

УДК: 633.11: 631.461.5

Ефекти корневих виділень проростків ізогенних за генами *Vrn* ліній пшениці на динаміку росту, трофічний хемотаксис та синтез індолил-3-оцтової кислоти у специфічного діазотрофа *Azospirillum brasilense* 410
А.М. Самойлов, В.В. Жмурко

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна (Харків, Україна)
plantphysiology@karazin.ua

Вивчали вплив корневих виділень проростків ізогенних за генами *Vrn* ліній м'якої пшениці сорту Миронівська 808 на динаміку росту діазотрофа *Azospirillum brasilense* 410 в умовах культивування *in vitro* на безазотистому середовищі, його хемотаксичну реакцію та продукцію індолил-3-оцтової кислоти. Найбільшу біомасу азоспірили накопичували при співкультивуванні з корневими виділеннями проростків ізогенних ліній *Vrn-D1* та *Vrn-A1*. Різниця за трофічним хемотаксисом до екзометаболітів проростків даних ізогенних ліній не виявлено. Обробка корневими виділеннями проростків ізогенної лінії *Vrn-B1* та озимого сорту Миронівська 808 призводила до найбільшого накопичення ІОК у середовищі культивування. Зроблено припущення, що встановлені відмінності в реакції азоспірил на кореневі виділення проростків ізогенних ліній пшениці обумовлені різноманітністю насіння, сформованого на рослинах, які мають різний стан локусів *Vrn*.

Ключові слова: азоспірили, ізогенні лінії пшениці, локуси *Vrn*, азотфіксація, діазотроф, кореневі виділення, ІОК.

Эффекты корневых выделений изогенных по генам *Vrn* линий пшеницы на динамику роста, трофический хемотаксис и синтез индолил-3-уксусной кислоты у специфического диазотрофа *Azospirillum brasilense* 410
А.М. Самойлов, В.В. Жмурко

Изучали влияние корневых выделений растений изогенных по генам *Vrn* линий мягкой пшеницы сорта Мироновская 808 на динамику роста диазотрофа *Azospirillum brasilense* 410 в условиях культивирования *in vitro* в безазотистой среде, его хемотаксическую реакцию и продукцию индолил-3-уксусной кислоты. Наибольшую биомассу азоспириллы накапливали при сокультивировании с корневыми выделениями проростков изогенных линий *Vrn-D1* и *Vrn-A1*. Разницы по трофическому хемотаксису к экзометаболитам проростков данных изогенных линий не обнаружено. Обработка корневыми выделениями проростков изогенной линии *Vrn-B1* и озимого сорта Мироновская 808 приводила к наибольшему накоплению ИУК в среде культивирования. Сделано предположение, что установленные различия в реакции азоспирилл на корневые выделения проростков изогенных линий пшеницы обусловлены разнокачественностью семян, сформированных на растениях, имеющих разные состояния локусов *Vrn*.

Ключевые слова: азоспириллы, изогенные линии пшеницы, локусы *Vrn*, азотфиксация, диазотроф, корневые выделения, ИУК.

Effects of root exudates of wheat isogenic by *Vrn* loci lines on growth dynamics, trophic chemotaxis and indole-3-acetic biosynthesis of the specific diazotroph *Azospirillum brasilense* 410
А.М. Samoilov, V.V. Zhmurko

Effects of root exudates of near isogenic by *Vrn* loci soft wheat lines (cultivar Mironovskaya 808) on growth dynamics of diazotrophic bacterium *Azospirillum brasilense* 410, its trophic chemotaxis to the exudates and indole-3-acetic acid biosynthesis were studied in a nitrogen-free culture medium when the root exudates added. *Azospirilla* accumulated highest biomass during co-cultivation with the root exudates of seedlings of isogenic by *Vrn-D1* and *Vrn-A1* lines. In the experiments has no found a difference in trophic chemotaxis to exometabolites of seedlings of these isogenic lines. A treatment of the seedling root exudates of isogenic by *Vrn-B1* line and winter cultivar Mironovskaya 808 induced the greatest accumulation of IAA in the culture medium. It is suggested that the shown differences in the *azospirilla*' response to the root exudates of seedlings of wheat isogenic lines due to heterogeneity of seeds formed on plants with different *Vrn* loci states.

Keywords: *azospirilla*, near isogenic wheat lines, *Vrn* loci, nitrogen fixation, diazotrophic bacteria, root exudates, IAA.

