

КОНКУРЕНТОСПРОМОЖНІСТЬ ШТАМІВ БУЛЬБОЧКОВИХ БАКТЕРІЙ СОЇ З ПОВІЛЬНИМ ТА ІНТЕНСИВНИМ РОСТОМ

Крутило Д.В.

Інститут сільськогосподарської мікробіології НААН,
вул. Шевченка, 97, м. Чернігів, 14027
E-mail: krutilod@mail.ru

*Отримано імунну антисироватку до інтенсивнорослого штаму бульбочкових бактерій сої *Bradyrhizobium sp. KB11*, яка може бути використана для вивчення конкурентоспроможності цього штаму та для його моніторингу при інтродукції в агроценози сої. Показано, що при вирощуванні сої на стерильному вермикуліті повільнорослий штам *V. japonicum M8* утворював 41,7 % бульбочок, тоді як конкурентоспроможність штаму *Bradyrhizobium sp. KB11* становила 58,3 %. В умовах польового дослідження, навпаки, конкурентоспроможність штаму *V. japonicum M8*, в середньому за вегетаційний період, дорівнювала 70,0 %, а штаму *Bradyrhizobium sp. KB11* – 30,0 %. Спільна інокуляція насіння сої штамами з повільним та інтенсивним ростом виявилася ефективнішою (урожайність сої збільшувалася на 10,6–12,9 %) порівняно з моноінокуляцією.*

Ключові слова: бульбочкові бактерії, конкурентоспроможність, соя, симбіотична система.

Відомо, що однією із провідних зернобобових культур світу є соя. Останнім часом спостерігається підвищений інтерес до вирощування сої, а також стабільна тенденція щодо збільшення її посівів в Україні. Так, у 2010–2011 роках посівні площі сої становили більше 1 млн га. Проте, реалізація генетичного потенціалу сучасних сортів залишається доволі низькою, а середня урожайність культури за останні три роки не перевищувала 1,68 т/га. Тому важливим завданням сьогодення є збільшення урожайності сої [1].

Як і всі бобові соя здатна фіксувати атмосферний азот разом із специфічними бульбочковими бактеріями. Слід підкреслити, що накопичення біологічного азоту соєю відбувається лише за наявності у ґрунті популяцій симбіотично активних ризобій сої. Одним із реальних прийомів підвищення симбіотичної азотфіксації є використання препаратів на основі вискоелективних штамів

бульбочкових бактерій сої.

Раніше нами було показано, що великі за розмірами популяції бульбочкових бактерій сої трапляються в ґрунтах полів, де сою вирощують регулярно і застосовують біопрепарати. Також встановлено, що із зростанням щільності місцевих популяцій ризобій спостерігається тенденція щодо збільшення в них частки неактивних штамів [2]. Разом із тим добре відомо, що ефект від застосування біопрепаратів при вирощуванні сої суттєво залежить від активності штамів-інокулянтів та їхньої конкурентоспроможності [3].

При вивченні поширення та біологічної різноманітності бульбочкових бактерій сої в різних регіонах України нами вперше серед мікосимбіонтів сої було виявлено штами з інтенсивним ростом. Ці штами мають комплекс характерних ознак і суттєво відрізняються від типових повільнорослих ризобій сої за морфолого-культуральними, фізіологічними, хемотаксономічними властивостями, а також за серологічними ознаками. Крім того, важливо відмітити, що штами з інтенсивним ростом доволі часто домінують у місцевих популяціях ризобій сої різних регіонів України [4, 5]. Зважаючи на те, що основними біоагентами мікробних препаратів на основі бульбочкових бактерій, які застосовуються при вирощуванні сої, є повільнорослі штами ризобій, важливо дослідити їхні конкурентні взаємовідносини з інтенсивнорослими штамами.

Одним із методів, що використовується при вивченні конкурентоспроможності бульбочкових бактерій, є серологічний. Враховуючи вищезазначене, метою нашої роботи було отримати імунну антисироватку до інтенсивнорослого штаму бульбочкових бактерій *Bradyrhizobium sp.* KB11, вивчити конкурентоспроможність штамів ризобій сої з різною швидкістю росту та оцінити ефективність спільної інокуляції сої цими штамами.

Матеріали і методи. Об'єктами досліджень були штами бульбочкових бактерій сої з повільним (*Bradyrhizobium japonicum* M8) та інтенсивним (*Bradyrhizobium sp.* KB11) ростом, які зберігаються в Колекції корисних ґрунтових мікроорганізмів ІСГМ НААН, антисироватки до цих штамів, а також рослини сої сорту Устя.

Поліклональну імунну О-антисироватку до інтенсивнорослого штаму бульбочкових бактерій сої *Bradyrhizobium sp.* KB11

отримували за методикою ВНДІСГМ [6] у нашій модифікації. Ризо-бії вирощували на агаризованому бобовому середовищі при 28 °С. У логарифмічній фазі росту бактеріальну масу змивали зі скосів агару фізіологічним розчином, осаджували центрифугуванням. До осаду клітин бульбочкових бактерій додавали 5 мл фізіологічного розчину та 5 мл 2,5 % розчину глутарового альдегіду і на добу залишали у холодильній камері. Через добу бактеріальні клітини (антиген) відмивали від глутарового альдегіду фізіологічним розчином шляхом центрифугування. Осад ресуспендували фізіологічним розчином і доводили титр антигену до $2 \cdot 10^9$ клітин/мл.

