https://doi.org/10.15407/frg2026.04.355
УДК 581.1

ВПЛИВ ТРИХОДЕРМИ І РИЗОБІЙ НА ПАРАМЕТРИ РОСТУ ТА ФОРМУВАННЯ СИМБІОТИЧНОГО АПАРАТУ В РОСЛИН ЛЮЦЕРНИ ЗА УМОВ ЗАСОЛЕННЯ

Л.М. МИХАЛКІВ, С.Я. КОЦЬ, С.В. ОМЕЛЬЧУК, К.А. МОКРИЦЬКИЙ

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

Ризосферні мікроорганізми виконують важливу роль у формуванні відповіді рослини на дію стресових чинників та їх адаптації до умов вирощування. У зв'язку з цим, дослідження і впровадження у сільськогосподарську практику ефективних за несприятливих умов мікроорганізмів із метою підвищення стресостійкості та продуктивності культурних рослин набуває сьогодні особливої актуальності. Метою роботи було вивчити вплив грибів роду *Trichoderma* та передпосівної інокуляції насіння бульбочковими бактеріями на ріст і формування симбіотичного апарату в рослин люцерни за умов засолення. Використовували рослини люцерни сорту Надєжда, штам *Sinorhizobium meliloti* AC88, а також комерційний препарат «Триходерма» на основі гриба *Trichoderma lignorum*. В умовах вегетаційного експерименту за осіннього посіву люцерни досліджували показники маси надземної частини і коренів, висоти рослин і довжини коренів, особливості формування бульбочок на коренях рослин. Оцінювали солестійкість, а також співвідношення маси кореня до надземної маси люцерни. У результаті проведених досліджень показано, що попри позитивний вплив на показники довжини і маси кореня, а також висоти рослин використання триходерми виявилося загалом менш ефективним порівняно з передпосівною інокуляцією насіння ризобіями. Водночас за сумісного використання обох вказаних мікроорганізмів відзначено зниження нодуляційної активності бульбочкових бактерій та їх стимулювального впливу на ріст і розвиток люцерни, особливо за умов засолення. Застосування мікроорганізмів, насамперед ризобій, сприяло збільшенню співвідношення маси коренів до надземної маси рослин, що має особливе значення для покращення живлення люцерни і збільшення її врожайності в наступний рік вегетації. Зважаючи на неоднозначність літературних даних і отриманих нами ефектів, стає очевидною необхідність подальших досліджень сумісного впливу триходерми і ризобій на формування симбіотичної системи люцерни та її продуктивність із урахуванням дії різних чинників.

Ключові слова: *Medicago sativa* L., *Trichoderma lignorum*, *Sinorhizobium meliloti*, ріст, маса, бульбочки, засолення, солестійкість.

Цитування: Михалків Л.М., Коць С.Я., Омельчук С.В., Мокрицький К.А. Вплив триходерми і ризобій на параметри росту та формування симбіотичного апарату в рослин люцерни за умов засолення. *Фізіологія рослин і генетика*. 2026. 58, № 4. С. 355—368. https://doi.org/10.15407/frg2026.04.355

This is open access article under the CC BY license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

Засолення є одним із сильнодіючих стресових чинників, що обмежує ріст та урожайність рослин, а також знижує родючість ґрунтів. У всьому світі понад 900 млн га землі, приблизно третина з яких займають зрошувані сільськогосподарські угіддя, страждають від надлишку солі. Дана проблема загострюється через зміну клімату та діяльність людини [1]. З огляду на це актуальними є дослідження реакції рослин, зокрема бобових, на дію сольового стресу, механізмів їх захисту від високої концентрації солі у середовищі та пошук способів підвищення стійкості сільськогосподарських культур до цього стресового чинника.

Для виживання й успішного розмноження в умовах засолення рослинам необхідно ефективно адаптуватися до дії несприятливого чинника. При цьому особливе значення у підвищенні стійкості має мікробіом ризосфери та самої рослини. Показано, що рослини люцерни, які формували активну азотфіксувальну симбіотичну систему внаслідок взаємодії з ефективними бульбочковими бактеріями, характеризувалися кращою здатністю витримувати засолення та інтенсивнішим ростом порівняно з тими, що перебували у симбіозі з неактивним штамом чи не були інокульовані [2]. У наших дослідженнях підтверджено дієвість передпосівної інокуляції насіння люцерни синоризобіями для підвищення її продуктивності за хлоридного засолення, при цьому штам *S. meliloti* AC88 відзначено як перспективний для подальшого вивчення щодо його застосування у вирощуванні люцерни за сольового стресу [3]. Доведено ефективність використання за умов засолення іншої групи мікроорганізмів — ґрунтових грибів роду *Trichoderma* [4—6].

Натепер все більшу увагу привертають комплексні біопрепарати, які поєднують у своєму складі мікроорганізми з різними механізмами впливу на рослини [7—10]. Зокрема, зростає інтерес до комплексного використання ризобій і триходерми [11—13]. Відзначено, що одночасне використання обох мікроорганізмів не лише зменшує захворюваність рослин, а й збільшує масу коренів, кількість і масу бульбочок, активність нітрогенази, вміст азоту в пагонах та урожайність порівняно з рослинами, інокульованими виняткова ризобіями [14]. Однак перспективність спільного застосування мікроскопічних грибів і ризобій за вирощування бобових рослин потребує детального дослідження, оскільки наявні на сьогодні дані суперечливі й свідчать про залежність ефективності спільної інокуляції даними групами мікроорганізмів від низки чинників, зокрема способів і умов їх використання, видів і штамів тощо.

Зважаючи на зазначене, метою роботи було дослідити вплив грибів роду триходерма та передпосівної інокуляції насіння бульбочковими бактеріями на ріст і формування симбіотичного апарату в рослин люцерни за умов засолення.

