стресс и транспортные системы перибактероидной мембраны клубеньков бобов /В.В.Крылова, С.Ф.Измайлов //Прикладная биохимия и микробиология. – 2011. – Т. 47, № 1. - С. 16-22.

271. Кузмичева, Ю.В. Эффективность интродукции АЦК-утилизирующих ризобактерий в агроценозы сои в условиях Орловской области /Ю.В. Кузмичева, Тычинская И.Л., Петрова С.Н., Парахин // Сельскохозяйственная биология. – 2015. – Т.50, № 3. – С. 377-383.

272. Кулаева, О.Н. Цитокинины. Их структура и функции. Монография /О.Н.Кулаева. - М.: Наука, 1973. - 361 с.

273. Кулаева, О.Н. Гормональная регуляция физиологических процессов у растений /О.Н.Кулаева //41-Тимирязевское чтение. – М., 1982. – С. 54.

274. Кулаева, О.Н. Достижения и перспективы в исследовании фитогормонов. /О.Н.Кулаева, М.З.Чайлахян //Агробиология. - 1984. - № 1. - С. 106 – 128.

275. Кулаева, О.Н. Физиологическая роль абсцизовой кислоты. Введение к публикации материалов международного симпозиума (Пушино, 1993) /О.Н.Кулаева //Физиология растений. – 1994. – Т. 41, № 5. – С. 645-651.

276. Кулаева, О.Н. Новейшие достижения в изучении механизма действия фитогормонов /О.Н.Кулаева, О.С.Прокопцева //Биохимия. - 2004. - Т. 69, № 3. - С. 293-310.

277. Куликов, Н.Ф. К вопросу об участии бобово-ризобиального симбиоза в повышении урожайности и качества зерна сои в Приморском крае /Н.Ф.Куликов //Агрохимия. – 2006. - № 1. – С. 63-68.

278. Курапов, П.Б. Гормональный баланс растений: автореф. дис. ... д-ра биол. наук /Курапов П.Б. - М., 1996. - 47 с.

279. Курчак, О.Н. Эффективность симбиоза с клубеньковыми бактериями у различных видов рода *Vicia* L. /О.Н.Курчак, Н.А.Проворов, Б.В.Симаров //Раст. ресурсы. - 1995. - Т.31, № 1. - С. 88-93.

280. Курчак, О.Н. Отзывчивость вики мохнатой (*Vicia villosa* Roth) и вики посевной (*Vicia sativa* L.) на инокуляцию ризобиями и на внесение карбамида /О.Н.Курчак, Н.А. Проворов //Физиология растений. – 1995. – Т. 42. – С. 484 – 490.

281. Курчий, В.А. Влияние хлорхолинхлорида и дегидрела на содержание пигментов в листьях озимой пшеницы и озимой ржи //Регуляторные механизмы физиологических процессов у растений /В.А.Курчий. – Киев: Наук. Думка, 1985.– С. 34.

282. Лактионов, Ю.В. Создание новых форм биопрепаратов на основе клубеньковых и ассоциативных ризобактерий и оценка их эффективности: автореф. дис. ... к.б.н. /Лактионов Ю.В. – Санкт-Петербург, 2010. – 16 с.

283. Лактионов, Ю.В. Создание стабильной формы ростстимулирующих микробиологических препаратов и их эффективность /Ю.В.Лактионов, Т.А.Попова, О.А.Андреев, Р.П.Ибатуллина, А.П.Кожемяков //Сельскохозяйственная биология. – 2011. - № 3. – С. 116-118.

284. Лактионов, Ю.В. Эффективность бобово-ризобиального симбиоза «нут

Cicer arietinum L. – бактерии *Mezorizobium cicer*» при использовании минеральных удобрений /Ю.В.Лактионов, С.Н.Белоброва, А.П.Кожемяков, Н.И.Воробьев, Н.Х.Сергалиев, Р.К.Аменова //Плодородие. – 2013. - № 5. – С. 24-25.

285. Лапинскас, Э.Б. Биологическая азотфиксация и нитрагин /Э.Б.Лапинскас. Литва: Академия, 1998. – 218 с.

286. Лапинскас, Э.Б. Влияние кислотности на распространение и симбиотическую эффективность клубеньковых бактерий в почвах Литвы/Э.Б.Лапинскас //Почвоведение. – 2007. - №4. – С.461-467.

287. Лихолат, Т.В. Гормональная регуляция ростовых процессов /Т.В.Лихолат//Межвуз. сб. науч.тр. – М.: Наука, 1985. – С. 22-27.

288. Ломин, С.Н. Анализ гормон-рецепторного взаимодействия. Теоретические и практические аспекты /С.Н.Ломин, Г.А.Романов //Физиология растений. - 2008. - Т. 55, № 2. - С. 283 – 299.

289. Лобакова, Е.С. Ассоциативная симбиология на примере растительных симбиозов [Обзор] /Е.С.Лобакова //Вестник МГУ. – 2006. – № 4. - сер. 16. – С. 9-16.

290. Лукаткин, А.С. Цитокинин-подобные препараты ослабляют повреждения растений кукурузы ионами цинка и никеля /А.С.Лукаткин, Н.В.Грачева, Н.Н.Грищенко, П.В.Духовский, А.А.Бразайтите //Физиология растений. - 2007.- Т. 54, № 3. - С. 433-439.

291. Лукаткин, А.С. Влияние регуляторов роста на проявления токсического действия гербицидов на растения /А.С.Лукаткин, А.С.Семенова, А.А.Лукаткин//Агрохимия. – 2016. - № 1. – С. 73-95.

292. Львов, Н.П. Нитрогеназа: структура и условия функционирования // Молекулярные механизмы усвоения азота растениями /Н.П.Львов. – М.: Наука, 1983. – С. 34-52.

293. Макарова, Л.Е. Влияние фенольных соединений, выделяемых в темноте корнями гороха на размножение *Rhizobium leguminosarum* /Л.Е.Макарова, С.Е.Латышева, Т.Е.Путилина //Прикладная биохимия и микробиология. – 2007. – Т. 43, №4. – С. 479-485.

294. Макарова, Л.Е. Роль аллелопатических соединений в регуляции и формировании бобово-ризобиального симбиоза /Л.Е.Макарова, В.И. Смирнов, Л.В.Клыба, И.Г.Петрова, Л.В.Дударева //Прикладная биохимия и микробиология. - 2012. - Т. 48, № 4. - С. 394-402.

295. Максимов, И.В. Стимулирующие рост растений микроорганизмы как альтернатива химическим средствам защиты от патогенов (обзор) /И.В.Максимов, Р.Р.Абизгильдина, Л.И.Пусенкова //Прикладная биохимия и микробиология. - 2011. - Т. 47. - С. 373-385.

296. Малеванная, Н.Н. Брассиностероиды – новый класс фитогормонов плеiotропного действия //Полифункциональность действия брассиностероидов. /Н.Н.Малеванная. - Сборник научных трудов. М.: ННПП НЭСТ М, 2007. – 357 с.

297. Мамаева, А.С. Регуляторная роль оксида азота у растений /А.С. Мамаева, А.А.Фоменков, А.В.Носов, И.Е.Мошков, Л.А.Дж. Мур, М.А.Холл, Г.В.Новикова //Физиология растений. – 2015. – Т.62, №4. – С. 459-473.

298. Маргелис, Л. Роль симбиоза в эволюции клетки. Монография /Л.Маргелис. – М.: Мир, 1983. – 351 с.

299. Мартыненко, Е.В. Роль цитокининов в восстановлении роста растений пшеницы при нормализации водообеспечения /Е.В.Мартыненко, Т.Е.Архипова //Агрехимия. – 2010. - №8. – С.35-42.

300. Марьюшкин, В.Ф. Эффективность различных симбиотических систем сои и ризобий /В.Ф. Марьюшкин, В.К.Даценко, Е.П.Старченко и др. //Физиология и биохимия культурных растений. – 1994. – Т.26, № 3. – С. 257-264.

301. Медведев, С.С. Механизмы формирования и физиологическая роль

полярности в растениях /С.С.Медведев //Физиология растений. – 2012. – Т. 59. – С. 543-556.

302. Мельникова, Н.Н. Влияние семенных эксудатов бобовых растений на формирование бобово-ризобияльного симбиоза /Н.Н.Мельникова, С.В. Омельчук //Прикладная биохимия и микробиология. – 2009. – Т.45, № 3. – С. 331-337.

303. Мелик-Саркисян, С.С. Белки перибактеродного пространства бактериоидов /С.С.Мелик-Саркисян, А.И.Тихомирова, В.Л.Кретович //Докл. АН СССР. – 1981. – Т. 259, № 6. – С. 1498-1501.

304. Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: Сб. научных тр. Под ред. Коломиец Э.И., Лобанок А.Г., Зинченко А.И. и др. – Минск. – 2011. – Т.3. – 336 с.

305. Мильто, Н.И. Клубеньковые растения и продуктивность бобовых растений /Н.И.Мильто. – Минск: Наука и техника, 1982. – 296 с.

306. Минеев, В.Г. Химизация земледелия и природная среда /В.Г.Минеев. – М.: Агропромиздат. 1990. – 287 с.

307. Михайлов, В.Г. Наследование эффективности образования клубеньков на корнях сои /В.Г.Михайлов, Е.К. Дубовенко //Научно-техн. бюлл. СО ВАСХНИЛ. – 1987. - № 33. – С. 9-15.

308. Мишустин, Е.Н. Биологическая фиксация молекулярного азота /Е.Н.Мишустин, В.К.Шильникова. – М.: Наука. – 1968. – 532 с.

309. Мишустин, Е.Н. Влияние гетероауксина и гиббереллина на процесс инокуляции и симбиотическую азотфиксирующую активность люцерны и гороха //Теоретические основы действия физиологически активных веществ и эффективность удобрений их содержащих /Е.Н.Мишустин, В.К.Шильникова, В.Тагиев, Днепропетровск. - 1969. – С.51-57.

310. Мишустин, Е.Н. Микроорганизмы и продуктивность земледелия

/Е.Н.Мишустин. - М.: Наука, 1972. – 343 с.

311. Мишустин, Е.Н. Клубеньковые бактерии и инокуляционный процесс /Е.Н.Мишустин, В.К.Шильникова. – М.: Наука, 1973. – 286 с.

312. Мишустин, Е.Н. Биологический азот в земледелии СССР /Е.Н.Мишустин, Н.И.Черепков //Изв. АН СССР. Сер. Биол. - 1976. - № 33. - С. 325-343.

313. Мишустин, Е.Н. Азотный баланс в зонах СССР //Минеральный и биологический азот в земледелии СССР /Е.Н.Мишустин. – М.: Наука, 1985. – С. 3-11.

314. Мишке, И.В. Микробиологический синтез цитокининов /И.В.Мишке, М.К.Тевелева. – М., 1983. – С.34.

315. Мишке, И.В. Микробные фитогормоны в растениеводстве /И.В.Мишке. - Рига: Винатне, 1988. - 128 с.

316. Моисеенко, И.Я. Повышение азотфиксирующей способности и симбиотического потенциала растений сои при известковании /И.Я.Моисеенко, О.А.Зайцева //Агрохимический вестник. – 2009. - № 3. – С. 25-27.

317. Молошонок, А.А. Влияние регуляторов роста и комплексного микробиологического удобрения на повышение посевных качеств и урожайности семян гороха и ярового ячменя: автореф. дис....канд. с.-х. наук. /Молошонок А.А. – Брянск. – 2011. – 20 с.

318. Моргун, В.В. Ростстимулирующие ризобактерии и их практическое применение /В.В.Моргун, С.Я.Коць, Е.В.Кириченко //Физиология и биохимия культурных растений. – 2009. – Т.41, № 3. – С. 187-207.

319. Моржина, Е.В. Изучение ультраструктурной организации симбиотического взаимодействия бобовых растений с клубеньковыми бактериями: автореф. дис. ... канд. биол. наук. /Моржина Е.В. – С.-Пб., 1992. – 16 с.

320. Муромцев, Г.С. Интенсификация сельскохозяйственного производства и задачи микробиологии /Г.С.Муромцев //Вестн. АНСССР. – 1976. - № 11. – С. 84- 89.
321. Муромцев, Г.С. Гиббереллины /Г.С.Муромцев, В.Н.Агнестикова. – М.: Наука, - 1984. – 298 с.
322. Муромцев, Г.С. Регуляторы роста растений и урожай /Г.С.Муромцев //Вестн. с.-х. науки. - 1984. - № 7. – С. 7-14.
323. Муромцев, Г.С. Основы химической регуляции роста и продуктивности растений /Г.С.Муромцев, Д.И.Чкаников, О.Н.Кулаева, К.З.Гамбург. - М.: Агропромиздат, 1987. - 384 с.
324. Надкерничная, Е.В. Влияние свободноживущих бактерий на формирование и функционирование бобово-ризобиального симбиоза у некоторых сельскохозяйственных культур /Е.В.Надкерничная, Т.М.Ковалевская //Физиология и биохимия культурных растений. - 2001. - Т. 33, № 4. - С. 355-362.
325. Наумкина, Т.С. Создание и оценка исходного материала гороха посевного для селекции на повышение симбиотической активности /Т.С. Наумкина, Т.С.Титенок, В.Л.Яковлев и др. //Сельскохозяйственная биология. - № 3. – 2002.- С. 96-99.
326. Наумкина, Т.С. Селекция гороха (*Pisum sativum* L.) на повышение эффективности симбиотической азотфиксации: автореф. дис.... д-ра с.-х. наук /Наумкина Татьяна Сергеевна. - Орел, 2007. - 43 с.
327. Наумкин, В.В. Повышение эффективности симбиотических систем гороха для экологически чистого земледелия: автореф. дис.... канд. с.-х. наук /Наумкин Владимир Владимирович. – Орел, 2007. – 19 с.
328. Нефедьева, Е.Э. Изменение гормонального баланса в прорастающих

семенах после обработки импульсным давлением /Е.Э.Нефедьева, Н.Г.Мазей, В.Н.Хрянин //Физиология растений. - 2005. - Т. 52, № 1. - С. 146-150.

329. Ничик, М.М. Симбиотические взаимоотношения бобовых растений и новых штаммов клубеньковых бактерий: дисс. ... д-ра биологических наук в форме научного доклада /Ничик М.М. – Киев. – 1992. – 47 с.

330. Никелл, А.Дж. Регуляторы роста растений. Применение в сельском хозяйстве /А.Дж. Никелл. – М.: Колос, 1984. – 192 с.

331. Ниловская, Н.Т. Действие эпибрассинолида на продуктивность и устойчивость к засухе яровой пшеницы /Н.Т. Ниловская, Н.В.Остапенко, И.И.Середина //Агрехимия. – 2001. - № 2. – С. 46-50.

332. Новикова, Т.И. Фенольные соединения и бобово-ризобиальный симбиоз: автореф. дис. ... канд. биол. наук /Новикова Т.И.– Новосибирск. – 1989. – 16 с.

333. Новикова, Н.И. Современные представления о филогении и систематике клубеньковых бактерий /Н.И.Новикова // Микробиология. – 1996. – Т. 65, № 4. – С. 437-450.

334. Новикова, Т.И. Структурно-функциональные особенности бобово-ризобиального симбиоза: автореф. дис. ... доктора биологических наук /Новикова Т.И.– Новосибирск. – 2004. – 36 с.

335. Новые элементы биорегуляции для устойчивого развития в агроэкосистемах: теоретические и прикладные аспекты применения //Под ред. Акад. В.П.Кухаря. – К.: Наук. Думка, 2004. – С. 97-108.

336. Нормативы для определения вклада биологического азота бобовых в баланс азота России. М.: ВНИИА, 2013. – 44 с.

337. Овцына, А.О. Структура и функции сигнальных молекул в симбиозе между афганскими линиями гороха и *Rhizobium leguminosarum* bv. *vicae*.: автореф. дис. ... к.б.н./Овцына А.О. – СПб., – 1997. – 16 с.

338. Овцына, А.О. Механизмы внутривидовой специфичности симбиоза между горохом и клубеньковыми бактериями / Спайнк Х.П., Штезелин К., Шульц М. // II съезд Вавилова. о-ва генетиков и селекционеров: Тез. Докл. – СПб. – 2000. – Т.1. – С.295-296.

339. Овцына, А.О. Структура, функции и возможность практического применения сигнальных молекул, инициирующих развитие бобово-ризобиального симбиоза /А.О.Овцына, И.А.Тихонович //Экологическая генетика. - 2004. - Т. 1, № 3. - С. 14-24.

340. Олескин, А.В. Популяционно-коммуникативное направление в микробиологии /А.В.Олескин, Т.А. Кировская //Микробиология. – 2006. – Т.75, № 4. – С.440-445.

341. Онищук, О.П. Популяционный полиморфизм клубеньковых бактерий люцерны (*Sinorhizobium meliloti*) по генам симбиотической эффективности и конкурентоспособности /О.П.Онищук, О.Н.Курчак, Е.П.Чижевская, Н.А.Проворов, Б.В.Симаров //Сельскохозяйственная биология. – 2015. – Т.50, №. 3. – С. 339-344.

342. Онищук, О.П. Нодуляционная способность клубеньковых бактерий: генетический контроль и адаптивное значение: (обзор) /О.П. Онищук, Н.И. Воробьев, Н.А.Проворов //Прикладная биохимия и микробиология. – 2017. – Т.53, №2. – С. 127-135.

343. Орлов, В.П. Методика оценки активности симбиотической азотфиксации селекционного материала зернобобовых культур ацетиленовым методом /В.П. Орлов, И.Ф. Орлова, Е.А.Щербина, Г.П.Гурьев, А.Г.Васильчиков. – Орел: ВНИИ зернобобовых и крупяных культур, 1984. – 15 с.

344. Осипов, А.И. Роль азота в плодородии почвы и питании растений /А.И.Осипов, О.А.Соколов. - СПб., 2001. - 360 с.

345. Павловская, Н.Е. Белковый комплекс семян зернобобовых культур и

перспективы повышения его качества /Н.Е.Павловская //Научное обеспечение производства зернобобовых и крупяных культур: сб. науч. тр.; [ВНИИЗБК]. - Орел, 2004. – С. 56-66.

346. Павловская, Н.Е. Влияние биологически активных веществ, полученных на основе природных источников, на рост и развитие гороха //Н.Е.Павловская, Д.Б. Бородин //Журн. Вестник Орёл ГАУ. – 2008. - № 3. – С. 18-20.

347. Парахин, Н.В. Сельскохозяйственные аспекты симбиотической азотфиксации /Н.В.Парахин, С.Н.Петрова. - М.: КолосС. – 2006. – 151 с.

348. Парахин, Н.В. Влияние двойной инокуляции на симбиотическую азотфиксацию, продуктивность и качество семян сои / Н.В. Парахин, А.А. Осин, В.С. Осина //Журн. Вестник Орёл ГАУ. – 2008. - № 3. – С. 2-4.

349. Парийская, А.Н. О специфичности клубеньковых бактерий /А.Н.Парийская //Успехи микробиологии. – 1975. – Вып. 10. – С. 185.

350. Пашкевич, Е.Б. Влияние бактериальных препаратов на агрохимические свойства тепличного грунта и поступление элементов питания в растения розы сорта *Flash night* /Е.Б.Пашкевич, Е.Л. Нейматов //Агрохимия. – 2012. - № 7. – С. 57-61.

351. Персикова, Т.Ф. Биологический азот в земледелии Беларуси /Т.Ф.Персикова, А.Р.Цыганов, И.Р.Вильдфлуш. - Минск: Хата. - 2003. – 238 с.

352. Петерсон, Н.В. Влияние минерального азота на эффективность симбиоза клубеньковых бактерий с люцерной /Н.В.Петерсон, М.М.Ничик, С.Я.Коць //Микробиологический журнал. – 1991. – Т. 53, № 1. – С. 16-22.

353. Петров, В.Б. Микробиологические препараты в биологизации земледелия России /В.Б.Петров, В.И. Чеботарь, А.Е.Казаков // Достижения науки и техники АПК. – 2000. - № 10. – С. 16-20.

354. Платонова, Т.А. Ультраструктурное и морфологическое изучение внутриклеточных изменений в апексах клубней картофеля под влиянием эпибрассинолида /Т.А.Платонова, Н.П.Кораблева //Физиология растений. – 1998. – Т. 45, № 6– С. 870-881.
355. Платонова, Т.А. Действие эпибрассинолида на ультраморфометрические показатели пластид клеток апикальных меристем при регуляции ростовых процессов в клубнях картофеля /Т.А.Платонова, А.С.Евсюнина, Н.П.Кораблева //Агрехимия. – 2012. - №5. – С.21-29.
356. Пожванов, Г.А. Метод количественного анализа ИУК в DR5: GUS трансгенных растениях арабидопсиса /Г.А.Пожванов, А.Л.Шаварда, С.С.Медведев //Физиология растений. – 2013. – Т. 60, № 3. – С. 446-451.
357. Полевой, В.В. Роль ауксина в системах регуляций растений. Монография /В.В.Полевой. - Л.: Наука, 1986. – 80 с.
358. Полевой, В.В. Фитогормоны /В.В.Полевой. – Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1982. – 248 с.
359. Полевой, В.В. Мембранные аспекты действия ауксина /В.В. Полевой // Всесоюзный биохимический съезд: Тез. Докл. – 1985. – Т. 1. – С. 290-291.
360. Пономаренко, С.П. Регуляторы роста растений на основе оксидов производных пиридина (физико-химические свойства и биологическая активность) /С.П.Пономаренко. – Киев: Техник, 1999. – 272 с.
361. Пономаренко, С.П. Регуляторы роста растений /С.П.Пономаренко. – Киев, 2003. – 319 с.
362. Постников, А.В. Химизация сельского хозяйства /А.В.Постников. – М.: Росагропромиздат., 1989. – С. 128-134.
363. Посыпанов, Г.С. Об условиях бобово-ризобиального симбиоза и его роли в формировании урожая бобовых культур /Г.С.Посыпанов //Известия

ТСХА. – 1972. - № 3. – С. 28-37.

364. Посыпанов, Г.С. Белковая продуктивность бобовых культур при симбиотрофном и автотрофном типах питания азотом: пвтореф. дис. ...докт. с.-х. наук /Посыпанов Г.С. – Л., 1979. – 65 с.

365. Посыпанов, Г.С. Методические аспекты изучения симбиотического аппарата бобовых культур в полевых условиях /Г.С.Посыпанов //Известия ТСХА.– 1983. – № 3. – С. 5 – 17.

366. Посыпанов, Г.С. Основные направления исследований по симбиотической азотфиксации /Г.С.Посыпанов //Известия ТСХА. – 1988. – Вып. 5. – С. 101-110.

367. Посыпанов, Г.С. Методы изучения биологической фиксации азота воздуха /Г.С.Посыпанов. - М.: Агропромиздат, 1991. – 300 с.

368. Посыпанов, Г.С. Биологический азот – проблема экологии и растительного белка /Г.С.Посыпанов. – М.: МСХА, 1993. – 268 с.

369. Посыпанов, Г.С. Сорта сои сеерного экотипа (возможные районы возделывания) /Г.С.Посыпанов, Т.П.Кобозева, В.Н.Посыпанова, У.А.Делаев, Е.В.Беляев //Зерновое хозяйство. – 2006. - № 7. – С. 11-14.

370. Посыпанов, Г.С. Соя в Подмоскowie. Сорта северного экотипа для Центрального Нечерноземья и технология их возделывания /Г.С.Посыпанов. - М., 2007. – 200 с.

