

<https://doi.org/10.15407/frg2025.05.443>

УДК 633.31:631.461.5:631.53.011.2

ВПЛИВ МОНО- ТА КОМПЛЕКСНИХ ІНОКУЛЯНТІВ НА МОРФОМЕТРИЧНІ ПАРАМЕТРИ ПРОРОСТКІВ І ПОСІВНІ ЯКОСТІ НАСІННЯ КОНЮШИНИ ЛУЧНОЇ

О.Є. КОМІНАРЕЦЬ, Н.А. ВОРОБЕЙ, О.В. КАРАУШУ

Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17
e-mail: anqueitas@ukr.net

Досліджено показники енергії проростання, лабораторної схожості насіння та морфометричні параметри проростків конюшини лучної (*Trifolium pratense* L.), сортів Тіна й Анітра за моноінокуляції та інокуляції бінарними композиціями на основі симбіотичних і асоціативних мікроорганізмів. Отримані результати демонструють більший рістстимулювальний вплив композицій мікроорганізмів *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *Pseudomonas fluorescens* 33 та *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *Pseudomonas fluorescens* 267, а також *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *Rhizobium galegae* 0702 на досліджувані показники в обох сортів конюшини, ніж окремо застосовані інокулянти на основі *P. fluorescens* 267, *P. fluorescens* 33 або *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a. Окрім цього підвищення енергії проростання насіння *T. pratense* сорту Тіна на 14,8 % та його лабораторної схожості на 6,1 % встановлено за інокуляції комплексом *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *Azotobacter chroococcum* 79 порівняно з абсолютним контролем. Водночас максимальні збільшення цих показників, а також довжини й маси проростків у сорту Анітра, відповідно на 21,8 та 13,6 %, відзначено за умов бактеризації насіння ризобіями конюшини спільно з *R. galegae* 0702. Серед залучених у роботу моноінокулянтів інтенсивніше проростання насіння та підвищення морфометричних параметрів сформованих проростків сорту Анітра порівняно з контрольними спостерігалось за обробки насіння *P. fluorescens* 267. Отримані результати можуть бути використані для розробки елементів технології вирощування конюшини лучної за інокуляції біопрепаратами на основі симбіотичних і асоціативних мікроорганізмів.

Ключові слова: *Trifolium pratense* L., конюшина лучна, ризобії, *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*, *Azotobacter chroococcum*, *Pseudomonas fluorescens*, проростки, схожість, енергія проростання.

Унікальна здатність бобових культур із родини Fabaceae до ефективного засвоєння атмосферного азоту в симбіозі з бульбочковими бактеріями забезпечує їм значущу перевагу у формуванні білкового ресурсу для людства та виробництві агропромислових продуктів харчування [1]. Асимільований біологічний азот, екологічно безпечний та економічно вигідний спосіб підвищення врожайності цінних для

Цитування: Комінарець О.Є., Воробей Н.А., Карауш О.В. Вплив моно- та комплексних інокулянтів на морфометричні параметри проростків і посівні якості насіння конюшини лучної. *Фізіологія рослин і генетика*. 2025. 57, № 5. С. 443—454. <https://doi.org/10.15407/frg2025.05.443>

сільського господарства рослин [2], уможливорює істотне зменшення використання хімічних добрив і покращення родючості ґрунтів [3, 4]. Водночас надмірне використання мінеральних добрив у процесі інтенсивного землеробства становить загрозу для природних екосистем і здоров'я людини й призводить до деградації ґрунтів. Трансфер в агросистеми альтернативних біологічних добрив (на твердих або рідких носіях), що містять живі мікроорганізми, зможе частково замінити або доповнювати мінеральні добрива та забезпечити збільшення урожайності рослин [5].

Бульбочкові бактерії — це група різноманітних мікроорганізмів, що переважно належать до альфа- та бета-протеобактерій. Основні представники: мікроорганізми родів *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Ensifer* (попередня назва *Sinorhizobium*), *Mesorhizobium* тощо. Кожен рід включає кілька видів і штамів, які мають власну специфіку формування симбіотичних відносин із різними рослинами-хазяями [6, 7]. У результаті симбіотичних взаємовідносин між бульбочковими бактеріями та бобовими рослинами на коренях рослин формуються нові диференційовані органи — бульбочки, в яких відбувається фіксація атмосферного N_2 за допомогою ферменту нітрогенази.

На сьогодні застосування якісних інокулянтів із високим вмістом активних азотфіксувальних бактерій для передпосівної обробки насіння бобових культур є доцільним ефективним заходом, який дає змогу повною мірою реалізувати генетичний та симбіотичний потенціал сучасних сортів і гібридів сільськогосподарських культур та забезпечити найвищі врожаї за найкращої окупності інвестицій [2, 8]. Крім цього, натеper у виробничих умовах все частіше використовують змішані інокулянти для стимулювання росту бобових рослин поєднанням механізмів дії різних мікроорганізмів — ризобій та PGPR (plant growth-promoting rhizobacteria).