Методика

Дослідження проводили з люцерною посівною (*Medicago sativa* L.) сорту Надєжда, а також бульбочковими бактеріями *Sinorhizobium meliloti*

штаму АС88 із музейної Колекції штамів симбіотичних та асоціативних азотфіксувальних мікроорганізмів Інституту фізіології рослин і генетики НАН України. У роботі використано препарат «Триходерма» на основі гриба *Trichoderma lignorum* (ТОВ «КЕМ БІО ТЕРРА», Україна, м. Чернігів).

Вегетаційні досліди проводили на вегетаційному майданчику Інституту фізіології рослин і генетики НАН України. Рослини вирощували у піщаній культурі в посудинах місткістю 1 кг (4 рослини/посудину) за природних освітлення, температури та вологості повітря, посів — осінній. Джерелом мінерального живлення була суміш Гельрігеля, що містила 0,25 норми азоту, з додаванням мікроелементів B, Mo і Fe.

Засолення створювали внесенням розчину хлориду натрію з розрахунку 0,3 г/кг піску за підготовки субстрату відповідних варіантів. За 2 доби до сівби в субстрат вирощування рослин вносили препарат «Триходерма» (триходерма) згідно із схемою досліду. Перед сівбою насіння стерилізували концентрованою сірчаною кислотою упродовж 5 хв, промивали у проточній водопровідній воді та інокулювали бульбочковими бактеріями *S. meliloti* (ризобії). Тривалість інокуляції насіння — 1 год.

Схема досліду передбачала наступні варіанти: *1* — контроль-1 (без обробок); *2* — триходерма; *3* — ризобії; *4* — триходерма + ризобії; *5* — контроль-2 (без обробок), NaCl; *6* — триходерма, NaCl; *7* — ризобії, NaCl; *8* — триходерма + ризобії, NaCl.

Відбір рослин для аналізу проводили на 40-у добу вегетації. Визначали масу кореня та надземної частини, довжину кореня і висоту рослин, а також кількість бульбочок на коренях. Вираховували відсоток рослин варіантів, на яких формувалися бульбочки, кількість бульбочок і відсоток із них у формі грон. Аналізували в середньому по 25 рослин кожного варіанта.

Солестійкість рослин (СС, %) визначали за формулою $СС = d/k \times \times 100\ \%$, де d — біометричний показник (надземна маса, висота рослини, маса кореня, довжина кореня) у дослідних рослин на фоні засолення, k — аналогічний показник у рослини відповідного варіанта без засолення (контроль) [15].

Усі результати обраховано статистично за методом ANOVA з використанням програмного забезпечення MS Excel 2016. У таблицях і на рис. 1 представлені середні арифметичні та їхні стандартні похибки.

Результати та обговорення

Дослідження особливостей росту та розвитку кореневої системи люцерни показало, що використання триходерми в поєднанні з передпосівною інокуляцією насіння ризобіями на безсольовому фоні негативно впливає на ріст кореня в довжину — зниження показника становило 11 % порівняно з рослинами контролю без мікроорганізмів (табл. 1). Водночас в умовах засолення рослини вказаних варіантів за цим показником не різнилися, але відзначено збільшення довжини

ТАБЛИЦЯ 1. Вплив засолення, а також застосування триходерми та ризобій на формування кореневої системи люцерни

Варіант	Довжина кореня, см	Маса сухої речовини кореня, мг/рослину	% ІР / КБ / % Г
	Без засолення		
Контроль-1 (без обробок)	16,64±0,51	19,32±1,31	100 / 4 / 7
Триходерма	17,13±0,92	27,56±2,30	100 / 3 / 18
Ризобії	16,17±0,41	31,20±2,42	100 / 3 / 19
Триходерма + ризобії	14,78±0,56	27,70±2,46	100 / 4 / 9
	Засолення		
Контроль-2 (без обробок)	13,37±0,63	13,42±1,13	32 / 1 / 12
Триходерма	13,44±0,58	19,52±1,72	44 / 2 / 11
Ризобії	14,83±0,38	28,96±2,05	74 / 4 / 8
Триходерма + ризобії	13,50±0,52	16,46±1,48	21 / 3 / 8

Примітка. % ІР — відсоток інокульованих рослин у варіанті; КБ — середня кількість бульбочок на інокульованих рослинах варіанта (од./рослину), % Г — відсоток грон від загальної кількості бульбочок на рослинах варіанта.

кореня люцерни, інокульованої ризобіями — на 11 % порівняно до контролю без обробки.

У всіх варіантах із обробкою спостерігали збільшення маси кореня люцерни як в умовах засолення, так і без нього (див. табл. 1). Зокрема, на безсольовому фоні застосування лише триходерми або поєднання обох мікроорганізмів сприяли збільшенню маси коренів на 43 % порівняно з контролем. У варіанті з інокуляцією насіння лише ризобіями, маса коренів була у 1,5 раза вищою порівняно з контролем. В умовах засолення використання триходерми, передпосівної інокуляції насіння ризобіями чи поєднання обох видів мікроорганізмів забезпечували приріст маси кореня на 45, 116 та 23 %, відповідно, порівняно з контролем. Таким чином, як і на безсольовому фоні, відзначено істотне зростання маси кореня порівняно з контрольними рослинами у варіанті з інокуляцію насіння лише ризобіями.

Отже, сумісне використання триходерми та ризобій може негативно впливати на довжину кореня на безсольовому фоні, але збільшувати його масу як на засоленні, так і без нього. Водночас сама інокуляція насіння лише ризобіями сприяє росту кореня в довжину в умовах засолення, а також істотному наростанню його маси (у 1,5—2,0 рази) як за наявності NaCl в субстраті вирощування, так і без нього.

Зауважимо, що особливості розвитку кореневої системи мають важливе значення для росту та розвитку рослин, зокрема показано тісний кореляційний зв'язок між показниками маси кореня і азотфіксувальною активністю симбіотичного апарату люцерни [16].