371. Приходько, О.И. Штаммовые особенности клубеньковых бактерий в связи с их азотфиксирующей активностью: автореф. дисс.... канд. биол. Наук /Приходько О.И. – М., 1976. – 25 с.

372. Проворов, Н.А. Специфичность взаимодействия клубеньковых бактерий и бобовых растений и эволюция бобово-ризобиального симбиоза /Н.А.Проворов //Сельскохозяйственная биология. – 1985. - № 3. – С. 34-37.

373. Проворов, Н.А. Специфичность взаимодействия *Rhizobium meliloti* с бобовыми растениями и её контроль со сторон растения-хозяина: автореф. дис. канд. биол. наук /Проворов Николай Александрович. – Ленинград, 1986. – 16 с.
374. Проворов, Н.А. Внутрисортная изменчивость люцерны по активности симбиоза с *Rhizobium meliloti* /Н.А.Проворов, Б.В.Симаров //Сельскохозяйственная биология. - 1986. - № 3. - С. 37-40.
375. Проворов, Н.А. Происхождение и эволюция бобово-ризобияльного симбиоза /Н.А.Проворов //Изв. АН СССР, сер. биол. – 1991. - № 1. - С. 77-87.
376. Проворов, Н.А. Взаимосвязь между таксономией бобовых и специфичностью их взаимодействия с клубеньковыми бактериями /Н.А.Проворов //Ботанический журнал. – 1992. – Т. 77, № 8. – С. 21-32.
377. Проворов, Н.А. Соотношение симбиотрофного и автотрофного питания азотом у бобовых растений: генетико-селекционные аспекты /Н.А.Проворов //Физиология растений. – 1996. – Т.43. – С. 127-135.
378. Проворов, Н.А. Эволюционная генетика клубеньковых бактерий: молекулярные и популяционные аспекты /Н.А.Проворов, Н.И.Воробьев //Генетика. – 2000. – Т. 36, № 12. – С. 1573-1587.
379. Проворов, Н.А. Генетико-эволюционные основы учения о симбиозе /Н.А.Проворов //Журнал общей биологии. – 2001. – Т. 62, № 6. – 472-495.
380. Проворов, Н.А. Сравнительная генетика и эволюционная морфология симбиозов растений с микробами-азотфиксаторами и эндомикоризными грибами /Н.А.Проворов, А.Ю.Борисов, И.А.Тихонович //Журнал общей биологии. – 2002. – Т. 63, № 6. – С.451-472.
381. Проворов, Н.А. Эколого-генетические принципы селекции растений на повышение эффективности взаимодействия с микроорганизмами /Н.А.Проворов, И.А.Тихонович //Сельскохозяйственная биология. – 2003. - № 3. –

С. 11-25.

382. Проворов, Н.А. Эволюционная генетика микробо-растительного взаимодействия и её практическое значение /Н.А.Проворов, И.А.Тихонович // Экологическая генетика культурных растений: матер. шк. молод. учен.: [ВНИИ риса]. – Краснодар, 2005. – С. 221-231.

383. Проворов, Н.А. Метаболическая интеграция организмов в системах симбиоза /Н.А.Проворов, Е.А.Долгих //Журнал общей биологии. – 2006. – Т.67, №6. – С. 403-422.

384. Проворов, Н.А. Генетические механизмы индивидуальных и кооперативных адаптаций /Н.А.Проворов, С.В.Мыльников //Экологическая генетика. – 2007. – Т.5. – Вып. 1. – С.23-30.

385. Проворов, Н.А. Растительно-микробные симбиозы как эволюционный континуум /Н.А.Проворов // Журнал общей биологии. - 2009. - Т. 70. № 1. С. 10-34.

386. Проворов, Н.А. Генетическая структура интродуцированных и местных популяций *Rhizobium leguminosarum* в системах «растения – почва» /Н.А.Проворов, Е.Е.Андронов, О.П.Онищук, О.Н.Курчак, Е.П.Чижевская //Микробиология. – 2012. – Т.81, № 2. – С. 244-253.

387. Проворов, Н.А. Повышение эффективности симбиотической фиксации азота растениями: молекулярно-генетические подходы и эволюционные модели /Н.А.Проворов //Физиология растений. – 2013. – Т. 60, № 1. – С. 31-37.

388. Проворов, Н.А. Надвидовые генетические системы /Н.А.Проворов, И.А.Тихонович //Журнал Общей биологии. - 2014. - Т. 75, № 4. - С. 247-260.

389. Проворов, Н.А. Адаптивная макроэволюция бобово-ризобияльного симбиоза /Н.А.Проворов //Сельскохозяйственная биология. – 2015. – Т. 50, № 3. – С. 323-331.

390. Проворов, Н.А. Эволюция азотфиксирующих симбиозов, основанная на миграции бактерий из микоризных грибов и почвы в ткани растений /Н.А.Проворов, О.Ю.Штарк, Е.А.Долгих //Журнал Общей биологии. – 2016. – Т. 77, № 5. – С. 329-345.
391. Проворов, Н.А. Эволюция клубеньковых бактерий: реконструкция процессов видообразования, обусловленных перестройками генома в системе симбиоза /Н.А.Проворов, Е.Е.Андронов //Микробиология. – 2016. – Т.85, №3. – С.115-125.
392. Прудникова, О.Н. Участие этилена в индуцированном УФ-В изменении содержания полиаминов в растениях *Arabidopsis thaliana* /О.Н.Прудникова, Т.Я.Ракитина, В.В.Карягин, П.В.Власов, В.Ю.Ракитин //Физиология растений. – 2016. – Т.63, №5. – С. 644-648.
393. Прусакова, Л.Д. Регуляторы роста в растениеводстве /Л.Д.Прусакова //Сельскохозяйственная биология. – 1984. - № 3. – С. 3-11.
394. Прусакова, Л.Д. Ретарданты на зерновых культурах /Л.Д.Прусакова, С.И.Чижова //Химия в сельском хозяйстве. – 1987. - № 10. – С. 33.
395. Прусакова, Л.Д. Влияние хлорхолинхлорида, его смеси с этиленпродуцентами и паклобутразола на рост, устойчивость к полеганию и качество урожая ячменя /Л.Д.Прусакова, С.И.Чижова, Е.Г.Панова //Регуляция жизнедеятельности растений химическими средствами. – Ярославль, 1988. – С. 80-87.
396. Прусакова, Л.Д. Роль brassinosteroidов в росте, устойчивости и продуктивности растений /Л.Д.Прусакова, С.И.Чижова //Агрехимия. – 1996. - № 11. – С. 137-150.
397. Прусакова, Л.Д. Влияние эпинобрасинолида и экоста на засухоустойчивость и продуктивность яровой пшеницы /Л.Д.Прусакова, С.И.Чижова, Л.Ф.Агеева, Е.Н.Голанцева, А.Ф. Яковлев //Агрехимия. – 2000. - №

3. – С. 50-54.

398. Прусакова, Л.Д. Регуляторы роста с антистрессовыми и иммунопротекторными свойствами /Л.Д.Прусакова, Н.Н.Малеванная, С.Л.Белопухов, В.В.Вакуленко //Агрехимия. – 2005. - № 11. – С. 76-86.

399. Прусакова, Л.Д. Применение brassinosteroidов /Л.Д.Прусакова, С.И.Чижова //Агрехимия. – 2005. - № 7. – С. 86-94.

400. Прусакова, Л.Д. Роль фенольных соединений в растениях /Л.Д.Прусакова, В.И. Кефели, С.Л.Белопухов, В.В.Вакуленко, С.А.Кузнецова //Агрехимия. – 2008. - № 7. – С. 86-89.

401. Пузина, Т.И. Гормональная регуляция как основа целостности и продуктивности растительного организма: дис. ...д-ра биол. наук /Пузина Тамара Ивановна. – М., 1999. – 321 с.

402. Пузина, Т.И. Влияние сернокислого цинка и борной кислоты на гормональный статус растений картофеля в связи с клубнеобразованием Т.И.Пузина //Физиология растений. - 2004. - Т. 51, № 2. - С. 234-240.

403. Рабинович, Г.Ю. Применение новых биоудобрений и биопрепаратов при возделывании яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и картофеля (*Solanum tuberosum* L.) /Г.Ю.Рабинович, Н.Г.Ковалев, Ю.Д.Смирнова //Сельскохозяйственная биология. – 2015. – Т.50, №5. – С. 665-672.

404. Ракитин, Ю.В. Химические регуляторы жизнедеятельности растений /Ю.В.Ракитин. – М.: Наука, 1983. – 259 с.

405. Ракитин, В.Ю. Взаимодействие этилена и АБК при регуляции уровня полиаминов у *Arabidopsis thaliana* во время УФ-В стресса /В.Ю.Ракитин, О.Н.Прудникова, Т.Я.Ракитина, В.В.Карягин, П.В.Власов, Г.В.Новикова, И.Е.Мошков //Физиология растений. – 2009. - Т. 56, № 2. – С. 163-169.

406. Рангелова, В.Н. Симбиотическое взаимодействие клубеньковых

бактерий клевера и гороха с растением хозяином: автореф. дис. ... канд. биол. Наук /Рангелова В.Н. – Киев., 1982. – 24 с.

407. Рапопорт, И.А. Значение генетически активных соединений в фенотипической реализации признаков и свойств /И.А.Рапопорт //Химический мутагенез в селекционном процессе. – М.: Наука, 1987. – С. 3-55.

408. Рапопорт, И.А. Действие ПАБК в связи с генетической структурой /И.А.Рапопорт //Химические мутагены и пара-аминобензойная кислота в повышении урожайности сельскохозяйственных растений /И.А.Рапопорт. – М.: Наука, 1989. – С. 3-37.

409. Ремпе, Е.Х. Влияние корневой микрофлоры на высшее растение: автореф. дис. ... доктора биол. наук /Ремпе Е.Х. – Киев, 1972. – 45 с.

410. Ремпе, Е.Х. Регуляторы роста растений как фактор снижения негативного действия пестицидов /Е.Х.Ремпе, Л.П.Воронина, Л.К.Батурина //Агрехимия. - 1999. - № 3. - С.64-69.

411. Ринькис, Г.Я. Оптимизация минерального питания растений /Г.Я.Ринькис. – Рига: Зинатис, 1972. – 355 с.

412. Рожнова, Н.А. Активирование витамином Е антифитовирусной устойчивости и изменений в системе фитогормонов растений картофеля /Н.А.Рожнова, Г.А.Герашенков //Агрехимия. – 2013. - № 1. – С. 56-63.

413. Розов, Ф.Н. Азотфиксирующие симбиозы в природных сообществах: сохранение в сложных экологических условиях /Ф.Н. Розов, А.Ф.Топунов // Биотич. регуляция окружающей среды. – Гатчина. – 1998. – С. 219-221.

414. Романко, Е.Г. Гормональная регуляция экспрессии генома растений /Е.Г.Романко, С.Ю.Селиванкина, О.Н.Кулаева // У Всесоюзн. съезд.: Тез. докл. – М., 1985. – Т. 1. – С. 291.

415. Романов, В.И. Связь между содержанием поли-β-оксимасляной

кислоты в бактериоидах их дыханием и азотфиксацией /В.И.Романов, О.А.Юшкова, В.Л.Кретович. – ДАН СССР., 1974. – Т. 216, № 3. – С. 694-697.

416. Романов, В.И. Физиологическая роль и метаболизм ПОМ у микроорганизмов /В.П.Романов //Успехи биол. химии. – 1977. – Т. 18. – С. 211-230.

417. Романов, В.И. Энергетика симбиотической азотфиксации у бобовых и её связь с фотосинтезом /В.И.Романов //Молекулярные механизмы усвоения азота растениями. – М.: Наука, 1983. – 92 с.

418. Романов, В.И. Азотфиксация и метаболизм фотоассимилятов в клубеньках бобовых растений: автореф. дис. д-ра. биол. наук /Романов В.И.– М., 1987. – 46 с.

419. Романов, В.И. Азотфиксация у хлорофилльных мутантов гороха /В.И.Романов, С.А. Четкова, И.А.Тихонович, С.М.Алисова, В.Л.Кретович //Докл. АН СССР. – 1987. – Т. 294. – С. 1277-1280.

420. Романов, В.И. Азотфиксация и динамика поступления ¹⁴C ассимилированного листьями в клубеньки хлорофилльных мутантов гороха /В.П.Романов, С.А. Четкова, И.А.Тихонович и др. //Физиология растений. – 1987. – Т. 34, № 3. – С. 486-491.

421. Романов, Г.А. Рецепторы фитогормонов /Г.А.Романов //Физиология растений. – 2002. – Т. 49. – С. 615-625.

422. Романов, Г.А. Как цитокинины действуют на клетку /Г.А.Романов //Физиология растений – 2009 - Т. 56, № 2. – С. 295-319.

423. Рудавина, Е.В. Особенности взаимодействия вики мохнатой и клубеньковых бактерий в различных экологических условиях: автореф. дис. ... канд. с-х. наук /Рудавина Е.В. – Воронеж, 2005. – 22 с.

424. Русин, Г.Г. Физико-химические методы анализа в агрохимии

/Г.Г.Русин. - М.: ВО Агропромиздат, 1990. – 304 с.

425. Русаков, В.В. Влияние условий возделывания сои на формиование клубеньков и их активность. – В сб.: Биология, селекция и генетика сои /В.В.Русаков, В.Т.Николаев. – Новосибирск, 1998. – С. 134-143.

426. Румянцева, М.Л. Отбор солеустойчивых растений разных видов люцерны (*Medicago* L.) и анализ их морфологических и симбиотрофных показателей /М.Л.Румянцева, Г.В.Степанова, О.Н.Курчак, О.П.Онищук, В.С.Мунтян, Е.А.Дзюбенко, Н.И.Дзюбенко, Б.В.Симаров //Сельскохозяйственная биология. – 2015. – Т.50, №5. – С. 673-684.

427. Сабельникова, В.И. Биологически активные вещества клубеньковых бактерий /В.И.Сабельникова. – Кишнев: Штиинца, 1979. – 142 с.

428. Сабельникова, В.И. Симбиотическая азотфиксация и её физиолого-биохимические основы /В.И.Сабельникова //Изв. АН МССР. Сер. Биол. и хим. Науки. – 1979. - № 6. – С. 12-20.

429. Сабельникова, В.И. Основные закономерности стимулирующего действия *Rhizobium* на процессы роста бобовых растений и эффективность бактериализации в агроэкологических условиях Молдовской ССР: автореф. дис.... д-ра биол. Наук /Сабельникова В.И. – Киев, 1983. – 48 с.

430. Санди-Сар, С. Совместное влияние гибберелловой и аскорбиновой кислот на перекисное окисление липидов и антиокислительных ферментов в проростках сои при обработке никелем /С. Санди-Сар, Р.А.Хавари-Неджд, Х.Фахими и др. //Физиология растений. – 2007. – Т. 54, № 1. – С. 85-91.

431. Сергеев, П.В. Стероидные гормоны /П.В.Сергеев. – М.: Наука, 1985. – 303 с.

432. Серова, Т.А. Старение симбиотического клубенька у бобовых растений: молекулярно-генетические и клеточные аспекты (обзор) /Т.А.Серова, В.Е.Цыганов //Сельскохозяйственная биология. - 2014. - № 5. - С. 3-15.

433. Сигута, В.А. Идентификация клубеньковых бактерий равной степени эффективности: (цитохимические исследования): дисс. ... канд. биол. Наук /Сигута В.А. – М., 1978. – 110 с.
434. Сидорова, К.К. Использование мутантов для выявления генов, контролирующих симбиотические признаки у гороха /К.К.Сидорова, Л.П.Ужинцева //Генетика. – 1992. – Т. 28, № 4. – С. 144-151.
435. Сидорова, К.К. Генетика симбиотической азотфиксации и основы селекции для самоопыляющихся бобовых культур (на примере *Pisum sativum* L.) /К.К.Сидорова, В.К.Шумный //Генетика.- 1999. - Т. 35, № 11. — С.1550-1557.
436. Сидорова, К.К. Создание и генетическое изучение коллекции симбиотических мутантов гороха (*Pisum sativum* L.) /К.К. Сидорова, В.К.Шумный //Генетика растений – 2003. – Т.39, №.4 – С. 501-509.
437. Сидорова, К.К. Симбиотическая фиксация атмосферного азота у бобовых растений как генетико-селекционный признак /К.К.Сидорова, М.В.Глянько, Т.М.Мищенко, Е.Ю.Власова, В.К.Шумный //Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2015. - 19(1). – С. 50-57.
438. Симаров, Б.В. Генетические основы бобово-ризобияльного симбиоза /Б.В.Симаров, И.А.Тихонович // Минеральный и биологический азот в земледелии СССР. – М., 1985. – С. 165.
439. Симаров, Б.В. Молекулярно-генетические основы селекции штаммов клубеньковых бактерий с повышенной азотфиксирующей активностью и эффективностью: автореф. дис.... д-ра биол. наук /Симаров Б.В. - Л., 1988. – 30 с.
440. Симаров, Б.В. Генетические основы селекции клубеньковых бактерий /Б.В.Симаров, А.А.Аронштам, Н.И.Новикова и др. - Л.: Агропромиздат, 1990. – 192 с.
441. Синеговская, В.Т. Оптимизация симбиотической и фотосинтетической

деятельности посевов сои в условиях Приамурья: автореф. дис.... д-ра с.-х. наук /Синеговская В.Т. – 2002. – 43 с.

442. Синеговская, В.Т. Посевы сои в Приамурье как фотосинтезирующие системы. Благовещенск /В.Т.Синеговская. - 2005. – 180 с.

443. Скоробогатова, И.В. Изменение содержания фитогормонов в проростках ячменя в онтогенезе и при внесении регуляторов, стимулирующих рост /И.В.Скоробогатова, Е.В.Захарова, Н.П.Карсункина и др. //Агрехимия. - 1999. - № 8. - С. 49-53.

444. Соколова, М.Г. Участие цитокининов в развитии бобово-ризобиального симбиоза при пониженной температуре /М.Г.Соколова, Г.П.Акимова, Л.В.Нечаева //Агрехимия. - 2005. - № 5. - С.66-70.

445. Соколова, М.Г. Влияние на растения фитогормонов, синтезируемых ризосферными бактериями /М.Г.Соколова, Г.П.Акимова, О.Б.Вайшля // Прикладная биохимия и микробиология. - 2011. - Т. 47, № 3. - С. 302-307.

446. Соловьев, С.В. Влияние регуляторов роста растений на урожайность сахарной свеклы /С.В.Соловьев, А.И.Гераськин //Агрехимия. - 2012. - № 4. - С. 43-50.

447. Спайнк, Г. *Rhizobiacea*. Молекулярная биология бактерий, взаимодействующих с растениями /Г.Спайнк, А. Кондороши, П.Хукас / Под ред. И.А. Тихоновича, Н.А. Проворова. – СПб: ИПК Бионт, 2002. – 568 с.

448. Спиридонова, Е.М. Система олигонуклеотидных праймеров для ампликации генов рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы-оксигеназы у бактерий различных таксономических групп /Е.М.Спиридонова, И.А. Берг, Т.В.Колганова, Р.Н.Ивановский, Б.Б.Кузнецов, Т.П.Турова // Микробиология. – 2004. - № 3. – С. 377-387.

449. Список пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации //Прилож. к журн. «Защита и карантин

растений». - 2014. - № 4. - 691 с.

450. Справочник пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации. – М.: Изд-во Агрорус, – 2007. – 399 с.

451. Старченков, Е.П. Нитрогеназа симбиотических систем люпин – *Rhizobium lupini* различной эффективности: автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Старченко Е.П. – М., 1983. – 42 с.

452. Старченков, Е.П. Проблема симбиотической азотфиксации: народнохозяйственное значение, достижения, перспективы исследований /Е.П.Старченков //Физиология и биохимия культурных растений. – 1996. - № 1 - 2. – С. 36-52.

453. Стоянова, Ю.С. Рост, фиксация азота и транспирация растений сои. Влияние температуры корней /Ю.С.Стоянова //Физиология растений. – 1997. – Т.44, № 3. – С. 413-419.

454. Сулимов, В.В. Продукционный процесс перспективных сортов сои и люпина и его оптимизация с использованием регуляторов роста и развития: автореф. дис.... канд. с-х. наук /Сулимов В.В. – Орел, 2009. – 22 с.

455. Сытников, Д.М. Продуктивность симбиоза *Glycine max-Bradyrhizobium japonicum* при модификации активности клубеньковых бактерий экзогенными белками /Д.М.Сытников, Д.А.Киризий, С.М.Маличенко, С.Я.Коць // Физиология растений. - 2007. - Т. 54, № 3. - С. 416-423.

456. Тагиев, В.Д. Азотфиксирующая активность клубеньковых бактерий гороха и люцерны в зависимости от влияния различных ростовых веществ: автореф. дис. ... канд. биол. наук /Тагиев В.Д. - Баку, 1966. - 21с.

457. Тарасенко, А.А. Образование биологически активных веществ эпифитных микроорганизмов и их влияние на рост высших растений /А.А.Тарасенко // Регуляция микробиологических процессов в почвах. – Рига.:

Зинате, 1981. – С. 32-38.

458. Тараховская, Е.Р. Фитогормоны водорослей /Е.Р.Тараховская, Ю.И. Маслов, М.Ф.Шишова //Физиология растений. - 2007. - Т. 54, № 2. - С. 186-194.

459. Тарчевский, И.А. Сигнальные системы клеток растений /И.А.Тарчевский. – М.: Наука, 2002. – 296 с.

460. Терещенкова, Е.П. Регуляторы роста растений для Северо-Запада России /Е.П. Терещенкова, С.А.Доброхотов // Сел.-хоз. Вестн. - 2010. - № 1. - С. 38-40.

461. Тильба, В.Н. Использование штаммов ризобий сои для стимулирования роста и оздоровления сельскохозяйственных культур /В.Н.Тильба, С.А. Бегун, М.В.Якименко //Вестник Российской академии с.-х. наук. – 2005. - № 5. – С. 28- 30.

462. Тильба, В.А. Проблемы химического протравливания и бактеризации семян сои в Амурской области /В.А.Тильба, Н.В.Мащенко, Н.В.Бегун //Доклады РАСН. – 2011. - № 1 – С. 16-20.

463. Тимейко, Л.В. Влияние эпибрассинолида и этихола на термоустойчивость и формирование продуктивности *Cucumis sativus* L.: автореф. дис. ... канд. биол. наук /Тимейко Л.В. – Петрозаводск, 2003. – 22 с.

464. Тимергалина, Л.Н. Содержание гормонов, водный обмен и рост листьев растяжением у растений пшеницы при повышении освещенности /Л.Н.Тимергалина, Л.Б.Высоцкая, С.Ю.Веселов, Г.Р.Кудоярова //Физиология растений. - 2007. - Т.54, № 5. - С. 715-721.

465. Тихонович, И.А. Азотфиксация и фотоассимиляты в клубеньках хлорофильных мутантов гороха /И.А.Тихонович, В.И.Романов, С.М.Алисова и др. //Генетика. – 1985. – Т. 21, № 5. – С. 1021.

466. Тихонович, И.А. Повышение эффективности симбиотической

азотофиксации за счёт использования генетических факторов высшего растения /И.А.Тихонович //Симбиотрофные азотфиксаторы и их использование в сельском хозяйстве. - Киев, 1987. - С. 6-7.

467. Тихонович, И.А. Генетический контроль симбиотической азотфиксации у гороха (*Pisum sativum* L.): дисс. ... докт. биол. наук /Тихонович Игорь Анатольевич. – Санкт-Петербург, 1991. – 240 с.