Ризобактерії — ґрунтові мікроорганізми, які активно заселяють ризосферу, колонізують кореневу систему та проявляють рістстимулювальні властивості, сприяючи підвищенню урожайності рослин [9]. До відомих представників PGPR належать такі роди, як *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Streptomyces* та ін. [10–12]. Ґрунтові бактерії можуть формувати консорціями, які зазвичай складаються із двох або більше сумісних мікроорганізмів різних видів, що функціонують у синергічній або в адитивній взаємодії [11–12].

Спільне застосування представників роду *Rhizobium* і ризосферних бактерій посилює хімічний сигналінг, покращує живлення рослин порівняно із впливом окремих мікроорганізмів [13, 14], сприяє формуванню більшої кількості бульбочок тощо [5, 15]. Із літературних джерел відомо про позитивний вплив бактеріальних композицій на інтенсивність азотфіксації [16], активність фітогормонів [14] у сої та гороху. Спільна інокуляція PGPR-бактеріями та *Rhizobium* проявляла синергетичний вплив на схожість і розвиток проростків білої квасолі та ріст бобів [17], а також підвищувала ефективність ризобіальних біодобрив при вирощуванні квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris* L.) [18].

Позитивні результати застосування композицій на основі симбіотичних та асоціативних ґрунтових бактерій закладають підвалини розробки нового покоління інокулянтів для сталого виробництва сільськогосподарських культур і мають великий потенціал для широкого використання у фермерських господарствах [19–22].

Наразі є гостра потреба використання у сівозмінах культур, які б не тільки забезпечували ремедіацію ґрунтів, а й відновлювали корисну ґрунтову мікрофлору, здатну біологічним шляхом поповнити ризосферу азотними сполуками, ферментами, амінокислотами, а також мінімізували б ризики негативного впливу синтетичних добрив на довкілля. Серед багаторічних бобових трав, що належать до родини Fabaceae, конюшина (*Trifolium*), завдяки біологічній фіксації азоту, сприяє відновленню родючості ґрунтів, ефективному використанню фосфорних і калійних добрив та зменшенню впливу на довкілля неорганічного азоту (N), відіграє значну роль у виробництві високобілкових кормів [4, 23]. Проте спільний вплив бульбочкових бактерій *R. leguminosarum* bv. *trifolii* (високоспецифічних симбіонтів для *T. pratense*) і асоціативних азотфіксувальних мікроорганізмів на ріст і розвиток конюшини малодосліджений, а публікації за даною тематикою носять поодинокий характер.

Тому метою нашої роботи було визначення впливу моно- та комплексної інокуляції бульбочковими та PGPR-бактеріями на посівні якості насіння (енергію проростання та його лабораторну схожість) і морфометричні параметри проростків конюшини, що дасть можливість в подальшому підібрати композиції симбіотичних і асоціативних мікроорганізмів як ефекторів рістстимулювальних процесів у рослинах із метою підвищення їх продуктивності.

Методика

Об'єктом дослідження було насіння конюшини лучної (*Trifolium pratense*) сортів Тіна (Tina) та Анітра (Anitra) (табл. 1).

Насіння конюшини інокулювали однокомпонентними й бінарними мікробними препаратами, виготовленими на основі азотфіксувальних та асоціативних бактерій із музейної колекції азотфіксувальних мікроорганізмів Інституту фізіології рослин і генетики НАН України (ІФРГ НАН України). Використані бульбочкові бактерії конюшини — *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a (виробничий штам), специфічні до козлятнику бульбочкові бактерії *R. galegae* (*Neurhizobium galegae*) 0702 і MC-1, а також асоціативні мікроорганізми — *A. chroococcum* T79, *P. fluorescens* 33, *P. fluorescens* 267.

ТАБЛИЦЯ 1. Характеристика сортів конюшини лучної (*T. pratense*), залучених у дослідження [24]

Сорт	Оригігатор	Рік реєстрації, номер заявки	Рекомендована зона для вирощування	Група стиглості
Тіна (Tina)	Інститут кормів та сільського господарства Поділля НААН України	2017 № : ®13155002	Лісостеп, Полісся	середньостиглий,
Анітра (Anitra)		1999, № : ®13155002		середньоранній

Бактерії вирощували за температури $+28\text{ }^{\circ}\text{C}$ упродовж п'яти діб на мінеральних агаризованих середовищах: *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a, *R. galegae* 0702 та *R. galegae* MC-1 на МДА (манітно-дріжджовий агар) (г/л: K_2HPO_4 — 0,5; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,4; NaCl — 0,1; маніт — 10,0; дріжджовий екстракт — 0,5; агар — 15,0—17,0; дистильована вода, pH 6,8—7,2, стерилізація при 1 бар 30 хв, pH 6,8—7,2). *Azotobacter chroococcum* 79 культивували на середовищі Ешбі (г/л: KH_2PO_4 — 0,2, $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,2, K_2SO_4 — 0,1, NaCl — 0,2, CaCO_3 — 5,0, цукроза — 20,0, агар-агар — 20,0. Стерилізація при $116,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (за 0,75 бар в автоклаві) 10 хв, pH — 7,3—7,6). *Pseudomonas fluorescens* 33 та 267 — на середовищі LPJ (г/л: 0,5 % бакпептон — 5 г, 0,3 % екстракт дріжджів — 3 г, 0,5 % глюкоза — 5 г, агар — 16 г, pH — 7,0, стерилізація за 0,5 бар, 20 хв).

