

**ФИЗИОЛОГО–БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
РЕПРОДУКЦИИ ДИКОРАСТУЩЕГО ДЛИННОКОРНЕВИЩНОГО
МОРФОТИПА *MEDICAGO FALCATA* L. В КУЛЬТУРЕ**

**Т. А. Будкевич¹, М. А. Анисова¹, Л. Г. Таршис², З. М. Алещенкова³,
А. А. Федоренчик³, В. А. Хрипач⁴, М. А. Завадская⁴, М. М. Коротков⁵**

¹ Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича НАН Беларуси,
Минск, Беларусь, e-mail: tosik1947@mail.ru

² Уральский государственный педагогический университет, Екатеринбург,
Россия

³ Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

⁴ Институт биоорганической химии, Минск, Беларусь

⁵ Полесский институт растениеводства,
пос. Криничный Гомельской области, Беларусь

Актуальность. Успешная интродукция из природной флоры в культуру длиннокорневищно–стержнекорневого морфотипа *Medicago falcata* L. (люцерны серповидной или люцерны желтой), перспективного для использования в составе долголетних устойчивых лугопастбищных агроценозов, требует адаптивной технологии семенного размножения интродуцента. К настоящему времени физиологическая реакция растений люцерны корневищного морфотипа на обработку биорегуляторами, эффективными для семенных посевов люцерны стержнекорневого морфотипа практически не изучена. **Объект.** Растения 1–2 года жизни интродуцента дикой популяции *M. falcata* длиннокорневищно–стержнекорневого морфотипа и культурной *M. falcata* (сорт ‘Вера’) стержнекорневого морфотипа в семенных посевах на дерново–подзолистой супесчаной почве. **Материалы и методы.** Для биорегуляции использовали два микробных препарата комплексного действия – S3 («Ризофос» марки «Люцерна») и S5 (штамм культуры *Sinorhizobium meliloti*) путем: 1) предпосевной обработки семян; 2) внесения в почву под всходы; 3) сочетания инокуляции ризосферной почвы с внекорневой обработкой растений фитогормоном гомобрассинолидом в фазе бутонизации. **Результаты.** Под воздействием инокулянтов S3 и S5 у культурной люцерны стержнекорневого морфотипа 2–кратно возрастало на корнях количество симбиотических клубеньков, в 1,4–1,5 раза повышалась их азотфиксирующая активность, удлинялся период нодуляции. У интродуцента препарат S3, содержащий культуру *Rhizobium*, обогащенную фосфатмобилизующими бактериями, стимулировал ризогенез, образование корневищных и ортотропных наземных побегов, плодообразование. Эффективного системного действия микробных препаратов и их комбинации с фитогормоном на нодуляцию, функциональную активность симбиотического аппарата, массу семян у *M. falcata* корневищного

морфотипа не установлено. **Выводы.** Повышение азотфиксирующей способности и семенной продуктивности интродукента возможно при использовании культур *Rhizobium*, созданных на основе природных изолятов, видоспецифичных для длиннокорневищного морфотипа *M. falcata*, и применении фитогормональных стимуляторов роста с учетом онтогенетических особенностей развития надземных и подземных органов интродукента.

Ключевые слова: *Medicago falcata*, длиннокорневищный морфотип, интродукент, морфогенез, азотфиксация, семенная продуктивность, микробные препараты, гомобраassinолд.

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL ASPECTS OF REPRODUCING THE WILD LONG-RHIZOME MORPHOTYPE OF *MEDICAGO FALCATA* L. UNDER CULTIVATION

T. A. Budkevich¹, Zh. M. Anisova¹, L. G. Tarshis², Z. M. Aletshenkova³,
A. A. Fedorenchik³, V. A. Khripach⁴, M. I. Zavadskaya⁴, M. M. Korotkov⁵

¹ V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of NAS,
Minsk, Belarus, e-mail: tosik1947@mail.ru

² Ural State Pedagogical University, Yekaterinburg, Russia

³ Institute of Microbiology of NAS, Minsk, Belarus

⁴ Institute of Bioorganic Chemistry, Minsk, Belarus

⁵ Polesky Institute of Plant Growing of NAS, Krinichny, Belarus

Background. Successful introduction of the long-rhizome yellow alfalfa (*Medicago falcata* L.) ecotype, promising for utilization within long-term meadow pasture agrocoenoses, from wild flora into cultivation requires an adaptation technology to enable seed reproduction of the introduced plant. Up to the present, physiological responses of rhizome alfalfa plants to the treatment with bioregulators effective for taproot alfalfa plants remain an open question. **Objective.** One- or two-year-old plants of the introduced wild *M. falcata* population of the long-rhizome/taproot morphotype and cultivated (cvr. Vera) *M. falcata* of the taproot morphotype in seed plantings on soddy podzolic sandy-loam soil. **Materials and methods.** Two microbial preparations with complex effect – S3 (Rhizophos, brand: Lucerne) and S5 (active strain of *Sinorhizobium meliloti*) – were used for bioregulation by 1) pre-sowing treatment of seeds; 2) application into the soil under shoots; and 3) combining inoculation of S3 and S5 into the soil with the phytohormone homobrassinolide extra-root treatment of the plants at the budding stage. **Results.** The growth activators increased seed productivity, nodulation and nitrogen fixation activity in the cultivated taproot yellow alfalfa type but didn't work or depressed these traits in the long-rhizome type plants. Under the influence of S5 the number of nodules in model plants of the taproot type increased 2 times, and nitrogen fixation activity increased 1.5 times, while under the influence of S3 these

parameters increased 1.4 times. S3, containing the active strain of *Rhizobium* and phosphorus-mobilizing bacteria, stimulated rhizogenesis, development of the rhizome and overground sprouts, and fruiting in the introduced plant. No systemic effect of microbial preparations or their combination with the phytohormone on the nitrogen-fixing ability and seed productivity has been found in the long-rhizome morphotype of *M. falcata*. **Conclusion.** The problem of increasing nitrogen-fixing activity and seed productivity of the introduced long-rhizome yellow alfalfa type may be solved on the basis of *Rhizobium* natural isolates species-specific for the long-rhizome morphotype of *M. falcata* and application of phytohormones with due regard to the peculiarities of the root-shoot interactions in the course of ontogenesis.

Key words: *Medicago falcata*, long-rhizome type, introduction into cultivation, morphogenesis, nitrogen-fixing activity, seed productivity, microbial preparations, homobrassinolide.

Введение

Наряду с генетико-селекционной работой важная задача расширения фонда селекционного материала для создания устойчивых и продуктивных сортов многолетних кормовых трав может решаться путем пополнения его резерва за счет представителей естественной флоры.

Основой отбора ценных экотипов бобовых трав для селекционных целей и интродукции служил и по настоящее время является внутривидовой полиморфизм растений, при этом у исходных форм основное внимание уделяется разнообразию морфологических признаков и продукционных характеристик надземных структур, прежде всего – анатомо-морфологическим особенностям генеративных органов (Sinskaya, 1938; Semenov, Vlasova, 1985; Dzyubenko et al., 1991; Shamsutdinov et al., 1999; Novoselova, 2009). Введение в культуру и селекционная проработка перспективных для растениеводства экотипов бобовых трав на основе полиморфизма органов подземной сферы до настоящего времени используется крайне недостаточно (Budkevich et al., 2009; 2011a; Laman et al., 2010), несмотря на то, что адаптация к воздействию факторов среды у интродуцентов реализуется, прежде всего, через механизмы морфологических и функциональных адаптаций корневых систем растений. В ряду многолетних травянистых видов бобовых широкая экологическая пластичность морфологии корневых систем наиболее свойственна растениям из родов *Medicago* L. и *Trifolium* L. (Mixajlovskaya, 1981; Grigor'eva, 1983; Zhukova, 1986). Характерный представитель таких видов – *Medicago falcata* L. – люцерна серповидная (или люцерна желтая). Морфотип ее корневой системы в

зависимости от условий произрастания может изменяться от стержневого до корневищно–стержнекорневого и корнеотпрыскового (Kul'tiasov, Grigor'eva, 1978).