Вступ

Асоціативні угруповання бактерій колонізують різні органи та тканини рослин – ризосферу, ризоплану, філосферу, гістосферу, тощо. Сформований мікроценоз безпосередньо бере участь у нормальному рості та розвитку рослин, їх живленні, підвищує резистентність до патогенів та ряду інших шкочинних факторів середовища (Andreote et al., 2014). Найбільше уваги приділяється вивченню азотфіксуючих асоціацій кореневої зони рослин, оскільки діазотрофні бактерії не тільки здійснюють фіксацію атмосферного азоту, але й завдяки цілому ряду механізмів позитивно впливають на ріст рослин, формування їх продуктивності та стійкості до фітопатогенів (Копилов та ін., 2009; Іутинська та ін., 2010). Формування азотфіксуючого мікроценозу кореня рослин визначається цілим комплексом факторів, зокрема, типом ґрунту, генотипом рослин, мікронішами ризосфери, кліматичними умовами та ін. (Nannipieri et al., 2007; Коць та ін., 2011; Іутинська та ін., 2010).

Провідним фактором формування асоціації мікроорганізмів у ризосфері та ризоплані рослин є кореневі виділення, характер яких визначається детермінованими генотипом біохімічними особливостями рослин та їх фізіологічною активністю в конкретних умовах вегетації (Walker et al., 2003). Через ексудацію широкого спектру різних хімічних сполук коренева система здатна регулювати ґрунтовий мікроценоз навколо кореня, у тому числі активність азотфіксуючої асоціації (Nardi et al., 2000). У той же час кореневі виділення рослин, як і в цілому характер та інтенсивність фізіолого-біохімічних процесів, специфічні для сортів та гібридів с.-г. культур, що пов'язано з особливостями їх генотипів (Шадчина та ін., 2006).

Тип розвитку рослин та тривалість вегетаційного періоду є одними з найважливіших ознак культурних рослин, які визначають їх продуктивність та пристосованість до клімато-географічних умов регіону вирощування (Стельмах, 2001). У м'якої пшениці однією з генетичних систем, яка детермінує тип і темпи розвитку рослин, є гени локусів *Vrn*. Домінантний стан локусів *Vrn* визначає ярий тип розвитку, тоді як рецесивний за всіма алелями генотип має озимий тип розвитку (Стельмах, 2001). Показано, що ізогенні лінії, які несуть доміантні алелі певного локусу *Vrn* (*Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*) різняться за темпами розвитку (Файт, 2005; Zhmurko et al., 2012), накопиченням білку у зерні (Zhmurko et al., 2012), накопиченням та відтіканням вуглеводів з листків (Жмурко и др., 2011), чисельністю різних груп діазотрофів у ризосфері, нітрогенезною активністю коренів, вмістом цукрів, органічних та амінокислот у корневих виділеннях та рядом інших показників (Самойлов та ін., 2009; Самойлов та ін., 2012).

Виходячи з викладеного, ми припускаємо, що характер формування і функціонування ризоценозу ізогенних за генами *Vrn* ліній пшениці пов'язаний з відмінностями між ними за інтенсивністю та характером метаболічних процесів, а відтак, можливо, з різною інтенсивністю та складом корневих виділень.

Метою даного дослідження було з'ясування впливу корневих виділень проростків ізогенних за генами *Vrn* ліній пшениці (*Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*) на динаміку росту, хемотаксичну відповідь та рівень продукції ІОК (індолил-3-оцтової кислоти) у специфічного діазотрофа пшениці *Azospirillum brasilense* 410 в умовах лабораторного стаціонарного у культивування у безазотистому середовищі.

Методика

Рослинний матеріал та умови вирощування. В якості рослинного матеріалу використовували ізогенні за генами *Vrn* лінії пшениці сорту Миронівська 808. Ізогенні лінії мають наступні генотипи: *Vrn-A1*, *Vrn-B1* та *Vrn-D1* (зазначені локуси з доміантними алелями, що визначають ярий фенотип) та сорт Миронівська 808, у якого всі локуси генів *Vrn* мають рецесивний стан (озимий тип розвитку). Відібрані зернівки промивали та поверхнево стерилізували 0,5% розчином натрію гіпохлориту 5 хв, далі пророщували у вологій стерильній камері при температурі 16°C±1 на двох шарах фільтрувального паперу, покритого пластиковою сіткою з лунками для зернівок.

Культура бактерій та умови вирощування. В якості моделі асоціативного азотфіксатора пшениці використовували шта *Azospirillum brasilense* 410, отриманий з колекції культур азотфіксуючих бактерій відділу симбіотичної азотфіксації Інституту фізіології рослин і генетики НАНУ. Азоспірили зберігали на МДА (маннітно-дріжджовий агар), а нарощування та дослідження проводили на середовищі NFb з модифікаціями (Eckert et al., 2001).

Отримання фільтрату корневих виділень. Фільтрувальний папір, на якому вирощували проростки, багаторазово відмивали 0,1М фосфатним буфером з рН 7,2 та дистильованою водою (температура розчинів 37°C). Фільтр віджимали й об'єднували всі екстракти. Загальний об'єм доводили

до 50 мл. Далі 20 мл екстракту асептично фільтрували через бактеріальні шприцеві фільтри Millipore Millex GP 0.22 μm . Отриманий екстракт герметично зберігали не більше 5 діб при температурі 4-6°C.