Біомасу бактерій змивали з поверхні агаризованих середовищ, суспендували, змив переносили в колби з рідким середовищем відповідно МДА або LPJ та культивували упродовж чотирьох діб за температури $+28\text{ }^{\circ}\text{C}$ при постійній аерації. Аліквоти суспензій культур мікроорганізмів відбирали, вирівнювали спершу візуально за густиною, додаючи за необхідності стерильну воду. Остаточну густину суспензій, яка становила в межах від 0,478 до 0,573 одиниць, визначали на спектрофотометрі Shimadzu UV-1900 (Японія) за довжини хвилі 600 нм.

Енергію проростання та лабораторну схожість насіння конюшини визначали методом пророщування у вологій камері в чашках Петрі на фільтрувальному папері, згідно з ДСТУ 4138-2002 [25]. Насіння конюшини сортів Анітра та Тіна стерилізували 2 хв H_2SO_4 (концентрована), багаторазово промивали стерильною водопровідною водою та інокулювали упродовж 60 хв моноінокулянтами та бінарними композиціями мікроорганізмів (у співвідношенні 1 : 1) відповідно до схеми дослідження. Насіння (по 25 насінин на чашку) розміщували в чашках Петрі на фільтрувальному папері просоченому 5 мл дистильованої води. Чашки з насінням інкубували за температури $+22\text{ }^{\circ}\text{C}$ і відносній вологості 65 %. Повторність у варіантах чотириразова. Контроль — насіння, зволожені стерильною водопровідною водою (абсолютний контроль).

Обліки здійснювали на четверту та сьому доби. Кількість нормально пророслих насінин упродовж певного терміну (зазвичай 3—5 діб) за оптимальних умов, наприклад, за температури $20\text{--}22\text{ }^{\circ}\text{C}$, виражена у відсотках, характеризує енергію проростання, а на сьому добу — його схожість [25]. Вимірювали також довжину й масу проростків конюшини.

Посівний матеріал з високою енергією проростання в подальшому забезпечує рівномірну появу сходів, які менше пригнічуються бур'янами та стійкіші до несприятливих умов довкілля. Лабораторна схожість визначає посівні якості насіння та є основною характеристикою його загальної життєздатності.

Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали за загальноприйнятими методиками із залученням програми Microsoft Excel 2019. Застосовували однофакторний дисперсійний аналіз (відмінності між середніми значеннями обчислювали за критерієм Стью-

дента, їх вважали вірогідними за $p < 0,05$). У таблицях наведено середньоарифметичні дані та їх стандартні похибки.

Результати та обговорення

Початкові етапи онтогенезу є основою для подальшого розвитку рослин і формування високого врожаю. Інформативними показниками, які характеризують початковий етап росту насіння, а також його посівні якості, є енергія проростання, лабораторна схожість, сила росту, дружність та швидкість проростання [26, 27]. Проростання насіння — одна з найперших фенотипних ознак, які проявляються рослинами.

Відповідно до поставленої мети у процесі дослідження необхідно було підібрати ефективні композиції азотфіксувальних мікроорганізмів за стимуляцією енергії проростання та впливом на довжину й масу проростків конюшини. Виявлено, що за інокуляції насіння конюшини сорту Тіна однокомпонентними препаратами та бінарними композиціями мікроорганізмів енергія проростання насіння збільшилась на 11,3—14,8 %, лабораторна схожість на 2,5—6,1, маса проростків на 2,5—7,5, довжина проростків на 1,4—3,3 % порівняно до абсолютного контролю (табл. 2).

Серед інших застосованих інокулянтів найбільший рістстимулювальний вплив на проростання насіння сорту Тіна виявлено при застосуванні композиції *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *A. chroococcum* 79, що збільшило кількість пророслих на четверту добу насінин на 14,8 %, лабораторну схожість — на 6,1, довжину проростків та їхню масу на 1,4 та 3,8 % відповідно. Водночас за умов застосування для обробки насіння композиції *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *P. fluorescens* 33 енергія проростання зросла на 14,3 %, лабораторна схожість — на 5,0, довжина проростків на 3,3, маса проростків на 3,8 % порівняно з показниками насіння у контрольному варіанті.

ТАБЛИЦЯ 2. Енергія проростання, лабораторна схожість, довжина і маса проростків конюшини сорту Тіна за обробки моноінокулянтами та бінарними композиціями культур бульбочкових бактерій і ризосферних мікроорганізмів

Варіант	Енергія проростання, %	Лабораторна схожість насіння, %	Довжина проростка, см	Маса проростка, мг
Контроль (без інокуляції)	80,4±1,9	90,4±1,2	4,84±0,09	20,48±0,46
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i> 348a	91,5±1,3	93,8±2,1	4,84±0,07	21,02±0,49
<i>A. chroococcum</i> 79	91,1±1,1	92,7±2,2	4,82±0,07	21,60±0,43
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i> 348a + <i>A. chroococcum</i> 79	92,3±1,0	95,9±2,4	4,91±0,08	21,26±0,48
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i> 348a + <i>P. fluorescens</i> 33	91,9±1,0	94,9±0,9	5,00±0,10	22,02±0,36
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i> 348a + <i>R. galegae</i> 0702	89,5±1,6	94,0±2,1	4,90±0,06	21,20±0,46
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i> 348a + <i>R. galegae</i> MC-1	91,4±1,2	93,7±1,4	4,95±0,09	22,03±0,48

