ВПЛИВ ШТАМІВ БУЛЬБОЧКОВИХ БАКТЕРІЙ *SINORHIZOBIUM MELILOTI* НА ВМІСТ АМІНОКИСЛОТ У НАДЗЕМНІЙ МАСІ ЛЮЦЕРНИ ЗА РІЗНОГО ВОДОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ

С. Я. Коць, Н. А. Воробей, Л. М. Михалків, О. В. Караушу

Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
вул. Васильківська, 31/17; м. Київ, 03022, Україна; e-mail: kots@ifrg.kiev.ua

Мета. Дослідити амінокислотний склад надземної маси люцерни за різного водозабезпечення (60 % ПВ та 30 % ПВ) залежно від штаму-інокулянту (*Sinorhizobium meliloti* 425a, T17, AC08). **Методи.** Мікробіологічні (культивування бактерій), фізіологічні (вегетативний експеримент), біохімічні (визначення вмісту амінокислот у надземній масі рослин). **Результати.** З'ясовано, що якісний склад амінокислот у надземній масі люцерни був ідентичний у всіх варіантах. Проте за кількісним вмістом досліджувані зразки відрізнялися залежно від штаму-інокулянту та водозабезпечення. Виявлено, що домінуючими у надземній масі люцерни за різного водозабезпечення є аспарагінова та глутамінова кислоти, лейцин і лізин. За нестачі вологи спостерігали підвищення вмісту окремих амінокислот на фоні застосування штамів *Sinorhizobium meliloti* AC08 та T17, тоді як інокуляція штамом *Sinorhizobium meliloti* 425a призводила до зменшення вмісту всіх амінокислот, за винятком тирозину. У рослин, які зазнали водного стресу, виявлено тенденцію до зниження вмісту глутамінової кислоти на фоні бактеризації штамом *Sinorhizobium meliloti* 425a і підвищення — за інокуляції штамом *Sinorhizobium meliloti* T17 і AC08, що може свідчити на користь застосування останніх для підвищення здатності симбіотичних систем до відновлення у постстресовий період. **Висновки.** Передпосівна інокуляція люцерни сорту Ласка новими активними штамом *Sinorhizobium meliloti* AC08 та T17 сприяє підвищенню у надземній масі рослин вмісту амінокислот, зокрема незамінних, як за оптимальних умов зволоження, так і за недостатнього водозабезпечення. Підтверджено перспективність використання нових штамів ризобій за вирощування люцерни на зелену масу в умовах оптимального водозабезпечення і за посухи.

Ключові слова: бульбочкові бактерії, люцерна, водозабезпечення, надземна маса, амінокислоти.

Вступ. Посуху, що виникає внаслідок стрімких змін клімату, вважають серйозною загрозою для стабільного рослинництва. Вона викликає широкий спектр реакцій у рослин, починаючи від перебудови клітинного метаболізму і аж до зміни темпів росту та врожайності сільськогосподарських культур [1]. У відповідь на дію стресових чинників у рослині відбувається низка морфологічних, фізіологічних, біохімічних та молекулярних змін, які є складовими адаптивної реакції на стрес та покликані пом'якшити його негативні наслідки. Для запобігання зневодненню в

рослинах проходять структурні та функціональні перебудови, регулюється стан дихальної системи, для стабілізування макромолекул та клітинних структур накопичуються фітогормони та осмоліти, серед яких важливе місце займають вільні амінокислоти [2–4]. Водночас реакція рослин на дію стресових чинників, зокрема посуху, може змінюватися під впливом тісної взаємодії з ризосферними мікроорганізмами. Так, мутуалістична взаємодія рослин із рістстимулювальними бактеріями (PGPB) може підвищувати їх толерантність до нестачі вологи за рахунок різних

механізмів дії на антиоксидантну систему захисту, виробництво білків теплового шоку, дегідринів та летких органічних сполук, фітогормональний баланс у рослині [5–8]. Мікоризні гриби теж здатні змінювати реакцію рослини-хазяїна на посуху, зокрема за рахунок впливу на гормональний статус, водний баланс та ін. [9; 10].