Спікультивування бактерій з кореневими виділеннями проводили у конічних колбах з середовищем NFb (30 мл), додаючи до нього екстракт корневих виділень (1 мл) та експоненціальну культуру азоспірил (0,1 мл). Щільність інокуляту для пасажів визначали за стандартом мутності №5 за Мак-Фарлендом (Лабінська та ін., 2010), що відповідає $4,25 \cdot 10^8$ клітин азоспірил у 1 мл фосфатного буфера. У контрольний варіант додавали 1 мл 0,1 М фосфатного буфера рН 7,2 та 0,1 мл культури азоспірил. Далі азоспірил вирощували впродовж 8 діб при стаціонарному культивуванні за температури $32 \pm 1^\circ\text{C}$.

Динаміку росту оцінювали, визначаючи щільність 5 мл інкубаційного середовища після гомогенізації культури за допомогою ФЕКу – OD_{540} (оптична щільність при 540 нм) та надалі значення OD_{540} перераховували на число клітин бактерій (Перт, 1987). *Трофічний хемотаксис* азоспірил до корневих виділень оцінювали на напіврідкому середовищі (0,35% агару, 0,01 М калій фосфатний буфер, рН 7,1), до якого додавали стерильні кореневі виділення (18 мл середовища + 2 мл ексудатів), вимірюючи кожну добу впродовж семи діб діаметр міграційного кільця бактерій (Чуйко, 2011).

Продукцію індолил-3-оцтової кислоти (ІОК) азоспірилами вивчали у середовищі NFb у наступних варіантах: 1) повноцінне безазотисте середовище NFb (контроль); 2) NFb з додаванням корневих виділень (дослід); 3) NFb з додаванням 1,0 мг/л триптофану (позитивний контроль). Середовища інокулювали 100 мкл культури азоспірил, вирівняного за стандартом мутності №5. Культивування азоспірил у цих середовищах проводили впродовж 7 діб при $32 \pm 1^\circ\text{C}$. Після центрифугування при 6000 об/хв супернатант пропускали через фільтри All Blue 0.22 μm . З підкисленого до рН 2,7 фільтрату середовища екстрагували ІОК етилацетатом у співвідношенні 1:1. Екстракти випарювали під вакуумом при температурі 18°C досуха та перерозчиняли у 200 мкл метанолу (для хроматографії).

Вміст ІОК визначали методом HPLC на хроматографі Shimatzu LC-2010 HT Compact у триразовій повторності. Умови: колонка Zorbax Eclipse XDB C18, 150x4.6 мм, 5 мм; стандарт ІОК 0,1 мг/мл (Sigma Chemical Co., USA); рухома фаза – метанол:ацетат:вода (29:1:70); потік 1 мл/хв, час проби 10 хв, температура 37°C ; УФ-детектор 280 нм.

Результати

Результати дослідження динаміки росту азоспірил показали, що в контрольному варіанті в першу добу росту (0-24 год) відбувалося поступове наростання біомаси азоспірил, тоді як за дії корневих виділень спочатку спостерігалася lag-фаза (рис. 1). Це можна пояснити тим, що інокуляцію середовища проводили бактеріями з експоненціальної культури, вирощеної у NFb, при цьому час адаптації був відсутній. Додавання ж корневих виділень призводило до затримки росту на час, необхідний задля адаптації клітин до компонентів ексудатів. У контрольному варіанті культура азоспірил досягала стаціонарної фази на шосту добу з максимальною кількістю клітин $2,52 \cdot 10^7$ в 1 мл.

Штам *Azospirillum brasilense* 410 за умов стаціонарного культивування у безазотистому середовищі по-різному реагував на обробку кореневими виділеннями проростків різних ізогенних ліній (рис. 1). Кореневі виділення проростків ізогенної лінії *Vrn-D1* проявили найбільший стимулюючий ефект, що призвело до майже логарифмічного приросту числа клітин бактерій впродовж п'яти діб (120 год) культивування (рис. 1). Наприкінці культивування число клітин азоспірил у варіанті з обробкою кореневими виділеннями проростків ізогенної лінії *Vrn-D1* на 43% перевищувало цей показник у контролі та на 18-20% показники варіантів з обробкою кореневими виділеннями лінії *Vrn-B1* та сорту. Число клітин азоспірил на сьому добу (166 год) спікультивування з кореневими виділеннями ізолінії *Vrn-D1* та *Vrn-A1* статистично не відрізнялося.