За інокуляції насіння сорту Тіна композиціями на основі бульбочкових бактерій конюшини та козлятнику (*R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *R. galegae* MC1 або *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *R. galegae* 0702) всі досліджувані показники були дещо вищими, ніж у контролі. За інокуляції насіння *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *R. galegae* 0702 енергія проростання збільшилась на 11,3 %, лабораторна схожість — на 4,0, довжина проростків — на 1,2 а їхня маса — на 3,5 %. За інокуляції *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *R. galegae* MC1 досліджувані показники зросли відповідно на 13,7 % (енергія проростання), 3,6 (лабораторна схожість), 2,3 (довжина проростка) та на 7,6 % (маса проростка) порівняно з показниками насіння у контрольному варіанті. Разом з тим, порівняно до показників насіння, інокульованого виробничим штамом 348a, обробка насіння композиціями мікроорганізмів привела до збільшення енергії проростання лише на 1,1–2,3 %, лабораторної схожості насіння — на 1,2–2,2, довжини проростків — на 1,4–3,3, маси проростків — на 2,8–4,8 % (див. табл. 2).

Отже, на підставі отриманих результатів зроблено висновок про позитивний вплив композицій мікроорганізмів на якісні показники насіння конюшини сорту Тіна. До цього варто додати, що інокуляція насіння конюшини композиціями на основі *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a і асоціативних мікроорганізмів *P. fluorescens* 33 або *A. chroococcum* 79 за більшістю досліджуваних показників мала переваги над застосуванням композицій на основі *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *R. galegae* MC-1 або *R. galegae* 0702 (табл. 3).

У наступних експериментах проведено оцінювання впливу асоціативних мікроорганізмів *P. fluorescens* 33 та *P. fluorescens* 267 та їхніх композицій з *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a на посівні якості та морфометричні параметри проростків за обробки насіння конюшини сорту Анітра (табл. 4). За інокуляції моносуспензіями та бінарними суспензіями мікроорганізмів енергія проростання насіння зросла на 6,9–22,2 %, лабораторна схожість — на 18,5–43,2 (як виняток — на 0,9 % за використання *P. fluorescens* 33), довжина проростків — на 5,9–38,5, їхня маса — на 3,6–13,2 % порівняно до показників насіння контрольного варіанта.

Інокуляція насіння однокомпонентними препаратами на основі асоціативних мікроорганізмів *P. fluorescens* 33 або *P. fluorescens* 267 за-

ТАБЛИЦЯ 3. Збільшення показників якості насіння конюшини сорту Тіна за інокуляції композиціями мікроорганізмів (% до контролю)

Варіант	Енергія проростання	Лабораторна схожість	Довжина проростка	Маса проростка
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i> 348a + <i>A. chroococcum</i> 79	14,8	6,08	1,4	3,8
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i> 348a + <i>P. fluorescens</i> 33	14,3	4,98	3,3	3,8
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i> 348a + <i>R. galegae</i> 0702	11,3	3,98	1,23	3,51
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i> 348a + <i>R. galegae</i> MC-1	13,68	3,65	2,27	7,56

ВПЛИВ МОНО- ТА КОМПЛЕКСНИХ ІНОКУЛЯНТІВ

ТАБЛИЦЯ 4. Енергія проростання, лабораторна схожість насіння та довжина і маса проростків конюшини сорту Анітра за обробки моноінокулянтами та бінарними композиціями на основі культур бульбочкових бактерій і ризосферних мікроорганізмів

Варіант	Енергія проростання, %	Лабораторна схожість, %	Довжина проростка, см	Маса проростка, мг
Контроль (без інокуляції)	33,29±1,59	53,5±1,2	2,21±0,10	13,42±0,33
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i> 348a	35,59±0,69	66,7±2,1	2,38±0,15	13,90±0,51
<i>P. fluorescens</i> 267	39,07±0,43	63,4±2,3	2,34±0,18	13,54±0,56
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i> 348a + <i>P. fluorescens</i> 267	40,56±2,09	72,3±3,0	2,65±0,19	14,30±0,51
<i>P. fluorescens</i> 33	38,55±0,73	54,0±1,2	2,37±0,13	13,64±0,37
<i>R.leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i> 348a + <i>P. fluorescens</i> 33	40,69±1,87	76,6±2,2	2,70±0,17	15,19±0,52

безпечила збільшення енергії проростання насіння відповідно на 15,8 і 17,4 % порівняно до контролю та на 8,3 і 9,8 % порівняно до показника насіння, інокульованого виробничим штамом *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a. Інокуляція насіння конюшини сорту Анітра композиціями мікроорганізмів виявилась ефективнішою. До прикладу, за використання *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *P. fluorescens* 267 або *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *P. fluorescens* 33 енергія проростання насіння збільшилась відповідно на 21,8 і 22,2 % порівняно до контролю, а також на 14,0 і 14,3 % порівняно з відповідним показником насіння конюшини за моноінокуляції штамом 348a (див. табл. 4). Позитивний вплив цих композицій за використання різних штамів *P. fluorescens* проявився переважно на одному рівні, що може свідчити про подібність механізмів дії різних штамів асоціативних бактерій *P. fluorescens* на метаболічні процеси у насінні в ранній ювенільний період розвитку конюшини. Зауважимо, що за моноінокуляції насіння сорту Анітра бульбочковими бактеріями *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a енергія проростання зросла лише на 6,9 % порівняно до контролю.