Ще одним прикладом важливої взаємодії рослин із ґрунтовими мікроорганізмами є ендосимбіоз бобових і ризобій. Виявлено, що формування такого ефективного симбіозу підвищує толерантність до посухи у рослин [11], водночас різні автори відзначають у макросимбіонта такі ефекти, як вдосконалення фотореспіраторної регуляції [12], зміну балансу гормонів [13], акумуляцію проліну [14] та ін. Інокуляція бульбочковими бактеріями також може сприяти вегетативному росту коренів та пагонів рослини-хазяїна за нестачі вологи завдяки активному процесу фіксації азоту, а також забезпечувати більш ефективне використання води. У цьому аспекті важливим є застосування ризобій, стійких до осмотичного стресу, які здатні витримувати тривалі періоди ґрунтової посухи. Отже, формування симбіотичних систем впливає на стратегії реагування рослин на посуху, а тому застосування ефективних ризобій за вирощування бобових культур, зокрема люцерни, може бути одним із значущих факторів виживання рослин та формування якісного врожаю в умовах негативного впливу нестачі води [16–18].

Амінокислотний склад, зокрема наявність комплексу незамінних амінокислот, є головним критерієм біологічної цінності білків та кормової якості бобових рослин. Оскільки ці амінокислоти не синтезуються в організмі, або синтезуються зі швидкістю, яка не задовольняє потребу тварин, то вони повинні надходити за рахунок корму. Це обумовлює необхідність використання для виробництва кормів сировини, що містить ці важливі сполуки. Люцерна за хімічним складом і поживністю переважає всі кормові трави і не має конкурентів навіть серед багаторічних бобових культур. За якістю білка і вмісту в ньому незамінних амінокислот вона переважає конюшину, еспарцет і буркун [15].

Попри те, що біохімічні процеси, пов'язані з азотфіксацією, вивчаються до-

сить інтенсивно [19], менш дослідженим залишається питання про вплив різного забезпечення вологою на якісний вміст вегетативної надземної маси бобових рослин, насамперед багаторічних лугових трав, із врахуванням їхнього симбіозу з різними за активністю ризобіями. Тому метою наших досліджень було вивчення змін амінокислотного складу надземної маси люцерни за різного водозабезпечення залежно від штам-інокулянту.

Матеріали та методи досліджень. Досліди проводили в Інституті фізіології рослин і генетики НАН України (ІФРГ НАН України) з використанням бульбочкових бактерій *Sinorhizobium meliloti* 425a (штам-стандарт), T17 (штам, отриманий унаслідок транспозонного мутагенезу) [20] та AC08 (штам, ізольований із корневих бульбочок рослин люцернових біоценозів Полісся України) з музейної Колекції азотфіксувальних мікроорганізмів інституту та люцерни (*Medicago sativa* L.) сорту Ласка. Цей сорт (заявник — Селекційно-генетичний інститут — Національний центр насінництва і сортовивчення НААН, 2007 р.) характеризується високою посухостійкістю, а тому є перспективним для дослідження як компонент бобово-ризобіальних симбіотичних систем, придатних для вирощування в умовах недостатньої вологості.

Люцерну вирощували в піщаній культурі у 4-кілограмових посудинах (10 рослин/посудину) на промитому річковому піску за різних умов водозабезпечення (30 % і 60 % ПВ), природнього освітлення, температури та вологості повітря. Джерелом мінерального живлення була суміш Гельрігеля, збіднена на азот (0,25 норми). Повторність досліду — 8-кратна. Перед посівом насіння стерилізували концентрованою сірчаною кислотою упродовж 5 хв., промивали у проточній водопровідній воді та інокулювали перспективними за господарсько-цінними властивостями бульбочковими бактеріями *S. meliloti*. Швидкорослі синоризобії культивували у термостаті на мінеральному середовищі N79 [21] 4–5 діб за температури +28 °С. Тривалість інокуляції насіння — 1 год. Кількість мікроорганізмів у інокуляційній суспензії становила 2×10^9 кл/мл.

У фазі початку стеблуння для рослин відповідних варіантів створювали режим по-

сухи (30 % ПВ) за допомогою контрольованого поливу, який тривав 2 тижні, після чого полив відновлювали на рівні оптимальної вологості субстрату (60 % ПВ).

Кількість та якісний склад амінокислот у надземній масі люцерни визначали методом іонообмінної хроматографії з використанням автоматичного аналізатора. Зразки для аналізу відбирали у фазу бутонізації – початку цвітіння (18 рослин/варіант). Екстракт вільних амінокислот депротейнізували (осаджували білок) сульфосаліциловою кислотою. Отриманий супернатант наносили на іонообмінну колонку амінокислотного аналізатора, яка містила катіонообмінник (смола), що є кополімером стиrolу та дивінілбензолу. Для розподілу суміші амінокислот на колонці катіонообмінник попередньо врівноважували буферним розчином цитрату літію. Після нанесення на колонку суміші амінокислот з рН 2,2 основні амінокислоти зв'язувалися з носієм першими, кислі — останніми. За підвищеного тиску та температури проводили елюцію (вимивання) амінокислот. Реєстрацію амінокислот здійснювали за допомогою нінгідрину [22].