468. Тихонович, И.А. Генетика симбиотической азотфиксации с основами селекции /И.А.Тихонович, Н.А.Проворов. - СПб.: Наука, 1998. - 194 с.

469. Тихонович, И.А. Создание высокоэффективных микробно-растительных систем /И.А.Тихонович //Сельскохозяйственная биология. - 2000. - № 1. – С. 28- 33.

470. Тихонович, И.А. Интеграция генетических систем растений и микроорганизмов при симбиозе /И.А. Тихонович, А.Ю.Борисов, В.Е.Цыганов и др. //Доклады РАСХН. - 2004. - № 3. - С. 58-62.

471. Тихонович, И.А. Интеграция генетических систем растений и микроорганизмов при симбиозе /И.А.Тихонович, А.Ю.Борисов, В.Е.Цыганов, А.О.Овцына, Е.А.Долгих, Н.А.Проворов //Успехи современной биологии. - 2005. - Т. 125, № 3. - С. 227 – 238.

472. Тихонович, И.А. Биопрепараты в сельском хозяйстве (методология и практика применения микроорганизмов в растениеводстве и кормопроизводстве) /И.А.Тихонович, А.П.Кожемяков, В.К.Чеботарь, Ю.В.Круглов, Н.В.Кандыбин, Г.Ю.Лаптев. - М.: Россельхозакадемия, 2005. – 154 с.

473. Тихонович, И.А. Принципы селекции растений на взаимодействие с симбиотическими микроорганизмами /И.А.Тихонович, Н.А.Проворов //Вестник ВОГиС. - 2005. - Т.9, № 3. - С. 295-305.

474. Тихонович, И.А. Кооперация растений и микроорганизмов: новые подходы к конструированию экологически устойчивых агросистем

/И.А.Тихонович, Н.А.Проворов //Успехи современной биологии. - 2007. - Т. – 127, № 4. - С. 339-357.

475. Тихонович, И.А. Симбиозы растений и микроорганизмов: молекулярная генетика агросистем будущего /И.А.Тихонович, Н.А.Проворов. – С.-Петербург: Изд-во СПбГУ, 2009. – 210 с.

476. Тихонович, И.А. Корневые выделения как важный фактор формирования наномолекулярных структур ризосферы /И.А.Тихонович, Л.В.Кравченко, А.И.Шапошников //Доклады РАСН. – 2011. - № 1 – С. 25-27.

477. Топунов, А.Ф. Функционирование леглобина и регуляция кислородного режима в клубеньках бобовых: автореф. Дис д-ра биол. наук /Топунов Александр Фёдорович. – М, 1996. – 46 с.

478. Трекозова, А.В. Влияние дефицита фосфора на соотношение масс корень/побег, удлинение и ветвление корней и содержание гормонов в растениях арабидопсиса /А.В.Трекозова, Г.Р.Ахиярова, Л.Б.Высоцкая, С.Ю.Веселов, Г.Р.Кудоярова //Агрехимия. – 2015. - № 8. – С. 32-38.

479. Трепачев, Е.П. Биологический азот в питании озимых культур /Е.П.Трепачев //Химизация сельского хозяйства. – 1990. - № 2. – С. 4-9.

480. Трепачев, Е.П. Симбиотическая азотфиксация как фактор экологической безопасности и плодородия почвы /Е.П.Трепачев, – 1989. – 240с.

481. Трепачев, Е.П. Агрехимические аспекты биологического азота в современном земледелии /Е.П.Трепачев. - М.: ВИУА, 1999. - 532 с.

482. Троицкая, Г.Н. Каталазная активность клубеньков бобовых с уреидным и амидным типом азотного обмена /Г.Н.Троицкая, Г.Я.Жизневская, С.Ф.Измайлов //Физиология растений. – 2000. – Т. 47, № 6. – С. 821-828.

483. Троян, Т.Н. Формирование эффективного бобово-ризобияльного симбиоза и его роль в повышении продуктивности агроэкосистем: автореф. дис.

... степени канд. биол. наук /Троян Т.Н. – Калининград, 2010. – 20 с.

484. Тюрин, С.А. Бактериородопсин как стимулятор роста и развития растений /С.А.Тюрин, Ю.Г.Грицевич, Д.А.Складнев, А.А.Ходонов //Агрохимия. – 2009. - № 6. – С. 32-39.

485. Тютюрев, С.Л. Физиолого-биохимические основы управления стрессоустойчивости растений в адаптивном растениеводстве /С.Л.Тютюрев //Вестн. защиты растений. - 2000. - № 1. - С. 11-34.

486. Уоринг, Ф. Рост растений и дифференцировка /Ф. Уоринг, И.Филипс. – М., 1984. – 512 с.

487. Федоров, С.Н. Получение мутантов клубеньковых бактерий люцерны с измененными симбиотическими свойствами под действием УФ-излучения: автореф. дис...канд. биол. наук /С.Н.Федоров. – Ленинград, 1987. – 16 с.

488. Федорова, М.Ю. Влияние бактериальных и растительных мутаций, блокирующих симбиотическую азотфиксацию, на активность аспараттрансферазы в клубеньках гороха (*Pisum sativum* L) /М.Ю.Федорова, Е.В.Моржина, А.А.Филатов и др. //Физиология растений. – 1995. – Т. 42, № 2. – С.227-234.

489. Фёдорова, Е.Э. Фитогормоны в азотфиксирующих клубеньках бобовых растений /Е.Э. Фёдорова, Г.Я.Жизневская, Ж.П.Альжаппарова, С.Ф.Измайлов //Физиология и биохимия культурных растений. – 1990. – Т. 23. – С. 426-438.

490. Фёдорова, Е.Э. Метаболизм ИУК при установлении симбиоза между *Phaesolus vulgaris* и *Rhizobium phaseoli* /Е.Э. Фёдорова, Г.Я.Жизневская, З.В.Калиберная //Физиология растений. - 2000. - Т. 47, № 2. - С.231-235.

491. Федорова, З.С. Влияние регуляторов роста на симбиотическую активность и семенную продуктивность сои: автореф. канд. с.-х. наук /Фёдорова З.С. – М., 2000. – 17 с.

492. Федина, Е.О. Влияние эпибрасинолида на фосфорилирование по тирозину некоторых ферментов цикла Кальвина /Е.О.Федина, Ф.Г.Каримова, И.А.Тарчевский, И.Ю.Торопыгин, В.А.Хрипач //Физиология растений. – 2008. – Т. 55, №2. – С. 210-218.
493. Федина, Е.О. Влияние 24-эпибрасинолида на фосфорилирование по тирозину у гороха после действия засоления /Е.О.Федина //Физиология растений. – 2013. – Т. 60, № 3. – С. 360-368.
494. Фесенко, А.Н. Роль генотипа сорта гороха (*Pisum sativum* L.) и штамма *Rhizobium leguminosarum* в определении эффективности образуемого симбиоза /А.Н.Фесенко, Н.А. Проворов, И.Ф. Орлова //Генетика. - 1994. - № 5. - С.823-827.
495. Фесенко, А.Н. Селекция высокоэффективных штаммов *Rhizobium leguminosarum biovar viciae* и анализ их взаимодействия с различными сортами гороха: автореф. дис. ... канд. биол. наук /Фесенко А.Н. – СПб., 1993. – 16 с.
496. Франке, Р. Теоретические методы оптимизации поиска биологически активных соединений /Р.Франке, А.Барт, П.Озме //Механизм действия гербицидов и синтетических регуляторов роста растений и их судьба в биосфере: Материалы X Междунар. симпозиума. – Пушино, 1975. – Ч. 1. – С. 121-127.
497. Харченко, Г.Л. Особенности действия биостимулятора стимунол ЕФ при предпосевной обработке семян сои /Г.Л.Харченко, Т.А.Рябчинская, Н.А.Саранцева, И.Ю.Бобрешова И.Ю. //Агрохимия. - 2014. - № 10. - С. 64-71.
498. Хайруллин, Р.М. Повышение активности анионных форм пероксидазы пшеницы при септориозе и возможное участие фитогормонов ИУК и АБК в этом процессе /Р.М.Хайруллин, И.В. Максимов, З.Р.Юсупова //Микология и фитопатология. – 2001. – Т. 35, № 3. – С. 47-53.
499. Хайят, Ш. Взаимодействие окиси азота и брасиностероидов при их влиянии на фотосинтез и антиоксидантную систему томата /Ш. Хайят, С. Ядав,

Б.Али, А.Ахмад // Физиология растений – 2010. - № 2. – С. 224-233.

500. Хмель, И.А. Quorum-sensing-регуляция экспрессии генов: фундаментальные и прикладные аспекты, роль в коммуникации бактерий /И.А.Хмель //Микробиология. – 2006. – Т.73, №4. – С. 457-464.

501. Хохлов, А.С. Низкомолекулярные микробные ауторегуляторы /А.С.Хохлов. - М.: Наука, 1988. – 272 с.

502. Храмой, В.К. Белковая и масличная продуктивность сортов сои в условиях Центрального района Нечерноземной зоны /В.К.Храмой, Т.Б.Сихарулидзе // Международная научно-практическая конференция «Аграрные проблемы соеосеющих территорий Азиатско-Тихоокеанского региона». – Благовещенск, 2011. - С. 128-130.

503. Хрипач, В.А. Брассиностероиды /В.А. Хрипач, Ф.А.Лахвич, В.А.Жабинский. – Минск: Наука и техника, 1993. – 286 с.

504. Хрипач, В.А. Перспективы практического применения брассиностероидов – нового класса фитогормонов /В.А.Хрипач, В.А.Жабинский, Ф.А.Лахвич // Сельскохозяйственная биология. – 1995. - № 1. – С. 3-11.

505. Хрусталева, Л.И. Фиторегуляторы и их влияние на геном растений. В сб. Сельскохозяйственная биотехнологии. Избранные работы /Л.И. Хрусталева. – М., 2000. – Т. 1. – С.158 – 169.

506. Цавкелова, Е.А. Гормоны и гормонподобные соединения микроорганизмов /Е.А.Цавкелова, С.Ю.Климова, Т.А.Чердынцева, А.И.Нетрусов //Прикладная биохимия и микробиология. – 2006. – Т. 42, № 3. – С. 261-268.

507. Цавкелова, Е.А. Микроорганизмы – продуценты стимуляторов роста растений и их практическое применение (обзор) /Е.А.Цавкелова, С.Ю.Климова, Т.А.Чердынцева, А.И.Нетрусов //Прикладная биохимия и микробиология. – 2006. – Т. 42, № 2. – С. 133-143.

508. Цыганова, А.В. Клеточные механизмы развития симбиотических клубеньков у бобовых растений /А.В.Цыганова, А.Б.Китаева, Н.Дж.Бревин, В.Е.Цыганов // Сельскохозяйственная биология. – 2011. - № 3. – С. 34-40.
509. Цыганова, А.В. Роль поверхностных компонентов ризобий в симбиотических взаимодействиях с бобовыми растениями /А.В.Цыганова, В.Е.Цыганов //Успехи современной биологии. – 2012. – Т. 132, № 2. – С. 211-222.
510. Цыганова, А.В. Негативная гормональная регуляция развития симбиотических клубеньков. Сообщение 1. Этилен (обзор). /А.В.Цыганова, В.Е.Цыганов //Сельскохозяйственная биология. – 2015. – Т. 50, № 3. – С. 267-277.
511. Чайлахян, М.Х. Роль регуляторов роста в жизни растений и в практике сельского хозяйства /М.Х.Чайлахян //Укр. ботан. ж. – 1982. – Т. 32, № 3. – С. 130.
512. Чайлахян, М.Х. Фитогормоны и фитотехника. О регуляторах роста растений /М.Х.Чайлахян //Агрехимия. - 1983. - № 12. - С. 105-110.
513. Чайлахян, М.Х. Рекомендации по применению регулятора роста хлорхолинхлорида в растениеводстве /М.Х.Чайлахян, Л.Д.Прусакова, Ю.А.Вяткин и др. – М.: Агропромиздат., 1985.
514. Чайлахян, М.Х. Регуляция цветения высших растений /М.Х.Чайлахян. – М.: Наука, 1988. – 560 с.
515. Чан, Минь Куан. Стимуляция прорастания семян гороха (*Vigna cylindrica skeels*) с помощью индукторов биотической и абиотической природы /Чан, Минь Куан, М.А.Егоров //Естественные науки. – 2010. - № 2(31). – С.104-109.
516. Чекалин, Н.М. Генетические основы селекции зернобобовых культур на устойчивость к патогенам /Н.М.Чекалин. – Полтава: «Інтерграфіка», 2003. – 186 с.

517. Черемисов, Б.М. Селекция бобовых растений и клубеньковых бактерий на интенсификацию их симбиоза /Б.М.Черемисов. – М., 1985. – 105 с.

518. Четкова, С.А. Выделение и исследование штаммов *Rhizobium leguminosarum*, эффективных на горохах афганского происхождения /С.А.Четкова, И.А.Тихонович //Микробиология. – 1986. – Т.22, Вып. 3. – С. 143-147.

519. Чижова, С.И. Содержание абсцизовой кислоты и рост растений ярового ячменя под действием триазолов /С.И. Чижова, В.В.Павлова, Л.Д.Прусакова //Физиология растений. - 2005. - Т. 52, № 1. - С. 198 – 119.

520. Чундерова, А.И. О взаимоотношениях клубеньковых бактерий с растением-хозяином и перспективах повышения эффективности симбиоза /А.И.Чундерова //Сб. науч. тр. ВНИИ с.-х. микробиологии. – Л., 1980. - Т.50. - С.7-29.

521. Шабаев, В.П. Урожай сои и содержание в растениях «биологического» азота при применении клубеньковых бактерий с ризосферными псевдомонадами или эндомикоризными грибами и локальном внесении азотного удобрения /В.П. Шабаев, В.Ю.Смолин //Агрохимия. - 1992. - № 10. – С. 9-17.

522. Шабаев, В.П. Урожай сои и содержание в растениях биологического азота при применении клубеньковых бактерий с ризосферными псевдомонадами или эндомикоризными грибами и локальном внесении азотного удобрения /В.П.Шабаев //Агрохимия. – 1997. - № 10. – С. 28-32.

523. Шабаев, В.П. Роль биологического азота в системе «почва-растение» при внесении ризосферных микроорганизмов: автореф. дис. ... д-ра биол. Наук /Шабаев В.П. – М.: МГУ, 2004. – 48 с.

524. Шабаев, В.П. Минеральное питание и продуктивность люцерны при инокуляции смешанными культурами бактерий /В.П.Шабаев //Агрохимия. -

2006. - № 9. - С. 24-32.

525. Шабаев, В.П. Азотное питание и продуктивность растений гороха и овса при инокуляции бактерией *Pseudomonas fluorescens* 20 /В.П.Шабаев //Агрохимия. - 2006. - № 10. - С. 28-32.

526. Шабаев, В.П. Симбиотическая азотфиксация при инокуляции сои клубеньковыми бактериями с ризосферными псевдомонадами в зависимости от уровня фосфорного питания /В.П.Шабаев, В.Ю.Смолин //Агрохимия. - 1993. - № 6. - С. 21-28.

527. Шакирова, Ф.М. Связь между действием цитокинина на рост изолированных семядолей тыквы и синтезом в них РНК и белка /Ф.М.Шакирова, К.Конрад, Н.Л.Клячко, О.Н.Кулаева //Физиология растений. – 1982. – Т. 29, Вып. 1. – С. 52-61.

528. Шакирова, Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и её регуляция /Ф.М.Шакирова. - Уфа: Гилем, 2001. - 160 с.

529. Шаповалова, А.А. Отечественные регуляторы роста растений /А.А.Шаповалова, Н.Ф.Зубкова //Агрохимия. – 2003. - № 11. – С. 33-47.

530. Шарипова, Г.В. Влияние ингибитора рецепции этилена на рост, водный обмен и содержание абсцизовой кислоты у растений пшеницы при дефиците воды Г.В.Шарипова, Д.С.Веселов, Г.Р.Кудоярова, М.Д.Тимергалин, S. Wilkinson// Физиология растений. – 2012. – Т. 59. – С. 619-626.

531. Шатилова, Т.И. Препараты фиторегуляторов в производстве и формировании качества зерновых культур /Т.И.Шатилова, Я.П. Герчиц, А.А.Бобков и др. //Известия ТСХА. – 2007. – В. 3. – С. 75-82.

532. Шевелуха, В.С. Влияние картолина на засухоустойчивость ячменя В.С.Шевелуха, Г.Н. Ланбанович // Тез. респуб. конф. – Целиноград. – 1984. – С. 15.

533. Шерстобоева, Е.В. Биопрепараты азотфиксирующих бактерий: проблемы и перспективы применения /Е.В. Шерстобоева, И.А.Дудинова, С.Н.Крамаренко, Н.К.Шерстобоев //Микробиологический журнал. – 1997. – Т. 59, № 4. – С. 109-117.

534. Шильникова, В.К. Влияние гетероауксина на инокуляцию и симбиотическую азотфиксацию бобовых /В.К.Шильникова, В.Д.Тагиев //Сельскохозяйственная биология. - 1969. - Т. 4, № 2. - С. 255 – 260.

535. Шильникова, В.К. Анатомия и закономерности развития клубеньковых бактерий в симбиозе с растением и в условиях искусственной питательной среды: автореф. дис....доктора биол. наук /Шильникова Викторина Кузьминична.– М., 1970 – 24 с.

536. Шильникова, В.К. Приживаемость клубеньковых бактерий в ризосфере клевера в начальные этапы инфицирования /В.К.Шильникова // Известия ТСХА.– 1975 – В.6. - С. 19-28.

537. Шильникова, В.К. Эффективность инокуляции семян гороха при обработке растений синтетическими регуляторами роста /В.К. Шильникова, О.Г. Волобуева, Г.П.Гурьев //Известия ТСХА. – М. – 1992. – В. 1 – С. 85-91.

538. Шильникова, В.К. Симбиотическая активность и урожайность растений гороха под влиянием синтетических регуляторов роста /В.К.Шильникова, О.Г.Волобуева, Г.П.Гурьев // Сб. тезисов докладов IV всесоюзной конференции «Микроорганизмы в сельском хозяйстве», Пушкино, 1992. – С. 212-213.

539. Широких, А.А. Изучение микробного потенциала фитосферы растений для использования в сельскохозяйственной биотехнологии: автореф. дис....доктора биол. наук /Широких А.А. – Киров. – 2007. – 48 с.

540. Штарк, О.Ю. Анализ исходного материала гороха посевного (*Pisum sativum* L.) для селекции сортов с высоким симбиотическим потенциалом и

выбор параметров для его оценки /О.Ю.Штарк, Т.Н.Данилова, Т.С.Наумкина и др. //Экологическая генетика. - 2006. - Т. 4, №5. - С. 36-41.

541. Шурхно, Р.А. Микробиологический статус микрофлоры ризосферы многолетних бобовых трав как критерий оценки и прогноза состояния почвы /Р.А.Шурхно, О.Л.Шайтанов, Р.Г.Гареев, Р.П.Наумова //Сельскохозяйственная биология. – 2004. - № 12. – С. 11-21.

542. Шумный, В.К. Биологическая фиксация азота /В.К.Шумный. – 1985.- 270 с.

543. Эйгес, Н.С. Влияние ПАБК на сорта озимой пшеницы в условиях производственного опыта /Н.С.Эйгес //Химические мутагены и парааминобензойная кислота в повышении урожайности сельскохозяйственных растений. – М.: Наука, 1989. – С. 62.

544. Эль-Регистан, Г.И. Адаптогенные функции внеклеточных ауторегуляторов микроорганизмов /Г.И.Эль-Регистан, А.Л. Мулюкин, Ю.А.Николаев, Н.Е.Сузина, В.Ф. Гальченко, В.И.Дуда //Микробиология. – 2006. – Т.73, № 4. – С. 446-456.

545. Ягодин, Б.А. Теоретические основы фиксации молекулярного азота и роль биологического азота в земледелии СССР (лекция) /Б.А.Ягодин. – М., 1981. – С. 4-40.

546. Якименко, М.В. Изменение свойств клубеньковых бактерий сои родов *Bradyrhizobium* и *Sinorhizobium* Амурской селекции под воздействием экологических факторов: автореф. дис.... канд. биол. наук /Якименко М.В. – Благовещенск, 2006. – 23 с.

547. Яковлева, З.М. Бактероиды клубеньковых бактерий /З.М.Яковлева – Новосибирск: Наука, Сиб. отд., 1975. – 172 с.

548. Яковлева, З.М. Строение инфекционных нитей в клубеньках бобовых растений /З.М.Яковлева, Н.Я. Гордиенко, Г.Г. Майстренко // Изв. АН СССР,

сер. биол. – 1975. – Т. 5. – С. 774-780.

549. Яковлева, З.М. Структурные и функциональные связи высших растений и микроорганизмов /З.М.Яковлева. – Н.: Наука, 1977. – С. 3-16.

550. Яковлев, Г.П. Бобовые земного шара /Г.П.Яковлев. – Л.: Наука, 1991. – 144 с.

551. Якушкина, Н.И. Особенности гормонального регулирования роста и развития растений / Рост растений и пути его регулирования /Н.И.Якушкина. - Межвузовский сборник научных трудов. – М. – 1980. – С. 3-12.

552. Якушкина, Н.И. Энергетический обмен и рост растений. /Особенности гормонального регулирования процессов обмена и темпов роста растений /Н.И.Якушкина. - М.: Изд-во МОПИ, 1983. - С. 3 – 11.

553. Якушкина, Н.И. Роль фитогормонов в адаптации растений к условиям среды // Гормональная регуляция ростовых процессов /Н.И.Якушкина. – М., 1985. – С. 3-8.

554. Якушкина, Н.И. Физиологические особенности гормональной регуляции роста растений на разных этапах онтогенеза и в различных условиях среды //Влияние антропогенных факторов на функционирование биоценозов и их отдельные компоненты /Н.И.Якушкина. - М.: МГОУ. - 2005. - С. 5-42.

555. Яронская, Е.Б. Влияние кинетина на активность начальных этапов биосинтеза хлорофилла в обработанных стрептомицином проростках ячменя /Е.Б.Яронская, Е.Р.Грицкевич, Н.Л.Трухановец, Н.Г.Аверина //Физиология растений. - 2007. - Т. 54, № 3. С. 440-448.

556. Ярцев, А.М. Влияние внешних условий на эффективность бобово-ризобиального симбиоза /А.М.Ярцев, В.Л.Бабенков //Материалы Международной молодежной научно-практической конференции / Белгор. гос. ун-т. – Белгород. – 2006. – С. 183-187.