Приріст маси проростків був неістотним за моноінокуляції насіння *P. fluorescens* 33 (+1,6 %) та *P. fluorescens* 267 (+ 0,9 %), а довжина проростків конюшини сорту Анітра зросла відповідно на 7,2 і 5,9 % порівняно до контролю (див. табл. 4). Проте за обробки насіння композицією *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *P. fluorescens* 267 приріст маси проростків становив 6,5 і 2,9 %, а за обробки *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *P. fluorescens* 33 — 13,2 і 9,3 % порівняно відповідно до показника насіння у контролі та за інокуляції *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a. При застосуванні композицій мікроорганізмів довжина проростків зросла на 19,9 і 11,3 % (*R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *P. fluorescens* 267), а також на 22,2 і 13,4 % (за використання *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *P. fluorescens* 33) порівняно відповідно до показників контролю та насіння інокульованого *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a.

Отже, в результаті проведених досліджень видно більший ріст-стимулювальний вплив композицій мікроорганізмів *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *P. fluorescens* 33 та *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *P. fluorescens* 267 на енергію проростання, лабораторну схожість насіння та морфометричні параметри проростків у сорту Анітра, ніж при застосуванні моноінокулянтів на основі *P. fluorescens* 267, *P. fluorescens* 33 або *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a.

У серії наступних дослідів із визначення впливу інокуляції препаратами на основі одного штаму та бінарними композиціями мікроорганізмів на проростання насіння конюшини сорту Анітра, отримано показники, які підтверджують попередні позитивні результати навіть за умов використання посівного матеріалу, що зберігався триваліший термін.

Аналогічно до попередніх результатів значно менший приріст досліджуваних показників порівняно з контролем зафіксований за моноінокуляції насіння *P. fluorescens* 33 та застосування штаму *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a (табл. 5).

За інокуляції насіння конюшини сорту Анітра композицією *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *P. fluorescens* 33 збільшились усі досліджувані показники: енергія проростання на 15,3 і 6,6 %, лабораторна схожість на 12,4 і 7,1 %, довжина проростків на 22,4 і 1,2 %, маса проростків на 17,6 і 5,1 % відповідно порівняно з насінням контрольного варіанта та з інокуляцією штамом 348a (див. табл. 5).

Композиція азотфіксувальних мікроорганізмів *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *R. galegae* 0702 позитивно вплинула на проростання насіння сорту Анітра, у результаті зросла кількість насінин, які проросли на четверту добу експерименту, на 48,2 і 37,0 %, лабораторна схожість — на 28,2 і 22,1 % відповідно порівняно з контролем та моноінокуляцією штамом 348a (див. табл. 5). За інокуляції композиціями мікроорганізмів довжина проростків зросла на 21,8 % (*R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *R. galegae* 0702). За моноінокуляції *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a — на 20,9 %, *R. galegae* 0702 — на 12,5,

ТАБЛИЦЯ 5. Енергія проростання, лабораторна схожість насіння та довжина і маса проростків конюшини сорту Анітра за обробки моноінокулянтами та бінарними композиціями на основі культур бульбочкових бактерій і ризосферних мікроорганізмів (середньостатистичні значення у низці дослідів)

Варіант	Енергія проростання, %	Лабораторна схожість, %	Довжина проростка, см	Маса проростка, мг
Контроль (без інокуляції) (абсолютний контроль)	35,91±2,46	48,2±3,2	3,35±0,20	15,51±0,60
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i> 348a	38,85±0,58	50,6±2,4	4,05±0,34	17,37±1,02
<i>P. fluorescens</i> 33	39,77±2,88	44,2±3,1	3,40±0,30	17,16±1,00
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i> 348a + <i>P. fluorescens</i> 33	41,42±1,80	54,2±2,8	4,10±0,18	18,25±0,80
<i>R. galegae</i> 0702	38,89±3,01	46,4±3,4	3,77±0,23	16,70±0,73
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i> 348a + <i>R. galegae</i> 0702	53,21±1,66	61,8±4,2	4,08±0,22	17,62±0,75

P. fluorescens 33 — на 1,5 % порівняно до контролю. За даних умов застосування композиції мікроорганізмів *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *P. fluorescens* 33 збільшило енергію проростання на 15,3 і 6,6 %, лабораторну схожість — на 12,4 і 7,1 %, довжину — на 22,4 і 1,2 % та масу проростків на 17,7 і 5,1 % відповідно порівняно з контролем і застосуванням моноінокуляції штамом 348a.