Для розрахунку кількості амінокислот у досліджуваному зразку (мг/100 г сухої маси зразка) попередньо на колонку автоматичного аналізатора наносили стандартну суміш амінокислот із відомою концентрацією кожної з них. Вміст амінокислот вираховували за методикою [23].

Результати та їх обговорення. У процесі порівняльного аналізу з'ясовано, що якісний склад амінокислот у надземній масі люцерни був ідентичним у всіх варіантах. Проте за кількісним вмістом досліджувані зразки відрізнялися залежно від штаму інокулянту та водозабезпечення, створеного для вирощування люцерни. Як домінуючі у надземній масі люцерни можна виокремити аспарагінову та глютамінову кислоти, лейцин і лізин (табл. 1 і 2).

За передпосівної інокуляції люцерни бульбочковими бактеріями штаму 425a (табл. 1 і 2) найбільший вміст у надземній масі виявлено лейцину — 21,7 і 22,3 %, аспарагінової кислоти — 24,1 і 23,6 % та глютамінової кислоти — 21,8 і 21,7 % від загальної кількості незамінних і замінних амінокислот, за оптимального водозабезпечення та дії водного стресу відповідно. У рослин, що зазнали впливу посухи, відзначено тенденцію до зниження вмісту амінокислот, за винятком тирозину (його вміст збільшився на 14,6 %). Серед незамінних амінокислот найбільше знизився вміст ізолейцину (на 14,6 %), метіоніну (на 12,4 %), валіну (на 12,6 %) і аргініну (на 11,6 %), серед замінних амінокислот — проліну (на 14,2 %).

У надземній масі люцерни, інокуюваної транспозоновим мутантом *S. meliloti* T17, якщо порівняти із застосуванням штаму *S. meliloti* 425a, поряд із збільшенням загального вмісту замінних і незамінних амінокис-

Таблиця 1. Вміст незамінних амінокислот у надземній масі люцерни (% від загального вмісту) за інокуляції бульбочковими бактеріями *S. meliloti* на фоні різного водозабезпечення

Амінокислоти	425a		T17		AC08	
	60 % ПВ	30 % ПВ	60 % ПВ	30 % ПВ	60 % ПВ	30 % ПВ
Лізин	16,6	17,4	14,4	14,8	16,5	16,5
Метіонін	3,5	3,2	4,1	4,0	4,4	4,2
Фенілаланін	12,4	12,5	13,0	12,9	14,3	14,4
Треонін	12,9	13,3	13,0	13,1	11,7	11,0
Лейцин	21,7	22,3	21,4	22,0	18,5	18,9
Валін	10,5	9,8	10,1	10,2	8,8	8,8
Ізолейцин	6,6	6,0	7,1	7,5	5,6	6,2
Аргінін	10,1	9,5	11,5	11,9	13,7	13,6
Гістидин	5,8	6,0	5,6	5,8	6,3	6,4
Сума (мг/100 г сухої речовини)	3,51 ± 0,09	3,29 ± 0,08	3,87 ± 0,11	3,89 ± 0,10	4,68 ± 0,14	4,72 ± 0,13

Таблиця 2. Вміст замінних амінокислот у надземній масі люцерни (% від загального вмісту) за інокуляції бульбочковими бактеріями *S. meliloti* на фоні різного водозабезпечення

Амінокислоти	425a		T17		AC08	
	60 % ПВ	30 % ПВ	60 % ПВ	30 % ПВ	60 % ПВ	30 % ПВ
Аспарагінова кислота	24,1	23,6	24,5	24,7	23,9	19,9
Серин	11,0	11,0	11,1	10,5	9,2	7,7
Глутамінова кислота	21,8	21,7	21,8	21,9	28,9	25,2
Пролін	4,43	3,9	3,9	3,9	2,6	2,0
Гліцин	14,3	14,0	13,4	13,3	12,9	11,3
Аланін	12,4	12,1	13,6	13,1	12,2	10,4
Цистин	3,3	3,3	2,9	3,1	2,4	2,1
Тирозин	8,7	10,9	8,8	9,5	7,9	6,5
Сума (мг/100 г сухої речовини)	3,68 ± 0,10	3,56 ± 0,10	4,16 ± 0,14	4,22 ± 0,12	5,67 ± 0,15	6,65 ± 0,17

лот, як було показано раніше [25], виявлено й дещо інші особливості щодо кількісного вмісту окремих амінокислот (табл. 1 і 2). Так, за дії водного стресу показники вмісту амінокислот суттєво не змінилися: вміст замінних амінокислот був дещо більшим — на 1,36 %, а незамінних — на 0,47 % проти рослин варіанту із постійним оптимальним водозабезпеченням. За детального аналізу виявлено незначне збільшення вмісту лізину, аргініну, гістидину, ізолейцину та зменшення валіну, треоніну, метіоніну. Попри деяке зниження кількості окремих незамінних амінокислот, вміст замінних на фоні нестабільного водозабезпечення (початкове оптимальне забезпечення вологою з наступною посухою і поновленням поливу) був переважно вищим, ніж за оптимального (за винятком амінокислот серину та аланіну).