557. Яхин, О.И. Изменения в содержании цитокининов, ауксина и абсцизовой кислоты в проростках пшеницы при действии регулятора роста стифуна /О.И.Яхин, А.А.Лубянов, И.А.Яхин //Физиология растений. - 2012. - Т. 59, № 3. - С. 436-443.
558. Ali ,B. 28-Homobrassinolide Ameliorates the Saline Stress in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) / B. Ali, S. Ahmad Hayat //Environ. Exp. Bot. – 2007. – V. 59. – P.217- 223.
559. Alunni, B. Genomic Organization and Evolutionary Insights on GRP and NCP Genes, Two Large Nodule-Specific Gene Families in *Medicago truncatula* / B.Alunni, Z Kevei, M.Redonto-Nieto, A.Kondorosi, P.Mergaert, E.Kondorosi // Mol. Plant- Microbe Interact. – 2007. – V. 20. – P. 1138 – 1148.
560. Ames, R.N. Mycorrhizal fungi and the integration of plant and soil nutrient dynamics / R.N. Ames, G.J. Bethlenfalvay // Plant Nutrit, 1987. - Т. 10. - № 9/16. – P. 1313-1321.
561. Ane, J.M. *Medicago truncatula* DMI1 required for bacteria and fungal symbioses in legumes /J.M.Ane, G.B.Kiss //Science. – 2004. – V. 303. – P. 1364-1367.
562. Arkhipova,T.N. Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants /T.N.Arkhipova, S.Y.Veselov, A.I.Melentiev, E.V. Martynrnko, G.R Kudoyarova //Plant Soil. - 2005. - V. 272. - P. 201-209.
563. Aaronson, S. Chemical communication at the microbial level. Boca. Raton: CRC Press Inc. /S. Aaronson, 1981. – V.L. 189 p., V. 2. 203 p.
564. Adams, G.L. Brassinosteroids // Phytochemistry /G.L.Adams, V Margardt. – 1986. – Vol. 25, № 8. – P. 1787-1799.
565. Adhikari, T.G. Evaluation of bacteria isolated from rice for plant growth promotion and biological control of seedling disease of rice /T.G.Adhikari,

C.M.Joseph, G.Yang, D.A. Philips, L.M. Nelson //Canad. J. Microbiol. - 2001. - V. - 47. - P. 916-924.

566. Ajaj, K. Isolation and characterization of local potent nitrogen fixing rhizobial isolates from nodules of wild legumes / K.Ajaj, S.Maevika // Proc. Nat. Acad. Sci., India. B. – 1996. – Vol. 66, № 2. – P. 169-174.

567. Barnes,, D.K. A multiple trait breeding program for improving the symbiosis for N₂ fixation between *Medicago sativa* L. and *Rhizobium meliloti* / D.K. Barnes, G.H.Heichel, C.P.Vance [et al] // Plant and Soil. - 1984. - V. 32. - P. 303-314.

568. Bais, H.P. The role root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms /H.P. Bais,, L.W.Tiffany, G.P. Laura, S.Gilroy, J.M. Vivanco //Annu. Rev. Plant. Biol. – 2006. – V. 57. – P. 233-266.

569. Bai,, Y. Isolation of plant-growth-promoting *Bacillus* strains from soybean root nodules / Y.Bai, F.Aoust, D.Smith, B.Driscoll // Canad. J. Microbiol. - 2002. - V. 48. - P. 230-238.

570. Bashan, Y. *Azospirillum* – plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996) / Y.Bashan, G.Holguin // Can. J. Microbiol. – 1997. – V.43, №2. – P. 103-121.

571. Baumann, P. Symbiotic associations involving microorganisms / P. Baumann// BioScience. 1998. - V. 48. - P. 254 -255.

572. Bancos, S. Diurnal regulation of the brassinosteroid-biosynthetic CPD gene in *Arabidopsis* /S.Bancos, A.-M. Szatmari, J. Castle, L.Kozma-Bognar, K.Shibata, T.Yokota, G.J.Bishop, F.Nagy, M.Szekeres // Plant. Physiol. - 2006. - V.141. - P. 299-309.

573. Bhatt, G.M. An application of multivariate analysis to selection for quality characters in wheat /G.M. Bhatt// Austral. J. Agr. Res. - 1978. – V.27, N1. – P.11-18.

574. Befhnenfalvay, GW. Mycorrhizae and crop productivity. In: Befhnenfalvay

GJ., Linderman RG., eds. Mycorrhizae in sustainable agriculture. – Madison, USA: American Society of Agronomy, 1992. – P. 1-27.

575. Benschop, J.J. Contrasting interactions between ethylene and abscisic acid in *Rumex* species differing in submergence tolerance /J.J.Benschop, M.B.Jackson, K. Guhl, R.A.M.Vreeburg, S.J.Crocker, A.J.M.Peeters, L.A.C.J.Voesenek // Plant J. – 2005. – V. 44. – P. 756-768.

576. Beveridge, C.A. Common Regulatory Themes in Meristem Development and Whole-Plant Homeostasis /C.A.Beveridge, U. Mathesius, R.J. Rose, P.Gresshoff // Curr. Opin.Plant Biol. – 2007. – V.10. – P. 44-51.

577. Biswas, J.C. *Rhizobia* inoculation improves nutrient uptake and growth of lowland rice / J.C. Biswas, J.K.Ladha, F.B.Dazzo // Soil Sci. Soc. America J. – 2000 – V. – 164. – P. 1644-1650.

578. Bliss, F.A. Registration of five high nitrogen fixing common bean germplasm lines / F.A. Bliss // Crop sci. - 1989. - V.29, № 1. - P.240.

579. Blixt, S. Handbook of Genetics /S. Blixt // Now York.- 1974.-V.2. – P.181- 221.

580. Blixt, S.Problems relating to pea-breeding /S.Blixt //Agri Hortigue Genetica. – 1978. - V.36, № 1-4. – P.56.

581. Blumhorst, M.R. Mefluidide as an enhancing agent for postemergence broadleaf herbicides in soybeans (*Glycine max*) / M.R Blumhorst, G. Kapusta // Weed Technol. – 1987. – V. 1, № 2. – P. 149-153.

582. Boot, K.J.M. Lipochitin oligosaccharides from *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* reduce auxin transport capacity in *Vicia sativa* subsp. *nigra* roots / K.J.M. Boot, van A.A.N. Brussel, T.Tak et al. // Mol. Plant-Microbe Interact. – 1999. – Vol. 12. – P. 839-844.

583. Bockman, O.C. Agriculture and Fertilizers: Fertilizers in Perspective

/O.C. Bockman., O.Kaarstad, O.H. Lie., I. Richard. – 1990. - P. 27-34.

585. Bongaarts, J. //Sci. Amer. – 1994.- V.237. – P. 36-42.

586. Borisov, A.Y. New symbiotic mutants of pea (*Pisum sativum* L.) affecting either nodule initiation or symbiosome development /A.Y.Borisov, S.A.Tchetkova, V.K.Lebsky, I.A. Tikchonovich, E.V. Morzhina, O.A. Kulikova //Symbiosis. - 1992.- Vol. 14. - P. 297-313.

587. Bosworth, A.H. Alfalfa yield response to inoculation with the recombinant strains of *Rhizobium meliloti* with an extra copy of *dctABD*/or modified *nifA* expression / A.H. Bosworth, M/K/ Williams, K.A. Albrecht [et.al.] //Appl. Environ. Microbiol. – 1994. – V.60. P.3815-3832.

588. Bottini, R. Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase /R. Bottini, F.Cassán, P. Piccoli // Appl. Microbiol. Biotechnol. - 2004. - V. 65. - P. 497-503.

589. Bradbury, S.M. Interaction between three alfalfa nodulation genotypes and two *Glomus* species /S.M. Bradbury, R.L., S.R Peterson Bowley // New Phytologist. 1991. - Vol. 119. - P.115-120.

590. Braeken, K. Quorum Sensing in bacteria-plant interactions. In Molecular mechanisms of plant and microbe coexistence /K.Braeken, R.Daniels, M.Ndayizeye, J.Vanderleyden, J. Michiels. - Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag. – 2008. - P. 265-289.

591. Brewin, N.J. Plant cell wall remodeling in the *Rhizobium*-legume symbiosis / N.J. Brewin //Crit. Rev. Plant. Sci. – 2004. – V. 23. – P. 1-24.

592. Berg, G. Endophytes structural and functional diversity and biotechnological applications in control of plant pathogens /G.Berg, H.Muller, C.Zachow, K. Opelt, K.Scherwinski, R.Tilcher, A. Ulrich, J. Hallmann, R.Grosh, A.Sessitsch //Экол. Генетика. - 2008. - Т. VI, № 2. - С.17-25.

593. Bena, G. Medicago-Sinorhizobium symbiotic specificity evolution and the geographic expansion of *Medicago* /G.Bena, A. Lyer, T. Huguer, I.Olivieri // J. Evol. Biol. – 2005. – V.18. – P. 1547-1558.
594. Caba, J.M. Nitrate-induced ethylene biosynthesis and the control of nodulation in alfalfa /J.M.Caba, L. Recalde, F.Ligero //Plant Cell Environ., 1998, 21. – P. 87-93.
595. Caetano – Anoll, S.G. Efficiency nodule initiation and autoregulatory responses in a nodulating soybean mutant /S.G.Caetano – Anoll, P.M. Gresshoff //Appl. Environm. Micr.-1991. - V.57. – P.2205-2210.
596. Cary, A.J. Cytokinin action is coupled to ethylene in its effects on the inhibition of root and hypocotyl elongation in *Arabidopsis thaliana* seedlings /A.J. Cary, W.Liu, S.H. Howell //Plant Physiol. - 1995. – V. 107. – P. 1075-1082.
597. Ciccillo, F. Effects of two different application methods of Burkholderia ambifaria MCI 7 on plant growth and rhizospheric bacterial diversity /F.Ciccillo, A.Fiore, A.Bevivino, C.Dalmastri, S.Tabacchioni, L.Chiarini // Environ. Microbiol.- 2002. - № 4. - P. 238-245.
598. Curtis, D.F. Agronomic and phenological differences of soybean differing in maturity and growth habit / D.F.Curtis, J.W.Tanner, B.M.Luzzi, D.J. Hume // Crop Science. – 2000. – Vol. 40, № 6. – P.1624-1629.
599. Champawat, R.S. Effect of dual inoculation of Rhizobium and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi on *Pisum sativum* /R.S.Champawat //Folia microbiol, 1990. - T. 35, № 3. – P. 236-239.
600. Chuansheng, M. The use beneficial microbial endophytes for plant biomass and stress tolerance improvement /M.Chuansheng, F.S.Barry //Recent Patents Biotechnol. - 2010. - V. 4, № 1. - P. 81-95.
601. Conrath, U. Priming in plant-pathogen interactions /U.Conrath, C.M.J.Pieterse, B.Mauch-Mani //Trends Plant Sci. - 2002. - № 7. - P. 210-216.

602. Clouse, S.D. Brassinosteroids: essential regulators of plant growth and development /S.D.Clouse, I.M.Sasse //Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. - 1988. - V.49. - P. 427-451.
603. Cregan, P.B. Host restriction of nodulation by *Bradyrhizobium japonicum* strain USDA 123 in soybean /P.B. Cregan, H.H.Keyser //Crop Sc, 1986. – T. 26., № 5. – P. 911-916.
604. Davis, J. H. C. Non-nodulating mutants in common bean / Davis J. H. C., Giller K. E., Kipe-Nolt J. et al. //Crop sci. - 1993. - V. 28, № 3. - P. 859-860.
605. Day, D.A. Growth comparisons of a supernodulating soybean (*Glycine max.*) mutant and its wildtype parent /D.A.Day, H.Lambers, J.Bateman et. al //Physiol Plant. - 1989. – V.68. – P. 375-382.
606. De Billy, F. Expression studies on AUXI-like genes in *Medicago truncatula* suggest that auxin is required at two steps in early nodule development / F.,de Billy, C.Grosjean, S. May et al. // Mol. Plant-Microbe Interact. - 2001. - Vol. 14.- P. 267- 277.
607. Doyle, J.J. Philogenetic ptrspectives on the origins and evolution of nodulation in the legumes and allies /J.J. Doyle, J.L. Doyle //Biological fixation of nitrogen for ecology and sustainable agriculture /Eds. A. Legocki, H. Bothe, A. Puhler. // Berlin- Heidelberg: Springer-Verlag. - 1997 - V. 39. - P. 307-312. – (NATO ASI ser. Ecol.Sci.).
608. Doulis, A.G. Differential responses to paraquat-induced oxidative injury in a pea (*Pisum sativum*) protoplast system /A.G.Doulis, J.LDonahue, R.G.Alscher // Physiol. Plant – 1998. – V. 102, № 3. – P. 461-471.
609. Dodd, I.C. Rhizobacterial mediation of plant hormone status /I.C.Dodd, N.Y.Zinovkina, V.I.Safronova et.al. //Ann. Appl. Biol. – 2010. – 157: 361-279.
610. Duc, G. Mutagenesis of faba bean (*Vicia faba* L.) and the identification of five different genes controlling no nodulation, ineffective nodulation or supernodulation

/G. Duc // Euphytica.- 1995.- V. 83. - P. 147-152.

611. Duc, G. Mutagenesis of pea (*Pisum sativum* L.) and the isolation of mutants for nodulation and nitrogen fixation / G,Duc, A.Messenger //Plant Sci. – 1989. - V.60. – P.207-213.

612. Duque, F.F. The response of field Grown *Phaseolus vulgaris* to *Rhizobium* inoculation and Duque F.F. the quantification of N₂ fixation using ¹⁵N / F.F. Duque, M.C. Neves, A.A. Franco [et.al.] // Plant and Soil. - 1985. - V.88. - № 3. - P.333. 613. Durrant, W.E. Systemic acquired resistance / W.E.Durrant, X.Dong //Annu. Rev. Phytopathol. – 2004. – V. 42. – P. 405-409.

614. Dhaubhadel, S. Treatment with 24-epibrassinolide, a brassinosteroid, increases the basic thermotolerance of *Brassica napus* and tomato seedlings /S. Dhaubhadel, S. Chaudhary, K.F. Dobinson, P. Krishna //Plant. Mol. Biol., 1999. - V. 40. - P. 333- 342.

615. Dekkers, L.C. A site-specific recombinase is required for competitive root colonization by *Pseudomonas fluorescens* WCS365 /L.C. Dekkers, C.C. Phoelich, L. van der Fits, B.J.J, Lugtenberg // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1998. - № 95. - P. 7051-7056.

616. Desbrosses, G.J. Root Nodulation: For how Plant-Microbe Symbiosis Influences Host Developmental Pathways /G.J. Desbrosses, J.Stougaard //Cell Host Microbe. – 2011. – V.10. – P. 348-358.

617. Drennan, D.S.H. The effect of ethrel on nodulation in *Pisum sativum* L. / D.S.H. Drennan, C. Norton. Plant Soil, 1972. – 36. P. 53-57.

618. Evans, J.D. Fomesafen – metabolism as a basis for its selectivity in soya / J.D.Evans, B.D. Cavell, R.R. Hignett // Pres. to the 1987 Brit. crop protection conf. – weeds. (Croydon, 1987). - Croydon, 1987. - P.41-48.

619. El-Gomal, M.S. Interaction between *Azotobacter* spp. and *Rhizobium sesbani* into the rhizosphere of *Sesbania sesban* (L.) Merrill plants and its efficiency on

growth and symbiotic nitrogen fixation /M.S. El-Gomal // Zbl. Microbiol. - 1992. - V. 147. - № 1-2. P. 112-118.

620. Farah, A. Phenolic compounds in coffee. – 2006. – Brazilian / A. Farah, Marino Donangelo //Plant Physiol. - V.18. - № 1.

621. Fearn, J.C. A temperature-sensitive nodulation mutant (sym-5) of *Pisum sativum* L. / J.C Fearn, T.A. LaRue // Plant, Cell and Environment. 1991a. Vol. 14. - P. 221-227.

622. Ferguson, B.J. Signaling Interaction During Nodule Development / B.J. Ferguson, U. Mathestius //J. Plant Growth Regul. - 2003. - V. 22, № 1. - P. 47-72.

623. Ferguson, B.J. Phytohormone regulation of legume-rhizobia interactions / B.J. Ferguson, U. Mathestius //J. Chem. Ecol. – 2014. – V. 40. – P. 770-790.

624. Firmin, J.L. Resistance to nodulation of cv. Afganistan peas is overcome by nodX, which mediates an O-acetylation of the *Rhizobium leguminosarum* lipooligosaccharide nodulation factor J.L. Firmin, K.E. Wilson, R.W. Carlson [et.al.] //Mol. Microbiol. – 1993. – V.10. – P.351-360.

625. Fisher, H.-M. Genetic regulation of nitrogen fixation in rhizobia /H.-m. Fisher //Microbiol. Rev.-1994. – V.58. – P. 353-386.

626. Frankenberger, W.T. Phytohormones in soils: production and function / W.T. Frankenberger, M. Arshad. Marcel Dekker, Inc. N.Y. 1995.

627. Frugier, F. Cytokinin: Secret Agent Symbiosis /F. Frugier, S.Kosuta, L.D. Murray, M. Crespi, K. Szczyglowski // Plant Science. - 2008. - V. 13, № 3. - P. 115- 120.

628. Fober, P.R. Detection of gene regulatory signals in plants revealed by T-DNA-mediated fusions / P.R. Fober, B.L. Miki, V.N. and Iyer // Plant Mol Biol. – 1991. – V.17. – P. 837-851.

629. Forchetti, G. Endophytic bacteria in sunflower (*Helianthus annuus* L.):

isolation, characterization, and production of jasmonates and abscisic acid in culture medium /G.Forchetti, O. Masciareli, S. Alemanos, D.Alvares, G. Abdoala // Appl. Microbiol. Biotechnol. - 2007. - V. 76, № 5. - P. 1145-1152.

630. Fujioka, S. Brassinosteroids / S. Fujioka, A. Sakurai //Nat. Prod. Rep. - 1997. - V. 14. - P. 1-10.

631. Ferguson, B.J. Phytohormone regulation of legume-rhizobia interactions / B.J. Ferguson, U. Mathesius //J. Chem. Ecol. – 2014, - 201 (40). – P. 770-790.

632. Frugier, F. Cytokinin: secret agent of symbiosis /F. Frugier, S.Kosuta, J.D. Murray, M.Crespi, K.Szczyglowski. Trends Plant Sci., 2008, 13. – P. 115-120.

633. Gianinazzi-Pearson, V. Plant cell responses to arbuscular mycorrhizal fungi: getting to the roots of the symbiosis / V. Gianinazzi-Pearson // The Plant Cell., 1996. – V. 8. – P. 1871-1883.

634. Goodlas, G. Effects of ethylene on root extension and nodulation of pea (*Pisum sativum* L.) and white clover (*Trifolium repens* L.) / G.Goodlas, K.A. Smith //Plant Soil, 1979. – 51. - P. 387-395.

635. Gresshoff, P.M. Molecular genetic analyses of mutation genes in soybean / P.M. Gresshoff // Plant Breed. Rev. – 1993. – P.275-318.

636. Grobbelaar, N. The nodulation and nitrogen fixation of isolated roots of *Phaseolus vulgaris* L. 111. The effect of carbon dioxide and ethylene / N. Grobbelaar, B. Clarke, M.C. Hough // Plant Soil, 1971. – Spec. Vol. P. 215-221.

637. Geurts, R. Nod factor signaling genes and their function in the early stages of *Rhizobium* infection /R. Geurts, E.Federova, T. Bisseling. // Curr. Plant Biol., 2005. – 8. P. 346-352.

638. Guinel, F.C. A model for the development of the rhizobial and arbuscular mycorrhizal symbioses in legumes and its use to understand the roles of ethylene in the establishment of these two symbioses / F.C. Guinel, R.D. Geil Can. J.

Bot., 2002, 80. P. 695-720.

639. Gonzalez-Rizzo, S. The *Medicago truncatula* CRE1 cytokinin receptor regulates lateral root development and early symbiotic interaction with *Sinorhizobium meliloti* / S.Gonzalez-Rizzo, M.Crespi, F.Frugier. *The Plant Cell*, 2006, 18. – P. 2680-2693.

640. Hayashi, S. Mechanistic action of gibberellins in legume nodulation / S. Hayashi, P.M. Gresshoff, B.J. Ferguson // *J. Integr. Plant Biol.* – 2014. – V. 56, № 10.– P. 971-978.

641. Hartwig, U.A. Is the variable oxygen permeability in nodules a physical or physiological phenomenon? /U.A. Hartwig, J. Trommler., C. Weisbach // *Biological Fixation of Nitrogen for Ecology and Sustainable Agriculture.* – Berlin: Heidelberg, 1997. – P. 241-244.

642. Hallman, J. Bacterial endophytes in agricultural crops / J. Hallman, A. Quadt- Hallman, W.F.Mahafee, J.W. Kloepper // *Canad. J. Microbiol.* - 1997. - V. 43, № 4. - P. 895-914.

643. Hallman, J. Spectrum and population dynamics of bacterial root endophytes / J. Hallman, G.Berg // *Microbial root endophytes.* Berlin. Heidelberg N.Y.: Springer Verlag, 2006. - P. 15-32.

644. Hardarson, G. Effect of temperature on competition among strains of *Rhizobium trifolii* for nodulation of two white clover varieties / G. Hardarson, D. Jones // *Annals of Applied Biology.* - 1979. - V.92, № 2. - P.229-236.

645. Hardarson, G. Effect of plant genotype and nitrogen fertilizer on symbiotic nitrogen fixation by soybean cultivars /G.Hardarson, F.Zapata, S.K/A.Danso // *Plant and Soil.* - 1984. – V.82. – P. 397-405.

646. Hardarson, G. Methods for enhancing symbiotic nitrogen fixation /G. Hardarson // *Plant and Soil.* - 1993. - Vol. 152. – P.1-18.

647. Han, H.S. Physiological responses of soybean – inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* with PGPR in saline soil conditions / H.S. Han, K.D. Lee // Res. J. Agr. Biol. Sci. - 2005. - V. 1, № 3. - P. 216-221.
648. Han, H.S. Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity / H.S. Han, K.D. Lee // Res. J. Agr. Biol. Sci. - 2005. V. 1, № 3. - P.210-215.
649. Hasan, S.A., Hayat S., Ali B., Ahmad A. 28-Homobrassinolide Protects Chickpea (*cicer arietinum*) From Cadmium Toxicity by Stimulating Antioxidants// Environ Pollut. – 2008. – V. 151. – P. 60-66.
650. Heidstra, R. Ethylene provides positional information on cortical cell division but is not involved in Nod factor – induced root tip growth in *Rhizobium*-legume interaction / R.Heidstra, W.C.Yang, Y. Yalcin et. al. // Development. 1997. - Vol. 124. - P. 1781-1787.
651. Hirsch, A.M. Early noduline genes are induced in alfalfa root outgrowths by auxin transport inhibitors / A.M. Hirsch, T.V.Bhuvanewari, J.G.Torrey, T.Bisseling // Proc. Natl. Acad. Sci. - 1989. - Vol. 86. - P. 1244-1248.
652. Hirsch, A.M. Plant hormones and nodulation: what's the connection? / A.M.Hirsch, Y.Fang // Plant Molecular Biology. - 1994. - Vol. 26. - P. 5-9.
653. Hirsch, A.M. The role of phytohormones in plant-microbe symbioses /A.M.Hirsch, Y.Fang, S. Asad, Y. Kapulnik //Plant and Soil. - 1997. - Vol. 194,№ 1/2.- P. 171-184.
654. Hirsch, A.M. What makes the rhizobia-legume symbiosis so special? /A.M.Hirsch, M.R.Lum, J.A. Downia // Plant Physiol. - 2001. - Vol.127. - P. 1484- 1492.
655. Holl, F.B. Host-plant control of the inheritance of dinitrogen fixation in the *Pisum*-*Rhizobium* symbiosis /F.B. Holl //Euphytica. – 1975. – 1975. – V.24. – P.767- 770.