Реакція азоспірил на обробку кореневими екзометаболітами проростків сорту Миронівська 808 виявилася дещо іншою (рис. 1). Азоспірили на 2-3 добу (24-48 год) культивування відповідали різкими зростанням числа клітин до показника $2,74 \cdot 10^7$ кл/мл, потім відбулася затримка росту, за якою спостерігалася повторне плавне зростання числа клітин до $3,77 \cdot 10^7$ кл/мл. Така динаміка росту з двома максимумами, очевидно, пов'язана з відповіддю бактерій на присутність певних трофічних субстратів на початку культивування та переадаптацією на вільний ріст у безазотистому середовищі в подальшому.

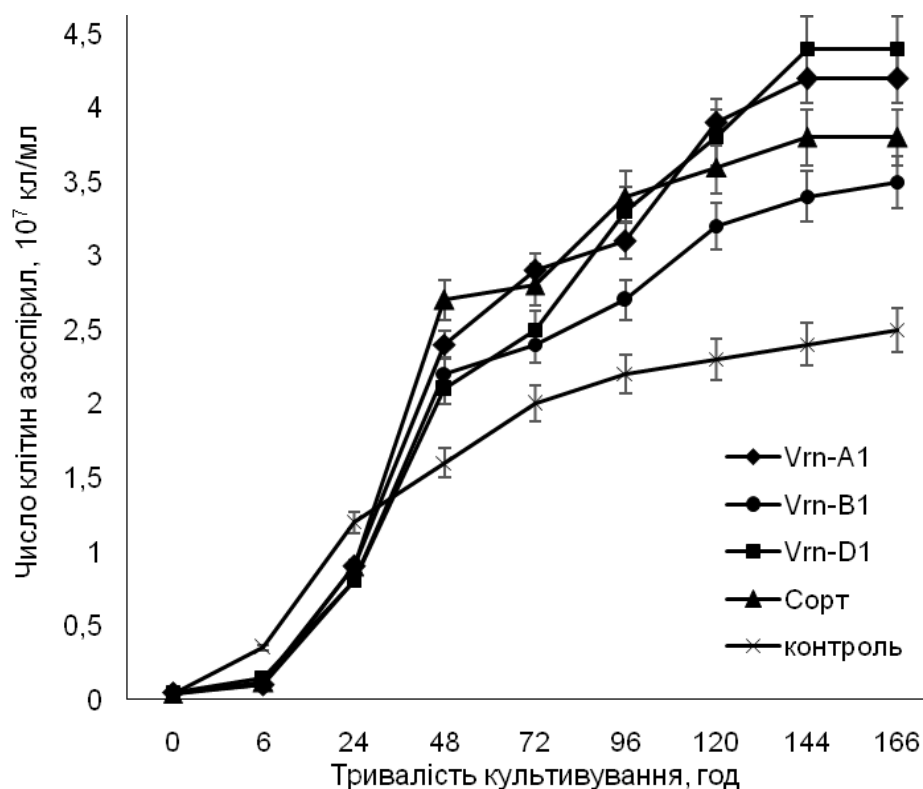


Рис. 1. Динаміка росту культури *Azospirillum brasilense* 410 у безазотистому середовищі (NFb) за стаціонарного співкультивування з корневими виділеннями п'ятиденних проростків ізогенних за генами *Vrn* ліній пшениці

Отже, у порівнянні з корневими виділеннями проростків лінії *Vrn-D1*, екзометаболіти проростків сорту Миронівська 808 проявили менший стимулюючий ефект, при чому їх вплив виявився не таким довготривалим. Реакція азотфіксатора *A. brasilense* 410 на кореневі виділення проростків ізоляції *Vrn-A1* в цілому була схожа на динаміку росту бактерій у варіанті з обробкою корневими виділеннями проростків сорту (рис. 1), проте спостерігався більш інтенсивний приріст культури та вихід ростової кривої на плато з максимальною кількістю клітин $4,15 \cdot 10^7$ в 1 мл. Обробка корневими виділеннями проростків ізоляції *Vrn-B1* (рис. 1) на ріст культури азоспірил мала майже таку закономірність як і у випадку *Vrn-D1*, однак, починаючи з третьої доби (72 год), спостерігалось зниження швидкості наростання культури й крива росту майже співпадала за типом приросту з кривою росту контрольного варіанту, що вказує на те, що трофічні компоненти корневих виділень проростків цієї лінії забезпечують лише короткотривалий приріст азоспірил у порівнянні з контролем.