У результаті дослідження нодуляційного процесу відзначено (див. табл. 1), що на безсольовому фоні бульбочки формувалися на коренях усіх рослин в усіх варіантах, що може свідчити про одночасну ефек-

тивну спонтанну бактеризацію люцерни ризобіями, наявними у природному середовищі, нарівні з інокуляцією штамом *S. meliloti* AC88. Водночас за використання триходерми чи інокуляції ризобіями спостерігали тенденцію до зниження кількості бульбочок на рослинах, але істотне зростання відсотка грон серед них.

Під впливом засолення знижувалася активність нодуляційних процесів, особливо спонтанних, і кількість рослин із бульбочками у варіанті передпосівної інокуляції насіння ризобіями була в 2 рази вищою порівняно з контролем (без обробок). Варто зазначити, що за умов засолення на фоні використання триходерми збільшувалася кількість як нодульованих рослин, так і бульбочок на рослині, порівняно з контролем без обробок, тоді як сумісне використання грибів і ризобій спричинило зниження відсотка нодульованих рослин порівняно з іншими варіантами досліду, але кількість бульбочок на інокульованих рослинах при цьому була більшою, ніж у контролі чи варіанті з використанням лише триходерми. У рослин варіантів, що характеризувалися меншою кількістю бульбочок на засоленні, виявлено більший відсоток їх гроноподібних форм.

Відзначено, що використання усіх варіантів інокуляції сприяло формуванню вищих рослин як за умов засолення, так і без нього (табл. 2). На безсольовому фоні в обох варіантах із використанням триходерми рослини були на 29 % вищі, ніж у контролі. Передпосівна інокуляція насіння ризобіями сприяла зростанню цього показника лише на 19 % порівняно з контролем, але істотно не відрізнялася за ефектом від варіантів з використанням триходерми.

На фоні засолення неістотний приріст рослин (в межах похибки досліду) порівняно з контрольними відзначено внаслідок застосування самої триходерми, тоді як інокуляція ризобіями чи сумісне використання обох мікроорганізмів збільшували висоту рослин на 15 і 17 % відповідно. На безсольовому фоні не відзначено істотних від-

ТАБЛИЦЯ 2. Вплив засолення на ріст надземної маси люцерни за використання триходерми та ризобій

Варіант	Висота рослини, мм	Маса сухої речовини надземної частини, мг/рослину
	Без засолення	
Контроль-1 (без обробок)	6,68±0,51	13,48±0,78
Триходерма	8,56±0,56	13,25±1,01
Ризобії	7,92±0,37	12,96±0,58
Триходерма + ризобії	8,52±0,36	12,17±0,67
	Засолення	
Контроль-2 (без обробок)	6,21±0,39	11,21±0,88
Триходерма	6,72±0,47	9,28±0,58
Ризобії	7,13±0,42	11,52±0,71
Триходерма + ризобії	7,29±0,32	8,46±0,43

мінностей між рослинами різних варіантів за надземною масою, а за умов засолення у варіантах, де використовували триходерму, виявлено зниження цього показника на 17—27 % порівняно до контролю чи варіанта з передпосівною інокуляцією насіння ризобіями.

Важливим показником стану рослини впродовж вегетаційного періоду є співвідношення маси коренів і пагонів. Потужна коренева система, що глибоко проникає у ґрунт, є запорукою врожайності для різних рослин, а для люцерни як важливого попередника у сівозміні, зокрема, з погляду її ролі як меліоранта, має особливе значення [16]. Доведено існування позитивної кореляції між урожайністю надземної маси рослин і масою коренів [17]. Так, відзначено, що зміна розміру кореневої системи на 1 % відповідає зміні врожаю зерна на 2 % [18]. Співвідношення коренів і пагонів є фізіологічним показником, який відображає розподіл продуктів фотосинтезу між органами рослини за реалізації основної стратегії адаптації [19], і його інтерпретують як ознаку адаптивної пластичності рослин [20].

Вивчення співвідношення маси кореня до надземної маси в наших дослідженнях показало, що всі види обробки сприяли його збільшенню порівняно до відповідного контролю (без використання ризобій і триходерми) як за оптимальних умов вирощування (на 43—61 %), так і за засолення (на 60—106 %) (рис. 1). При цьому застосування лише передпосівної інокуляції ризобіями виявилося найефективнішим. Це уможливлює припущення, що за умов засолення активні ризобії можуть формувати стійкіші та продуктивніші симбіотичні системи з люцерною, ніж мікроскопічні гриби, а спільне використання обох цих мікроорганізмів може знижувати ефективність бактерій.

Оцінка солестійкості рослин за надземною масою на фоні використання мікроорганізмів показала, що застосування триходерми

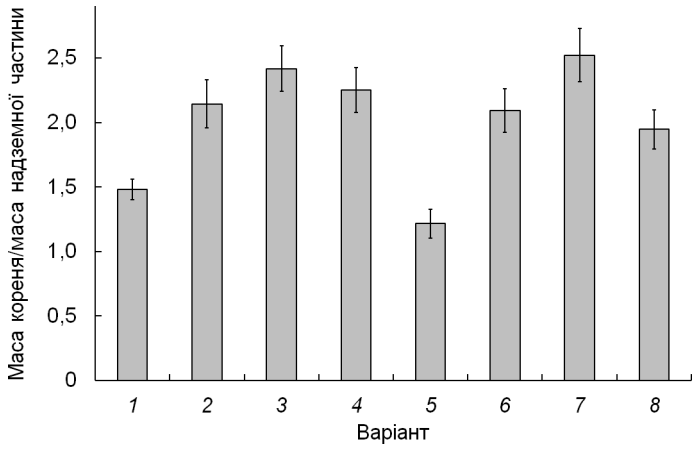


Рис. 1. Співвідношення маси сухої речовини кореня до маси сухої речовини надземної частини рослин люцерни залежно від наявності засолення та застосування мікроорганізмів. Тут і на рис. 2:

1 — контроль-1 (без обробок); *2* — триходерма; *3* — ризобії; *4* — триходерма + ризобії; *5* — контроль-2 (без обробок), NaCl; *6* — триходерма, NaCl; *7* — ризобії, NaCl; *8* — триходерма + ризобії, NaCl

знижувало цей показник порівняно з контролем, тоді як передпосівна обробка ризобіями підвищувала стійкість рослин до стресового чинника (рис. 2). Застосування ризобій зменшувало негативний вплив засолення на масу коренів (моновикористання) і їх лінійний

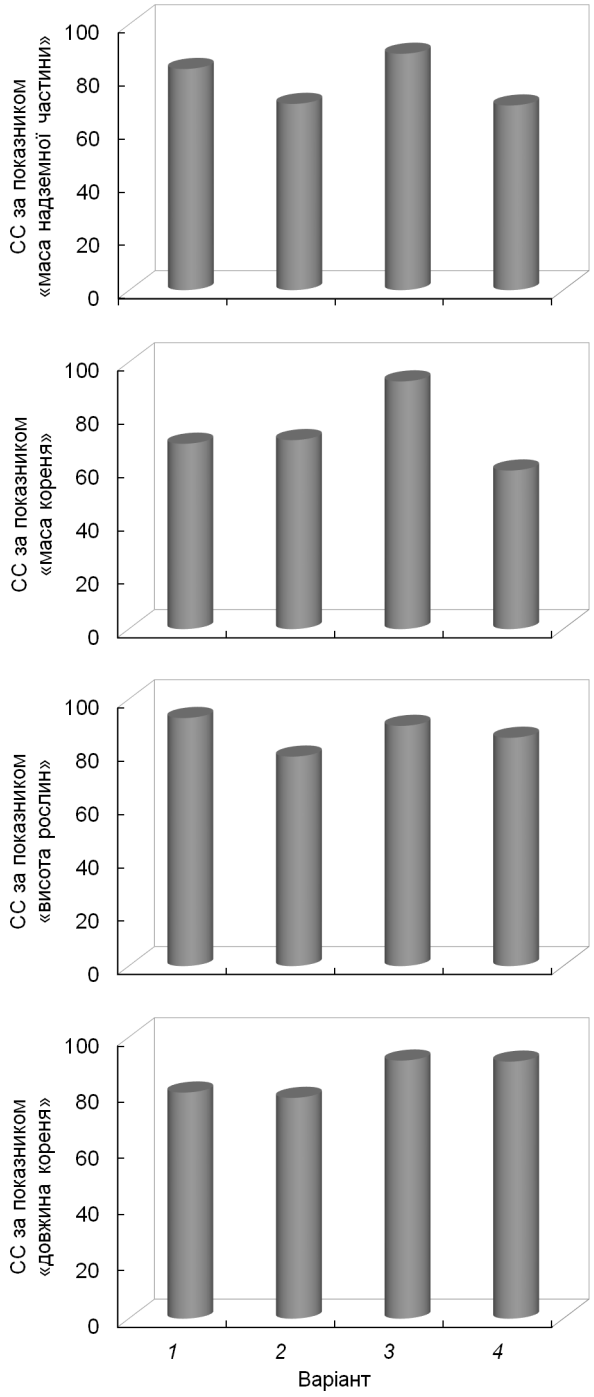


Рис. 2. Оцінка солестійкості рослин люцерни (СС, %) за використання триходерми та ризобій

ріст (моновикористання чи в поєднанні з триходермою) (див. рис. 2), що може сприяти кращому живленню рослин, а відтак і наростанню надземної маси на другий рік вегетації.

У природному середовищі мікроміцети роду *Trichoderma* навіть у незначних кількостях є антагоністами фітопатогенних мікроорганізмів і сильними конкурентами щодо інших представників ґрунтового мікробіому. Завдяки здатності протидіяти фітопатогенам за допомогою різних механізмів (мікопаразитизм, конкуренція, антибіоз, індукція системної стійкості рослин) препарати триходерми широко використовуються у сільськогосподарській практиці для біоконтролю [21—24]. Але якщо стосовно інших видів грибів триходерма, як правило, має інгібувальний ефект, то за взаємодії із бактеріями взаємний вплив цих груп мікроорганізмів може мати різний характер. Так, в умовах in vitro показано, що триходерма може бути сумісною з ризобіями сочевиці або гальмувати їх ріст залежно від особливостей штаму [25]. Відзначалося, що *Trichoderma* може модулювати експресію генів *S. meliloti*, зокрема залучених у метаболізм азоту [26]. Водночас виявлено, що штами *S. meliloti* можуть значно впливати на транскриптом триходерми, діючи на ростові процеси та метаболізм, і виступати антагоністами грибів. За оцінки взаємодії штаму ТН-382 триходерми із різними штамами синоризобій в умовах in vitro зроблено висновок про нейтральну взаємодію грибів та синоризобій, де бульбочкові бактерії частково пригнічували ріст грибів [27]. В умовах чистої культури показано антагоністичну взаємодію *Trichoderma* spp. і *Rhizobium* spp., де гриби гальмували ріст ризобій [28].

Отже, в умовах in vitro ризобії та триходерма можуть проявляти антагоністичні властивості, але у природному середовищі ризосфери рослин вони часто виступають корисними партнерами. Так, результати застосування ізолятів *Trichoderma* та ризобій при вирощуванні сочевиці свідчать про стимулювання росту й підвищення маси рослин під впливом обох мікроорганізмів [25]. У нашому дослідженні відзначено негативний вплив препарату триходерми на формування бульбочок на коренях рослин люцерни. Водночас на фоні його використання показано збільшення маси коренів люцерни, а також висоти рослин на безсольовому фоні порівняно з рослинами контролю без обробки, що підтверджує здатність гриба стимулювати ріст рослин. Останні можуть бути зумовлені продукуванням вторинних метаболітів, наприклад фітогормонів, перетворенням поживних речовин у доступну для рослин форму, а також здатністю триходерми індукувати стійкість до стресових чинників за допомогою різних фізіологічних механізмів, зокрема внаслідок впливу на окисно-відновні процеси, вміст фотосинтетичних пігментів тощо [5, 29]. Водночас у нашому дослідженні виявлено, що ризобії були ефективнішими щодо формування кореневої маси порівняно з триходермою, а одночасне використання бактерій і грибів дещо знижувало цей вплив. Очевидно, в даному випадку проявлялася інгібувальна дія триходерми на бульбочкові бактерії, що підсилювалася за умов засолення. Разом з тим, за дії кадмієвого стресу триходерма розгля-

дається як промоутер бульбочкоутворення за взаємодії синоризобій і рослин люцерни [30].