За передпосівної інокуляції насіння люцерни штамом AC08 виявлено найбільший вміст амінокислот у надземній масі серед рослин трьох досліджуваних варіантів бактеризації [25]. У рослин, що зазнали стресу, відзначено підвищений проти рослин за оптимального водозабезпечення вміст ізолейцину, лейцину та цистину (табл. 1 і 2). Водночас спостерігали зниження синтезу незамінних амінокислот треоніну та метіоніну і замінних тирозину, аспарагінової кислоти, серину, та найбільше — проліну.

Отже, за інокуляції люцерни штамми

бульбочкових бактерій *S. meliloti* 425a, T17 та AC08 у надземній масі рослин за кількісним вмістом переважають такі замінні амінокислоти, як глутамінова і аспарагінова, які є, очевидно, і основними транспортними сполуками азоту. Відомо, що ці кислоти також підсилюють захисні функції рослин і можуть застосовуватися для підвищення їхньої стійкості до стресових чинників [24]. Зокрема, глутамінова кислота сприяє відновленню водного балансу культур. Відзначено, що у рослин, які зазнали водного стресу, вміст глутамінової кислоти суттєво не змінювався щодо рослин, які росли за оптимального водозабезпечення, але виявлено тенденцію до зниження цього показника на фоні бактеризації штамом *S. meliloti* 425a і підвищення — за інокуляції штамми *S. meliloti* T17 і AC08, що може свідчити на користь застосування останніх для підвищення здатності симбіотичних систем до відновлення у постстресовий період. У рослин, які зазнали дії посухи, на фоні інокуляції штамом *S. meliloti* 425a виявлено знижену кількість замінних і незамінних амінокислот, ніж у рослин варіантів із оптимальним водозабезпеченням. Водночас за використання штамів *S. meliloti* T17 і AC08 загальний кількісний вміст обох груп амінокислот на фоні дії нестачі вологи майже не змінився або дещо підвищився (замінні амінокислоти на фоні інокуляції штамом *S. meliloti* AC08) [25]. Це

може свідчити про те, що симбіотичні системи люцерни, утворені з ризобіями штамів *S. meliloti* T17 і AC08, здатні до повноцінного відновлення у постстресовий період процесів, пов'язаних із амінокислотним синтезом. Навіть більше, на фоні інокуляції *S. meliloti* AC08 активно відбувалося утворення замінних амінокислот (табл. 2), що може бути зумовлено, зокрема, інтенсивнішим засвоєнням молекулярного азоту кореневими бульбочками. Показано, що за інокуляції штамом *S. meliloti* AC08 показник азотфіксувальної активності у постстресовий період був суттєво вищим, ніж за інокуляції іншими ризобіями [25]. Окрім того, застосування штамів *S. meliloti* T17 та AC08 сприяло суттєвому наростанню маси коренів за нестачі водозабезпечення [25], що, зі свого боку, не лише підвищило здатність рослин поглинати воду, але й сприяло кращій мобілізації фотосинтатів та фіксованого азоту [26].

Отже, штами *S. meliloti* AC08 і T17 позитивно впливають на формування та якість зеленої маси люцерни завдяки інтенсифікації утворення амінокислот, що лімітують синтез білка: метіоніну, лізину, гістидину та тирозину. Максимальний вміст амінокислот (загальний), зокрема незамінних, у надземній масі люцерни сорту Ласка першого року вегетації спостерігали за інокуляції бульбочковими бактеріями *S. meliloti* AC08, виділеними з ґрунтів зони Полісся України [25].

На підставі отриманих результатів ми дійшли висновку, що використання для інокуляції більш активних штамів (за здатністю до фіксації атмосферного азоту, а отже до спроможності інтенсифікувати процеси синтезу та обміну речовин) є ефективнішим в умовах недостатнього водозабезпечення. Треба зазначити, що штам *S. meliloti* AC08 виділено із природних біоценозів, а отже, вірогідно, має високу екологічну пластичність до дії різних чинників довкілля, що забезпечує йому переваги у формуванні симбіозу з люцерною в депресивних умовах посухи. Одним із багатьох підтверджень його адаптаційної спроможності активізувати метаболічні процеси у рослини-хазяїна і є показник кількісного вмісту кожної амінокислоти в надземній масі люцерни не лише за оптимального водозабезпечення, але й за стресової дії зниженого водозабезпечення.