Вивчення хемотаксичної реакції специфічного азотфіксатора пшениці *A. brasilense* 410 показало, що трофічний хемотаксис ефективно проходить до корневих виділень п'ятиденних проростків усіх досліджуваних ліній пшениці та сорту. Істотних відмінностей за цим показником між екзометаболітами ізоляцій не виявлено, за виключенням показника хемотаксису азоспірил до екзометаболітів проростків ізоляції *Vrn-D1* (табл. 1). У цих дослідках виявилася незначна залежність хемотаксичної реакції специфічного діазотрофа від генотипу ізоляції, з якої були отримані кореневі виділення. Так, на фоні невеликої різниці за цим показником між екзометаболітами ізоляції *Vrn-B1*, *Vrn-A1* та рецесивного сорту, кращий трофічний хемотаксис азоспірили показали до корневих виділень ізогенної лінії *Vrn-D1* (табл. 1).

Таблиця 1.
Хемотаксис *A. brasilense* 410 до корневих виділень п'ятиденних проростків ізогенних ліній

Генотип	Хемотаксична реакція		
	Діаметр зони хемотаксису		Інтенсивність росту
	Діаметр, мм	% від контролю	
<i>Vrn-A1</i>	47±1,5	+74	+++
<i>Vrn-B1</i>	46±2,0	+70	++
<i>Vrn-D1</i>	50±2,0	+85	++
Сорт	43±1,5	+60	+++
Контроль (фосфатний буфер)	27±1,5	–	+
НІР ₀₅	3,0	10,8	

Однією з найбільш важливих властивостей ризобактерій, зокрема й діазотрофних, є їх здатність до продукції ріст стимулюючих речовин, які позитивно впливають на ріст, галуження та метаболізм коренів й рослини в цілому. Саме тому ми вивчали, як екзометаболіти проростків ізогенних за генами *Vrn* ліній пшениці впливають на біосинтез ІОК – індолил-3-оцтової кислоти.

Дослідження показало, що за умов росту у безазотистому середовищі (контроль) азоспірили мають низьку здатність продукувати індолил-3-оцтову кислоту, оскільки за сім діб культивування вона накопичувалася у культуральній рідині бактерій в концентрації не більше 1 мкг/мл (рис. 2, табл. 2). Додавання екзометаболітів проростків досліджуваних ліній пшениці у це ж середовище стимулювало біосинтез індолил-3-оцтової кислоти й її накопичення у культуральному середовищі (рис. 2, табл. 2).

Таблиця 2.
Вміст ІОК у этилацетатному екстракті культурального середовища *Azospirillum brasilense* 410 після обробки корневими виділеннями пшениці

Варіант	Площа піку, рхU	Концентрація ІОК, мкг/мл	Час утримування, хв.
Стандарт	34177614	100	8,588
<i>Vrn-A1</i>	896015	2,62±0,18	8,467
<i>Vrn-B1</i>	1026433	3,01±0,15	8,590
<i>Vrn-D1</i>	735848	2,15±0,21	8,463
Сорт	1870173	5,47±0,19	8,475
Контроль (NFb+PB)*	356691	0,94±0,14	8,567
Контроль (NFb+Trp)**	1199634	3,51±0,12	8,477

* - NF+PB – безазотисте середовище з додаванням фосфатного буфера (контроль)

** - NF+Trp – безазотисте середовище, яке містить триптофан 1 мкг/мл (позитивний контроль)

Найвищий синтез ауксину азоспірили проявили у варіанті з обробкою суспензії їх клітин екзометаболітами проростків сорту (табл. 2, рис. 2). Тоді як обробка корневими виділеннями проростків ізогенних ліній суспензії азоспірил привела лише до трьохкратного збільшення продукції ними ІОК у порівнянні з контролем (табл. 2). Порівнюючи ці показники з позитивним контрольним варіантом, у якому азоспірил вирощували на тому ж безазотистому середовищі, але у присутності 1 мкг/мл триптофану як попередника ІОК, видно, що показники накопичення ІОК (3,51 мкг/мл) мають приблизно такі ж значення, що й після обробки корневими виділеннями (табл. 2). Концентрації триптофану у середовищі (1 мкг/мл) не достатньо для накопичення ІОК у концентрації 3,51 мкг/мл. Можливо, що наявність триптофану, окрім як попередника біосинтезу ІОК, є сигналом до активації біосинтетичних шляхів ІОК у азоспірил.

Визначення вмісту триптофану у екзометаболітах проростків показало, що його концентрація у корневих виділеннях вкрай низька й коливається у діапазоні 8-12 нг/мл (табл. 3). Наявність триптофану у корневих екзометаболітах, очевидно, й призводить до включення біосинтетичних шляхів синтезу ІОК азоспірилами. Найвищий вміст триптофану відмічено у екзометаболітах проростків сорту – 12,1 та ізолінії *Vrn-B1* – 10,6 нг/мл, що співпадає з максимумами накопичення ІОК азоспірилами. Проте, не виключено і додатковий вплив екзогенних органічних речовин у корневих виділеннях та/або інших сигнальних молекул рослин.

Таблиця 3.