Відомо, що насіння конюшини, як і багатьох інших культур, має обмежений термін зберігання, після якого схожість знижується. На схожість насіння впливає багато чинників, зокрема, умови зберігання (температура, вологість), його початкова якість, а також вид конюшини. Окрім цього, у конюшини лучної є тверде насіння, яке може не проростати, що додатково впливає на загальну схожість. Із літературних джерел відомо, що насіння цієї культури, як правило, починає втрачати схожість через 2—3 роки зберігання. Зазвичай, після понад двох років зберігання насіння втрачає до 50 % і більше схожості. З огляду на це занижені показники якості насіння сорту Анітра вірогідно пояснюються тривалим зберіганням (3 роки) насіннєвого матеріалу. Проте отримані нами результати вказують на подібні закономірності й позитивний вплив на досліджувані показники застосованих композицій азотфіксуючих мікроорганізмів навіть за використання різних сортів конюшини, зокрема й після тривалого зберігання насіння.

Для вивчення характеристик проростання насіння різних видів багаторічних трав були проведені численні дослідження. Автори спостерігали вищий коефіцієнт проростання насіння за температури 15—25 °C порівняно з нижчими температурами 5 та 10 °C [28—30]. Відомо, що температура, світло та волога істотно впливають на терміни й швидкість проростання насіння конюшини. Показано, що схожість насіння конюшини білої (*Bidens alba* L.) знижується зі зниженням доступності вологи. Насіння проростало ефективніше за наявності світла, ніж у безперервній темряві, за температури від 15 до 35 °C. Однак оптимальна температура проростання для конюшини становила 15 °C за наявності освітлення [31]. Визначення мінімальної, максимальної та оптимальної температур для проростання конюшини дає змогу дослідникам зважати на рекомендації щодо посіву [31—34]. Температура упродовж початкової фази проростання (перші 3 год) істотно впливає на характеристики проростання насіння конюшини багряної (*Trifolium incarnatum* L.). Значення рН, температура навколишнього середовища впливали на всі досліджувані характеристики, крім довжини стебла. Загалом, дослідники підкреслюють важливість вивчення посівних якостей сільськогосподарських культур, зокрема конюшини лучної, особливо в контексті доцільності впровадження (застосування) нових елементів у технологіях її вирощування.

Таким чином, отримані в наших дослідках результати вивчення посівних якостей насіння (енергія проростання і лабораторна схожість) та морфометричних параметрів сформованих проростків (довжина й маса) показали, що застосування композицій мікроорганізмів

має переваги порівняно із застосуванням однокомпонентних інокулянтів за більшістю параметрів.

REFERENCES

1. Roy, S., Liu, W., Nandety, R.S., Crook, A., Mysore, K.S., Pislariu, C.I., Frugoli, J., Dickstein, R. & Udvardi, M.K. (2020). Celebrating 20 years of genetic discoveries in legume nodulation and symbiotic nitrogen fixation. *Plant Cell*, 32(1), pp. 15-41. <https://doi.org/10.1105/tpc.19.00279>
2. Peix, A., Ramirez-Bahena, M.H., Velazquez, E. & Bedmar, E.J. (2015). Bacterial associations with legumes. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 34, pp. 17-42. <https://doi.org/10.1080/07352689.2014.897899>
3. Lupwayi, N.Z., Kennedy, A.C. & Chirwa, R.M. (2011). Grain legume impacts on soil biological processes in sub-Saharan Africa. *African J. Plant Sci.*, 5(1), pp. 1-7.
4. Sawicka, B., Krochmal-Marczak, B., Sawicki, J., Skiba, D., Pszczółkowski, P., Barbaś, P., Vambol, V., Messaoudi, M. & Farhan, A. (2023). White clover (*Trifolium repens* L.) cultivation as a means of soil regeneration and pursuit of a sustainable food system model. *Land*, 12(4), 838. <https://doi.org/10.3390/land12040838>
5. Gouda, S., Kerry, R.G., Das, G., Paramithiotis, S., Shin, H.S. & Patra, J.K. (2017). Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiol. Res.*, 206, pp. 131-140. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.08.016>
6. Masson-Boivin, C., Giraud, E., Perret, X. & Batut, J. (2009). Establishing nitrogen-fixing symbiosis with legumes: how many Rhizobium recipes. *Trends Microbiol.*, 17(10), pp. 458-466. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2009.07.004>
7. Andrews, M. & Andrews, M. (2016). Specificity in legume-rhizobia symbioses. *Int. J. Mol. Sci.*, 18(4), 705. <https://doi.org/10.3390/ijms18040705>
8. Antoniv, S.F., Zapruta, O.A., Kolesnik, S.I., Fostolovych, S.I. & Konovalchuk, V.V. (2020). Presowing treatment of seeds of pasture leguminous grasses with bacteriological and biological preparations as an important factor of improving their sowing properties. *Feeds and Feed Product.*, 90, pp. 21-29 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.31073/kormovyrobnytstvo202090-02>
9. Kumar, V.K., Reddy, M.S., Kloepper, J.W., Lawrence, K.S., Zhou, X.G., Groth, D.E., Zhang, S., Sudhakara Rao, R., Wang, Q., Raju, M.R.B., Krishnam, R., Dilantha Fernando, W.G., Sudini, H., Du, B. & Miller, M.E. (2011). Commercial potential of microbial inoculants for sheath blight management and yield enhancement of rice. In: Maheshwari, D.K. (ed). *Bacteria in Agrobiolgy: Crop Ecosystems* (pp. 237-264). Berlin: Springer.
10. Ahemad, M. & Khan, M.S. (2011). Functional aspects of plant growth promoting rhizobacteria: Recent advancements. *Int. Microbiol.*, 1: pp. 39-54. <https://doi.org/10.5567/IMICRO-IK.2011.39.54>
11. Kalam, S., Basu, A. & Podile, A.R. (2020). Functional and molecular characterization of PGP Bacillus isolates from tomato rhizosphere. *Heliyon*, 6, e04734. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04734>
12. Parray, J.A., Jan, S., Kamilo, A.N., Quadri, R.A., Egamberdieva, D. & Ahmad, P. (2016). Current perspective on PGPR. *J. Plant Growth Regul.*, 35: pp. 877-902. <https://doi.org/10.1007/s00344-016-9583-4>
13. Gabre, V.V., Venancio, W.S., Moraes, B.A., Furmam, F., de G., Galvão, C.W., Gonçalves, D.R.P. & Etto, R.M. (2020). Multiple effect of different plant growth promoting microorganisms on beans (*Phaseolus vulgaris* L.) *Crop Brazil. Arch. Biol. Technol.*, 63, e20190493. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-solo-2020190493>
14. Alemneh, A.A., Zhou, Y., Ryder, M.H. & Denton, M.D. (2020). Mechanisms in plant growth-promoting rhizobacteria that enhance legume-rhizobial symbioses. *J. Appl/ Microbiol.*, 129(5), pp. 1133-1156. <https://doi.org/10.1111/jam.14754>
15. Lin, W., Lin, M., Zhou, H., Wu, H., Li, Z. & Lin, W. (2019). The effects of chemical and organic fertilizer usage on rhizosphere soil in tea orchards. *PloS One*, 14(5), e0217018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217018>