Отже, отримані результати свідчать, що

використання нових селекціонованих штамів-інокулянтів за вирощування люцерни в умовах дефіциту вологи сприяє формуванню ефективного симбіозу і покращує якісні характеристики надземної маси рослин, що і забезпечує біологічну цінність бобових трав. Для зниження негативного впливу недостатнього водозабезпечення та створення ефективного бобово-ризобіального симбіозу є доцільним використання для передпосівної інокуляції люцерни селекціонованих штамів *S. meliloti* AC08 та T17, які сприяють покращенню якості врожаю надземної маси залежно від адаптивного та азотфіксувального потенціалу мікросимбіонта.

Висновки. Використання для інокуляції люцерни *S. meliloti* T17 та AC08 знижує негативний вплив нестачі вологи та сприяє підвищенню вмісту незамінних амінокислот, що підтверджує перспективність дослідження цих штамів ризобій для їх використання за вирощування люцерни на зелену масу як за умов оптимального водозабезпечення, так і за посухи.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Anjum S. A., Xie X-Y., Wang L-C., Saleem M. F., Man C., Lei W. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *Afr. J. Agric. Res.* 2011. Vol. 6(9). P. 2026–2032.
2. Sharma A., Shahzad B., Kumar V., Kohli S. K., Sidhu G. P. S., Bali A. S., Handa N., Kapoor D., Bhardwaj R., Zheng B. Phytohormones regulate accumulation of osmolytes under abiotic stress. *Biomolecules.* 2019. 9(7). 285. <https://doi.org/10.3390/biom9070285>
3. Fang Y., Xiong L. General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. *Cell. Mol. Life Sci.* 2015. 72(4). P. 673–689. <https://doi.org/10.1007/s00018-014-1767-0>.
4. Patel P. K., Hemantaranjan A., Sarma B. K., Radha S. Growth and antioxidant system under drought stress in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) as sustained by salicylic acid. *J. Stress Physiol. Biochem.* 2011. 7(4). P. 131–144.
5. Mayak S., Tirosh T., Glick B. R. Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. *Plant Sci.* 2004. 166. P. 525–530. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2003.10.025>
6. Molina-Favero C., Creus C. M., Simontacchi M., Puntarulo S., Lamattina L. Aerobic nitric oxide production by *Azospirillum brasilense* Sp245

and its influence on root architecture in tomato. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 2008. 21. P. 1001–1009. <https://doi.org/10.1094/MPMI-21-7-1001>

7. Kaushal M., Wani S. P. Plant-growth-promoting rhizobacteria: drought stress alleviators to ameliorate crop production in drylands. *Ann. Microbiol.* 2016. 66 (1). P. 35–42. <https://doi.org/10.1007/s13213-015-1112-3>

8. Agamil R. A., Ghramh H. A., Hashem M. Seed inoculation with *Azospirillum lipoferum* alleviates the adverse effects of drought stress on wheat plants. *JABFQ.* 2017. 90. P. 165–173 <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2017.090.021>

9. Aroca R., Vernieri P., Ruiz-Lozano J. M. Mycorrhizal and non-mycorrhizal *Lactuca sativa* plants exhibit contrasting responses to exogenous ABA during drought stress and recovery. *J. Exp. Bot.* 2008. 59. P. 2029–2041.

10. Jadrane I., Al feddy M. N., Dounas H., Kouisni L., Aziz F., Ouahmane L. Inoculation with selected indigenous mycorrhizal complex improves *Ceratonia siliqua*'s growth and response to drought stress. *Saudi J. Biol. Sci.* 2021. 28 (1). P. 825–832. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.018>

11. Lodeiro A., González P., Hernández A., Balagué L., Favelukes G. Comparison of drought tolerance in nitrogen-fixing and inorganic nitrogen-grown common beans. *Plant Sci.* 2000. 154 (1). P. 31–41. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00246-0](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00246-0)

12. Frechilla S., González E. M., Royuela M., Minchin F. R., Aparicio-Tejo P. M., Arrese-Igor C. Source of nitrogen nutrition (nitrogen fixation or nitrate assimilation) is a major factor involved in pea response to moderate water stress. *J. Plant Physiol.* 2000. 157. P. 609–617. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(00\)80003-6](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(00)80003-6)

13. Goicoechea N., Antolín M. C., Sanchez-Diaz M. Gas exchange is related to the hormone balance in mycorrhizal or nitrogen-fixing alfalfa subjected to drought. *Physiol. Plant.* 1997. 100. P. 989–997. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1997.tb00027.x>

14. Borsani O., Díaz P., Monza J. Proline is involved in water stress responses of *Lotus corniculatus* nitrogen fixing and nitrate fed plants. *J. Plant Physiol.* 1999. 155. P. 269–273. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(99\)80018-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(99)80018-2)

15. Томмэ М. Ф., Мартыненко Р. В. Аминокислотный состав кормов. М. : Колос, 1972. 288 с.