Таким чином, у результаті проведених досліджень показано, що попри виявлений позитивний вплив на довжину і масу кореня, а також висоту рослин використання триходерми у наших експериментах виявилося загалом менш ефективним порівняно з передпосівною інокуляцією насіння ризобіями. Водночас у випадку сумісного використання обох вказаних мікроорганізмів відзначено зниження нодуляційної активності бульбочкових бактерій та їх стимулювального впливу на ростові параметри рослин люцерни, особливо за умов засолення.

Формування симбіотичних взаємовідносин між рослинами люцерни та мікроорганізмами, насамперед ризобіями, сприяло посиленню розвитку кореневої системи, що має особливе значення для покращення живлення рослин і збільшення їхньої врожайності в наступний рік вегетації.

Зважаючи на неоднозначність літературних даних і отриманих нами результатів, стає очевидною необхідність подальших досліджень сумісної дії триходерми і ефективних за умов засолення ризобій на формування симбіотичної системи люцерни та її продуктивність із урахуванням різних чинників, зокрема, особливостей використання обох мікроорганізмів, характеристик штамів ризобій і сортів рослин, а також ґрунтово-кліматичних умов їх вирощування.

Внесок авторів: *концепція та дизайн дослідження* — С.Я. Коць, Л.М. Михалків; *отримання даних* — Л.М. Михалків, С.В. Омельчук, К.А. Мокрицький; *аналіз та інтерпретація результатів* — С.Я. Коць, Л.М. Михалків, С.В. Омельчук; *підготовка рукопису—написання первинного тексту статті* — Л.М. Михалків; *підготовка рукопису—перегляд і редагування* — С.Я. Коць, Л.М. Михалків.

Всі автори переглянули і схвалили остаточну версію рукопису.

Конфлікт інтересів: автори декларують відсутність конфлікту інтересів.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Zhou H., Shi H., Yang Y., Feng X., Chen X., Xiao F., Lin H., Guo Y. Insights into plant salt stress signaling and tolerance. J. Genet. Genom. 2024. 51 (1). P. 16—34. https://doi.org/10.1016/j.jgg.2023.08.007
2. Irshad A., Rehman R.N.U., Abrar M.M., Saeed Q., Sharif R., Hu T. Contribution of rhizobium-legume symbiosis in salt stress tolerance in *Medicago truncatula* evaluated through photosynthesis, antioxidant exymes, and compatible solutes accumulation. Sustanainability. 2021. 13(6). 3366. https://doi.org/10.3390/su13063369
3. Коць С.Я., Михалків Л.М., Мельникова Н.М., Мокрицький К.А. Формування і функціонування симбіотичних систем люцерни з різними штамами синоризобій під впливом засолення. Тернопільські біологічні читання — Ternopil Bioscience — 2024: Матеріали Міжнар. наук.-практ. конф. (Тернопіль, 18—19 квітня 2024). Тернопіль: Вектор, 2024. С. 59—62.
4. Zhang S., Gan Y., Xu B. Application of plant-growth-promoting fungi *Trichoderma longibrachiatum* T6 enhances tolerance of wheat to salt stress through improvement of antioxidative defense system and gene expression. Front. Plant Sci. 2016. 7. 1405. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01405
5. Poveda J. *Trichoderma parareesei* favors the tolerance of rapeseed (*Brassica napus* L.) to salinity and drought due to a chorismate mutase. Agronomy. 2020. 10. 116. https://doi.org/10.3390/agronomy10010118