Вміст триптофану у фільтраті корневих виділень ізогенних ліній пшениці

Варіант	Площа піку, рхU	Концентрація триптофану, нг/мл	Час утримування, хв.
Стандарт	24536789	1000	6,243
<i>Vrn-A1</i>	223285	9,10±0,25	6,267
<i>Vrn-B1</i>	260090	10,60±0,16	6,258
<i>Vrn-D1</i>	201201	8,20±0,07	6,266
Сорт	297023	12,10±0,22	6,249
Контроль	0	0	–

Обговорення

Формування азотфіксуючих рослинно-мікробних асоціацій, в першу чергу, визначається взаємодією між рослинами та мікроорганізмами за рахунок корневих виділень рослин, які забезпечують трофіку ризоценозу.

Раніше нами показано, що загальний вміст цукрів вищий у корневих екзометаболітах ізоліній *Vrn-D1* та *Vrn-A1*, а органічних кислот – у екзометаболітах проростків ізолінії *Vrn-A1* та озимого сорту (Самойлов та ін., 2009). В даній роботі показано також різницю у вмісті триптофану в корневих виділеннях проростків даних ізогенних ліній (табл. 3). Очевидно, що екзометаболіти проростаючого насіння та проростків визначаються різноманітністю насіння, сформованого на рослинах різного генотипу за генами *Vrn*. Це обумовлює різницю в кількісних показниках органічних речовин при проростанні насіння ізоліній.

Оскільки перші етапи формування азотфіксуючого комплексу рослин залежать від екзометаболітів проростаючого насіння та ексудатів самих проростків, можна зробити висновок, що формування асоціації діазотрофів з проростками ізоліній *Vrn-D1* та *Vrn-A1* за рахунок збільшеної кількості органічних речовин забезпечує інтенсивніше наростання біомаси азотфіксаторів у ризосфері (рис. 1), а отже й краще формування азотфіксуючого комплексу.

Разом з тим, встановлено, що така різниця у кількісному складі екзометаболітів майже не впливає на трофічний хемотаксис *A. brasilense 410* до корневих виділень ізогенних ліній, який, в більшості випадків, залишається постійним у всіх варіантах досліджу. Встановлено, що компоненти корневих виділень стимулюють синтез культурою азоспірил індолил-3-оцтової кислоти. При чому компоненти корневих виділень проростків ізогенної лінії *Vrn-B1* та проростків рецесивного за всіма генами *Vrn* сорту Миронівська 808 призводять до значно вищого рівня накопичення ІОК в середовищі культивування, ніж екзометаболіти проростків ліній *Vrn-D1* та *Vrn-A1*. Таку різницю можна пояснити підвищеним вмістом триптофану в корневих виділеннях проростків ізолінії *Vrn-B1* та сорту, а також, можливо, й в цілому підвищеним вмістом амінокислот у їх екзометаболітах (Самойлов та ін., 2009).

Таким чином, вже на перших етапах взаємодії «азотфіксатор-пшениця» встановлені відмінності у прирості азоспірил, їх хетотаксичній активності та здатності продукувати ІОК у відповідь на кореневі виділення проростків ізогенних за генами *Vrn* ліній пшениці. Ці відмінності пов'язані з різними кількісними та, можливо, і якісними показниками екзометаболітів проростків досліджуваних ізогенних ліній пшениці. Зазначені відмінності у вмісті трофічних субстратів у корневих виділеннях обумовлюють ефективність колонізації кореневої системи діазотрофами та потенційно можуть впливати на подальші етапи формування й функціонування азотфіксуючого комплексу пшениці.