656. Hossain, B. Zinc Nutrition and Levels of Endogenous Indole-3-Acetic Acid in Radish Shoots /B.Hossain, N.Hirata, Y.Nagatomo, M., Suiko, H.Takaki //J. Plant Nutr. - 1998. - V. 21. - P. 1113 – 1128.
657. Howle, P.K. Soybean specificity for *Brhizobium Japonicum* strain 110 /P.K. Howle, E.R. Shipe, H.D. Skipper //Agron. J. – 1987. – V.79. - P. 595-598.
658. Höflich, G. Growth stimulation of pea after inoculation with associative bacteria /G.Höflich, S.Ruppel //Microbiol. Res. - 1994. - V. 149, № 1. - P. 99-104.
659. Hung, P.Q. Isolation and characterization of endophytic bacteria in soybean (*Glycine sp.*) /P.Q.Hung, K.Annapurna // Omonrice. - 2004. - V. 12. - P. 92-101.
660. Hung, P.Q. Isolation and characterization of endophytic bacteria from wild and cultivated soybean varieties /P.Q.Hung, S.M.Kumar, V.Govindsay // Biol. Fertil. Soils. - 2007. - V. 44. - P. 155-162.
661. Huisman, G.W. Sensing starvation: a homoserine lactone – dependent signaling pathway in *Escherichia coli* /G.W.Huisman, R.Kolter //Science. - 1994. - V. 265. - P. 537 – 539.
662. Hutchison, C.E. Cytokinin Signaling in *Arabidopsis* /C.E.Hutchison, J.J. Kieber // Plant Cell. – 2002. – V. 14. – P. 47-59.
663. Hwang, I. Cytokinin Biosynthesis and Perception / I. Hwang, H.Sakakibara // Physiol. Plant. - 2006. - V. 126. – P. 528 – 539.
664. Held, M. *Lotus japonicus* cytokinin receptors work partially redundantly to mediate nodule formation /M.Held, H.Hou, M.Miri, C.Huynh, L.Ross, M.S.Hossain, S.Sato, S.Tabata, J.Perry, T.LWang, K.Szczyglowski. The Plant Cell, 2014, 26. – P.678-694.
665. Oldroyd, G.E.D. Ethylene inhibits the Nod factor signal transduction pathway of *Medicago truncatula* /G.E.D.Oldroyd, E.M.Engstrom, S.R.Long //Plant

Cell. - 2001. – 13. P. 1835-1849.

666. Jacob, F. The possible and the actual /F. Jacob // Pantheon Books. – 1982. – P.207-218.

667. Jacobsen, E. A mutant showing efficient nodulation in the presence of nitrate / E. Jacobsen, H.A. Nijdam //Pisum Newslett. – 1983. – V.15. – P.31-32.

668. Jacobsen, E., A new pea mutant with efficient nodulation in the presence of nitrate /E. Jacobsen, W.J. Feenstra // Plant Sci. Letters. - 1984. - Vol. 33. - P. 337-344. 669. Jacobsen, E. Morphological studies on the highly nodulating mutant nod-3 and its parent variety “Rondo”/ E. Jacobsen, A. Schuil //The Pisum Newsletter. – 1985. – V.17. – P.30-31.

670. Johansen, A. Transfer of N and P to barley interconnected by an arbuscular mycorrhizal fungus /A. Johansen, E.S. Jensen //Soil Biology and Biochemistry.- 1996.- V. 28. – P. 73-81.

671. Jones, K.M. How rhizobial symbionts invade plants: the *Sinorhizobium-Medicago* model /K.M.Jones, H.Kobayashi, B.W.Davies, M.E.Tagar, G.C.Walker // Nature Rev. – 2007. – V. 5. – P. 619-633.

672. Jaranowski, K. New genotypes in *Pisum* sp. Derived from hybridization of mutants and Cultivars / K. Jaranowski //Genetica agrarian.- 1978. - V.32. - F.3-4. – P.337-355.

673. Jensen, F.H. Variation in nodulation capacity of pea varieties / F.H.Jensen // Pisum Newsletter, 1986. – V.18. – P. 30-31.

674. Juan, M. Gresshof, Francisco Ligeró. Inoculation and nitrate alter phytohormone levels in soybean roots: differences between a supernodulating mutant and the wild type / M.Juan, M. Caba, Luz Centeno, Belén Fernandez, M.Peter // Planta. - 2000. - Vol. 211, № 1. - P. 98-104.

675. Ji S.H. Isolation and characterization of a dwarf rice mutant exhibiting

defective gibberellins biosynthesis / S.H. Ji, M.A.Gururani, J.W.Lee, B.-O.Ahn, S.-C.Chun. *Plant Biol.* – 2014, 16(2). – P. 428-439.

676. Jha, P. Characterization of novel plant growth promoting endophytic bacterium *Achromobacter xylosoxidans* from weet plant / P.Jha, A.Kumar // *Microb. Ecol.* 2009. - V. 58, № 1. - P. 179-188.

677. Kaul, M.Z.H. Radiation-genetic studies in garden pea, interaction of mutated genes /M.Z.H. Kaul // *Genetica agrarian.* – 1978. – V.32. – F.3-4.-P.343-357.

678. Kaneko, T. Complete Genomic Structure of the Cultivated Rice Endophyte *Azospirillum* sp. B510 /T. Kaneko, K.Minamisawa, T.Isawa, H.Nakatsukasa, H.Mitsui, Y.Kawaharada, Y.Nakamura, A.Watanabe, K.Kawashima, A.Ono, Y.Shimizu, et al. // *DNA Res.* – 2010. – V.17. – P.37-50.

679. Kang, Yun-Yan. Effects of 24-epibrassinolide on antioxidant system and anaerobic respiratory enzyme activities in cucumber roots under hypoxia stress /Kang, Yun-Yan, Guo Shi-Rong, Duan Jiu-Ju, Hu Xiao-Hui // *J. Plant Physiol. Molec. Biol.* – 2006. – V. 32, №5. – P. 535-542.

680. Kakimoto, T. Perception and Signal Transduction of Cytokinins / T.Kakimoto, // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2003. – V. 54. – P. 605-627.

681. Kielpinski, M. The evaluations of afilla character with regard to its utility in new cultivars of dry pea /M. Kielpinski, S. Blixt // *Agri Hortigue Genetica.* – 1982. – V.40. – P. 51-74.

682. Kieber, J.J. Cytokinins / J.J.Kieber, G.E.Schaller // *The Arabidopsis Book.* – 2013. – V.12. – P. 1-35.

683. Kiss, G.B. Map based cloning system in *Medicago* suitable for isolating genes involved in leaf morphogenesis, nodule formation and effectiveness of nitrogen fixation /G.B.Kiss, P.Kalo, G. Csanadi [et al.) // *Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications* / Eds. Tikhonovich I.A., Provorov N.A., Romanov V.I., Newton W.E.; Dordrecht, Boston, London: Kluwer Academic Publishers, 1995. - P. 437-442.

684. Kneen, B.E. Peas (*Pisum sativum* L.) with strain specificity for *Rhizobium leguminosarum* / B.E. Kneen, T.A. LaRue // *Heredity*. 1984a. - Vol. 52.- P. 383-389.
685. Kneen, B.E. Nodulation resistant mutant of *Pisum sativum* L. / B.E. Kneen, T.A. LaRue // *J. Heredity*. 1984b. Vol. 75. - P. 238-240.
686. Kneen, B.E. Additional mutants defective in nodulation / B.E. Kneen, T.A. LaRue // *Pisum Newsletters*. - 1986. - Vol. 18. - P. 33.
687. Kneen, B.E. Mutants defective in symbiotic nitrogen fixation // B.E. Kneen, T.A. LaRue // *Pisum Newsletters*. - 1987. - Vol. 19. - P. 17.
688. Kneen, B.E. Induced symbiosis mutants of pea (*Pisum sativum*) and sweet clover (*Melilotus alba* annual) / B.E. Kneen, T.A. LaRue // *Plant Sci.* – 1988. - V.58. – P.177-182.
689. Kneen, B.E. sym-13 - A gene conditioning ineffective nodulation in *Pisum sativum* / B.E. Kneen, T.A., LaRue, A.M., Hirsch [et al.] // *Plant Physiol*. 1990. Vol. 94. P. 899 - 905.
690. Kloepper, J.W. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity / J.W. Kloepper, R.Lifshits, M.Zablotowicz // *Trends Biotechnol.* - 1989. - V. 7. - P. 39-44.
691. Kloepper, J.W. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. / J.W. Kloepper, C.-M.Ryu, S.Zhang // *Phytopathol.* - 2004. - V. 94. - P. 1259-1266.
692. Kolchinski, A. Map order and linkage distances of molecular markers close to supernodulation (*nts-1*) locus of soybean / A. Kolchinski, D. Landau-Ellis, P.M. Gresshoff // *Mol. Gen. Genet*. 1997. Vol. 254. P. 29-36.
693. Kozik, A.V. Pea lines carrying sym-1 and sym-2 can be nodulated by *Rhizobium* strains containing nodX; sym-1 and sym-2 are allelic / A.V. Kozik, R.

Heidrista, B. Horvath [et al.] //Plant Sci. – 1995. - M. 108. – P. 41-49.

694. Koch, M. Rhizobial adaptation to hosts, a new facet in the legume root-nodule symbiosis /M. Koch, N.Delmotte, H.Rehrer, J.A.Vorholt, G.Pessi, H.Hennecke // Mol. Plant-Microbe interact. - 2010. - V. 23, № 6. - P. 784-790.

695. Kobayashi, D.Y. Bacterial endophytes and their effects on plant and uses in agriculture / D.Y.Kobayashi, J.D.Palumbo // Microbial endophytes N.Y.: Marcel Dekker Inc., 2000. - P. 199-236.

696. Kuklinsky-Sorbal, J. Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion / J.Kuklinsky-Sorbal, R.Mendes, I.O.Geraldi, A.A.Pizzirani-Kleiner, J.J. Azevelo // Environ. Microbiol. - 2004. - № 6. - P. 1244-1251.

697. Kuiper, D. Effect of Internal and External Cytokinin Concentration on Root Nutrient Conditions /D. Kuiper, J.Schuit, P.J.C.Kuiper //Plant Soil. – 1988 – V. 111. – P. 231-236.

698. Kell, D.B. Pheromones, social behaviour and the functions of secondary metabolism in bacteria / D.B. Kell, A.S.Kaprelyants, A.Grafen // Trends Ecol. Evol. 1995. – V.10. - P.126 – 129.

699. Krishna, P. Brassinosteroid-mediated stress responses / P. Krishna // J. Plant Growth Regul. – 2003. – V. 22, № 4. – P. 289-297.

700. Khripach, V. Twenty Years of Brassinosteroids: Steroidal Plant Hormones Warrant Better Crops for the XXI Century / V. Khripach, V. Zhabinsrii, de Groot A. // Ann. Bot. – 2000. – V. 86. – P. 441-447.

701. Kisiala, A. Bioactive cytokinins are selectively secreted by *Sinorhizobium meliloti* nodulating and nonnodulating strains / A.Kisiala, C. Laffont, J.R.N.Emery, F.Frugier. Mol. Plant-Microbe Interact., 2013, 26. – P. 1225-1231.

702. Ladha, J.K., Peoples M.B., Manag. Biol. Nitrog. Fixat. Develop. More

Product. Sustain. Agricult. Systems. Kluwer Acad. Publ., Drasden. – 1995. – P. 24-29.

703. Lafond, J. Comparison of nearisogenic leafed, leafless, semi-leafless & reduced stipule lines for yield & associated traits /J.Lafond //Can. J. Plant Sci. – 1981. – V.61. - № 2. – P.463-465.

704. Lamprecht, H. Dominantes Drabgrau ein neue genbedingte Test aferbe bei Pisum / H.Lamprecht //Agri. Hort. gen.- 1957. - V.15. - P.207-213.

705. LaRue, T.A. Induced symbiosis genes of pea / T.A. LaRue, N.E. Weeden // Pisum Genetics. - 1992. – V.24. – P.5-12.

706. Lie, T.A. Host–controlled nitrogen fixation in the legume-rhizobium symbiosis: incompatibility of *Pisum sativum* L. ecotypes *elatius* Bieb. And *abbisnicum* Braun with European *Rhizobium leguminosarum* strains /T.A. Lie, P.S.J. M. Timmermans, G. Ladizinsky //Israel J. Botany. – 1982. – V. 31. – N ¼. – P. 163-167.

707. Lie, T.A. Host-genetic control of nitrogen fixation by legume – rhizobium symbiosis: complication in the genetic analysis due to maternal effects / T.A. Lie, P.S.J. M. Timmermans //Plant Soil.-1983. – V.75. – P. 449-453.

708. Li, J. An ACC deaminase minus mutant of *Enterobacter cloacae* UW4 no longer promotes root elongation / J. Li, D.H. Ovakim, T.C.Charles, B.R.Glick // Curr. Microbiol. - 2000. - № 41. - P.101-105.

709. Ljustina, M. Archaeological evidence for the domestication of lentil (*Lens culinaris*) and its distribution in Europe / M. Ljustina, A. Miki // J. Lenttil Res. – 2010. – 4. – P. 26-29.

710. Libbenga, K.R. Initial proliferation of cortical cell the formation of root nodules in *Pisum sativum* L. / K.R. Libbenga, P.A.A.Harkes. Planta, 1973. – 114. – P. 17-28.

711. Linpens, E. Signaling in symbiosis /E. Linpens, T.Bisseling //Curr.

Opin. Plant. Biol. – 2003. – Vol.6, №4 – P.343-350.

712. Lodewyckx, C. Endophytic bacteria and their potential applications / C. Lodewyckx, J.Vangronsveld, F.Porteous, E. R. B.Moore, S.Taghavi, M.Mezgeay, van der Lelie D. // Crit. Rev. Plant Sci. - 2002.- № 21. - P. 583-606.

713. Long, H.H. Native bacterial endophytes promote host growth in a species-specific manner; phytohormone manipulations do not result in common growth responses / H.H.Long, D.D.Schmidt, I.T.Baldwin // PLOS ONE. 2008. - V. 3. I. 7. P. 1-10.

714. Leubner-Metzger, G. Brassinosteroids and gibberellins promote tobacco seed germination by distinct pathways / G.Leubner-Metzger // Plant. 2001.- V. 213. - P. 758-763.

715. Letham, D.S. The Biosynthesis and Metabolism of Cytokinins / D.S. Letham, L.M.S. Palni // Annu. Rev. Plant Physiol. - 1983. - V. 34. - P. 163 – 197.

716. LeNoble, M.E. Maintenance of shoot growth by endogenous ABA: genetic assessment of the involvement of ethylene suppression / M.E. LeNoble, W.G.Spollen, R.E.Sharp // J. Exp. Bot. – 2004. – V. 55. – P. 237-245.

717. Lee, K.H. Exogenous ethylene inhibits nodulation of *Pisum sativum* L. cv. Sparkle. / K.H. Lee, T.A.LaRue //Plant Physiol., 1992. – 100(4). – P. 1759-1763.

718. Leigh I.A. Exopolysaccharides of Rhizobium: synthesis regulation and symbiotic functions /I.A. Leigh., G.C. Walker //Trends in Genetics. – 1994. – Vol. 10. - № 2. – P. 63-67.

719. Lupwayi, N.Z. Rhizobial inoculants for legume crop /N.Z.Lupwayi, G.W. Clauton, W.A. Rice // J. of Crop Improv. – 2005. – Vol. 15, № 2. – P. 289-321.

720. Idris, E.E.S. Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. VI. Phytohormone like action of culture filtrates prepared from plant growth-promoting *Bacillus amyloliquefaciens* FZB24, FZB42, FZB45 and *Bacillus subtilis* FZB37 /

E.E.S. Idris, H.Bochow, H.Ross, R.Borriss // J. Plant Dis. Prot. - 2004. V. 111. - P. 583-597.

721. Iurrel, H. Climate change, water and food security / H.Iurrel, J.Burke, J.M.Faures // FAO. Inform. Div. Electronic. Publ. Policy and support brauch. - 2011. – XXI. – 174 p.

722. Marques, M.S. Dual inoculation of a woody legume (*Centrolobium tomentosum*) with rhizobia and mycorrhizal fungi in south-eastern Brasil / M.S. Marques, M. Ragano, and M. Scotti // Agroforestry System.- 2001.- Vol. 52 – P. 107-117.

723. Markwei, C.P. E 132 (sym-21) a mutant of *Pisum sativum* of sym-8 and sym-9 genes conditioning non-nodulation in *Pisum sativum* “Sparkle” / C.P. Markwei, T.A. LaRue //Microbiol. – 1992. – V.38. – P.548-554.

724. Martensson, A. Variability among pea varieties for infection with arbuscular mycorrhizal fungi. / A. Martensson, I. Rydberg // Swedish J. Agr. Res. – 1994. – V. 24. – P. 13-19.

725. Mathews, A. The gene interaction between non-nodulation and supernodulation in soybean an example of developmental epistas /A. Mathews, B.J. Carroll, P.M. Gresshoff //Theor. And Appl. Genet. – 1990. – V.79. – N 1. – P.125-230.

726. Maurya, B.R. Beneficial effects of co-inoculating chickpea seed with *Rhizobium*, *Azotobacter* and *Pseudomonas* /B.R. Maurya, C.L. Sanoria // Indian J. Agr. Sci. - 1986. - V. 56, № 6. - P. 463-466.

727. Miller, J.C. The influence of the avaitable nitrate levels in nitrogen fixation in three cultivars of cowpea /J.C. Miller, J.S. Scott, K. W. Zaru //Agron J. – 1982. – V.74. - P.14-18.

728. Monti, L.M. Pea breeding by using genes drastically influencing the leaf morphology /L.M. Monti, L. Fruseiante //Genetica Agraria. – 1978. – V.32. – F.3-4. –

P.265-373.

729. Mok, M.C. Cytokinins and Plant Development – an Overview / M.C. Mok // Cytokinins. Chemistry, Activity, and Function / Eds Mok D.W.S., Mok M.C. Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo: CRC, 1994. P. 155-166.

730. Mercier, H. Effects of Nitrogen Source on Growth Rates and Levels of Endogenous Cytokinins and Chlorophyll in Protocorms of *Epidendrum conopseum* /H. Mercier, G.B. Kerbauy // Plant Physiol. - 1991. - V. 138. - P. 195 -199.

731. Murray, J.D. Cytokinin Perception Mutant Colonized by *Rhizobium* in the Absence of Nodule Organogenesis / J.D.Murray, B.J.Karas, S.Sato, S.Tabata, L.Amyot., K A.Szczyglowski // Science. 2007. - V. 315. - P. 101-104.

732. Nagata, M. Effects of phytohormones on nodulation and nitrogen fixation in leguminous plants. In: Advances in biology and ecology of nitrogen fixation /M. Nagata, A. Suzuki / T. Ohyama (ed.). InTech, Rijeka, Croatia, 2014. P. 11-128.

733. Neuchausen, S.L. Genetic variation for dinitrogen fixation in soybean of maturity groups 00 and 0 /S.L. Neuchausen, P.H. Graham, J. H. Orf //Crop Sci. – 1988. – V.28. – P.769-772.

734. Nodari, R.O., Tsai S.M., Guzman P., Gilbertson R.L., Gepts P. Toward an integrated linkage map of common bean. III. Mapping genetic factors controlling host- bacteria interactions / R.O. Nodari, S.M. Tsai, P. Guzman [et.al.] // Genetics. 1993. Vol. 134. P.341-350.

735. Park, S.J. Inheritance of nitrate-tolera pernodulation in EMS induced mutants of common (Phaseolus vulgaris L.) / S.J. Park, B.R. Butterly // J. Hered., 1989. – V. 80. – P. 488.

736. Parsons, R. Nodule Function and Regulation in *Gunnera-Nostoc* Symbioses / R. Parsons // Proc. Irish Royal Acad. Sci. – 2002. – V. – 102B. - P. 41-43.

737. Parniske, M. Arbuscular Mycorrhiza: The Mother of Plant Root Endosymbiosis / M. Parniske // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2008 – V. 6. – P. 763-775.
738. Pereira, P.A.A. Effect of different levels of Mineral nitrogen on nodulation and N₂ fixation of two cultivars of common bean (*Phaseolus vulgaris*) / P.A.A.Pereira, S.Muller, P.Martin // *Plant and soil*, 1993. - V.152, №1. - P.139.
739. Penmetsa, R.V. A legume ethylene-insensitive mutant hyperinfected by its rhizobial symbiont / R.V.Penmetsa, D.R Cook // *Science*. 1997. - Vol. 275. - P. 527- 530.
740. Pirozynski, K.A. Geological history of the Glomaceae, with particular reference to mycorrhizal symbiosis / K.A. Pirozynski, Y. Dalpe // *Symbiosis*, 1989. – V. 7. – P. 1-36.
741. Pierik, R. Growth control by ethylene: adjusting phenotypes to the environment / R.Pierik, R.Sasidharan, L.A.C.Voesenek // *J. Plant Growth Regul.* – 2007. – V. 26. – P. 188-200.
742. Phillips, D.A. Microbial products trigger amino acid exudation from plant roots / D.A. Phillips, C.T. Fox, M.D.King, T.V.Bhuvaneshwari, L.R. Teuber // *Plant Physiol.* – 2004. – V. 136. – P. 2887-2894.
743. Peters, N.K. A plant flavone, luteolin, induces expression of *Rhizobium meliloti* nodulation genes / N.K. Peters, J.W. Frost, S.R. Long // *Science*. – 1986. – V.233. – P.977-980.
744. Peters, N.K. Nodule formation is stimulated by the ethylene inhibitor aminoethoxyvinylglycine. / N.K Peters, D.K. Crist-Estes // *Plant Physiol.*, 1989. – 91 (2). – P. 690-693.
745. Peoples, M.B. Biological nitrogen fixation: an efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production / M.B. Peoples, D.F. Herridge, J.K.Ladha // *Plant Soil.* – 1995. – V.174. – P.3-28.

746. Pirozynski, K.A. Geological history of the Glomaceae, with particular reference to mycorrhizal symbiosis / K.A. Pirozynski, Y. Dalpe // *Symbiosis*, 1989. – V. 7. – P. 1-36.
747. Phillips, D.A. Plant genetics of symbiotic nitrogen fixation / D.A. Phillips, L.R. Teuber // *Biolog. Nitrogen Fixation*: Eds. G. Stacey et al. Chapman and Hall, N.Y.-London, 1992.- P. 625-647.
748. Phinney, B.O., Spray C. Chemical genetics and the gibberellin pathway in *Zea mays* L. In: *Plant Growth Substances 1982* /P. Wareing (ed.) Academic Press, London, NY. – 1982.- P. 101-110.
749. Postma, J.G., Three pea mutants with an altered nodulations studied by genetic analysis and grafting / J.G. Postma, E. Jacjbsen, W.J. Feenstra // *Plant Physiol.* – 1988. – V.132.–P.424-430.
750. Prevost, D. Characteristics of rhizobia isolated from three legumes indigenous to the Canadian high arctic: *Astragalus alpinus*, *Oxytropis maydelliana*, and *Oxytropis arctobia* / D. Prevost, L.M. Bordeleau, S. Caudry-Reznick // *Plant Soil*, 1987. – T. 98. N. 3. – P. 313-324.
751. Provorov, N.A. genetic variation of alfalfa, sweet clover and fenugreek for the activity of symbiosis with *Rhizobium meliloti* /N.A. Provorov, B.V. Simarov // *Plant Breeding.* – 1990. – V. 105. – P. 300-310.
752. Provorov, N.A. Breeding legumes for an improved symbiotrophic nitrogen nutrition: the genetic aspects /N.A. Provorov, I.A. Tikhonovich I.A.,G.V. Stepanova // *Ecological aspects of breeding fodder crops and amenity grasses. Proceedings of the 20th Meeting of Eucarpia Fodder Crops and Amenity Grasses Selection. Radzikow, Poland, 7-10 October 1996* / Eds. Stashewski Z., Mlyniec W. and Osinski R. Plant Breeding and Acclimatization Institute, Radzikow, 1997. P. 29-40.
753. Provorov, N.A. *Evolutionary Genetics of Plant-Microbe Symbioses* / N.A. Provorov, N.I. Vorobyov. New York: Nowa Sci. – 2010. – 290p.
754. Plet, J. MtCREI-dependent cytokinin signaling integrates bacterial and

plant cues to coordinate symbiotic nodule organogenesis in *Medicago truncatula*. / J. Plet, A. Wasson, F.Ariel, C. Le Signor, D. Baker, U.Mathesius, M.Crespi, F. Frugier // *Plant J.*, 2011, 65. – P. 622-633.