6. Adusumilli N., Kolli S.Ch. Management of salinity stress by the application of *Trichoderma*. Advances in trichoderma biology for agricultural applications. Springer, 2022. P. 303—320. https://doi.org/10.1007/978-3-030-91650-3_11
7. Gao P., Li Y., Guo Y., Duan T. Co-inoculation of lucerne (*Medicago sativa*) with an AM fungus and a rhizobium reduces occurrence of spring black stem and leaf spot caused by *Phoma medicaginis*. Crop Pasture Sci. 2018. 69 (9). P. 933—943. https://doi.org/10.1071/CP18135
8. Gao H., Yang D., Yang L., Han S., Liu G., Tang L., Chen J., Wang D., Guo C. Co-inoculation with *Sinorhizobium meliloti* and *Enterobacter ludwigii* improves the yield, nodulation, and quality of alfalfa (*Medicago sativa* L.) under saline-alkali environments. Ind. Crops Prod. 2023. 199. 116818. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.116818
9. Barbosa J.Z., Hungria M., da Silva Sena J.V., Poggere G., dos Reis A.R., Corrêa R.S. Meta-analysis reveals benefits of co-inoculation of soybean with *Azospirillum brasilense* and *Bradyrhizobium spp.* in Brazil. Appl. Soil Ecol. 2021. 163. 103913. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.103913
10. Kumar S., Pandey S., Rathore U.S., Kumar K. Multi-trait *Trichoderma* for improving plant health of grain legumes. Microbial Mitigation of Stress Response of Food Legumes. CRC Press, 2020. P. 85—102. https://doi.org/10.1201/9781003028413-8
11. Nirmalkar V.K., Singh S., Tiwari R.S., Said P.P., Kaushik D.K. Field Efficacy of *Trichoderma harzianum* and *Rhizobium* against Wilt Complex of Chickpea. Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci. 2017. 6 (7). P. 1421—1429. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.607.170
12. Neelipally R.T.K.R., Anoruo A.O., Nelson S. Effect of co-inoculation of *Bradyrhizobium* and *Trichoderma* on growth, development, and yield of *Arachis hypogaea* L. (Peanut). Agronomy. 2020. 10 (9). 1415. https://doi.org/10.3390/agronomy10091415
13. Poveda J., Eugui D. Combined use of *Trichoderma* and beneficial bacteria (mainly *Bacillus* and *Pseudomonas*): Development of microbial synergistic bio-inoculants in sustainable agriculture. Biol. Control. 2022. 176. 105100. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.105100
14. Barbosa J.Z., Hungria M., Prior S.A., Moura M.C., Poggere G., Motta A.C.V. Improving yield and health of legume crops via co-inoculation with rhizobia and *Trichoderma*: A global meta-analysis. Appl. Soil Ecol. 2022. 176. 1044933. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104493
15. Пюрко О.Є., Мусієнко М.М., Казаков Є.О., Христова Т.Є. Основи солестійкості рослин та методи її вивчення. Вісник ЗДУ. 2001, № 1. С. 1—5.
16. Tyshchenko A.V., Tyshchenko O.D., Koblay O.O. The importance of the root system in the manifestation of adaptability to abiotic stress factors. Climate-smart agriculture: science and practice. Riga, Latvia: Baltija Publishing, 2023. P. 256—289. https://doi.org/10.30525/978-9934-26-389-7-14
17. Li L., Peng Z., Mao X., Wang J., Chang X., Reynolds M., Jing R. Genome-wide association study reveals genomic regions controlling root and shoot traits at late growth stages in wheat. Ann. Bot. 2019. 124. P. 993—1006. https://doi.org/10.1093/aob/mcz041
18. Bláha L. Importance of root-shoot ratio for crops production. J. Agron. Agric. Sci. 2019. 2. 12. https://doi.org/10.24966/AAS-8292/100012
19. Ågren G.I., Ingestad T. Root:Shoot ratio as a balance between nitrogen productivity and photosynthesis. Plant Cell Environ. 2006. 10 (7). P. 579—586. https://doi.org/10.1111/1365-3040.ep11604105
20. Brooker R., Brown L.K., George T.S., Pakeman R.J., Palmer S., Ramsay L., Schöb C., Schurch N., Wilkinson M.J. Active and adaptive plasticity in a changing climate. Trends Plant Sci. 2022. 27(7). P. 717—728. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2022.02.004
21. Conteras-Cornejo H.A., Macias-Rodrigues L., del-Val E., Larsen J. Ecological functions of *Trichoderma spp.* and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. FEMS Microbiol. Ecol. 2016. 92 (4). fiw036. https://doi.org/10.1093/femsec/fiw036
22. Manganiello G., Sacco A., Ercolano M.R., Vinale F., Lanzuise S., Pascale A., Napolitano M., Lombardi N., Lorito M., Woo S.L. Modulation of tomato response

to *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* and its secondary metabolite harzianic acid. Front. Microbiol. 2018. 9. 1966. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01966
23. Vicente I., Baroncelli R., Hermosa R., Monte E., Vannacci G., Sarrocco S. Role and genetic basis of specialised secondary metabolites in *Trichoderma* ecophysiology. Fungal Biol. Rev. 2022. 39. P. 83—99. https://doi.org/10.1016/j.fbr.2021.12.004
24. Vaccaro F., Bettini P.P., Courty P-E., Mengoni A., Passeri I., Sarrocco C., Fagorzi C. Toward deciphering the molecular dialogue in the rhizomicrobiota: Transcriptomic profiling of *Trichoderma* in rhizobia interaction. Microbiol. Res. 2025. 297. 128180. https://doi.org/10.1016/j.micres.2025.128180
25. Mahapatra S., Das T., Das S. In vitro compatibility study between the *Rhizobium* and native *Trichoderma* isolates from Lentil rhizospheric soil. Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci. 2017. 8 (6). P. 1757—1769. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.608.208
26. Vaccaro F., Passeri I., Ajijah N., Bettini P., Courty P.E., Dębiec-Andrzejewska K., Joshi N., Kowalewska Ł., Stasiuk R., Musiałowski M., Pranaw K., Mengoni A. Genotype-by-genotype interkingdom cross-talk between symbiotic nitrogen fixing *Sinorhizobium meliloti* strains and *Trichoderma* species. Microbiol. Res. 2024. 285. 127768. https://doi.org/10.1016/j.micres.2024.127768
27. Bécquer C.J., Lazarovits G., Lalin I. In vitro interaction between *Trichoderma harzianum* and plant growth promoter rhizosphere bacteria. CJAS. 2013. 47(1). P. 97—102.
28. Maingi G. Effect of *Trichoderma asperellum* on growth of *Rhizobium leguminosarum* in vitro. G.J.B.A.H.S. 2016. 5(1). P. 43—48.
29. Scudeletti D., Crusciol C.A.C., Bossolani J.W., Moretti L.G., Momesso L., Tubaña B.S., de Castro S.G.Q., De Oliveira E.F., Hungria M. *Trichoderma asperellum* inoculation as a tool for attenuating drought stress in Sugarcane. Front. Plant Sci. 2021. 12. 645542. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.645542
30. Shwerif N. Role of *Trichoderma* and *Sinorhizobium* strains for improving growth and nutritional status of alfalfa under Cd stress. IJEAB. 2018. 3(1). P. 33—48. https://doi.org/10.22161/ijeab/3.1.6