16. Ибрагимова М. В. Румянцева М. Л., Они-

щук О. П., Белова В. С., Курчак О. Н., Андронов Е. Е., Дзюбенко Н. И., Симаров Б. В. Симбиоз клубеньковых бактерий *Sinorhizobium meliloti* с люцерной *Medicago sativa* в условиях засоления. *Микробиология.* 2006. 75(1). С. 94–100.

17. Yan A. M., Wang E. T., Kan F. L., Tan Z. Y., Sui X. H., Reinhold-Hurek B., Chen W. X. *Sinorhizobium meliloti* associated with *Medicago sativa* and *Melilotus* spp. in arid saline soils in Xinjiang. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2000. 50. P.1887–1891. <https://doi.org/10.1099/00207713-50-5-1887>

18. Онищук О. П., Румянцева М. Л., Проворов Н. А., Симаров Б. В. Изменчивость штаммов *Sinorhizobium meliloti* по признакам, определяющим сапрофитную выживаемость и симбиотическую эффективность в условиях засоления. *Сельскохозяйственная биология.* 2009. № 1. С. 77–82.

19. Zahran H. H., Abdel-Fattah M., Yasser M. M., Mahmoud A. M., Redmar E. J. Diversity and environmental stress responses of rhizobia bacteria from Egyptian grain legumes. *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 2012. 6 (10). P. 571–583.

20. Штам бактерій *Sinorhizobium meliloti* T17 (IMB B-7282) для одержання бактеріального добрива під люцерну: пат. на корисну модель № 55432 Україна. МПК C05F11/00 C12 N 1/20, С. Я. Коць, Н. А. Воробей, С. М. Маліченко, І. М. Бутницький; заявл. 23. 06. 2010; опубл. 10.12.2010, Бюл. № 23.

21. Allen O. N. Experiments in Soil Bacteriology. 3rd end. Minneapolis: Burges Publ. Co, 1959. 54 p.

22. Козаренко Т. Д. Ионнообменная хроматография аминокислот. Новосибирск : Наука, 1975. 284 с.

23. Новые методы анализа аминокислот, пептидов и белков / Под ред. Ю. А. Овчинникова. М. : Мир, 1974. 154 с.

24. Полянчиков С. П., Ковбель А. И. Роль амінокислот у захисті культур від стресів. Режим доступу: https://agromage.com/stat_id.php?id=1086

25. Коць С. Я., Михалків Л. М., Воробей Н. А., Пацко О. В., Січкач В. І. Ефективність інокуляції люцерни новими штамми *Sinorhizobium meliloti* за різного вологозабезпечення ґрунту. *Збірник наукових праць СГІ-НЦНС.* 2015. 26 (66). С. 178–188.

26. Fenta B. A., Beebe S. E., Kunert K. J. Role of fixing nitrogen in common bean growth under water deficit conditions. *Food Energy Secur.* 2020;e183. <https://doi.org/10.1002/fes3.183>

Отримано 29.04.2021

INFLUENCE OF NODULE BACTERIA STRAINS OF *SINORHIZOBIUM MELILOTI* ON THE AMINO ACID CONTENT IN THE TOPS OF ALFALFA UNDER DIFFERENT WATER SUPPLY