В ходе долговременного экологического мониторинга растительности естественных лугов низинно–суходольного типа на территории Минской области Беларуси были выявлены занимающие значительные площади осоково–злаково–разнотравные ассоциации с устойчиво высоким долевым участием популяций *M. falcata*. В разные по погодным условиям вегетационные сезоны проективное покрытие *M. falcata* варьировало по годам наблюдений в пределах 33–45%, достигая в отдельные периоды на участках с повышенной влажностью аккумулятивного горизонта почвы 50–60%. Как показали результаты стационарных эколого–фитоценотических исследований, наблюдаемое устойчивое воспроизводство *M. falcata* в составе луговых фитоценозов сопряжено с особенностями морфогенеза ее корневой системы, представляющей смешанный длиннокорневищно–стержнекорневой тип, что позволяет за счет образования массы продуктивных надземных побегов на интенсивно нарастающих корневищах ежегодно обеспечивать этому виду значительный процент участия в структуре травостоя и высокий уровень семенной продуктивности (Budkevich et al., 2003, 2009; Budkevich, Stepanovich, 2011). Введение в культуру этого перспективного для лугопастбищного использования морфотипа дикорастущей люцерны желтой и создание нового исходного материала путем семенного размножения ее диких форм потребовали технологии, адаптивной к конкретным почвенно–климатическим условиям возделывания семенных посевов на окультуренных почвах. Первыми этапами разработки технологии было выявление высокопродуктивных и устойчивых популяций дикорастущей *M. falcata*, характеризующихся наиболее качественным и жизнеспособным семенным материалом и определение оптимума эдафических факторов для развития системы подземных органов, вегетативного возобновления и формирования семенной продуктивности растений.

По данным исследований в природно–растительных луговых экосистемах (Budkevich et al., 2011), оптимальными условиями развития элементов семенной продуктивности растений и получения полноценных жизнеспособных семян длиннокорневищного морфотипа люцерны желтой являются среднекислые ($\text{pH}_{\text{KCl}} = 4,25\text{--}4,60$) дерново–подзолистые почвы легкого механического состава с относительно высоким для этого типа почв содержанием влаги в аккумулятивном горизонте

($R^2 H_2O = 0,639$). Развитие и накопление биомассы корневищ – потенциала эффективного вегетативного возобновления растений – в более слабой степени, чем показатели семенной продуктивности, коррелируют с влажностью почвы ($R^2 H_2O = 0,478$) и в диапазоне кислотности с pH_{KCl} 4,25–7,45 аккумулятивного горизонта практически не зависят от реакции почвенной среды ($R^2 pH_{KCl} = 0,041$). Наряду с моделированием оптимальных параметров режима водно–минерального питания интродукта в разработку агротехнических приемов выращивания его семенных посевов в культуре включены задачи исследования, ориентированные на изыскание способов экзогенной регуляции с привлечением биологически активных соединений, стимулирующих, с одной стороны, оптимальное развитие надземной репродуктивной сферы растений, с другой – эффективное функционирование бобово–ризобияльного комплекса. В отношении бобовых трав в качестве таких регуляторов приоритетно рекомендуется рассматривать разрабатываемые на основе культуры *Sinorhizobium meliloti* микробные биопрепараты и регуляторы роста фитогормональной природы (Babich et al., 1996; Tikhonovich, 1997; Butvina et al., 1997; Paty`ka, 2005; Koc` et al., 2006).

Цель настоящей работы – исследование морфофизиологических характеристик развития и азотфиксирующей способности дикорастущей люцерны желтой длиннокорневищного морфотипа при семенном размножении в культуре и оценка эффективности воздействия на эти процессы микробных биопрепаратов комплексного действия, успешно применяемых на семенных посевах люцерны посевной – *M. sativa* L.

Материалы и методы

Морфофизиологические исследования первичных интродуцентов *M. falcata*, выращенных из отобранных по показателям жизнеспособности и посевных качеств семян дикой популяции, проводили:

- в модельных полевых опытах (опытный участок на территории ЦБС НАН Беларуси), заложенных в 2012–2013 гг. на окультуренной дерново–подзолистой супесчаной почве; способ посева квадратно–гнездовой с шириной междурядий 40 см; площадь опытной делянки 6 м², повторность трехкратная;

- в полевых опытах по семенному размножению дикорастущей формы люцерны желтой корневищно–стержнекорневого морфотипа, заложенных в 2010 и 2011 годах квадратно–гнездовым способом на опытных полях Республиканского научного дочернего унитарного

предприятия (РНДУП) «Полесский институт растениеводства». Общая площадь семенных посевов 100 м².

Во всех опытах агрофон в пахотном горизонте почвы поддерживался ежегодным внесением минеральных удобрений в дозе Р90К120 д. в. Перед посевом семена скарифицировали механическим способом. С целью выявления особенностей морфофизиологических реакций интродукента при выращивании на окультуренной почве одновременно с закладкой опытов семенами дикорастущей популяции все опытные варианты были продублированы высевом семян культурной люцерны желтой сорта 'Вера', выведенного в РНДУП «Полесский институт растениеводства» (автор: канд. с.-х. наук П. Т. Пикун). Для обработки растений использовали два биопрепарата:

1) S3 – компонент микробного препарата «Ризофос» марки «Люцерна» (разработчик – Институт микробиологии НАН Беларуси). Основа препарата – активные штаммы *Rhizobium*, специфичные для люцерны посевной, в комплексе с фосфатмобилизующими бактериями, переводящими труднорастворимые фосфаты почвы и удобрений в доступную растениям форму;

2) S5 – штамм культуры *Sinorhizobium meliloti*.

Инокуляция микробными биопрепаратами производилась в двух вариантах:

1) замачиванием семян перед посевом;

2) внесением через две недели после появления всходов в почву под растения в жидкой форме из расчета 200 мл/га препарата (концентрация 1×10^{-3} мл/л). В контрольном варианте опыта с интродукентом люцерны лунки перед высевом семян поливали водной суспензией свежей почвы, отобранной на участке природного луга с дикорастущей люцерной желтой, в контроле опыта с культурной формой люцерны желтой инфицирование осуществлялось спонтанными штаммами *Rhizobium* из почвы под производственными посевами сортовых семян.

Для оценки эффективности включения в разрабатываемую технологию семенного размножения интродукента применения микробных препаратов в комплексе с внекорневой обработкой растений стимуляторами роста фитогормональной природы (Volkogon et al., 1997; Кос' et al., 2007) дополнительно к выше указанным вариантам инокуляции были введены варианты с сочетанием инокуляции и обработки растений препаратом «Эпин плюс» (активное вещество гомобрассинолид), разработанным в Институте биоорганической химии НАН Беларуси (Khripach et al., 2000). Обработку растений проводили 2–

кратно – в фазах скрытой и полной бутонизации путем опрыскивания надземной части куста водным раствором препарата в концентрации 1×10^{-9} М.