755. Remy, W. Four hundred million years-old vesicular arbuscular mycorrhizae / W. Remy, T.N. Taylor, H. Hass, H. Kerp // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994. – V. 91. – P.11841-11843.

756. Rengel, Z. Breeding for Better Symbiosis / Z. Rengel // *Plant Soil*. - 2002. – V. 245. – P. 147-162.

757. Reguena, N. Interaction between plant-growth-promoting rhizobacteria, AV mycorrhizal fungi and *Rhizobium* ssp. in the rhizosphere of *Anthyllis cytisoides*, a model legume for revegetation in the mediterranean and semi-arid ecosystems / N. Reguena, I. Jimenes, M. Toro // *New Phytol.*, 1997. – V. 136. – P. 667-677.

758. Regnault, T. The gibberellin biosynthetic genes *AtKAO1* and *AtKAO2* have overlapping roles throughout *Arabidopsis* development /T.Regnault, J.-M.Daviere, D.Heintz, T. Lange, P.Achard // *Plant J.* – 2014, 80. – P. 462-474.

759. Rosendahl, L. Exchange of Metabolites across the Peribacteroid Membrane in Pea Root Nodules /L. Rosendahl, M.J. Dilwarth, A.R.Glenn // *J.Plant Physiol.* – 1992. – V.139. – P.635 – 638.

760. Ryu, H. Plant hormonal regulation of nitrogen-fixing nodule organogenesis / H. Ryu, H.Cho, D.Choi, I. Hwang // *Mol. Cells*, 2012, 34(2). – P. 117-126.

761. Rightmyer, A.P. Pseudonodule formation by wild-type and symbiotic mutant *Medicago truncatula* in response to auxin transport inhibitors / A.P. Rightmyer, S.R.Long, // *Mol. Plant Microbe Interact.*, 2011, 24. – P. 1372-1384.

762. Sabatini, D.D. Cytochemistry and electron microscopythe preservation of cellular ultrastructure and enzymatic astivity by alcleyde fixation /D.D.Sabatini,

K.Bensch, K.J. Barnett // *Journal of Cell. Biology.* - 1963. – V.1. - P. 16-58.

763. Sagan, M. Phenotypic characterization and classification of nodulation mutants of pea (*Pisum sativum* L.) / M.Sagan, T.Huquet, G.Duc // *Plant Sci.*- 1994. – V.100. – P. 59-70.

764. Sagan, M. Kinetics of nodule development in pea CV Frisson and in two supernodulating mutants / M.Sagan, P.M. Gresshoff // *Abstracts volume 10th Intern. Congr. On Nitrogen Fixation. Saint-Petersburg (Russia).* – 1995. – P.289.

765. Saikia, S.P. Dinitrogen Fixation Activity of *Azospirillum brasilense* in Maize (*Zea mays*) / S.P.Saikia, V.Jain, S. Khetarpal, S. Aravind // *Cur. Sci.* - 2007. – V. 93. – P.1296-1300.

766. Sasse, J.M. Physiological Actions of Brassinosteroids: An Update / J.M.Sasse // *J. Plant Growth Regul.* – 2003. V. 22. – P. 276-288.

767. Sasaki-Sekimoto, Y. Coordinated activation of metabolic pathways for antioxidants and defence compounds by jasmonates and their roles in stress tolerance in *Arabidopsis* / Y.Sasaki-Sekimoto, N.Taki, T.Obayashi et.al. // *Plant J.* 2005. – V. 44 - № 4. – P. 653-668.

768. Santino, A. Jasmonate signaling in plant development and defense response to multiple (a)biotic stresses / A.Santino, M.Taurino, S. De Domenico, S.Bonsegna, P.Poltronieri, V.Pastor, V.Flors // *Plant Cell Rep.* – 2013. – V. 32, № 7. – P. 1085- 1098.

769. Sakamoto, T. An overview of gibberellin metabolism enzyme genes and their related mutants in rice / T. Sakamoto, K.Miura, H.Itoh, T.Tatsumi, M.Ueguchi-Tanaka, K.Ishiyama, M.Kobayashi, G.K.Agrawal, S.Takeda, K.Abe, A.Miyao, H. Hirochika, H.Kitano, M.Ashikari., M.Matsuoka // *Plant Physiol.* – 2004. – 134 (4). – P. 1642-1653.

770. Sakakibara, H. Nitrate Specific and Cytokinin – Mediated Nitrogen Signaling Pathways in Plants / H. Sakakibara // *J. Plant Res.* – 2003. – V.116. – P. 253-

257.

771. Simon, L. Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular plants /L.Simon, J.Bousquet, R.C.Levesque, M.Lalonde // Nature, 1993, V.363 – P.67-69.

772. Shapaugh, W.T.Relationships between soybeans / W.T. Shapaugh, J.R Jr.Wilcox // Crop science - 1980.- V.20, №4.- P. 133-138.

773. Shirtliffe, S.J. A nodulation (Nod⁺/Fix⁻) mutant of *Phaseolus vulgaris* L. has nodule-like structures lacking peripheral vascular bundles (Pvb⁻) and is resistant to mycorrhizal infection (Myc⁻) / S.J. Shirtliffe, J.K. Vessey // Plant Sci. 1996. Vol. 118. P.209-220.

774. Shi, Y. Ethylene signaling negatively regulates freezing tolerance by repressing expression of *CBF* and type-A *ARR* genes in *Arabidopsis* / Y. Shi, S.Tian, L.Hou, X.Huang, X.Zhang, H.Guo, S. Yang // Plant Cell. – 2012. – V. 24. – P. 2578-2595.

775. Schultze, M. Cell and molecular biology of Rhizobium-plant interactions /M. Schultz, E. Kondorosi, P. Ratet [et.al.] / M.Schultze //Int. Rev. Cytol.-1994. - V.156. – P.102-118.

776. Snoad, B. The effects of genes *af*, *st*, & *tl* upon the yield of peas in nearisogenic bakground /B.Snoad, D.Caston, S.Negus //Annual Report John Innes Institute. – 1976. – P.33-35.

777. Spaink, H. A novel highly unsaturated fatty acid moiety of lipooligosaccharide signals determines host specificity of *Rhizobium* / H.Spaink, D.M.Sheeley, van Brussel A.A.N., J.Glushka, W.York, T.Tak, O .Geiger, E.Kennedy, N.Reinhold, B.J.J. Lugtenberg // Nature, - 1991. – V. 354. – P. 125-130.

778. Sterred, J.P. Enhanced response of bean (*Phaseolus vulgaris*) and canada thistle (*Cirsium arvense*) to bentazon or glyphosate by gibberellins / J.P. Sterred, R.H.Hodgson // Weed Sci. – 1983. – V. 31, № 3. – P. 396-401.

779. Stougaard, J. Regulators and regulation of legume root nodule development / J. Stougaard // *Plant Physiol.* - 2000. - V. 124. - P. 531-540.
780. Sturz, A.V. Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops / A.V.Sturz, J. Nowak// *Appl. Soil Ecol.* - 2000. - №15. - P. 183-190.
781. Sturz, A.V. Biodiversity of endophytic bacteria which colonize red clover nodules, roots, stems and their influence on host growth / A.V. Sturz, B.R.Chistie, B.G. Matheson, J.Nowak // *Biol. Fertil. Soils.* - 1997. - V. 25. - P. 13-19.
782. Sprent, J.I. Evolution and diversity in the legume-rhizobium symbiosis – chaos theory / J.I. Sprent // *Plant and Soil*, 1994. – V. 161. – P. 1-10.
783. Suslow, T.V. Beneficial bacteria enhance plant growth *Rhizobacteria* / T.V.Suslow, J.W.Kloepper, M.N. Schroth, T.J Burr // *J. Calif. Agric.* - 1979. - V. 33. - P. 15-17.
784. Suzuki, T. Genetic basis of cytokinin and auxin functions during root nodule development / T. Suzuki, M. Ito, M. Kawaguchi // *Front. Plant Sci.* – 2013. - № 4. - P. 1-6.
785. Steenhoudt, O. *Azospirillum*, a freeliving nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects / O.Steenhoudt, J. Vanderleyden J. // *FEMS Microbiol. Rev.* - 2000. - № 24. - P. 487-506.
786. Steller, S. Structural and functional organization of the fengycin synthetase multienzyme system from *Bacillus subtilis* b213 and A1.3 / S. Steller, D. Vollenbroich, F.Leenders, T.Stein, B.Conrad, J.Hofemeister, P.Jacques, P.Thonart, J.Vater // *Chem. Biol.* 1999. № 6. - P. 31-41.
787. Stepanova, A.N., Hoyt J.M., Hamilton A.A. A link between ethylene and auxin uncovered by the characterization of two root-specific ethylene-insensitive mutants in *Arabidopsis* / A.N.Stepanova, J.M.Hoyt, A.A.Hamilton // *Plant Cell.* – 2005. – V. 17. – P. 2230-2242.

788. Smith, K.P. Genetic basis in plants for interactions with disease – suppressive bacteria /K.P.Smith, J.Handelsman, R.M. Goodman // Proc, Natl. Acad. Sci. USA. 1999. № 96. P. 4786-4790.
789. Schulz, B. The endophytic continuum /B. Schulz, C. Boyle // Mycol. Res. - 2005. - V. 109. - P. 661-687.
790. Schmulling, T. CREAm of Cytokinin Signaling: Receptor identified /T. Schmulling // Trends Plant Sci. – 2001 – V. 6. - P. 281-284.
791. Song, C.S. Associative effect of *Azospirillum brasilense* with *Rhizobium japonicum* on nodulation and yield of soybean (*Glycine max*) / C.S.Song, N.S. Subba-Rao // Plant Soil. 1979. V. 53. № 3. P. 387-392.
792. Tan, G.V. Genetic variation for acetylene reduction rate and other characters in alfalfa /G.V. Tan // Cro Sci. – 1981. – V.21. – P.485-488.
793. Tanaka, K. Physiological roles of brassinosteroids in early growth of Arabidopsis. Brassinosteroids have a synergistic relationship with gibberellin as well as auxin in light-grown hypocotyls elongation / K.Tanaka, Y.Nakamura, T.Asami, S.Yoshida, T.Matsuo, S. Okamoto // J. Growth Regul. - 2003. - V.22. - P.259-271.
794. Tanaka, Y. Ethylene inhibits abscisic acid-induced stomatal closure in Arabidopsis / Y.Tanaka, T.Sano, M.Tamaoki, N.Nakajima, N.Kondo, S.Hasezawa // Plant Physiol. – 2005. – V. 138. – P. 2337-2343.
795. Tanimoto, E. Tall or short? Slender or thick? A plant strategy for regulating elongation growth of roots by low concentrations of gibberellin /E Tanimoto // Ann. Bot. – 2012, 110. – P. 373-381.
796. Tamimi, S.M. Effect of ethylene and inhibitors of ethylene synthesis and action on nodulation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) / S.M.Tamimi, M.P. Timco // Plant Soil. – 2013. – V.257. – P. 125-131.
797. Taiz, L., Zeiger E. Plant Physiology. Sunderland (USA): Sinauer

Associates, 2002. 571 p.

798. Teng, W. Characterization of root response to phosphorus supply from morphology to gene analysis in field-grown wheat /W.Teng, Y. Deng, X.Chen, X. Xu, R.Chen, Yang, Zhao Y., X.Zhao, X.He, B.Li, Y.Tong, F.Zhang, Z. Li // J. Exp. Bot. - 2013. - V. 64. - № 5. - P. 1403-1411.

799. Timmerman, G.M. Linkage mapping of sbm-1, a gene conferring resistance to pea-borne mosaic virus, using molecular markers in *Pisum sativum* / G.M. Timmerman, T.J. Frew, A.L. Miller.[et al.]- // Theoretical and Applied Genetics. 1993. Vol. 85. P. 609-615.

800. Tsyganov, V.E., New pea (*Pisum sativum* L.) genes sym33 and sym40 control infection thread formation and root nodule function / V.E. Tsyganov, E.V. Morzhina E.V., Stefanov S.Y.[et al.] - Mol. Gen. Genet. 1998. Vol. 256. P. 491-503.

801. Tsyganova, A.V. Negative hormonal regulation of symbiotic nodule development. I. Ethylene /A.V.Tsyganova, V.E.Tsyganov // Agricultural biology. - 2015. - Vol. 50, №3. - P. 267-277.

802. Truchet, G. Sulplated lipooligosaccharide signals of *Rhizobium meliloti* elicit root nodule organogenesis in alfalfa / G. Truchet, P. Roche, P. Lerouge [et.al.] // Nature. – 1991. – V.351. – P.670-673.

803. Tirichine, L. A Gain-of-Function Mutation in a Cytokinin Receptor Triggers Spontaneous Root Nodule Organogenesis / L.Tirichine, N. Sandal, L.H. Madsen, S.Radutoiu, A.S. Albrektsen, S.Sato, E.Asamizu, S.Tabata, J.Stougaard // Science. 2007. - V.315. - P. 104-107.

804. Udvardi, M. Evolution of (Brady) *Rhizobium*-Legume Symbiosis: Why Do Bacteroids Fix Nitrogen? /M. Udvardi, M. Kahn // Symbiosis. – 1992. – V. 14. – P. 87- 101.

805. Udvardi, M.K. Metabolite transport across Symbiotic Membranes of Legume Nodules / M.K. Udvardi, D.A.Day // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol.

Biol. – 1997. – V. 48. – P. 493-523.

806. Vance, C.P. Symbiotic nitrogen fixation and phosphorus acquisition. Plant nutrition in a world of declining renewable resources / C.P. Vance // *Plant Physiology*.- 2001.- vol. 127. – P. 390-397.

807. Vance, C.P., Heichel G.H. // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*- 1991.- V. 42. – p. 373-392.

808. Vandeputte, O. Biosynthesis of auxin by the gram-positive phytopathogen *Rhodococcus fascians* is controlled by compounds specific to infect plant tissues / O.Vandeputte, S.Öden, A.Mol, D.Vereecke, K.Goethals, El Jaziri M., E.Prinsen // *Appl. Environ. Microbiol.* - 2005. - V. 71. - P. 1169-1177.

809. Van Loon, L.C. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria / L.C.Van, Loon, P.Bakher, C.M.J.Pieterse // *Ann. Rev. Phytopathol.* - 1998. - V. 36.- P. 453-483.

810. Van Spronsen, P.C. Nod factors produced by *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* induce ethylene-related changes in root cortical cells of *Vicia sativa* ssp. *nigra* / P.C.Van Spronsen, A.A.N. Van Brussel, J.W. Kijne // *Eur. J. Cell Biol.* – 1995. – 68(4). – P. 463-469.

811. Velde van de, W. Plant Peptides Govern Terminal Differentiation of Bacteria in Symbiosis / Velde van de W., G. Zehirov, A. Szatmari, M.Debreczeny, H.Ishihara, Z.Kevei, A. Farkas, K.Mikulass, A.Nagy, H.Tiricz, B.Satiat-Jeunemaitre, B.Alunni, M.Bourge, K.Kucho, M.Abe, A.Kereszt, G.Maroti, T.Ushiumi, E.Kondorosi, P.Mergaert // *Science.* – 2010. – V. 327. – P.1122-1126.

812. Volobueva, O.G. The interrelation between symbiotic nitrogen-fixture and the yield of pea plants / Volobueva O.G. // *Abstracts of the international conference «Physicalchemical basis of plant physiology», Pushchino, 1996.* - P. 86.

813. Volobueva, O.G. Characterization the interrelation between symbiotic

nitrogen- fixture and the yield of pea plants / Volobueva O.G. // Abstracts Int. sci. conf. «S.P. Kostychev and contemporary agricultural microbiology, Yalta, 2007. – P.64.

814. Vysotskaya, L.B. Growth Rate, IAA and Citokinin Content of Wheat Seedlings after Root Pruning / L.B.Vysotskaya, L.N.Timergalina, M.V.Simonyan, S.Veselov, Yu., G.R. Kudoyarova // Plant Growth Regul. 2001. - V. 33. - P. 51 -57.

815.Verna, D.P.S. Signals in Root Nodule Organogenesis and Endocytosis of Rhizobium / D.P.S. Verna // Plant Cell. – 1992. – V. 4. – P. 373-382.

816. Walker, T.S. Root exudation and rhizosphere biology /T.S. Walker. H.P.Bais, E.Grotewold, J.M.Vivanco // Plant physiol. – 2003. – V. 132. – P. 44-51.

817. Weeden, N.F. Genetic analysis of sym genes and other nodule-related genes in *Pisum sativum* / N.F. Weeden, B. Kneen, T.A. LaRue //Nitrogen Fixation: Achievements and Objectives. Knoxville. – 1990. – P.323.

818. Weeden, N.F. The current pea linkage map / N.F. Weeden, W.K. Swiecicki G.M Timmerman-Vaughan [et al.]. // Pisum Genetics. 1996. Vol. 28. P. 1-4.

819. Wellensick, S.I. Genetic monograph on *Pisum* / S.I.Wellensick // Genetica. 1995. - V 2. - P. 343-476.

820. Wegel, E. Mycorrhiza mutants of *Lotus japonicus* define genetically independent steps during symbiotic infection /E. Wegel, L. Schauser, N. Sandal [et al.] // Mol. Plant-Microbe Interact. 1998. - V. 11. - № 9. - P. 933-937.

821. Welbaum, G.E. Managing soil microorganisms to improve productivity of agro- ecosystems / G.E.Welbaum, A.V. Sturz, Z.Dong, J. Nowak // Crit. Rev. Plant Sci. - 2004. - № 23. - P. 175-193.

822. Whipps, J.M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere / J.M. Whipps // J. Exp. Botany. 2001. V. 52. P. 487-511.

823. Westermann, D.T. Symbiotic N₂ fixation bei bean / D.T. Westermann, J.J.

Kollar // Crop.sci., 1978.-V.18, № 6. – P.986-990.

824. White, O. Studies of inheritance in Pisum. II. The present state of knowledge of heredity in Peas /O. White // Proc. Amer. Phylos. Sos.- 1997. - V.56. - P.243-248.

825. Wu, S. Dinitrogen fixation potential yield of hypernodulating soybean mutants/ S. Wu, J.E. Harper //Crop. Sci. – 1991. – V.31. – N5. – P. 1233-1237.

826. Yang, J. Hormonal Clandes in the Grains of Rice Subjected to water Stress during Grain Filling / J. Yang, J. Zhang, Z. Wang, O. Zhu, W. Wang // Plant Physiol. – 2001. – V. 127. – P. 315-323.

827. Yao, A.V. Effect of FZB24 *Bacillus subtilis* as a biofertilizer on cotton yields in field tests / A.V. Yao, H. Bochow, S.Karimov, U.Boturov, S.Sanginboy, K.Sharipov// Arch. Phytopathol. Plant Prot. - 2006. - V. 39. - P. 1 - 6.

828. Yu, J.Q. A role for brassinosteroids in the regulation of photosynthesis in Cucumis sativus / J.Q. Yu, L.F.Huang, W.H. Hu, Y.H.Zhou, W.H.Mao, S.F. Ye, S. Nogues // J. Exp. Bot. 2004. V. 55. - № 399. - P. 1135-1143.

829. Young, N.D. Legume genomes: more than peas in a pod / N.D. Young, J. Mudge, T.H.N. Ellis // Curr. Opin. Plant Biol. – 2003. – V. 6. – P. 199-204.

830. Zadorin, A.D. Productivity potential of new perspective morphotypes in pea breeding /A.D. Zadorin, A.N. Zelenov, I.V. Kondykov [et.al.] / 3rdEuropean Conference on Grain legumes. – 1998. Valladolid Spain. – P.199.

831. Zadorin, A.D. Biologic pjtential of various pea with apical raceme //Eucarpia international symposium on breeding of protein and oil crops / A.D. Zadorin, A.N. Zelenov, I.V. Kondykov [et.al.]. - Pontevedra Spain. – 1998. – P.36-40.

832. Zhang, Y.P., Grunwald S.K., Lies D., Halbleib C., Ma Y., Roberts G.P., Burriss R.H., Ludden P.W. Posttranslational Regulation of Nitrogenase Activity by Reversible ADP-Ribosylation; How Are the Regulatory Enzymes DraT and DraG

Regulated? // Nitrogen Fixations: Fundamentals and Applications / Eds Tikhonovich I.A., Provorov N.A., Romanov V.I., Newton W.E. Dordrecht. – Boston, London: Kluwer. – 1995. – P. 177-182.

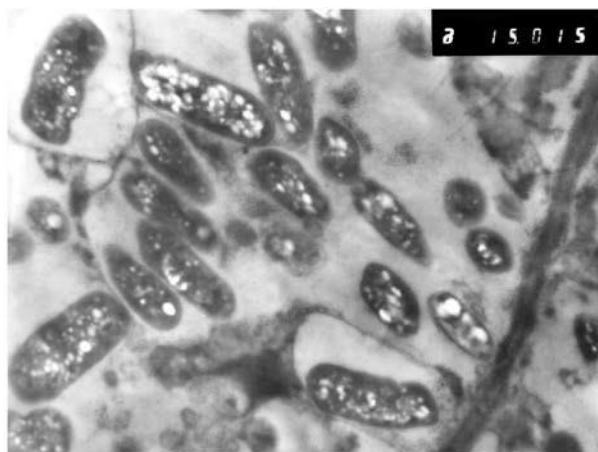
833. Zehnder, G.W. Application to rhizobacteria for induced resistance / G.W. Zehnder, J.F.Murphy, E.J.Sikora, J.W. Kloepper // Eur. J. Plant Pathol. - 2001. - V. 107. - P. 39-50.

834. Xavier, L.J.C. Selective interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae* enhance pea yield and nutrition / L.J.C.Xavier, J.J. Germida // Biol Fertil Soils. – 2003. - V.37 – P. 261-267.