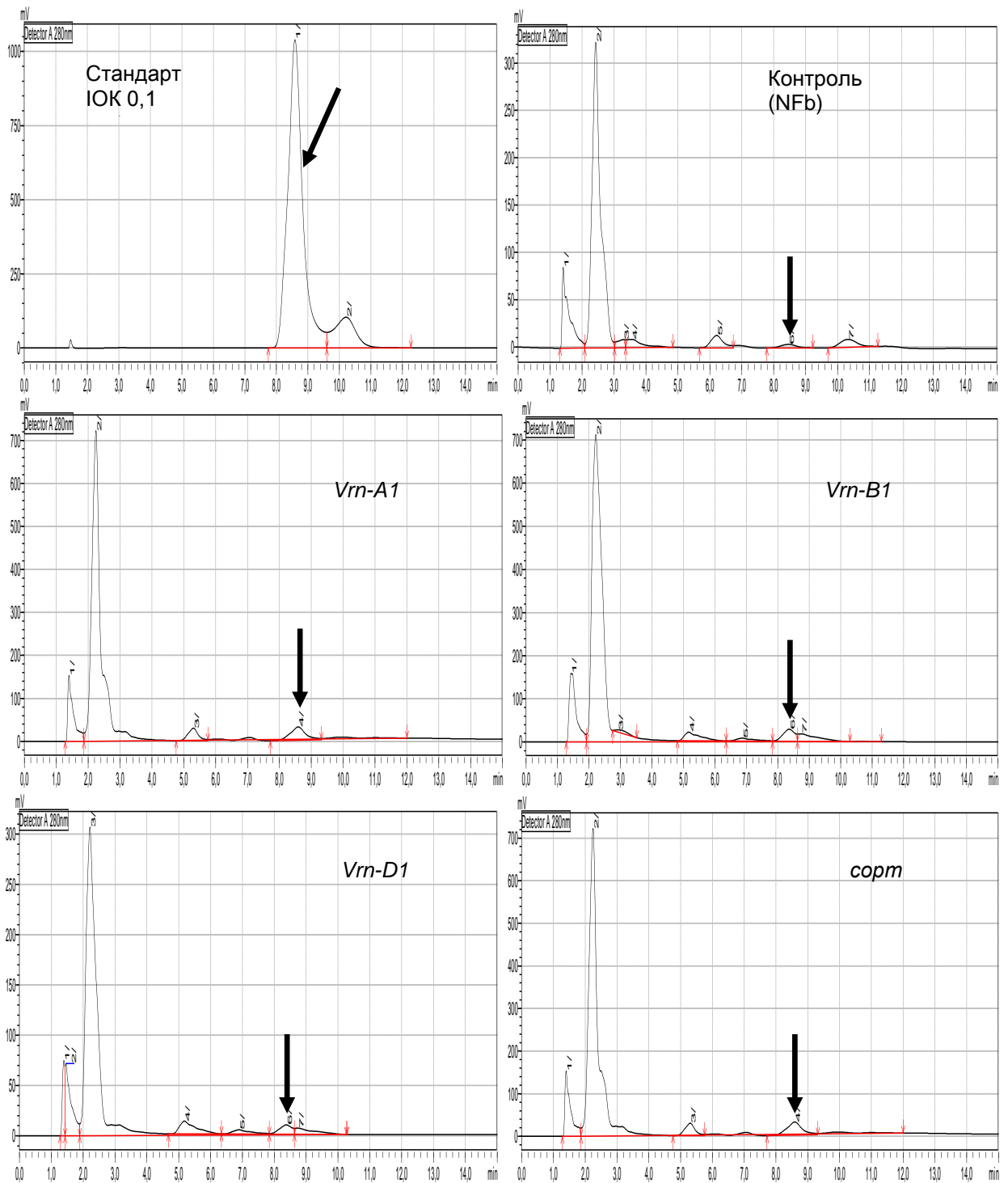


Рис. 2. Хроматограми етилацетатного екстракту культурального середовища азоспірил після обробки кореневими виділеннями проростків ізогенних ліній пшениці. Стрілками вказані піки, що вказують на вміст ІОК