Анатомические и морфометрические исследования проводили на растениях первого и второго года жизни, достигших фазы полного цветения–начала плодообразования. В надземной части опытных растений определяли форму куста, высоту надземных побегов, количество побегов 1–го порядка, количество междоузлий на побеге 1–го порядка, форму листовой пластинки; листовой индекс (L/D); в подземной сфере – тип (форму) корневой системы, длину главного (стержневого) корня, количество боковых корней 1–го порядка, наличие корневищных побегов, наличие симбиотических клубеньков. Для анатомических исследований в каждом варианте опыта отбирали наиболее морфологически репрезентативные корневые системы, которые фиксировали в 96% этаноле. Изучение особенностей анатомо–морфологической структуры элементов подземной системы интродукента и растений культурной формы люцерны проводили методом световой микроскопии на поперечных срезах главного корня и корневищ при увеличении $90\times$ согласно методическим разработкам Л. Г. Таршис (Tarshis, 1975, 2003).

Действие инокулянтов на развитие и продукционные характеристики корневых систем и активность азотфиксации корневых симбиотических клубеньков люцерны исследовали на растениях первого года жизни в фазе цветения. Анализ азотфиксирующей (нитрогеназной) активности корневых клубеньков растений опытного и контрольного вариантов осуществляли в 10–кратной повторности этилен–ацетиленовым методом (Hardy et al., 1975) в модификации А. И. Заболотного (Zabolotnyj, 2003) с измерением на газовом хроматографе «Chrom–5» (ЧССР), снабженном колонкой «Селипор 600». Разделение газовой смеси производилось при температуре колонки 90°C , температуре пламенно–ионизационного детектора 240°C и скорости потока водорода $28\text{ см}^3/\text{мин}$.

Элементы семенной продуктивности люцерны (количество и массу бобов в расчете на продуктивный побег, массу 1000 семян) определяли в фазе бурых (зрелых) бобов.

Полученный экспериментальный материал обработан методами вариационной статистики с применением стандартного пакета программ Exel.

Результаты и обсуждение

Сравнительный морфометрический анализ роста и развития растений первичного интродуцента и культурной популяции *Medicago falcata* в полевом опыте по семенному размножению дикорастущей люцерны длиннокорневищно-стержнекорневого морфотипа

Согласно литературным данным по биологии *M. falcata* как элемента природной флоры (Grigor'eva, 1983; Zhukova, 1986), характерными морфологическими признаками этого вида являются:

- многочисленные стебли, восходящие, прямые или простертые (20) 40–80 см высотой, слабо волосистые или голые;

- листочки различной формы и размеров, обратно-яйцевидные, продолговато-ланцетные, овальные или округло-яйцевидные, листовой индекс 2,5–3,0;

- в пределах ареала сохраняет стержневую корневую систему;

- многолетняя стеблевая часть представлена каудексом, первоначальной осью которого «...является углубленный в почву гипокотиль с семядольными почками и основания нарастающих и сменяющих друг друга побегов 2–3-го порядков с почками в их базальной части. Каудекс формируется на уровне почвы, а затем постепенно углубляется в нее. У основания многочисленных побегов, возникающих на втянутом в почву каудексе, часто образуются придаточные стеблевые корни. Они, а также придаточные корни у почек в основании развивающегося побега способствуют тому, что базальная часть молодого побега приобретает плагиотропный характер, полегает или углубляется в почву. Благодаря единой камбиальной системе каудекс, как и корень, сильно разрастается в толщину и становится многолетней основой всей надземной части этого травянистого растения» (Mixajlovskaya, 1972. С. 89)

- корневища обычно образуются к третьему году жизни, «возникают осенью из семядольных почек каудекса в виде ... подземных плагиотропных побегов. По способу их образования их можно отнести к корневищам гипогеегенного типа ...» (Mixajlovskaya, 1972. С. 70), нарастают симподиально и превращаются в разветвленный длинный шнуровидный подземный орган, характеризующийся метамерным строением, в отличие от главного и боковых корней.

По результатам исследования подземных органов растений люцерны желтой первого года жизни, выращенных на окультуренной

дерново-подзолистой супесчаной почве опытного участка из семян дикорастущей люцерны длиннокорневищно-стержнекорневого морфотипа, наблюдался определенный полиморфизм подземных органов (рис. 1, 2). У половины особей в выборке из 20 экземпляров развивались горизонтально ориентированные побеги, которые позже, углубляясь в почву и укореняясь, давали начало развитию гипогеегенных корневищ (см. рис. 1). Развитие корневищной системы в дальнейшем происходило по типу, наблюдавшемуся в природных условиях – за счет симподиального нарастания корневищ формировались плагиотропная и ортотропная части растения (Mixajlovskaya, 1981; Grigor'eva, 1983; Budkevich et al., 2009). Плагиотропные части корневищ с удлинненными междоузлиями несли на себе чешуевидные листочки, из почек в основании которых впоследствии вырастали тонкие придаточные поглощающие корешки. С возрастом под узлом корневищ возникали по одному многолетние утолщающиеся и глубоко уходящие в землю «вторично-стержневые» по И. С. Михайловской (Mixajlovskaya, 1972, 1981) корни (или так называемые подузловые придаточные корни). Чаше они отмечались в зоне перехода плагиотропной части корневища в ортотропную часть, вблизи основания надземных ассимилирующих побегов растения. В естественных условиях при ежегодном вегетативном возобновлении у вида может возникать несколько парциальных кустов, связанных друг с другом гипогеегенными корневищами (Zhukova, 1986), что наблюдалось в наших опытах, начиная со второго года вегетации.

У другой части особей из выборки интродуцента люцерны желтой корневища не развивались, а подземная сфера растений была представлена стержневыми (чаще двух-трехголовчатыми) корнями (см. рис. 2). В базальной части корневой системы имелся каудекс – т. н. стеблевая часть стеблекорня. На верхушке каудекса закладывались почки, из которых вырастали надземные побеги.

Дальнейшее исследование развития подземной сферы опытных растений первичного интродуцента люцерны в полевом модельном опыте показало, что с возрастом как у стержнекорневых, так и у корневищно-стержнекорневых экземпляров размеры каудекса варьировали незначительно: от 5–10 мм у растений первого года жизни и до 15–25 мм у растений четвертого года жизни. В то же время выявленный полиморфизм подземных систем интродуцентов в культуре свидетельствует как о наследуемости ими признака корневищности при введении в культуру, так и о генетической неоднородности по этому признаку семенного материала, собранного в природных популяциях с

продуктивных ортотропных побегов, инициированных корневищами дикорастущей люцерны.

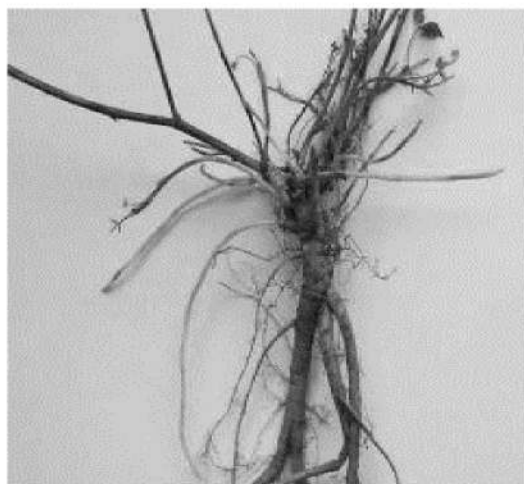


Рис. 1. Каудекс и базальная часть корневой системы интродуцента *Medicago falcata* корневищно-стержнекорневого морфотипа (растение первого года жизни)

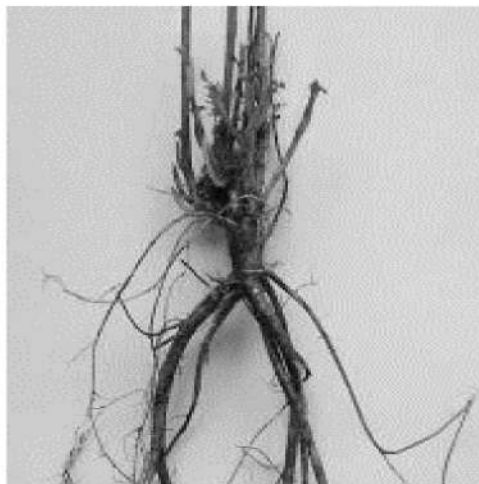


Рис. 2. Каудекс и базальная часть корневой системы интродуцента *Medicago falcata* стержнекорневого морфотипа (растение первого года жизни)