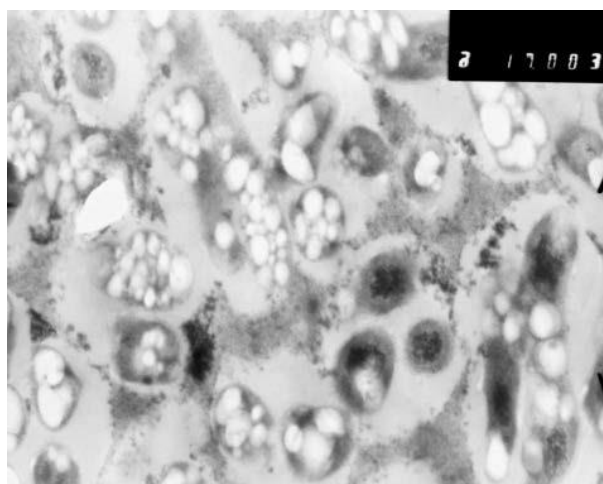
ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А - Ультраструктура клубеньков сои сорта Свапа

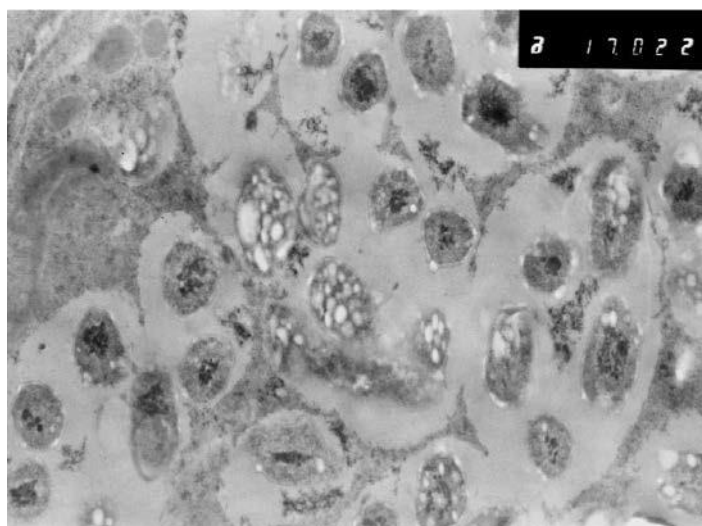
Приложение А.1 - Ультраструктура клубеньков сои сорта Свапа, образованные при инокуляции Ризоторфином, увеличение 15000



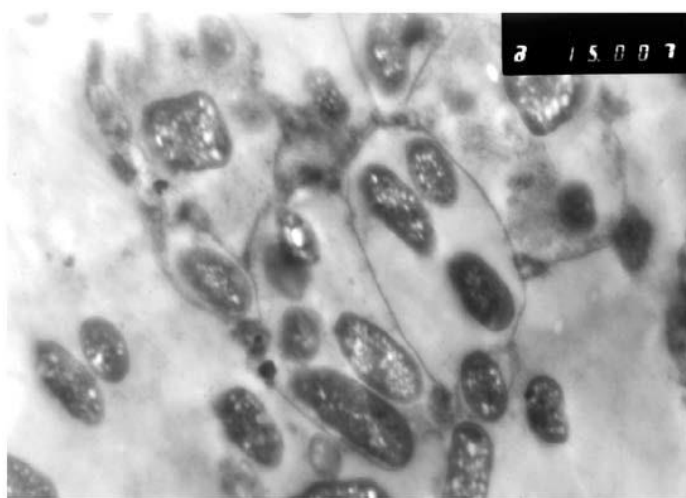
Приложение А.2 – Ультраструктура клубеньков сои сорта Свапа, образованные при инокуляции Ризоторфином, увеличение 17000, отмечается большое количество включений ПОМ



Приложение А.3 - Ультраструктура клубеньков сои сорта Свапа, образованные при обработке семян Эпином-Экстра, увеличение 17000, отмечается наличие большого числа симбиосом, бактериоидов, включений воллютина и минимальное количество ПОМ

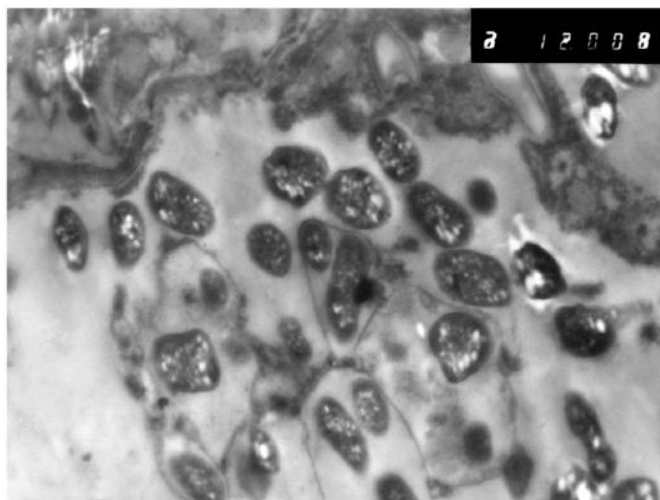


Приложение А.4 - Ультраструктура клубеньков сои сорта Свапа, образованные при обработке семян Эпином-Экстра, увеличение 15000

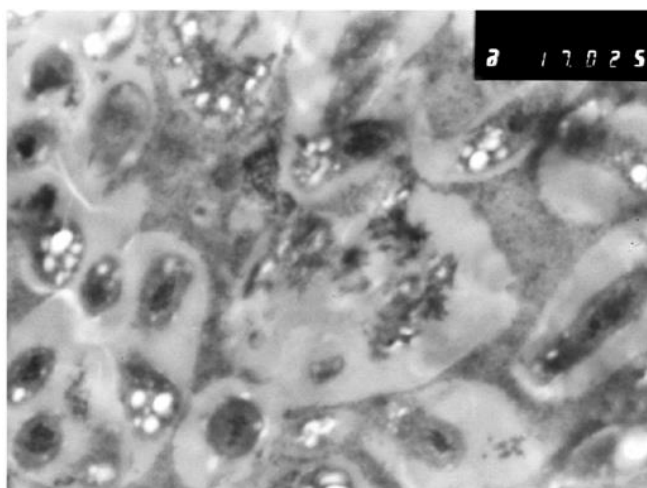


Приложение Б - Ультраструктура клубеньков сои сорта Магева

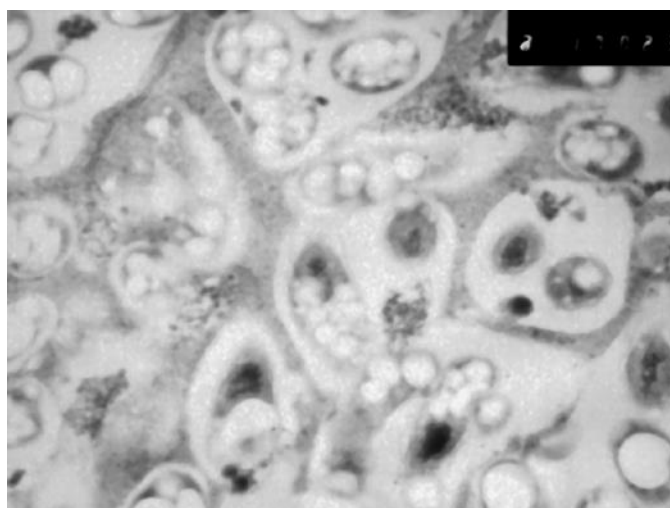
Приложение Б.1 - Ультраструктура клубеньков сои сорта Магева, образованные при инокуляции Ризотофином, увеличение 12000, отмечается увеличение количества и площади симбиосом, бактериоидов, включений воллютина, при минимальном количестве ПОМ



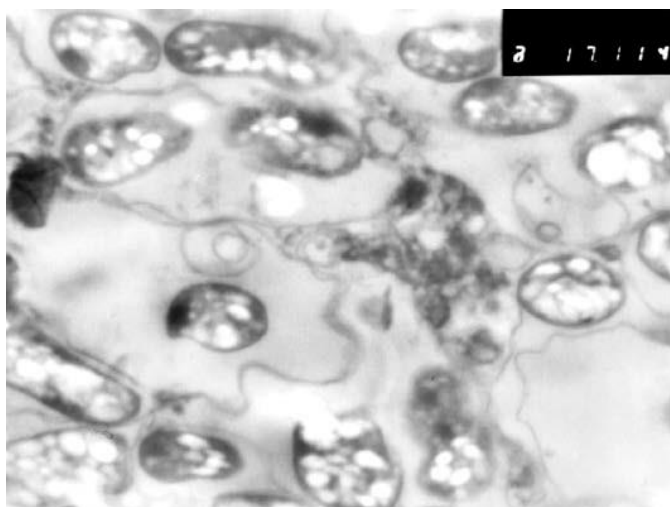
Приложение Б.2 - Ультраструктура клубеньков сои сорта Магева, образованные при инокуляции Ризотофином, увеличение 17000



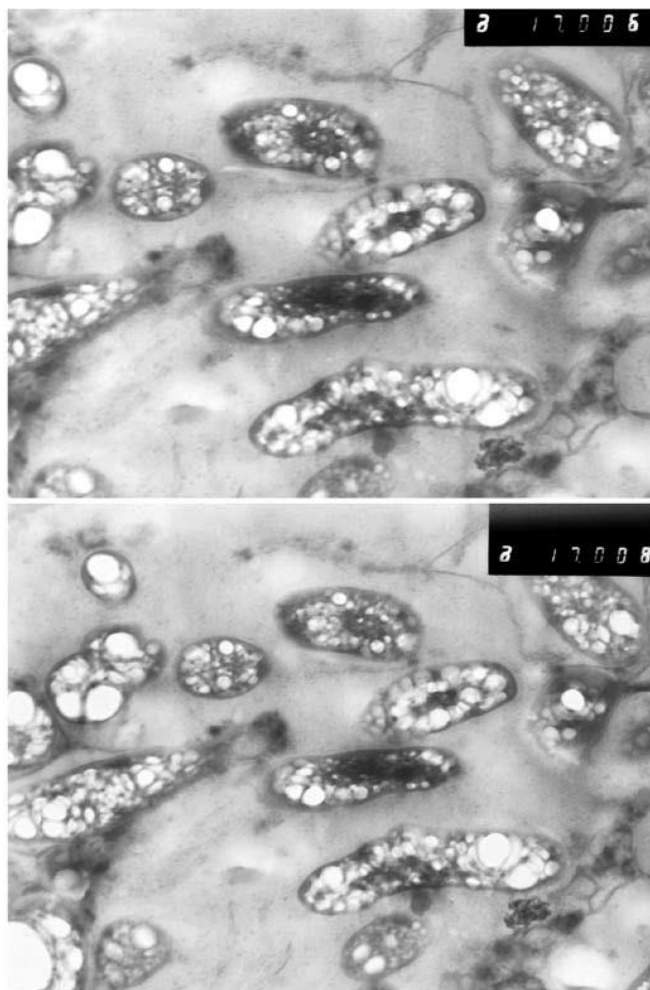
Приложение Б.3 - Ультраструктура клубеньков сои сорта Магева, образованные при обработке семян Эпином-Экстра, увеличение 17000, отмечается наличие большого количества включений ПОМ



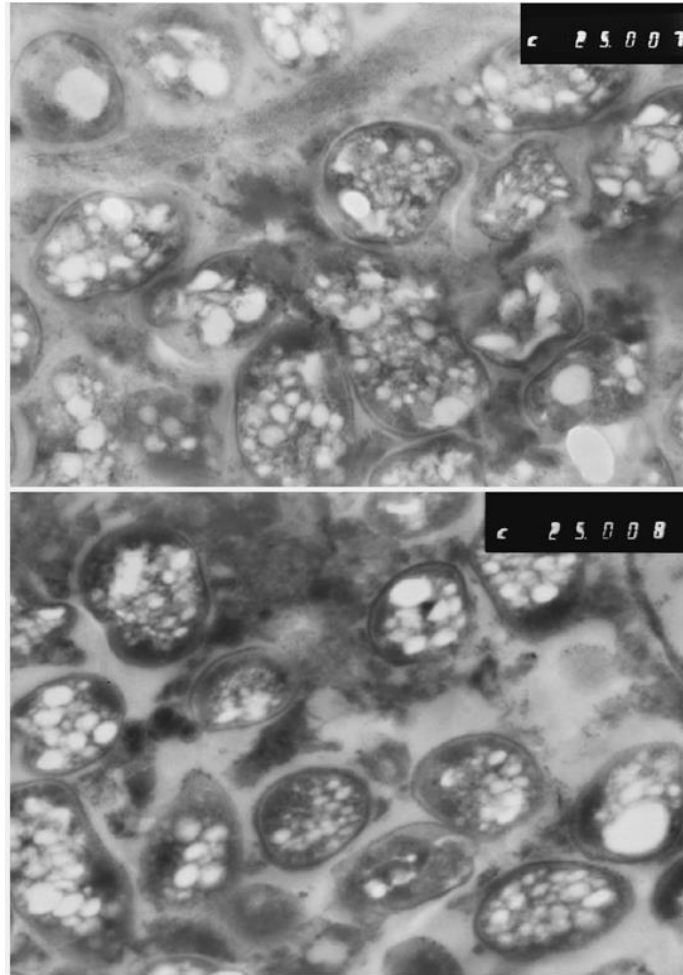
Приложение Б.4 - Ультраструктура клубеньков сои сорта Магева, образованные при обработке семян Эпином-Экстра, увеличение 17000, отмечается наличие большого количества включений ПОМ



Приложение В - Ультраструктура клубеньков фасоли сорта Гелиада
Приложение В.1 - Ультраструктура клубеньков фасоли сорта Гелиада,
образованные при инокуляции Ризоторфином, увеличение 17000, отмечается
наличие большого количества ПОМ

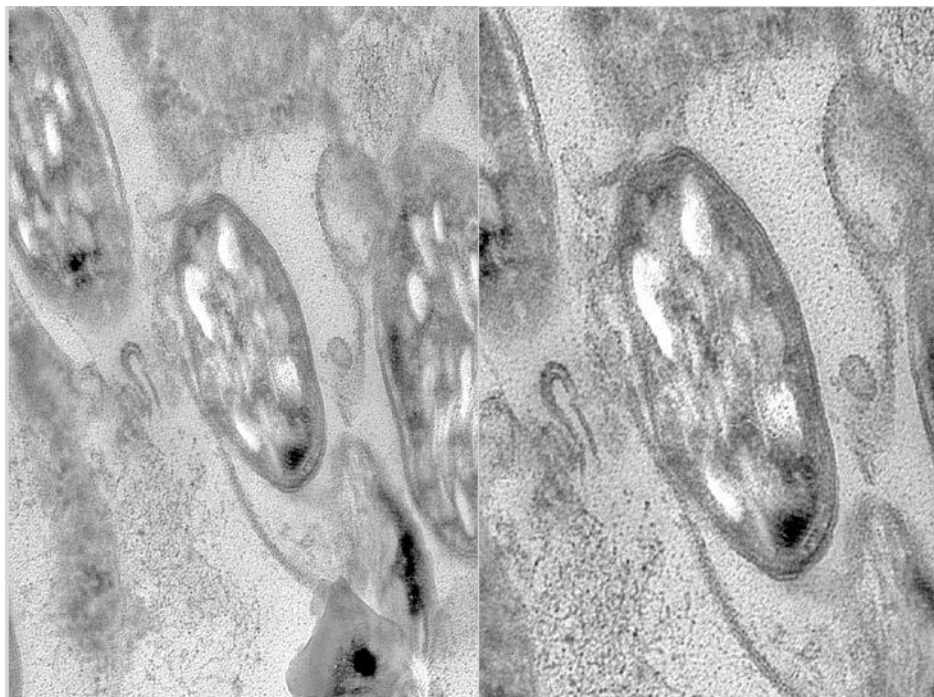


Приложение В.2 - Ультраструктура клубеньков фасоли сорта Гелиада, образованные при обработке семян Корневином, увеличение 25000, отмечается большая площадь бактериоидов

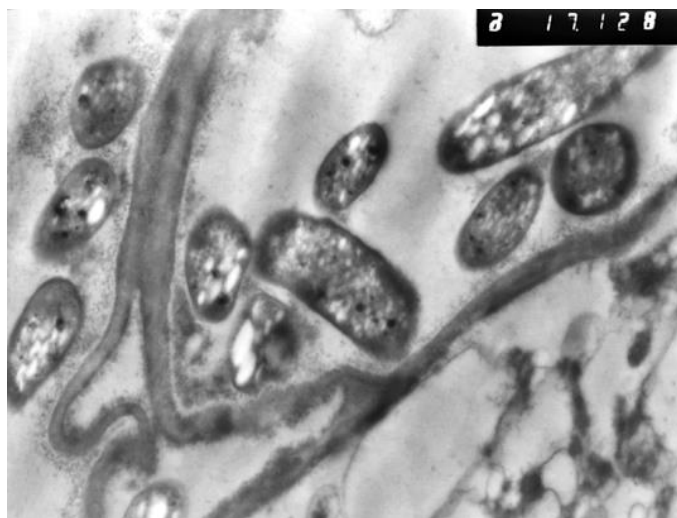


Приложение В.3 - Ультраструктура клубеньков фасоли сорта

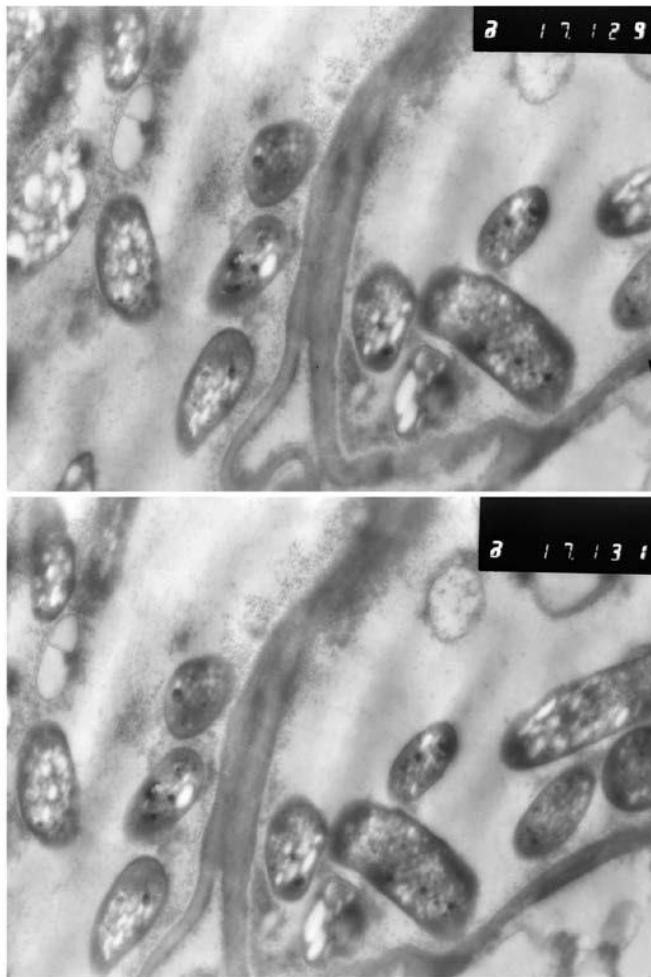
Гелиада, образованные при обработке семян Альбитом, увеличение 20000



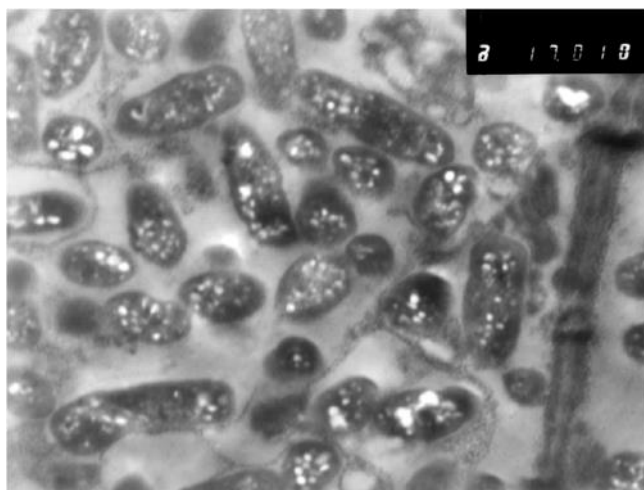
Приложение В.4 - Ультраструктура клубеньков фасоли сорта Гелиада, образованные при обработке семян Эпином-Экстра, увеличение 17000, отмечается самая большая площадь симбиосом, включений волютина и их количество



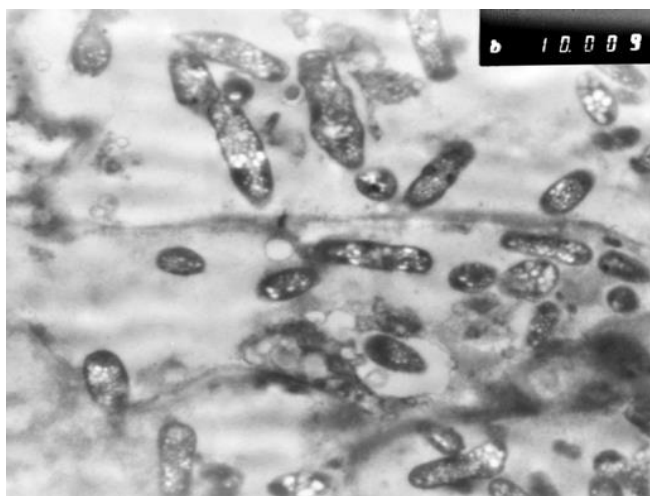
Приложение В.5 - Ультраструктура клубеньков фасоли сорта Гелиада, образованные при обработке семян Эпином-Экстра, увеличение 17000



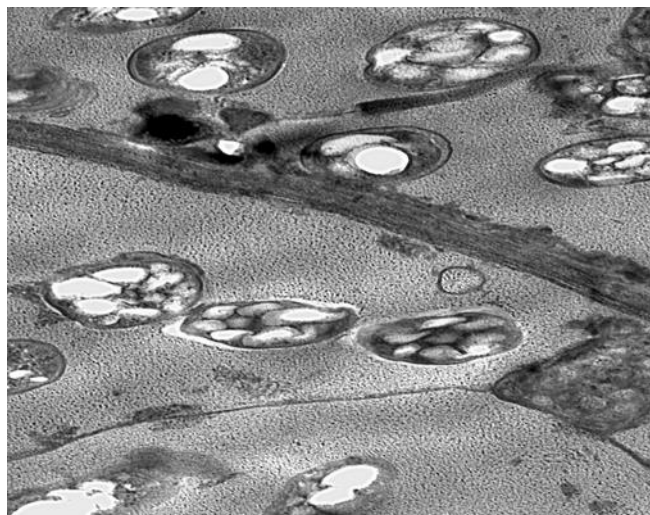
Приложение Г - Ультраструктура клубеньков фасоли сорта Шоколадница
Приложение Г.1 - Ультраструктура клубеньков фасоли сорта Шоколадница, образованные при инокуляции Ризоторфином, увеличение 17000, отмечается увеличение площади и количества бактериоидов, включений волютина



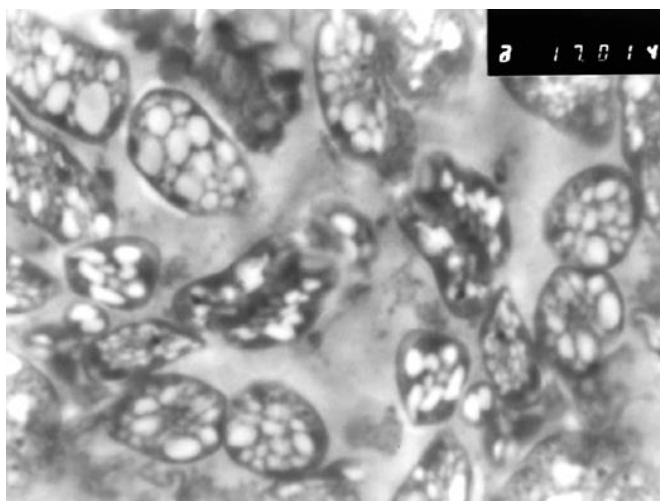
Приложение Г.2 - Ультраструктура клубеньков фасоли сорта Шоколадница, образованные при инокуляции Ризоторфином, увеличение 10000, отмечается увеличение площади и количества бактериоидов, включений волютина