S. Ya. Kots, N. A. Vorobei, L. M. Mykhalkiv, O. V. Karaushu

Institute of Plant Physiology and Genetics, NAS of Ukraine, Kyiv

e-mail: kots@ifrg.kiev.ua

Objective. To study the amino acid composition in the tops of alfalfa under different water supply (60 % MVC (maximum water capacity) and 30 % MVC) depending on the inoculum strain (*Sinorhizobium meliloti* 425a, T17, AC08). **Methods.** Microbiological (bacterial cultivation), physiological (vegetation experiment), biochemical (determination of amino acid content in the tops of plants). **Results.** It was established that the qualitative amino acid composition in the tops of ALFALFA was identical in all variants. However, quantitative content of the studied samples differed depending on the inoculum strain and water supply. It was found that aspartic and glutamic acids, leucine and lysine are dominant in the tops of alfalfa under different water supply. In the absence of moisture, an increase in the content of individual amino acids was reported at the background of *Sinorhizobium meliloti* AC08 and T17, while inoculation with *Sinorhizobium meliloti* 425a resulted in a decrease in the content of all amino acids except tyrosine. In plants exposed to water stress, a tendency towards decrease in the content of glutamic acid at the background of bacterization with *Sinorhizobium meliloti* 425a and increase — under inoculation with *Sinorhizobium meliloti* T17 and AC08 was reported, which may support the use of the latter to increase the ability of symbiotic systems to recover during a post-stress period. **Conclusion.** Pre-sowing inoculation of alfalfa of the variety Laska with new active strains of *Sinorhizobium meliloti* AC08 and T17 helps to increase the content of amino acids, in particular essential, in the tops of plants, both under optimal conditions of moisture and insufficient water supply. The prospects of using new strains of rhizobia in the cultivation of alfalfa for green mass under the conditions of optimal water supply and drought has been verified.

Key words: nodule bacteria, alfalfa, water supply, tops, amino acids.

REFERENCES

1. Anjum, S. A., Xie, X.-Y., Wang, L.-C., Saleem, M. F., Man, C., & Lei, W. (2011). Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *Afr. J. Agric. Res.*, 6(9), 2026–2032.
2. Sharma, A., Shahzad, B., Kumar, V., Kohli, S. K., Sidhu, G. P. S., Bali, A. S., Handa, N., Kapoor, D., Bhardwaj, R., & Zheng B. (2019). Phytohormones regulate accumulation of osmolytes under abiotic stress. *Biomolecules*, 9(7), 285. <https://doi.org/10.3390/biom9070285>
3. Fang, Y., & Xiong, L. (2015). General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. *Cell. Mol. Life Sci.*, 72(4), 673–689. <https://doi.org/10.1007/s00018-014-1767-0>.
4. Patel, P. K., Hemantaranjan, A., Sarma, B. K., & Radha, S. (2011). Growth and antioxidant system under drought stress in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) as sustained by salicylic acid. *J. Stress Physiol. Biochem.*, 7(4), 131–144.
5. Mayak, S., Tirosh, T., & Glick, B. R. (2004). Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. *Plant Sci.*, 166, 525–530. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2003.10.025>
6. Molina-Favero, C., Creus, C. M., Simonacchi, M., Puntarulo, S., & Lamattina, L. (2008). Aerobic nitric oxide production by *Azospirillum brasilense* Sp245 and its influence on root architecture in tomato. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 21, 1001–1009. <https://doi.org/10.1094/MPMI-21-7-1001>
7. Kaushal, M., & Wani, S. P. (2016). Plant-growth-promoting rhizobacteria: drought stress alleviators to ameliorate crop production in drylands. *Ann. Microbiol.*, 66(1), 35–42. <https://doi.org/10.1007/s13213-015-1112-3>
8. Agamil, R. A., Ghramh, H. A., & Hashem, M. (2017). Seed inoculation with *Azospirillum lipoferrum* alleviates the adverse effects of drought stress on wheat plants. *JABFQ*, 90, 165–173. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2017.090.021>