Fig. 1. The caudex and basal part of the root system in the introduced long-rhizome/taproot morphotype of *Medicago falcata* (the plant of its first year of life)

Fig. 2. The caudex and basal part of the root system in the introduced taproot morphotype of *Medicago falcata* (the plant of its first year of life)

Данные морфолого-анатомического анализа подземных органов интродуцента люцерны с формирующимися корневищами подтверждают четко выраженную гетероризию данного морфотипа в культуре – корневище интродуцента анатомически легко отличается от корня, т. к. имеет типичную для побега пучковую структуру (рис. 3Б). В сравнительном аспекте анатомический анализ показывает, что при аналогичной тканевой структуре срезов стержневых корней интродуцентов и растений культурной популяции главный корень интродуцента отличается более развитой, чем у представителя культурной формы, проводящей (транспортной) системой.

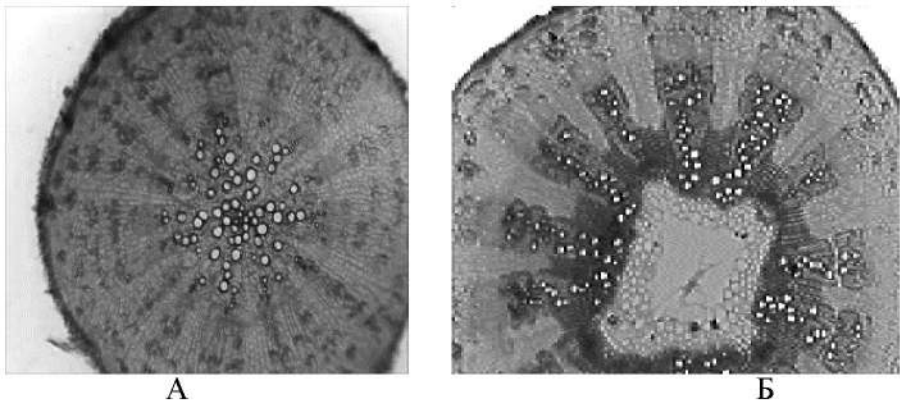


Рис. 3. Анатомическая структура среза базальной части стержневого корня (А) и корневища (Б) интродуцента *Medicago falcata* (первый год жизни)

Fig. 3. Anatomical structure of the cross-section of the basal part of the root (A) and the rhizome (B) in the introduced *Medicago falcata* (first year of life)

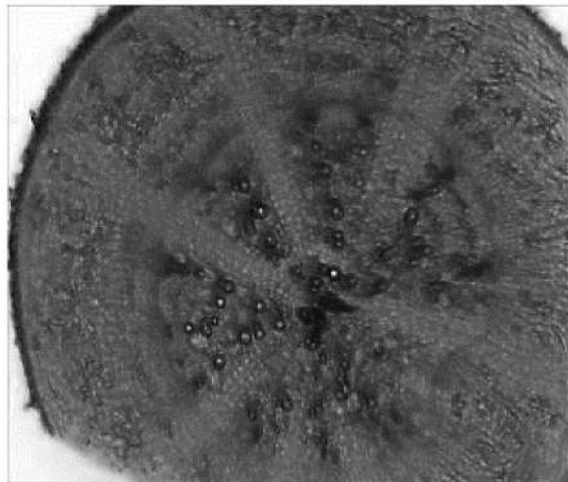


Рис. 4. Анатомическая структура среза базальной части стержневого корня *Medicago falcata* культурной популяции (первый год жизни)

Fig. 4. Anatomical structure of the cross-section of the basal part of the taproot in the cultivated population of *Medicago falcata* (first year of life)

Особи интродуцента по количеству секторов радиально расположенных сосудов вторичной ксилемы, разделяемой группами склеренхимных волокон, двукратно превосходят растения культурной формы, насчитывая соответственно 12 радиальных секторов (рис. 3А) с хорошо развитыми сосудами разного диаметра против шести секторов у культурной люцерны (рис. 4).

Морфометрический анализ надземных органов растений люцерны желтой, выращенных из семян дикой популяции длиннокорневищно–стержнекорневого морфотипа в полевом опыте по семенному размножению показал, что у растений первичных интродуцентов второго года жизни в основном проявились описанные выше (Grigor'eva, 1983; Zhukova, 1986; Budkevich et al., 2009) признаки, характерные для исходной дикой формы (табл. 1).

Таблица 1. Характеристика морфометрических параметров растений *Medicago falcata* второго года жизни, выращенных из семян дикой популяции длиннокорневищно–стержнекорневого морфотипа и культурной популяции

Table 1. Characteristics of morphometric parameters of *Medicago falcata* plants in their second year of life grown from the seeds of the wild population of the long–rhizoma/taproot morphotype and the cultivated population

Показатель (фаза развития растений – стебление)	Культурная популяция (сорт Вера)		Дикая популяция (первичный интродуцент)	
	$\bar{X} \pm x$	V, %	$\bar{X} \pm x$	V, %
Высота растения, см	25,9±2,8	10,8	23,8±3,2	13,4
Количество побегов 1–го порядка, шт.	10,3±2,3	22,0	23,0±9,0	39,1
Число междоузлий на побеге 1–го порядка, шт.	5,8±0,8	13,8	7,7±0,9	12,0
Листовой индекс (L/D)	1,73 ± 0,12	7,1	2,23 ± 0,15	6,7

По данным сравнительной оценки роста и развития растений интродуцента и культурной популяции, при относительно равном в фазе стеблевания росте надземных побегов (23,8±3,2 и 25,9±2,8 см соответственно), по количеству побегов 1–го порядка (кустистости)

интродуценты превосходили растения культурной формы в два, а по числу междоузлий на побегах 1-го порядка в полтора раза. Для отбора и перемещения в селекционный питомник экземпляров двулетних растений интродуцента с корневой системой корневищного или корнеотпрыскового морфотипов наиболее информативным морфологическим признаком надземной сферы семенного куста служил показатель числа междоузлий на побегах 1-го порядка (коэффициент корреляции его с признаками корневищности и корнеотпрыскости в выборке составлял 0,769).

Влияние микробных, препаратов комплексного действия на морфогенез, продуктивность и азотфиксирующую способность первичных интродуцентов *Medicago falcata* корневищно-стержнекорневого морфотипа в культуре

Исследование состояния и функциональной активности симбиотического аппарата растений, культивируемых в опыте с применением двух видов инокулянтов, выявило существенные различия в морфометрических показателях и уровнях удельной азотфиксирующей (нитрогеназной) активности симбиотических клубеньков как между растениями первичного интродуцента и культурной формы люцерны, так и различия, обусловленные действием микробиологических препаратов.

Данные сравнительного анализа показателей органогенеза опытных растений в контрольных вариантах уже в первый год жизни четко указывают на существенные различия в стратегии побегообразования у интродуцентов и растений сортообразца (табл. 2). У первых преобладают образующиеся на каудексе горизонтально ориентированные побеги, впоследствии укореняющиеся и дающие начало развитию корневищ; у репродукторов культурной формы формировались в основном вертикальные (ортотропные) надземные продуктивные побеги, подземные побеги обнаружены лишь у единичных растений выборки.