16. Ejaz, S., Batool, S., Anjum, M.A., Naz, S., Qayyum, M.F., Naqqash, T., Shah, K.H. & Ali, S. (2020). Effects of inoculation of root-associative *Azospirillum* and *Agrobacterium* strains on growth, yield and quality of pea (*Pisum sativum* L.) grown under different nitrogen and phosphorus regimes. *Scientia Horticult.*, 270, 109401. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109401>
17. Kemka, U.N., Orji, J.C., Nlemolisa, O.R., Gaius-Mbalisi, V.K., Nwokorie, R.C. & Ndu, F.C. (2022). Effect of co-inoculation of bacterial cultures of plant growth promoting rhizobacteria on white beans (*Phaseolus vulgaris*) seedlings development. *J. Res. in Environ. and Earth Sci.*, 8(3), pp. 46-52.
18. Korir, H., Mungai, N.W., Thuita, M., Hamba, Y. & Masso, C. (2017). Co-inoculation effect of Rhizobia and plant growth promoting Rhizobacteria on common bean growth in a low phosphorus soil. *Front. Plant Sci.*, 7, pp. 8-141. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00141>
19. Atieno, M., Herrmann, L., Okalebo, R. & Lesueur, D. (2012). Efficiency of different formulations of *Bradyrhizobium japonicum* and effect of co-inoculation of *Bacillus subtilis* with two different strains of *Bradyrhizobium japonicum*. *World J. Microbiol Biotechnol.*, 28, pp. 2541-2550. <https://doi.org/10.1007/s11274-012-1062-x>
20. Bulegon, L.G., Guimarães, V.F., Klein, J., Batisttus, A.G., Inagaki, A.M., Offmann, L.C. & Souza, A.K.P. (2017). Enzymatic activity, gas exchange and production of soybean co-inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense*. *Austral. J. Crop Sci.*, 11, pp. 888-896. <https://doi.org/10.21475/ajcs.17.11.07.pne575>
21. Ferri, G.C., Braccini, A.L., Anghinoni, F.B.G. & Pereira, L.C. (2017). Effects of associated co-inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* with *Azospirillum brasilense* on soybean yield and growth. *Afric. J. Agricult. Res.*, 12, pp. 6-11. <https://doi.org/10.5897/AJAR2016.11711>
22. Morales-García, Y.E., Baez, A., Quintero-Hernández, V., Molina-Romero, D., Rivera-Urbalejo, A.P., Pazos-Rojas, L.A. & Muñoz-Rojas, J. (2019). Bacterial mixtures, the future generation of inoculants for sustainable crop production. In: Maheshwari, D., Dheeman, S. (eds). *Field Crops: Sustainable Management by PGPR. Sustainable Development and Biodiversity*, vol 23 (pp. 11-44). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-30926-8_2
23. Harris, C., & Ratnieks, F. (2022). Clover in agriculture: Combined benefits for bees, environment, and farmer. *J. Insect Conserv.*, 26, pp. 339-357. <https://doi.org/10.1007/s10841-021-00358-z>
24. State Register of Plant Varieties Suitable for Dissemination in Ukraine in 2021 (2021). Kyiv, 531 p. Retrieved from <https://sops.gov.ua/reestr-sortiv-roslin>
25. DSTU 4138-2002. Seeds of agricultural crops. Methods for determining quality. Kyiv: Derzhspozhyvstandart Ukrainy, 2003 [in Ukrainian].
26. Kavunets, V.P. & Malasai, V.M. (2006). Quality and yield properties of seeds. *Seed Production*, 1, pp. 19-21 [in Ukrainian].
27. Levytska, L., Bastruk-Hlodan, L., Stasiv, O., Bilovus, H. & Khomiak, M. (2024). Determining the germinative qualities of red clover seed samples with varying biological status. *Sci. Horizons*, 27(12), pp. 38-46. <https://doi.org/10.48077/scihor12.2024.38>
28. Chu, L., Gao, Y., Chen, L., Mc Cullough, P., Jespersen, D., Sapkota, S., Bagavathiannan, M. & Yu, J. (2022). Impact of environmental factors on seed germination and seedling emergence of white clover (*Trifolium repens* L.). *Agronomy*, 12(1), 190. <https://doi.org/10.3390/agronomy12010190>
29. Lina, A.Q. & Escobar-Gutiérrez, A.J. (2022). Unexpected intraspecific variability of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) in response to constant temperature during germination and initial heterotrophic growth. *Front. Plant Sci.*, 13, 856099. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.856099>
30. Oleksiak, V., Stasiv, O., Bastruk-Hlodan, L. & Bilovus, H. (2023). Optimization of temperature modes for seed germination of perennial reegrass (*Lolium perenne* L.). *Foothill and Mountain Agricult. Stockbreed.*, 74(1), pp. 95-109 [in Ukrainian]. [https://doi.org/10.32636/01308521.2023-\(74\)-1-7](https://doi.org/10.32636/01308521.2023-(74)-1-7)
31. Yu, J., Sharpe, S.M. & Boyd, N.S. (2020). Germination and emergence of common beggar's-tick (*Bidens alba*) seeds at two different stages of afterripening as affected by environmental factors. *Weed Sci.*, 68(5), 503509. <https://doi.org/10.1017/wsc.2020.45>
32. Szczerba, A., Płazek, A., Pastuszek, J., Kopeć, P., Hornyák, M. & Dubert, F. (2021). Effect of low temperature on germination, growth, and seed yield of four soybean