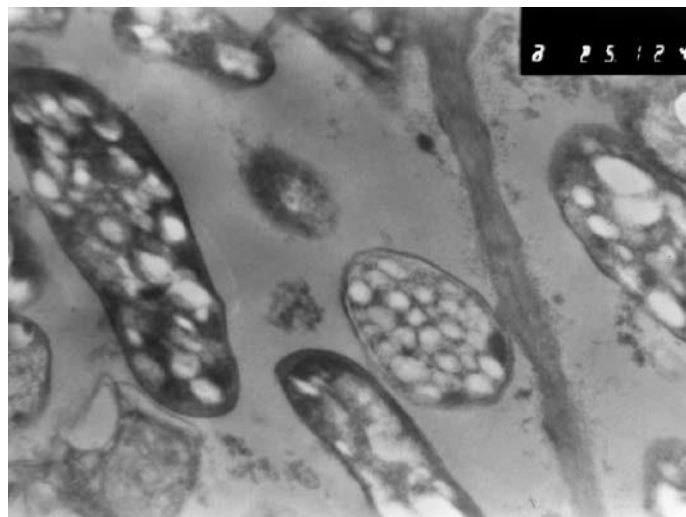
Приложение Г.3 - Ультраструктура клубеньков фасоли сорта Шоколадница, образованные при обработке семян Корневином, увеличение 40000



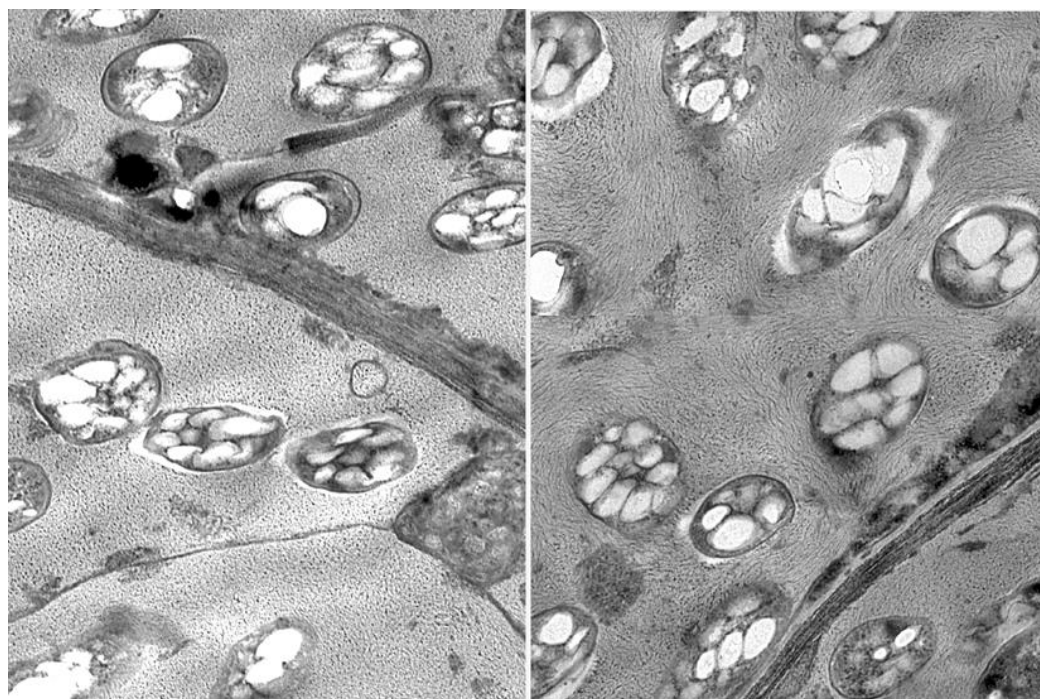
Приложение Г.4 - Ультраструктура клубеньков фасоли сорта Шоколадница, образованные при обработке семян Корневином, увеличение 17000, отмечается большая площадь и количество ПОМ



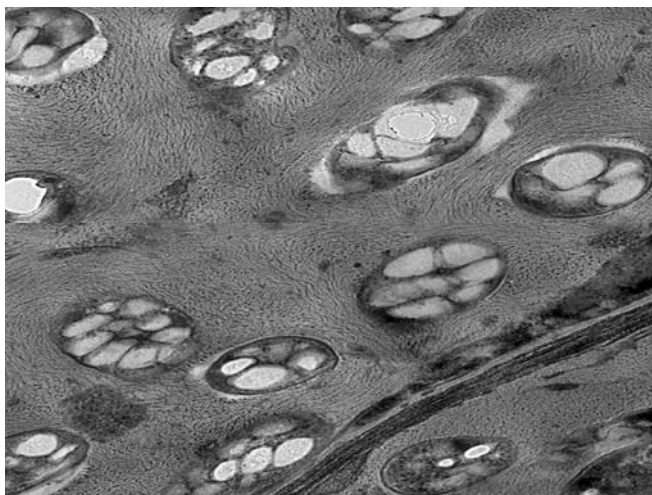
Приложение Г.5 - Ультраструктура клубеньков фасоли сорта Шоколадница, образованные при обработке семян Корневином, увеличение 25000, отмечается большая площадь и количество ПОМ



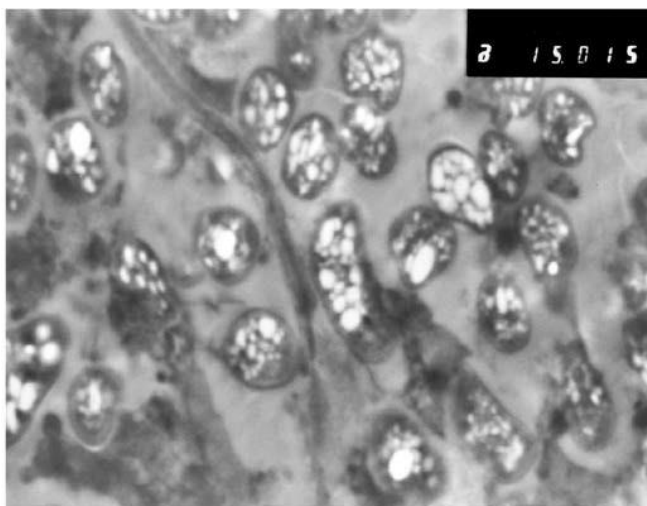
Приложение Г.6 - Ультраструктура клубеньков фасоли сорта Шоколадница, образованные при обработке семян Альбитом, увеличение 40000, отмечается большое количество включений ПОМ



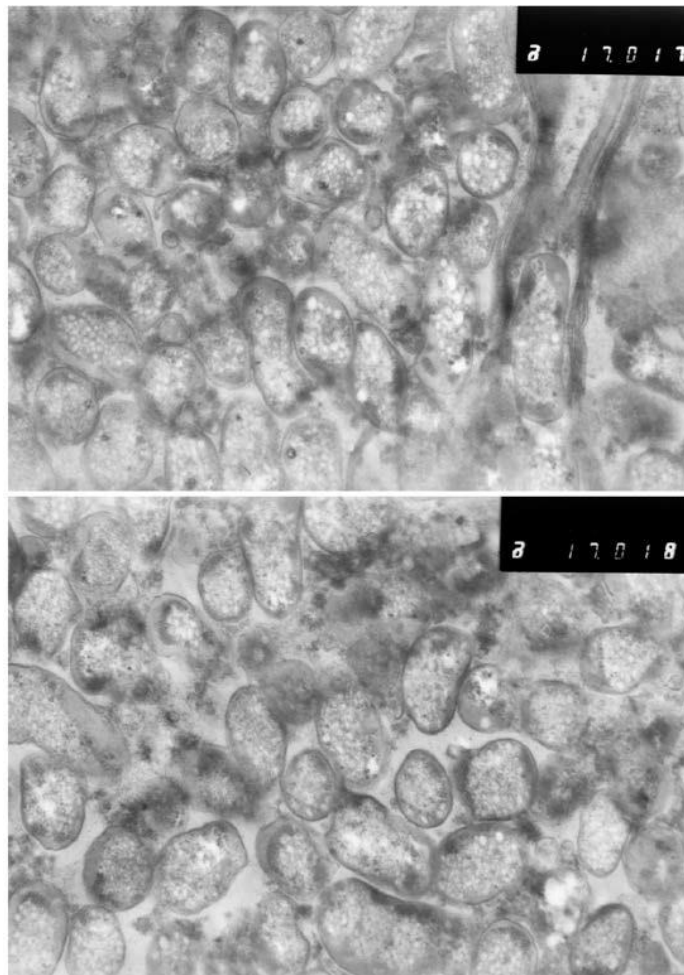
Приложение Г.7 - Ультраструктура клубеньков фасоли сорта Шоколадница, образованные при обработке семян Альбитом, увеличение 40000, отмечается большое количество включений ПОМ



Приложение Г.8 - Ультраструктура клубеньков фасоли сорта Шоколадница, образованные при обработке семян Эпином-Экстра, увеличение 15000



Приложение Г.9 - Ультраструктура клубеньков фасоли сорта Шоколадница, образованные при обработке семян Эпином-Экстра, увеличение 17000



Приложение Д – Влияние биопрепаратов и регуляторов роста
на клубенькообразующую способность растений фасоли в полевых условиях

Вариант	Сорт	Число клубеньков на растение, шт			Масса клубеньков, мг		
		2006 г	2007 г	2008 г	2006 г	2007 г	2008 г
Контроль	Гелиада	2006 г	2007 г	2008 г	39±1,1	50±0,8	132±0,4
	Шоколадница	9±0,3	3±0,7	6±0,1	85±0,2	50±0,9	126±0,2
Ризоторфин	Гелиада	20±0,01	8±0,5	21±0,4	41±0,9	92,5±0,9	186±0,7
	Шоколадница	10±0,2	5±0,6	18±0,1	90±0,7	135±0,9	148±0,1
Альбит	Гелиада	23±0,3	11±0,2	26 ±0,9	56±0,5	87±0,8	191±0,1
	Шоколадница	15±0,3	18±0,6	20±0,3	45±0,7	118±0,9	154±0,5
Корневин	Гелиада	19±0,1	15±0,2	34±0,3	65±1,4	200±0,7	204±0,3
	Шоколадница	16±0,3	21±0,9	24±0,7	31±0,3	102±0,9	168±1,0
Эпин-Экстра	Гелиада	18±0,2	19±0,6	24±0,9	78±0,9	210±0,8	208±0,4
	Шоколадница	17±0,4	23±0,8	29±0,6	43±0,6	128±0,9	174±0,6

Приложение Е – Нитрогеназная активность растений фасоли в полевых
условиях при обработке биопрепаратами и регуляторами роста

Вариант	Сорт	Активность нитрогеназы, мкг/N ₂ раст. час	
		2006 г.	2008 г.
Контроль	Гелиада	6,51 ± 0,3	3,56 ± 0,3
	Шоколадница	1,63 ± 0,6	4,21 ± 0,4
Ризоторфин	Гелиада	6,74 ± 0,1	5,62 ± 0,7
	Шоколадница	21,57 ± 1,4	19 ± 0,2
Альбит	Гелиада	6,94 ± 0,1	7,82 ± 0,2
	Шоколадница	12,94 ± 0,4	16,19 ± 0,2
Корневин	Гелиада	6,78 ± 0,2	7,04 ± 0,2
	Шоколадница	13,37 ± 0,4	17,18 ± 0,7
Эпин-Экстра	Гелиада	7,08 ± 0,3	8,14 ± 0,2
	Шоколадница	18,63 ± 1,3	14,04 ± 0,6

Приложение Ж – Влияние биопрепаратов и регуляторов роста на показатели роста растений фасоли в полевых условиях

Вариант	Сорт	Надземная масса, г/растение			Высота, см		
		2006 г	2007 г	2008 г	2006 г	2007 г	2008 г
Контроль	Гелиада	14±0,4	30±0,4	45±0,5	31±0,5	40±0,3	40±0,9
	Шоколадница	13±0,1	29,5±0,4	52±0,5	27,5±1,2	31±0,2	39±0,3
Ризоторфин	Гелиада	16±0,2	39,9±0,4	50,5±0,2	33,5±0,2	45±0,2	45±0,3
	Шоколадница	13±0,5	39,4±0,3	59,5±0,1	30,5±1,7	37±0,2	46±0,2
Альбит	Гелиада	22±0,4	38±0,3	54,8±0,4	40,2±0,4	46±0,3	47±0,1
	Шоколадница	14±0,1	37±0,6	56,2±0,1	31±0,1	34±0,7	44±0,2
Корневин	Гелиада	18±0,2	31,5±0,3	53±0,2	32,5±0,3	42±0,1	45±0,4
	Шоколадница	18±0,4	24,6±0,6	54,4±0,3	29±0,3	35±0,9	45±0,3
Эпин-Экстра	Гелиада	20±0,2	41,3±0,4	48±0,3	37,5±0,1	47±0,3	44±0,3
	Шоколадница	10±0,4	27,3±0,3	53,5±0,3	24,5±0,2	34±0,3	40±0,6

Приложение З – Структурный анализ урожая фасоли. Полевой опыт 2006 г

Вариант	Количество растений	Масса снопа, г	Высота растений см	Число бобов шт/раст	Масса бобов г/раст	Число семян шт/раст	Масса семян г/раст
Г	25±0,83	620±8,9	40±2,15	10±1,06	18,05±1,26	30±1,08	13,17±1,25
Г ₁	25±0,83	750±9,12	50±2,36	11±1,09	19,03±1,45	32±1,89	14,55±1,27
Г ₂	25±0,83	1032±10,3	53±2,43	15±1,27	20,97±1,53	35±1,97	16,87±1,37
Г ₃	25±0,83	634±8,9	52±2,41	10±1,07	19,38±1,47	30±1,81	15,25±1,31
Г ₄	25±0,83	665±8,9	43±2,18	14±1,24	19,45±1,47	33±1,91	14,17±1,26
Ш	25±0,83	610±8,19	49±1,15	10±0,07	17,09±1,47	35±2,13	11,13±1,25
Ш ₁	25±0,83	758±9,10	50±1,58	12±0,76	19,85±1,27	37±2,03	16,18±1,34
Ш ₂	25±0,83	1053±9,37	53±3,25	16±1,82	26,40±2,61	56±3,2	22,63±2,38
Ш ₃	25±0,83	618±10,2	51±2,36	13±1,22	19,94±1,49	46±2,27	14,0±1,24
Ш ₄	25±0,83	616±10,13	55±3,18	11±1,66	18,19±2,11	43±3,12	13,64±1,89

Примечание - Г – Гелиада – контроль, без обработки;
 Г₁- Гелиада+Ризоторфин; Г₂- Гелиада +Альбит; Г₃- Гелиада+Корневин;
 Г₄ – Гелиада+Эпин-Экстра; Ш – Шоколадника-контроль, без обработки;
 Ш₁- Шоколадница+ Ризоторфин; Ш₂- Шоколадница+Альбит;
 Ш₃- Шоколадница+Корневин; Ш₄- Шоколадница+Эпин-Экстра

Приложение И – Структурный анализ урожая фасоли. Полевой опыт 2007г

Вариант	Количество растений	Масса снопа, г	Высота растений см	Число бобов шт/раст	Масса бобов г/раст	Число семян шт/раст	Масса семян г/раст
Г	30±3,91	196,40±14,73	46±5,86	6±2,20	8,01±2,28	21±4,7	6,25±2,53
Г ₁	30±3,91	215,65±14,93	48±6,96	7±2,70	10,0±3,22	23±4,8	7,83±2,83
Г ₂	30±3,91	219,50±14,97	56±7,56	7±2,21	10,16±2,74	23±4,96	16,7±2,83
Г ₃	30±3,91	217±14,81	55±5,30	7±2,60	8,84±3,0	22±4,68	6,75±2,59
Г ₄	30±3,91	220,35±14,9	59±7,69	8±2,86	10,04±3,20	22±4,73	7,61±2,79
Ш	30±3,91	495±23,60	57±6,77	20±3,59	23,17±5,09	80±8,06	15,23±3,53
Ш ₁	30±3,91	595±24,60	59±7,73	21±4,58	25,15±5,07	82±9,16	18,29±4,63
Ш ₂	30±3,91	790±28,40	64±7,99	23±4,83	32,55±5,76	64±8,07	43,90±6,70
Ш ₃	30±3,91	713±26,97	65±8,14	21±4,63	30,0±5,53	91±9,64	21,70±4,71
Ш ₄	30±3,91	667,5±26,10	71±8,51	22±4,69	29,7±5,51	87±9,44	21,50±4,70

Примечание - Г – Гелиада – контроль, без обработки;

Г₁- Гелиада+Ризоторфин; Г₂- Гелиада +Альбит; Г₃- Гелиада+Корневин;

Г₄– Гелиада+Эпин-Экстра; Ш – Шоколадника-контроль, без обработки;

Ш₁- Шоколадница+ Ризоторфин; Ш₂- Шоколадница+Альбит;

Ш₃- Шоколадница+Корневин; Ш₄- Шоколадница+Эпин-Экстра

Приложение К - Показатели роста растений гороха сортов Норд и Юниор
 Вегетационный опыт (среднее за 2007-2009 гг.)

Вариант	Фаза развития	Надземная масса, г/растение		Высота растений, см	
		Норд	Юниор	Норд	Юниор
Контроль	1	20±0,6	22±1,2	38±0,8	50±2,1
	2	23±3,2	28±5,2	41±15,0	68±5,2
	3	30±6,8	48±0,2	45±12,6	74±3,4
	4	39±0,8	45±0,1	50±0,5	79±0,5
Ризоторфин	1	25,6±0,7	23,4±3,1	41±0,7	53±2,8
	2	28,2±1,2	52,7±4,3	42,5±17,7	74±7,1
	3	39,2±6,9	66,3±0,2	48±12,7	79±2,8
	4	49,9±0,9	52,6±0,1	54±0,5	87±0,4
Агростимулин	1	22,7±0,6	26±2,1	46,5±4,2	52±1,4
	2	41,1±6,4	46,9±7,8	49±12,0	76±4,2
	3	45,9±8,6	83,9±0,1	51±12,7	83±4,2
	4	60,9±0,1	80,2±0,1	55±0,5	88±0,8

Примечание: фазы развития:

1 – начало бутонизации; 2 – бутонизация – начало цветения;

3 – цветения; 4 – налив плодов

Приложение Л – Азотфиксирующая активность растений гороха
 сортов Норд и Юниор. Вегетационный опыт (среднее 2007-2009гг.)
 Вегетационный опыт (среднее 2007-2009 гг.)

Показатели	Фаза развития	Вариант		
		I	II	III
Масса корней с клубеньками, г/растение	1	2,7±0,03 4,0±0,02	3,3±0,03 4,7±0,13	4,0±0,04 4,7±0,01
	2	3,0±0,5 4,3±2,4	3,4±0,4 4,9±1,2	4,6±0,64 5,3±3,6
	3	3,2±1,2 4,8±1,2	3,5±1,07 5,1±1,3	4,9±1,77 9,1±0,13
	4	3,8±0,02 5,2±0,01	4,4±0,02 6,1±0,01	4,3±0,03 8,3±0,01
Количество клубеньков, шт/растение	1	-	69±1,7 133±2,3	124±1,9 384±2,5
	2	4±0,01 6±0,01	77±1,4 145±1,8	105±1,5 130±1,9
	3	2±0,02 4±0,02	58±1,5 79±1,6	109±1,4 174±1,7
	4	-	92±0,6 44±0,5	58±0,7 78±0,4
Масса клубеньков, мг/растение	1	-	80±0,1 140±0,1	130±0,1 450±0,3
	2	15±0,01 17±0,01	100±28,3 189±56,6	75±7,07 230±70,7
	3	13±0,02 15±0,02	50±14,1 600±84,9	62±17,7 310±16,9
	4	12±0,03 13±0,02	90±0,01 60±0,02	60±0,01 200±0,01
Активность нитрогеназы, мкг N/раст/ч	1	-	20,8±0,1 26,7±0,1	20,1±0,2 55,6±0,5
	2	10,8±0,1 12,3±0,2	24,3±0,2 28,9±0,2	30,3±0,3 70,0±0,4
	3	9,7±0,1 10±0,2	22±0,1 51,4±0,3	33,2±0,2 67,5±0,4
	4	-	18±0,1 20±0,2	19±0,2 48,9±0,3

Примечание: варианты: I – контроль, без обработки;
 II – обработка Ризоторфином; III – обработка Агростимулином на фоне инокуляции Ризотофином; нижняя строка - сорт Норд, верхняя сорт Юниор;
 «прочерк» - отсутствие показателя

Приложения М – Урожайность растений гороха сортов Норд и Мультик.
Полевой опыт 2006г.

Вариант	Норд			Мультик		
	Ц/га среднее	%	Прибавка	Ц/га	%	Прибавка
Контроль	40,3±2,14	100	-	40,1±2,13	100	-
Ризоторфин	41,35±2,14	102,61	2,61	43,0±2,19	107,23	7,23
Альбит	40,3±2,12	100	-	39,7±2,19	99	-1
Корневин	42,2±2,14	104,72	7,72	41,5±2,14	103,49	3,49
Эпин- экстра	40,7±2,13	100,99	0,99	39,8±2,11	97,26	-2,74

Приложения Н – Урожайность растений гороха сортов Норд и Мультик.
Полевой опыт 2007г.

Вариант	Норд			Мультик		
	Ц/га среднее	%	Прибавка	Ц/га	%	Прибавка
Контроль	15,4±2,10	100	-	10,2±2,11	100	-
Ризоторфин	18,2±2,12	118,2	18,2	16,8±2,19	164,7	64,7
Альбит	16,6±2,19	107,8	7,8	10,7±2,19	104,9	4,9
Корневин	20,7±2,14	134,4	34,4	16,7±2,14	163,7	63,7
Эпин- экстра	21,1±2,13	139	39	16,1±2,11	157,8	57,8

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ЗЕРНОБОБОВЫХ И КРУПЯНЫХ КУЛЬТУР»**

302502, Орловская обл., Орловский р-н,
пос. Стрелецкий, ул. Молодёжная, д.10, к. 1

Тел. (486-2) 403-224
Факс (486-2) 403-130
e-mail: office@vniizbk.orel.ru

4.02.2021 № 42

на № _____ от _____

СПРАВКА

об использовании научных результатов диссертационной работы
О.Г. Волобуевой «Эффективность бобово-ризобиального симбиоза при использовании биопрепа-
ратов и регуляторов роста», представленной на соискание доктора сельскохозяйственных наук по
специальности 03.01.05 – Физиология и биохимия растений

В процессе выполнения исследований автором выявлены пути повышения эффективности бобово-ризобиального симбиоза за счет изменения гормонального баланса бобовых растений, ультраструктур бактериоидов и симбиосом при экзогенной обработки биопрепаратами и регуляторами роста. Установленные закономерности гормональной регуляции азотфиксирующей активности бобовых растений создают основу для использования биопрепаратов и регуляторов роста в практике сельского хозяйства и селекционной работе. Показана целесообразность сочетания предпосевной обработки семян клубеньковыми бактериями и регуляторами роста.

Полученные О.Г.Волобуевой результаты используются в научных исследованиях лабораторий генетики и биотехнологии и агротехнологий и защиты растений ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт зернобобовых и крупяных культур» при разработке сортовой технологии зернобобовых культур, а также для создания высокопродуктивных фитоценозов, учитывающих способность отдельных культурных бобовых растений к образованию симбиозов с клубеньковыми бактериями, позволяющими наиболее полно использовать биологический и генетический потенциал растений.

Врио директора



А.А. Полухин