При этом суммарное количество побегов на растении у представителей культурной формы и интродуцента было равнозначным. У интродуцента люцерны применение биопрепаратов S3 и S5 стимулировало образование надземных ортотропных побегов и продуктивность их зеленой массы, причем стимулирующее воздействие препарата S3 (препарат «Ризофос» марки «Люцерна»), в состав которого входят активные штаммы клубеньковых и фосфатмобилизующих бактерий, было менее эффективным, чем препарата S5 – штамма культуры *Sinorhizobium meliloti*.

Таблица 2. Морфометрическая характеристика и продуктивность растений культурной и интродуцированной форм *Medicago falcata* в опыте с применением инокулянтов – микробиологических препаратов с культурой *Rhizobium* (растения первого года жизни, фаза – бутонизация–начало цветения)

Table 2. Morphometric characteristics and plant productivity of the cultivated and introduced forms of *Medicago falcata* in the experiment with inoculants – microbiological preparations with *Rhizobium* culture (plants of their first year of life, phase: budding/beginning of flowering)

Вариант опыта (агрофон, инокулянт)	Количество ортоотропных надземных побегов, шт.	Количество плагиотропных подземных побегов, шт.	Зеленая масса 1 растения, г
Интродуцент			
P90K120 (контроль)	1,8±0,8	3,4±1,3	10,83±2,43
P90K120 + S 3	2,3±0,7	4,1±1,3	15,45±1,96*
P90K120 + S 5	3,6±1,0	3,7±1,9	18,87±3,09*
Культурная форма			
P90K120 (контроль)	5,5±1,3	0,1	10,99±2,10
P90K120 + S 3	4,1±1,6	1,3	18,28±4,00*
P90K120 + S 5	5,3±1,0	1,2	16,25±3,32

* разница с контролем достоверны при P_{05}

Влияние внесенных в ризосферу микробных препаратов на морфогенез и продуктивность растений культурной популяции было несколько иным – наряду с увеличением в 1,6–1,8 раза массы

продуктивных надземных побегов, отмечено стимулирующее воздействие препаратов на побегообразование в подземной сфере – если в контрольном варианте образующиеся на каудексе горизонтальные (гипогеогенные) побеги наблюдались у единичных растений, то в вариантах с обработкой инокулянтами образование этих побегов зафиксировано на 2/3 опытных растений (см. табл. 2).

Оценка эффективности действия исследуемых микробиологических препаратов на состояние и азотфиксирующую активность симбиотической системы люцерны желтой показала достаточно высокую степень положительной реакции растений культурной популяции и весьма слабое, по отдельным показателям ингибирующее, влияние инокулянтов на растения интродуцента (табл. 3).

Использование препарата S5 с активными штаммами *S. meliloti*, разработанными для люцерны посевной (*M. sativa*), характеризующейся корневой системой стержневого морфотипа, оказалось эффективным как для нодуляции, так и для стимуляции процесса азотфиксации у культурной формы люцерны желтой – количество клубеньков в расчете на корневую систему модельного растения возросло в два раза, а удельная активность азотфиксации более чем в 1,5 раза по сравнению с контролем. В варианте с внесением в почву препарата S3 показатели нодуляции и нитрогеназной активности были ниже, чем в варианте с препаратом S5, но также существенно – до 1,4 раза превышали параметры контрольных растений (см. табл. 3). Более крупные размеры клубеньков в контроле, в сравнении с другими вариантами опыта, свидетельствуют о пролонгировании под воздействием препаратов новообразования активных азотфиксирующих клубеньков. У растений интродуцента при незначительных изменениях под воздействием биопрепаратов количества, размеров и массы корневых клубеньков установлено достоверное снижение их азотфиксирующей активности. Наиболее существенно это проявилось в варианте с применением в качестве инокулянта биопрепарата S5, показатели удельной активности азотфиксации были здесь в 1,6 раза ниже, чем в контроле, где инокуляция растений осуществлялась спонтанными почвенными штаммами.

Данные, представленные в таблице 4, указывают на зависимость характера воздействия биопрепаратов на развитие корневой системы и формирование бобово–ризобияльного комплекса растений интродуцента от вида препарата и способа его применения.

Таблица 3. Морфометрическая характеристика и азотфиксирующая активность симбиотических клубеньков растений культурной и интродуцированной форм *Medicago falcata* первого года жизни в опыте с применением биопрепаратов комплексного действия (внесение в почву под всходы). Опыт 2012 г.

Table 3. Morphometric characteristics and nitrogen-fixing activity of symbiotic nodules on the plants of the cultivated and introduced *Medicago falcata* forms in their first year of life in the experiment with biopreparations of complex effect (application into the soil under the sprouts), 2012.

Вариант опыта	Количество клубеньков/ 1 растение, шт.	Сырая масса клубеньков/ 1 растение, мг	Сырая масса 1 клубенька, мг	Активность азотфиксации, мкмоль C_2H_4 · ч/г сырой массы клубеньков
Интродуцент				
РК (контроль)	31±4	62,8±8,9	2,05	19,70±4,67
РК + S 3	26±4	63,9±8,6	2,42	17,65±2,40
РК + S 5	27±3	56,4±8,3	2,07	14,98±2,80
Культурная форма				
РК (контроль)	21±5	34,4±6,0	1,61	18,21±5,12
РК + S 3	29±3	39,8±5,8	1,35	25,05±3,72
РК + S 5	44±8	44,0±,0	1,00	29,19±,26

Максимальный эффект был получен в варианте с предпосевной обработкой семян люцерны препаратом S3 («Ризофос» марки «Люцерна», обогащенный фосфатмобилизующими бактериями). Проведенные в фазе полная бутонизация–начало цветения наблюдения показали двукратное увеличение относительно контроля массы стержневых и пятикратное увеличение массы поглощающих корней, количество симбиотических клубеньков на растении возросло в шесть, а их масса в пять раз по сравнению с растениями, семена которых были инокулированы спонтанными штаммами *Rhizobium*. Поскольку применение данного препарата практически не отразилось на показателе массы клубеньков в расчете на единицу массы поглощающих корней, на которых они в

основном формируются, эффект увеличения следует отнести на счет стимуляции при данном способе использования препарата (предпосевная обработка семян) образования физиологически активных поглощающих корней. Это подтверждается отсутствием эффекта от применения этого препарата при внесении его в ризосферу под двухнедельные всходы. Несмотря на существенное, трехкратное увеличение относительно контроля массы стержневых корней и, соответственно, общей массы корневой системы растений, но незначительное возрастание массы поглощающих корней, развитие симбиотического аппарата было слабее, чем в контроле (см. табл. 4). Независимо от способа применения, препарат S5, разработанный на основе эффективных штаммов *Sinorhizobium meliloti*, оказался неэффективным для развития симбиотического аппарата интродуцентов, было отмечено даже определенное ингибирующее влияние этого препарата – масса корневых клубеньков в расчете на растение и на единицу массы поглощающих корней была ниже контрольных показателей в 1,5–2,0 раза. Увеличение общей фитомассы корневой системы следует отнести за счет стимуляции развития стержневых (транспортных и запасающих) корней.

Отмеченная нами реакция симбиотического аппарата интродуцента корневищной люцерны желтой на инокуляцию микробными биопрепаратами, проявившаяся в ослаблении нитрогеназной активности корневых клубеньков, может быть связана с невысокой конкурентной способностью селекционных штаммов бактерий. По данным некоторых исследователей (Babich et al., 1996; Butvina et al., 1997), доля образованных селекционными штаммами клубеньков одновременно с их высокой конкурентноспособностью по отношению к природным почвенным популяциям *Rhizobium* должна составлять не менее 50%. При этом указывается, что, например, у люцерны второго года жизни симбиоз с обитающими в почвах природными популяциями *S. meliloti* численностью до 10^4 – 10^6 клеток на 1 г почвы может обеспечивать довольно высокий уровень фиксации азота – до 200–350 кг/га. Результаты наших исследований (Budkevich et al., 2009; 2011) и работ других авторов (Gordienko, 1983; Plennik, 1999) также подтверждают проявление высоких уровней нодуляции и азотфиксирующей активности бобово–ризобиальных систем люцерны желтой дикорастущих популяций в местах их произрастания при инфицировании спонтанными почвенными штаммами *Rhizobium*.