- (*Glycine max* L.) cultivars. *Agronomy*, 11(4), 800. <https://doi.org/10.3390/agronomy11040800>
33. Vivanco, P., Oliveira, J.A. & Martín, I. (2021). Optimal germination conditions for monitoring seed viability in wild populations of fescues. *Spanish J. Agricult. Res.*, 19(3), e0804. <https://doi.org/10.5424/sjar/2021193-18025>
34. Herman, G., Gantner, R., Guberac, V., Žalac, H. & Bukvić, G. (2022). Temperature and water solution pH effects on crimson clover (*Trifolium incarnatum* L.) imbibition and seedling traits. *J. Central Europ. Agricult.*, 23(4), pp. 749-756. <https://doi.org/10.5513/JCEA01/23.4.3640>

Received 15.10.2025

THE INFLUENCE OF MONO- AND COMPLEX INOCULANTS ON THE MORPHOMETRIC PARAMETERS OF SEEDLINGS AND THE SOWING QUALITIES OF RED CLOVER (*TRIFOLIUM PRATENSE* L.) SEEDS

O.Ye. Kominarets, N.A. Vorobey, O.V. Karaushu

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylykivska St., Kyiv, 03022, Ukraine
e-mail: anqueitas@ukr.net

The indices of germination energy, laboratory seed germination, and morphometric parameters of red clover (*Trifolium pratense* L.) seedlings of the cultivars Tina and Anitra under mono-inoculation and inoculation with binary compositions based on symbiotic and associative microorganisms were investigated. It was revealed a stronger growth-stimulating effect of microbial compositions *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *Pseudomonas fluorescens* 33, *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *P. fluorescens* 267, and *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *Rhizobium galegae* 0702 on the studied parameters in both clover cultivars compared to the separately applied inoculants based on *P. fluorescens* 267, *P. fluorescens* 33, or *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a. In addition, an increase in the germination energy of *T. pratense* cv. Tina seeds by 14.8 % and their laboratory germination by 6.1 % was observed under inoculation with the complex *R. leguminosarum* bv. *trifolii* 348a + *Azotobacter chroococcum* 79, compared to the absolute control. Meanwhile, the maximum increases in these parameters, as well as in the length and weight of seedlings of cv. Anitra — by 21.8 % and 13.6 %, respectively — were recorded under seed bacterization with clover rhizobia jointly with *R. galegae* 0702. Among the mono-inoculants used in the study, seed treatment with *P. fluorescens* 267 most effectively stimulated seed germination and improved the morphometric parameters of cv. Anitra seedlings compared to the control. These results can be used for the development of elements of cultivation technology for red clover under inoculation with biopreparations based on symbiotic and associative microorganisms.

Key words: *Trifolium pratense* L., red clover, rhizobia, *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*, *Azotobacter chroococcum*, *Pseudomonas fluorescens*, seedlings, germination rate, germination energy.

ORCID

О.Є. КОМІНАРЕЦЬ — O.Ye. Kominarets <https://orcid.org/0009-0006-7067-4731>

Н.А. ВОРОБЕЙ — N.A. Vorobey <https://orcid.org/0000-0002-6039-5409>

О.В. КАРАУШУ — O.V. Karaushu <https://orcid.org/0000-0003-1009-6184>