9. Aroca, R., Vernieri, P., & Ruiz-Lozano, J. M. (2008). Mycorrhizal and non-mycorrhizal *Lactuca sativa* plants exhibit contrasting responses to exogenous ABA during drought stress and recovery. *J. Exp. Bot.*, 59, 2029–2041.
10. Jadrane, I., Al feddy, M. N., Dounas, H., Kouisni, L., Aziz, F., & Ouahmane, L. (2021). Inoculation with selected indigenous mycorrhizal complex improves *Cerantia siliqua*'s growth and response to drought stress. *Saudi J. Biol. Sci.*, 28 (1), 825–832. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.018>
11. Lodeiro, A., González, P., Hernández, A., Balagué, L., & Favelukes, G. (2000). Comparison of drought tolerance in nitrogen-fixing and inorganic nitrogen-grown common beans. *Plant Sci.*, 154 (1), 31–41. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00246-0](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00246-0)
12. Frechilla, S., González, E.M., Royuela, M., Minchin, F. R., Aparicio-Tejo, P. M., & Arrese-Igor, C. (2000). Source of nitrogen nutrition (nitrogen fixation or nitrate assimilation) is a major factor involved in pea response to moderate water stress. *J. Plant Physiol.*, 157, 609–617. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(00\)80003-6](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(00)80003-6)
13. Goicoechea, N., Antolín, M. C., & Sanchez-Diaz, M. (1997). Gas exchange is related to the hormone balance in mycorrhizal or nitrogen-fixing alfalfa subjected to drought. *Physiol. Plant.*, 100, 989–997. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1997.tb00027.x>
14. Borsani, O., Díaz, P., & Monza, J. (1999). Proline is involved in water stress responses of *Lotus corniculatus* nitrogen fixing and nitrate fed plants. *J. Plant Physiol.*, 155, 269–273. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(99\)80018-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(99)80018-2)
15. Tomme, M. F., & Martynenko, R. W. (1972). *Aminokislотноi sostav kormov* [Amino acid composition of feed]. Moskva: Kolos [in Russian].
16. Ibragimova, M. V., Rummyantseva, M. L., Onishchuk, O. P., Belova, V. S., Kurchak, O. N., Andronov, E. E., Simarov, B. V., & Dzyubenko, N. I. (2006). Simbioz klubenkovyh bakteriy *Sinorhizobium meliloti* s lutsernoy *Medicago sativa* v usloviyah zasoleniya [Symbiosis between the root-nodule bacterium *Sinorhizobium meliloti* and alfalfa (*Medicago sativa*) under salinization conditions]. *Mikrobiologiya — Microbiology*, 75(1), 94–100 [in Russian].
17. Yan, A. M., Wang, E. T., Kan, F. L., Tan, Z. Y., Sui, X. H., Reinhold-Hurek, B. & Chen, W. X. (2000). *Sinorhizobium meliloti* associated with *Medicago sativa* and *Melilotus* spp. in arid saline soils in Xinjiang. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 50, 1887–1891. <https://doi.org/10.1099/00207713-50-5-1887>
18. Onishchuk, O. P., Rum'antseva, M. L., Provorov, N. A., & Simarov B. V. (2009). *Izmenchivost' shtammov Sinorhizobium meliloti po priznakam opredilyayushchim saprofitnyuyu vyzyvaemost' i simbioticheskuyu effektivnost' v usloviyah zasoleniya* [Variability of *Sinorhizobium meliloti* strains for the properties determining the saprophytic survival and symbiotic efficiency under the salinity conditions]. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya — Agricultural Biology*, 1, 77–82 [in Russian].
19. Zahran, H. H., Abdel-Fattah, M., Yasser, M. M., Mahmoud, A. M. & Redmar, E. J. (2012). Diversity and environmental stress responses of rhizobia bacteria from Egyptian grain legumes. *Aust. J. Basic Appl. Sci.*, 6 (10), 571–583.
20. Pat. 55432 UA, МПК C05F11/00 C12 N 1/20. Bacterial strain *Sinorhizobium meliloti* T17 (IMB B-7282) for getting bacterial fertilizer for alfalfa, Kots, S. Ya., Vorobey, N. A., Malichenko, S. M., Butnytskyi I. M., Publ. 10.12.2010 [in Ukrainian].
21. Allen, O. N. (1959). *Experiments in Soil Bacteriology*. 3rd end. Minneapolis: Burges Publ. Co.
22. Kozarenko, T. D. (1975). *Ionoobmennaya hromatografiya aminokislot* [Ion exchange chromatography of amino acids]. Novosibirsk: Nauka [in Russian].
23. Ovchinnikov, Yu. A. (Ed.). (1974). *Noviye metody analiza aminokislot, peptidov i belkov* [New methods for the analysis of amino acids, peptides and proteins]. Moskva: Mir [in Russian]
24. Polyanchikov, S. P., & Kowbel, A. I. *Rol aminokyslot u zahysti kultur vid stresiv* [The role of amino acids in protecting crops from stress]. Retrieved from https://agromage.com/stat_id.php?id=1086 [in Ukrainian].
25. Kots, S. Ya., Mykhalkiv, L. M., Vorobey, N. A., Patsko, O. V., & Sichkar, V. I. (2015). Efektyvnist inokulatsii lutserny novymy shtamamy *Sinorhizobium meliloti* za riznogo vologozabezpechennya gruntu [The efficiency of inoculation of alfalfa by new *Sinorhizobium meliloti* strains under different water supply conditions]. *Zbirnyk naukovykh prats SGI-NCNS — Collection of research papers of Plant breeding and genetics institute — National center of seed and Cultivar Investigation*, 26 (66), 178–188 [in Ukrainian].
26. Fenta, B. A., Beebe, S. E., & Kunert, K. J. (2020). Role of fixing nitrogen in common bean growth under water deficit conditions. *Food Energy Secur.*, e183. <https://doi.org/10.1002/fes3.183>

Received 29.04.2021