Таблица 4. Характеристика развития корневой системы и симбиотического аппарата интродуцентов *Medicago falcata* корневищного морфотипа при различных способах применения микробных препаратов комплексного действия. * Опыт 2013 г.
Table 4. Characteristics of the development of the root system and symbiotic apparatus in the introduced *Medicago falcata* long-rhizome morphotype using various methods of applying microbial preparations of complex effect, 2013.

Вариант опыта (препарат, способ применения)	Сухая масса корней модельного растения, г				Количество клубеньков на 1 растение, шт.	Масса клубеньков, мг	
	крупные (стержневые)	мелкие (поглощающие, < 1 мм)	всего	% поглощающих корней к общей массе		на 1 рас- тение	на 1 г массы поглоща- ющих корней
Контроль (без обработки)	2,36	0,22	2,58	8,5	49	84,8	331,4
S 3 (предпосевная обработка семян)	4,55	1,05	5,60	17,9	305	354,0	321,0
S 3 (внесение в почву под 2-х недельные всходы)	7,33	0,40	7,73	5,2	34	55,0	160,0
S 5 (предпосевная обработка семян)	3,30	0,21	3,51	6,0	28	39,0	154,0
S5 (внесение в почву под 2-х недельные всходы)	3,86	0,25	4,10	5,9	35	55,8	207,6

*представлены среднеарифметические значения параметров, определенных у 10 модельных растений выборки каждого варианта опыта.

Отсутствие эффективного воздействия исследуемых инокулянтов, разработанных для стимуляции азотфиксирующей способности и продукционных процессов растений *M. sativa*, на симбиотическую азотфиксирующую активность интродуцента люцерны желтой может быть также связано с избирательностью генотипа бобового растения (Amarger, 1981) – в нашем случае длиннокорневищного морфотипа

M. falcata. Следовательно, согласно концепции повышения конкурентоспособности и эффективности действия микросимбионтов (Tikhonovich, 1997), проблема стимуляции азотфиксирующей способности интродуцируемой в культуру дикорастущей люцерны желтой корневищного морфотипа может быть решена как путем получения высоко конкурентных штаммов для инокуляции на основе природных изолятов, так и путем генноинженерных процедур (Denarie et al., 1992), связанных с использованием генов избирательного инфицирования, обладающих Nod-фактором, специфичным по отношению к данному генотипу растений.

Таблица 5. Действие микробных и фитогормональных препаратов на семенную продуктивность интродуцентов *Medicago falcata* корневищного морфотипа

(растения второго года жизни). Опыт 2013 г.

Table 5. The effect of microbial and phytohormone preparations on seed productivity of the introduced *Medicago falcata* long-rhizome morphotype (plants of their second year of life), 2013.

Вариант опыта	Масса бобов на 1 продуктивный побег, г	Масса семян на 1 г бобов, мг	Масса 1000 семян, г
Контроль (без обработок)	0,273	189	1,15
Внекорневая обработка гомобрассинолидом – «Эпин плюс»	0,263	122	1,23*
Внесение в ризосферу микробного биопрепарата S3	0,485*	249*	0,99
Внесение в ризосферу микробного биопрепарата S5	0,484*	213*	0,97
S3 + «Эпин плюс»	0,289	181	0,92
S5 + «Эпин плюс»	0,256	91	0,91

* разница с контролем достоверна при $P_{0.05}$.

В то же время на определенную перспективность применения микробных препаратов S3 и S5 в технологии культивирования семенных посевов длиннокорневищной *M. falcata* указывают результаты их действия на семенную продуктивность интродуцента (табл. 5). Внесение в почву инокулянтов при весеннем отрастании растений второго года жизни выявило высокую эффективность влияния обоих препаратов на процессы плодообразования – масса зрелых бобов в расчете на продуктивный побег возрастала в 1,8 раза, масса семян в расчете на 1 г бобов – на 12–30% по сравнению с контрольными растениями.

Сочетанное применение микробных биопрепаратов и стимулятора роста – фитогормона гомобрассинолида – оказалось неэффективным, что согласуется с результатами, полученными и другими авторами, исследовавшими совместное воздействие синтетических рострегуляторов гормональной природы и биопрепаратов, приготовленных на основе *S. meliloti* (Volkogon et al., 1997; Кос' et al., 2006). Однако необходимо отметить, что в нашем опыте при отсутствии стимулирующего влияния фитогормонального препарата и его применения в сочетании с микробными препаратами на плодообразование интродуцента (показатели осемененности побегов и урожайности бобов варьировали в пределах контрольных значений), вариант с обработкой фотосинтезирующих органов и соцветий гомобрассинолидом достоверно отличался наиболее высокими показателями массы семян (см. табл. 5). Это свидетельствует об эффективности экзогенного воздействия фитогормона только на определенной стадии онтогенеза, в данном случае в связи с потребностью усиления аттрагирующей способности генеративных органов люцерны и транспорта к ним минеральных и пластических веществ для формирования полноценных семян (Voly'nes et al., 1989; Min'ko et al., 1989). Результаты проведенного исследования позволяют заключить, что нивелирование и разнонаправленность стимулирующего воздействия микробных и фитогормональных препаратов при совместном и раздельном их применении на органогенез и метаболизм вводимого в культуру корневищного бобового растения требуют разработки физиологических основ дифференциального использования этих препаратов с учетом особенностей онтогенетического развития растения и функционирования его азотфиксирующего аппарата.

Заключение

Изучение особенностей морфогенеза надземных органов и корневых систем первичных интродуцентов дикорастущей *Medicago falcata* (люцерны серповидной или люцерны желтой)

длиннокорневищно–стержнекорневого морфотипа в полевых опытах по семенному размножению на окультуренной дерново–подзолистой супесчаной почве выявило наследуемость признака корневищности и коррелирующие с ним морфологические характеристики надземных органов – число междоузлий на побегах 1–го порядка и листовой индекс. Установлено, что главные (стержневые) корни интродуцента характеризуются более развитой, чем у культурных растений, проводящей системой; развитие симбиотического аппарата интродуцента происходит по нормальному типу, уровень азотфиксирующей (нитрогеназной) активности корневых клубеньков сопоставим с показателями культурной *M. falcata*.

Исследование эффективности приемов экзогенной регуляции азотфиксирующей и репродуктивной функции вводимой в культуру люцерны желтой длиннокорневищного морфотипа с использованием разработанных для люцерны посевной и успешно применяемых на посевах культурной стержнекорневой люцерны желтой микробных препаратов с активными штаммами *Sinorhizobium meliloti* и фитогормонов, не установило их системного стимулирующего воздействия на азотфиксирующую способность и семенную продуктивность интродуцента. Разработка технологии возделывания продуктивных семенных посевов *M. falcata* корневищного морфотипа должна базироваться на физиологическом обосновании доз и сроков обработки растений фитогормонами с учетом особенностей онтогенетического развития подземной и надземной сферы интродуцента и применении высоко конкурентных штаммов микробных культур, полученных на основе природных изолятов из мест произрастания дикорастущей популяции.