REFERENCES

1. Zhou, H., Shi, H., Yang, Y., Feng, X., Chen, X., Xiao, F., Lin, H. & Guo, Y. (2024). Insights into plant salt stress signaling and tolerance. J. Genet. Genom., 51(1), pp. 16-34. https://doi.org/10.1016/j.jgg.2023.08.007
2. Irshad, A., Rehman, R.N.U., Abrar, M.M., Saeed, Q., Sharif, R. & Hu, T. (2021). Contribution of rhizobium-legume symbiosis in salt stress tolerance in Medicago truncatula evaluated through photosynthesis, antioxidant exymes, and compatible solutes accumulation. Sustanainability, 13(6), 3366. https://doi.org/10.3390/su13063369
3. Kots, S.Ya, Mykhalkiv, L.M., Melnykova, N.M. & Mokrytskyi, K.A. (2024, April). Forming and functioning of alfalfa symbiotic systems with different synorhizobium strains under influence of salinity. Materials of International Scientific and Practical Conference «Ternopilski biologichni chytannya — Ternopil Bioscience — 2024» (pp. 59-62), Ternopil [in Ukrainian].
4. Zhang, S., Gan, Y. & Xu, B. (2016). Application of plant-growth-promoting fungi Trichoderma longibrachiatum T6 enhances tolerance of wheat to salt stress through improvement of antioxidative defense system and gene expression. Front. Plant Sci.,7, 1405. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01405
5. Poveda, J. (2020). Trichoderma parareesei favors the tolerance of rapeseed (Brassica napus L.) to salinity and drought due to a chorismate mutase. Agronomy, 10, 116. https://doi.org/10.3390/agronomy10010118
6. Adusumilli, N. & Kolli, S.Ch. (2022). Management of salinity stress by the application of Trichoderma. In: Advances in trichoderma biology for agricultural applications (pp. 303-320). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-91650-3_11
7. Gao, P., Li, Y., Guo, Y. & Duan, T. (2018). Co-inoculation of lucerne (Medicago sativa) with an AM fungus and a rhizobium reduces occurrence of spring black stem and

leaf spot caused by Phoma medicaginis. Crop Pasture Sci., 69(9), pp. 933-943. https://doi.org/10.1071/CP18135
8. Gao, H., Yang, D., Yang, L., Han, S., Liu, G., Tang, L., Chen, J., Wang, D. & Guo, C. (2023). Co-inoculation with Sinorhizobium meliloti and Enterobacter ludwigii improves the yield, nodulation, and quality of alfalfa (Medicago sativa L.) under saline-alkali environments. Ind. Crops Prod., 199, 116818. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.116818
9. Barbosa, J.Z., Hungria, M., da Silva Sena, J.V., Poggere, G., dos Reis, A.R. & Corrêa, R.S. (2021). Meta-analysis reveals benefits of co-inoculation of soybean with Azospirillum brasilense and Bradyrhizobium spp. in Brazil. Appl. Soil Ecol., 163, 103913. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.103913
10. Kumar, S., Pandey, S., Rathore, U.S. & Kumar, K. (2020). Multi-trait Trichoderma for improving plant health of grain legumes. In: N. Amaresan et al. (Eds.), Microbial Mitigation of Stress Response of Food Legumes. (pp. 85-102). CRC Press. https://doi.org/10.1201/9781003028413-8
11. Nirmalkar, V.K., Singh, S., Tiwari, R.S., Said, P.P. & Kaushik, D.K. (2017). Field Efficacy of Trichoderma harzianum and Rhizobium against Wilt Complex of Chickpea. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci., 6(7), pp. 1421-1429. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.607.170
12. Neelipally, R.T.K.R., Anoruo, A.O. & Nelson, S. (2020). Effect of Co-Inoculation of Bradyrhizobium and Trichoderma on Growth, Development, and Yield of Arachis hypogaea L. (Peanut). Agronomy, 10(9), 1415. https://doi.org/10.3390/agronomy10091415
13. Poveda, J. & Eugui, D. (2022). Combined use of Trichoderma and beneficial bacteria (mainly Bacillus and Pseudomonas): Development of microbial synergistic bio-inoculants in sustainable agriculture. Biol. Control., 176, 105100. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.105100
14. Barbosa, J.Z., Hungria, M., Prior, S.A., Moura, M.C., Poggere, G. & Motta, A.C.V. (2022). Improving yield and health of legume crops via co-inoculation with rhizobia and Trichoderma: A global meta-analysis. Appl. Soil Ecol., 176, 1044933. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104493
15. Pyurko O.Ye., Musiyenko, M.M., Kazakov, Ye.O. & Hrystova, T.Ye. (2001). Basics of salt resistance of plants and methods of its study. Bulletin of Zaporizhzhia National University, 1, pp. 1-5 [in Ukrainian]
16. Tyshchenko, A.V., Tyshchenko, O.D. & Koblay, O.O. (2023). The importance of the root system in the manifestation of adaptability to abiotic stress factors. In: Climate-smart agriculture: science and practice (pp. 256-289). Riga, Latvia: Baltija Publishing. https://doi.org/10.30525/978-9934-26-389-7-14
17. Li, L., Peng, Z., Mao, X., Wang, J., Chang, X., Reynolds, M. & Jing, R. (2019). Genome-wide association study reveals genomic regions controlling root and shoot traits at late growth stages in wheat. Ann. Bot., 124, pp. 993-1006. https://doi.org/10.1093/aob/mcz041
18. Bláha, L. (2019). Importance of root-shoot ratio for crops production. J. Agron. Agric. Sci., 2, 12. https://doi.org/10.24966/AAS-8292/100012
19. Ågren, G.I., Ingestad, T. (2006). Root:Shoot ratio as a balance between nitrogen productivity and photosynthesis. Plant Cell Environ., 10(7), pp. 579-586. https://doi.org/10.1111/1365-3040.ep11604105
20. Brooker, R., Brown, L.K., George, T.S., Pakeman, R.J., Palmer, S., Ramsay, L., Schöb, C., Schurch, N. & Wilkinson, M.J. (2022). Active and adaptive plasticity in a changing climate. Trends Plant Sci., 27(7), pp. 717-728. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2022.02.004
21. Conteras-Cornejo, H.A., Macias-Rodrigues, L., del-Val, E. & Larsen, J. (2016). Ecological functions of Trichoderma spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. FEMS Microbiol. Ecol., 92(4), fiw036. https://doi.org/10.1093/femsec/fiw036
22. Manganiello, G., Sacco, A., Ercolano, M.R., Vinale, F., Lanzuise, S., Pascale, A., Napolitano, M., Lombardi, N., Lorito, M. & Woo, S.L. (2018). Modulation of tomato response to Rhizoctonia solani by Trichoderma harzianum and its secondary metabolite harzianic acid. Front. Microbiol., 9, 1966. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01966