Список літератури

- Иутинская Г.А., Пономаренко С.П., Андreyuk Е.И. Биорегуляция микробно-растительных систем: монография. – Киев: Ничлава, 2010. – 464 с. / Yutynskaya H.A., Ponomarenko S.P., Andreyuk E.Y. Byorehulyatsiya mykrobnno-rastytel'nykh system: monohrafiya. – Kiev: Nichlava, 2010. – 464 s.
- Копилов Є.П. Асоціативні діазотрофи роду *Azospirillum* як чинник підвищення стійкості рослин ярої пшениці до збудників корневих гнилей // Вісн. Харк. нац. аграр. ун-ту. Сер. Біологія. – 2009. – № 2. – С. 71–77. / KopylovYe. P. Asotsiatyvni diazotrofy rodu *Azospirillum* yak chynnyk pidvyshchennya stiykosti roslin yaroyi pshenytsi do zbudnykiv korenevyykh hnyley // Visn. Khark. nats. ahrar. un-tu. Ser. Biolohiya. – 2009. – № 2. – S. 71–77.
- Коць С.Я., Моргун В.В., Патыка В.Ф. и др. Биологическая фиксация азота: ассоциативная азотфиксация: монография: в 4-х т. – Т. 4. – К.: Логос, 2011. – 412 с. / Kots' S.Ya., Morhun V.V., Patyka V.F., Petrychenko V.F., Nadkernychnaya E.V., Kyrychenko E.V. Biolohicheskaya fiksatsyya azota: assotsiativnaya azotfiksatsiya: monohrafiya: v 4-kh t. – Т. 4. – К.: Lohos, 2011. – 412 s.
- Лабинская А.С., Волина Е.Г. Руководство по медицинской микробиологии. Книга 1. Общая и медицинская микробиология. – М.: БИНОМ, 2008. – 1080 с. / Labinskaya A.S., Volina E.G. Rukovodstvo po meditsinskoy mikrobiologii. Kniga 1. Obschaya i meditsinskaya mikrobiologia. – М.: BINOM, 2008. – 1080 s.
- Перт С.Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. – М.: Мир, 1987. – 330 с. / Pert S.Dzh. Osnovy kultivirovaniya mikroorganizmov i kletok. – М.: Mir, 1987. – 330 s.
- Самойлов А.М., Авксентьева О.А., Жмурко В.В. Эндо- и экзометаболиты корней линий озимой пшеницы, изогенных по генам *Vrn*, и их влияние на хемотаксический ответ *Azospirillum brasilense* // Збірник „Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку” у 2-х т. – К.: Логос, 2009. – Т.1. – С. 471–479. / Samoylov A.M., Avksent'eva O.A., Zhmurko V.V. Endo- i ekzometabolyti korney liniy ozymoy pshenytsi i zohennikh po genam *Vrn* i ikh vliyanie na khemotaksycheskiy otvet *Azospirillum brasilense* // Zbirnyk „Fiziolohiya roslin: problemy ta perspektyvy rozvytku” u 2-kh t. – К.: Lohos, 2009. – Т.1. – С. 471–479.
- Самойлов, А.М., Жмурко В.В. Динамика чисельности диазотрофов у корневой зоне изогенных за генами *Vrn* линий пшеницы // Мікробіологічний журнал. – 2012. – № 5. – С. 92–98. / Samoylov, A. M., Zhmurko V.V. Dynamika chysel'nosti diazotrofov u korenevy zoni izohennykh za henamy *Vrn* liniy pshenytsi // Mikrobiolohichnyy zhurnal. – 2012. – № 5. – S. 92–98.
- Стельмах А.Ф. Генетика темпов развития пшеницы (внесок селекционно-генетического института за 30 років) // Труды по фундаментальной и прикладной генетике (к 100-летию юбилею генетики). – Харьков: Штрих, 2001. – 280 с. / Stelmah A.F. Genetika tempiv rozvitku pshenits (vnesoks elektsiyno-genetichnogo institutu za 30 rokiv) // Trudy po fundamentalnoy i prikladnoy genetike (k 100-letnemu yubileyu genetiki). – Kharkov: Shtrih, 2001. – 280 s.
- Файт В.І. Морозостійкість і урожайність окремих сортів озимої пшениці // Вісн. аграр. науки. - 2005. – № 11. – С. 25–29. / Fayt V.I. Morozostyikist' i urozhaynist' okremykh sortiv ozymoyi pshenytsi // Visn. ahrar. nauky. - 2005. – № 11. – S. 25–29.
- Чуйко Н.В. Хемотаксис *Bacillus subtilis* к органическим соединениям // Мікробіологічний журнал, 2011. – Т. 73, №3. – С. 39–45. / Chuiko N.V. Chemotaksis *Bacillus subtilis* k organicheskim soedinenijam // Mikrobiolohichnyi zhurnal, 1990. – Т.24, №3. – С. 39–45.
- Шадчина Т.М., Гуляев Б.І., Кірізій Д.А. Регуляція фотосинтезу і продуктивність рослин: фізіологічні та екологічні аспекти. – Київ: Фітосоціоцентр, 2006. – 348 с. / Shadchyna T.M., Hulyayev B.I., Kiriziy D.A. Rehulyatsiya fotosyntezu i produktyvnist' roslin: fiziolohichni ta ekolohichni aspekty. – Kyiv: Fitosotsiotsentr, 2006. – 348 s.
- Andreote F.D., Gumiere Th., Durrer A. Exploring interactions of plant microbiomes // Scientia Agricola, 2009. – Vol. 71, N 6. – P. 528–539
- Eckert B., Weber O.B., Kirchhof G. Et al. *Azospirillum doebereineriae* sp. nov., anitrogen-fixing bacterium associated with the C₄-grass *Miscanthus* // Inter J Systematic Evolutionary Microbiology, 2001. – 51. – P. 17–26.
- Nannipieri P., Ascher J., Ceccherini M.T. et al. Microbial diversity and microbial activity in the rhizosphere // Ci. Suelo, 2007. – Vol. 25, N 1. – P. 89–97
- Nardi S., Concheri G., Pizzeghello D. et al. Soil organic matter mobilization by root exudates // Chemosphere, 2000. – Vol. 41, N 5. – P.653–658.
- Walker T.S., Bais H.P., Grotewold E., Vivanco J.M. Root exudation and rhizosphere biology // Plant Physiology, 2003. – Vol. 132. – P. 44–51

Представлено: О.Ю. Леонов / Presented by: O.Yu. Leonov

Рецензент: В.Ф. Тимошенко / Reviewer: V.F. Tymoshenko

Подано до редакції / Received: 17.11.2014