References/Литература

- Amarger N.* Competition for nodule formation between effective and ineffective strains of *Rhizobium meliloti* // Soil Biol. and Biochem. 1981. Vol. 13, N 6. P. 475–480.
- Babich A. O., Petrichenko V. F., Adamen` F. F.* The problem of photosynthesis and biological nitrogen fixation by leguminous plants // Visnik agrarnoj nauki. 1996. N 2. P. 34–39 [in Ukrainian] (*Бабич А. О., Петриченко В. Ф., Адамень Ф. Ф.* Проблема фотосинтезу і біологічної фіксації азоту бобовими рослинами // Вісн. аграр. науки. 1996. № 2. С. 34–39)

- Budkevich T. A., Stepanovich I. M.* The edaphic and phytocenotic assessment of natural meadows of Belarus characterized by a high level of self-maintenance and renewal of leguminous plants in the herbage structure // *Otechestvennaya geobotanika: osnovny'e veki i perspektivy*: Materialy Vserossijskoj nauchnoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem (Sankt-Peterburg, 20–24 sentjabrya 2011 g.). St. Peterburg., 2011. Vol. 2. P. 304–307 [in Russian] (*Будкевич Т. А., Степанович И. М.* Эдафо-фитоценотическая оценка естественных лугов Беларуси с высоким уровнем самоподдержания и возобновления бобовых растений в структуре травостоя // *Отечественная геоботаника: основные вехи и перспективы: Материалы Всероссийской научной конференции с международным участием (Санкт-Петербург, 20–24 сентября 2011 г.)*. СПб., 2011. Т. 2. С. 304–307.)
- Budkevich T. A., Yakushev B. I., Stepanovich I. M.* et all. Research of ecological stability of economically valuable phytocenoses of natural inundated meadows on the territory of Belarus // *Sakharovskie chteniya 2003 goda. E'kologicheskie problemy XXI veka: Materialy mezhdunarodnoj nauchnoj konferencii*. Minsk, 2003. P. 175–176 [in Russian] (*Будкевич Т. А., Якушев Б. И., Степанович И. М.* и др. Исследование экологической устойчивости хозяйственно-ценных травостоев естественных пойменных лугов на территории Беларуси // *Сахаровские чтения 2003 года. Экологические проблемы XXI века : Материалы международной научной конференции*. Минск, 2003. С. 175–176.)
- Budkevich T. A., Zabolotny A. I., Yakushev B. I.* Morphological and physiological characteristics of root systems of some wild-growing types of fam. Fabaceae at seed renewal in culture // *Geneticheskie resursy kul'turnyh rastenij: Materialy mezhdunarodnoj konferencii pamyati E. N. Sinskoj* (9–11 dekabrya 2009, g. Sankt-Peterburg). SPb., 2009. P. 38–42 [in Russian] (*Будкевич Т. А., Заболотный А. И., Якушев Б. И.* Морфофизиологическая характеристика корневых систем некоторых дикорастущих видов сем. Fabaceae при семенном возобновлении в культуре // *Генетические ресурсы культурных растений: Материалы международной конференции памяти Е. Н. Синской (9–11 декабря 2009, г. Санкт-Петербург)*. СПб., 2009. С. 38–42.)
- Budkevich T. A., Zabolotnyj A. I., Pikun P. T., Pikun M. F., Korotkov M. M.* Ecological and physiological characteristics of some potential for introduction into culture the rhizome morphotypes of wild-growing bean plants // *Botanika (issledovaniya): Sbornik nauchny'kh trudov*. Minsk: Pravo i e'konomika, 2011. P. 356–372 [in Russian] (*Будкевич Т. А.,*

- Заболотный А. И., Пикун П. Т., Пикун М. Ф., Коротков М. М. Эколого-физиологическая характеристика некоторых перспективных для введения в культуру корневищных морфотипов дикорастущих бобовых растений // Ботаника (исследования): Сборник научных трудов. Минск: Право и экономика, 2011. С. 356–372.)
- Butvina O. Yu., Tolkachev N. Z., Knyazev A. V. Highly competitive *Rhizobium* strains as a basis of biological product efficiency // *Mikrobiologicheskij zhurnal*. 1997. Vol. 59. N 4. P. 123–131 [in Russian] (Бутвина О. Ю., Толкачев Н. З., Князев А. В. Высококонкурентные штаммы клубеньковых бактерий – основа эффективности биопрепаратов // *Микробиологический журнал*. 1997. Т. 59. № 4. С. 123–131.)
- Denarie J., Debelle F., Rosenberg C. Signalling and host range variation in nodulation // *Annu. Rev. Microbiol.* 1992. 46. P. 497–531.
- Dzyubenko N. I., Dzyubenko E. A. Populations structure of lucerne according to the length floscules // *Nauchno–texnicheskij byulleten' VIR*. 1991. Iss. 211. P. 49–53 [in Russian] (Дзюбенко Н. И., Дзюбенко Е. А. Состав популяций по длине соцветий у люцерны // *Научно–техн. бюлл. ВИР*. 1991. Вып. 211. С. 49–53.)
- Gordienko N. Ya. The structure and peculiarities of the root nodules development at natural infection of wild-growing leguminous plants in South-East Altai // *Avtoref. diss. ... kand. biol. nauk*. Alma-Ata, 1983. [in Russian] (Гордиенко Н. Я. Строение и особенности развития корневых клубеньков при естественном инфицировании дикорастущих бобовых растений Юго-Восточного Алтая // *Автореф. дисс. ... канд. биол. наук*. Алма-Ата, 1983.
- Grigor'eva N. M. Yellow lucerne (*Medicago falcata* L.) // *Diagnozy' i kljuchi vozrastnyx sostojanij lugovyx rastenij*. Part 2. Moscow, 1983. P. 55–61 [in Russian] (Григорьева Н. М. Люцерна серповидная (*Medicago falcata* L.) // *Диагнозы и ключи возрастных состояний луговых растений*. Ч. 2. М., 1983. С. 55–61.)
- Hardy R. W. F., Burns R. S., Hebert et al. Biological nitrogen fixation: a key to world protein // *Plant and Soil. Special vol. "Biol. Nitr. Fix. in Natural and Agric. Habit"*. 1971. Part 2. P. 561–590.
- Khripach V., Zhabinskii V., De Grot A. Twenty years of brassinosteroids: Steroidal Plant Hormones Warrant better crops for the XXI century // *Annals of Botany*. 2000. N 86. P. 441–447.)
- Koc' S. Ya. The influence of different doses of mineral nitrogen and *Rhizobium meliloti* strains on the synthesis of free amino acids in lucerne overground mass // *Fiziologija i biohimija kul'turnyx rastenij*. 1999. Vol. 31. N 2. P. 150–156 [in Ukrainian] (Коць С. Я. Вплив різних доз