23. Vicente, I., Baroncelli, R., Hermosa, R., Monte, E., Vannacci, G. & Sarrocco, S. (2022). Role and genetic basis of specialised secondary metabolites in Trichoderma ecophysiology. Fungal Biol. Rev., 39, pp. 83-99. https://doi.org/10.1016/j.fbr.2021.12.004
24. Vaccaro, F., Bettini, P.P., Courty, P-E., Mengoni, A., Passeri, I., Sarrocco, C. & Fagorzi, C. (2025). Toward deciphering the molecular dialogue in the rhizomicrobiota: Transcriptomic profiling of Trichoderma in rhizobia interaction. Microbiol. Res., 297, 128180. https://doi.org/10.1016/j.micres.2025.128180
25. Mahapatra, S., Das, T. & Das, S. (2017). In vitro compatibility study between the Rhizobium and native Trichoderma isolates from Lentil rhizospheric soil. Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci., 8(6), pp. 1757-1769. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.608.208
26. Vaccaro, F., Passeri, I., Ajijah, N., Bettini, P., Courty, P.E., Dębiec-Andrzejewska, K., Joshi, N., Kowalewska, Ł., Stasiuk, R., Musiałowski, M., Pranaw, K. & Mengoni, A. (2024). Genotype-by-genotype interkingdom cross-talk between symbiotic nitrogen fixing Sinorhizobium meliloti strains and Trichoderma species. Microbiol. Res., 285, 127768. https://doi.org/10.1016/j.micres.2024.127768
27. Bécquer, C.J., Lazarovits, G. & Lalin, I. (2013). In vitro interaction between Trichoderma harzianum and plant growth promoter rhizosphere bacteria. CJAS, 47(1), pp. 97-102.
28. Maingi, G. (2016). Effect of Trichoderma asperellum on growth of Rhizobium leguminosarum in vitro. G.J.B.A.H.S., 5(1), pp. 43-48.
29. Scudeletti, D., Crusciol, C.A.C., Bossolani, J.W., Moretti, L.G., Momesso, L., Tubaña, B.S., de Castro, S.G.Q., De Oliveira, E.F. & Hungria, M. (2021). Trichoderma asperellum inoculation as a tool for attenuating drought stress in Sugarcane. Front. Plant Sci., 12, 645542. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.645542
30. Shwerif, N. (2018). Role of Trichoderma and Sinorhizobium strains for improving growth and nutritional status of alfalfa under Cd stress. IJEAB, 3(1), pp. 33-48. https://doi.org/10.22161/ijeab/3.1.6

Отримано 06.07.2026. Схвалено до друку 14.07.2026. Опубліковано 10.08.2026

THE INFLUENCE OF *TRICHODERMA* AND RHIZOBIA ON THE GROWTH AND FORMING OF SYMBIOTIC APPARATUS OF ALFALFA PLANTS UNDER SALINITY CONDITIONS

L.M. Mykhalkiv, S.Ya. Kots, S.V. Omelchuk, K.A. Mokrytskyi

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

Rhizospheric microorganisms play an important role in the forming of plant's response to stress factors and their adaptation to growing conditions. In this regard, the study and introduction into agricultural practice of microorganisms effective under adverse conditions in order to increase stress resistance and productivity of cultivated plants is becoming particularly relevant today. The aim of the work was to study the effect of fungi of the genus *Trichoderma* and presowing inoculation of seeds with nodule bacteria on the growth and forming of symbiotic apparatus of alfalfa plants under the influence of chloride salinity. Alfalfa plants of the Nadezhda cultivar, *Sinorhizobium meliloti* AC88 strain, and the commercial preparation «Trichoderma» based on the fungus *Trichoderma lignorum* were used. Under the conditions of the pot experiment with autumn sowing of alfalfa, the aboveground part and roots weight, plant height and root length, as well as the features of the nodules formation on the roots of plants were investigated. Salt tolerance was evaluated, as well as the ratio of root weight to aboveground weight of alfalfa. Obtained results showed that, despite the positive effect on root length and weight, as well as plant height, the use of trichoderma was generally less effective than presowing seed inoculation with rhizobia. At the same time, the combined use of both these microorganisms led to decrease of the nodulation activity of nodule bacteria and their stimulating effect on the growth and development

of alfalfa, especially under salinity conditions. The use of microorganisms, primarily rhizobia, contributed to an increase in the root/shoot ratio, which is of particular importance for improving alfalfa nutrition and increasing its yield in the next growing season. Given the ambiguity of the literature data and the effects we obtained, it becomes obvious that further research into the combined action of trichoderma and rhizobia on the forming of alfalfa symbiotic systems and its productivity, taking into account the effects of various factors, is necessary.

Key words: Medicago sativa L., *Trichoderma lignorum*, *Sinorhizobium meliloti*, growth, weight, nodules, salinity, salt tolerance.

ORCID

Л.М. МИХАЛКІВ — L.M. Mykhalkiv https://orcid.org/0000-0001-7488-4804

С.Я. КОЦЬ — S.Ya. Kots https://orcid.org/0000-0002-3477-793X

С.В. ОМЕЛЬЧУК — S.V. Omelchuk https://orcid.org/0009-0007-1265-1862

К.А. МОКРИЦЬКИЙ — K.A. Mokrytskyi https://orcid.org/0000-0002-3920-951X