- мінерального азоту та штамів *Rhizobium meliloti* на синтез вільних амінокислот у надземній масі люцерны // Физиология и биохимия культурных растений. 1999. Т. 31, № 2. С. 150–156.)
- Кос` S. Ya., Grigoryuk I. A., Mikhalkov L. M. et all. The influence of natural and synthetic growth regulators on the nitrogen activity and the photosynthesis intensity in lucerne under different water supply // Agrokhimiya. 2006. N 5. P. 41–48 [in Russian] (Коць С. Я., Григорюк И. А., Михалков Л. М. и др. Влияние природных и синтетических регуляторов роста на азотфиксирующую активность и интенсивность фотосинтеза люцерны при разном водообеспечении // Агрохимия. 2006. № 5. С. 41–48.) Kul'tiasov I. M., Grigor'eva N. M. Genus Lucerne – Medicago L. / Biologicheskaya flora Moskovskoj oblasti. Iss. 4. M.: Izd-vo Mosk. un-ta, 1978. P. 96–112 [in Russian] (Культиасов И. М., Григорьева Н. М. Род Люцерны – Medicago L. / Биологическая флора Московской области. Вып. 4. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1978. С. 96–112.)
- Laman N. A., Prohorov V. N., Rosolenko S. I. et all. Morphological and physiological peculiarities of the formation of the east galega (*Galega orientalis* Lam.) underground metameasured complex // Botanika (issledovaniya): Sbornik nauchnyx trudov. Minsk: Pravo i e'konomika, 2010. Iss. 39. P. 349–361 [in Russian] (Ламан Н. А., Прохоров В. Н., Росоленко С. И. и др. Морфо-физиологические особенности формирования подземного метамерного комплекса галеги восточной (*Galega orientalis* Lam.) // Ботаника (исследования): Сборник научных трудов. Минск: Право и экономика, 2010. Вып. 39. С. 349–361.)
- Mikhajlovskaya I. S. Ontogenetic anatomo-morphological changes in the underground organs of *Medicago falcate* L. // Transactions of the Moscou society of naturalists // Biological series, Section of botany M.: Nauka, 1972. Vol. LXXVII (1). P. 88–101. [in Russian] (Михайловская И. С. Возрастные анатомо-морфологические изменения подземных органов желтой люцерны (*Medicago falcate* L.) // Бюлл. МОИП. Отд. биол., секц. бот. 1972. Т. LXXVII (1) VI. С. 88–101.)
- Mikhajlovskaya I. S. Anatomic peculiarities of rhizome of some perennial herbs // Life forms: structure, spectra and evolution. // Transactions of the Moscou society of naturalists // Biological series, Section of botany M.: Nauka, 1981. Vol LVI. P. 141–160 [in Russian] (Михайловская И. С. Анатомические особенности корневищ некоторых многолетних трав // Жизненные формы: структура, спектры, эволюция // Бюлл. МОИП. Отд. биол., секц. бот. 1981. Т. LVI. С. 141–160.)

- Min'ko I. F., Budkevich T. A., Kaurov I. A.* Mineral nutrition and root system functional activity // In book: *Fiziologiya plodoobrazovaniya lyucerny*. Minsk, 1989. P. 51–70 [in Russian] (*Минько И. Ф., Будкевич Т. А., Кауров И. А.* Минеральное питание и функциональная активность корневой системы // В кн.: *Физиология плодобразования люцерны*. Минск, 1989. С. 51–70.)
- Novoselova L. V.* Genetic resources and reproductive biology of annual species of the genus *Medicago* L., Fabaceae // *Geneticheskie resursy kul'turny'kh rastenij: Materialy mezhdunarodnoj nauchnoj konferencii pamyati E. N. Sinskoj* (9–11 dekabrya 2009, Sankt–Peterburg). St. Peterburg, 2009. P. 352–355 [in Russian] (*Новоселова Л. В.* Генетические ресурсы и репродуктивная биология однолетних видов рода *Medicago* L., Fabaceae // *Генетические ресурсы культурных растений: Материалы международной конференции памяти Е. Н. Синской* (9–11 декабря 2009, Санкт–Петербург). СПб., 1992. С. 352–355.)
- Paty'ka V. F., Tolkachev N. Z., Butvina O. Yu.* The main directions of the symbiotic nitrogen fixing optimization in modern agriculture of Ukraine // *Fiziologiya i biokhimiya kul'turny'kh rastenij*. 2005. Vol. 37. N 5. P. 384–393 [in Russian] (*Патыка В. Ф., Толкачев Н. З., Бутвина О. Ю.* Основные направления оптимизации симбиотической азотфиксации в современном земледелии Украины // *Физиол. и биохим. культ. раст.* 2005. Т. 37. № 5. С. 384–393.)
- Plennik R. Ja.* The role of the legumes in plant communities in Mountainous Altai // *Sibirskij e'kologicheskij zhurnal*. 1999. N 3. P. 515–522 [in Russian] (*Пленник Р. Я.* Роль бобовых в растительных сообществах Горного Алтая // *Сибирский экологический журнал*. 1999. № 3. С. 515–522)
- Semenov A. L., Vlasova K. S.* Selection and seed growing of perennial grasses in Belarus. Minsk: Uradzhaj, 1985. 152 p. [in Russian] (*Семенов А. Л., Власова К. С.* Селекция и семеноводство многолетних трав в Белоруссии. Минск: Ураджай, 1985. 152 с.)
- Shamsutdinov Z. Sh., Piskovackij Ju. M., Kozlov N. N.* et all. Ecotypical selection of fodder plants. Moskow, 1999. 87 p. [in Russian] (*Шамсутдинов З. Ш., Писковацкий Ю. М., Козлов Н. Н.* и др. Экотипическая селекция кормовых растений. М., 1999. 87 с.)
- Sinskaya E. N.* Ecotypes studies in the light of higher plants phylogeny // *Uspexi sovremennoj biologii*. Leningrad, 1938. Vol. 9. Iss. 1. P. 1–15 [in Russian] (*Синская Е. Н.* Учение об экотипах в свете филогенеза высших растений // *Успехи современной биологии*. Л., 1938. Т. 9. Вып. 1. С. 1–15.)

- Tarshis G. I.* Underground organs of perennial herbaceous plants. Sverdlovsk: Izd-vo SGPI, 1975. 135 p. [in Russian] (*Таршис Г. И.* Подземные органы многолетних травянистых растений. Свердловск: Изд-во СГПИ, 1975. 135 с.)
- Tarshis L. G.* Structural variety of higher plants underground organs. Ekaterinburg: UrO RAN, 2003. 196 p. [in Russian] (*Таршис Л. Г.* Структурное разнообразие подземных органов высших растений. Екатеринбург: УрО РАН, 2003. 196 с.)
- Tikhonovich I. A.* Increase in the efficiency of legumes symbiotic nitrogen fixation // *Mikrobiologicheskij zhurnal*. 1997. Vol. 59. N 4. P. 14–22 [in Russian] (*Тихонович И. А.* Повышение эффективности симбиотической азотфиксации у бобовых // *Микробиологический журнал*. 1997. Т. 59. № 4. С. 14–22.)
- Volkogon V. V., Kovtun E. P., Dedov A. V.* et all. The influence of synthetic growth stimulators on the nitrogen fixation activity in *Medicago sativa* L. root zone // *Mikrobiologicheskij zhurnal*. 1997. Vol. 59. N 1. P. 47–53 [in Russian] (*Волкогон В. В., Ковтун Е. П., Дедов А. В.* и др. Влияние синтетических стимуляторов роста растений на активность азотфиксации в корневой зоне люцерны посевной // *Микробиологический журнал*. 1997. Т. 59. № 1. С. 47–53.)
- Voly'nec A. P., Pshenichnaja L. A.* Endogenous growth regulators // In book: *Fiziologiya plodoobrazovaniya lyucerny*. Minsk, 1989. P. 134–164 [in Russian] (*Вольнец А. П., Пшеничная Л. А.* Эндогенные регуляторы роста // В кн.: *Физиология плодообразования люцерны*. Минск, 1989. С. 134–164.)
- Zabolotnyj A. I.* Nitrogen metabolism in lupine plants during the reproductive period of ontogenesis: in norm and at exogenous influence. Diss. ... dok. biol. nauk. Minsk, 2003. 285 p. [in Russian] (*Заболотный А. И.* Азотный обмен в растениях люпина в репродуктивный период онтогенеза: в норме и при экзогенном воздействии. Дисс. ... док. биол. наук. Минск, 2003. 285 с.)
- Zhukova L. A.* Polyvariance of meadow plants ontogenesis // *Zhiznenny'e formy' v e'kologii i sistematike rastenij*. Moskow, 1986. P. 104–112 [in Russian] (*Жукова Л. А.* Поливариантность онтогенеза луговых растений // *Жизненные формы в экологии и систематике растений*. М., 1986. С. 104–112.)