Нами була розроблена схема імунізації кролів, яка включала 6 ін'єкцій (з тижневим інтервалом) зростаючою дозою антигену з наступною реімунізацією через 45 діб (5 ін'єкцій). Введення антигену підшкірно проводили із застосуванням повного ад'юванта Фрейнда. Титр антисироватки визначали у реакції аглютинації.

У своїх дослідженнях ми також використовували антисироватку до повільнорослого штаму *B. japonicum* М8, люб'язно надану нам співробітниками лабораторії трансформації азоту і фосфору ІСГМ НААН [7].

Специфічність антисироваток перевіряли у перехресній реакції аглютинації за методом Грубера-Відаля [8]. Як антигени використовували повільно- та швидкорослі бульбочкові бактерії різних видів та родів, що зберігаються у Колекції корисних ґрунтових мікроорганізмів інституту. Бактеріальну масу досліджуваних штамів змивали зі скосів агару фізіологічним розчином, осаджували центрифугуванням за 4000 об./хвилину протягом 20 хвилин і двічі відмивали у такому ж режимі. Титр антигенів для реакції аглютинації становив 10^6 клітин/мл.

Конкурентоспроможність повільнорослого штаму *B. japonicum* М8 та інтенсивнорослого штаму КВ11 вивчали у вегетаційному досліді та у польових умовах в зоні Полісся України згідно із загальноіснуючими правилами. Вегетаційний дослід проводили на безазотному субстраті (вермикуліт), зволоженому 0,2 % розчином K_2HPO_4 . Польовий дослід проводили на дерново-підзолистому супіщаному ґрунті ($\text{pH}_{\text{вод}}$ – 6,2; вміст гумусу 1,0 %; азоту, що легко гідролізується (за Тюрніним і Коновою) – 55,0–57,0 мг; P_2O_5 – 150,0–155,0 мг і K_2O (за Кірсановим) – 90,0–102,0 мг на 1 кг ґрунту), в якому відсутня місцева популяція бульбочкових бактерій сої.

У дослідях використовували сою сорту Устя. Інокуляційне навантаження при передпосівній бактеризації насіння в усіх варіантах становило 200–300 клітин на 1 насінину. У варіанті зі спільною інокуляцією сої повільно- та інтенсивнорослим штамми ризобій їх співвідношення було 50:50. У польовому досліді у фазах бутонізації, цвітіння та наливу бобів підраховували кількість бульбочок, визначали їхню масу і нітрогеназну активність. Наприкінці вегетації визначали насінневу продуктивність сої.

Конкурентоспроможність досліджуваних штамів (відношення кількості утворених штамом бульбочок до загальної кількості досліджених бульбочок із кожного варіанту, виражене у відсотках) визначали за допомогою реакції аглютинації. Для встановлення серологічної належності штамів бульбочкових бактерій сої відібрані бульбочки ретельно промивали водогінною водою. Кожну бульбочку роздавлювали у пеніциліновому флаконі із 1–2 мл фізіологічного розчину. Отриманий гомогенат використовували як антиген у реакції аглютинації. З кожного варіанту аналізували 200–240 бульбочок. Позитивний результат серологічних реакцій позначали знаком «+». У реакції аглютинації обов'язково був контроль – фізіологічний розчин+антиген (гомогенат бульбочок). Додатковим контролем слугував варіант – антисироватка+антиген (приготовлений із чистої культури бульбочкових бактерій, проти якої отримана антисироватка).

Активність симбіотичної азотфіксації визначали ацетиленовим методом [9] на газовому хроматографі «Chrom-4» з полум'яно-іонізаційним детектором (колонка з β - β' оксидіпропіонітрилом). Температура термостату 50 °С. Витрата газів: водню – 30 мл/хв, азоту – 100 мл/хв, повітря – 500 мл/хв.

Статистичну обробку експериментальних даних проводили за загальноприйнятими методами [10] та застосовували комп'ютерну програму Statistica 6.0.

Результати та обговорення. Із застосуванням модифікованої схеми імунізації кролів нами отримано імунну антисироватку до штаму бульбочкових бактерій сої *Bradyrhizobium* sp. KB11. Титр антисироватки в реакції аглютинації становив 1:2560. Робоче розведення 1:200.

Специфічність антисироватки перевіряли у перехресній реакції аглютинації зі штамми бульбочкових бактерій, які належали до різних видів. Як видно з даних табл. 1, антисироватка KB11

не реагувала з більшістю досліджених штамів – представників трьох родів бульбочкових бактерій: *Rhizobium*, *Mesorhizobium* та *Sinorhizobium*. Виключення становили лише штами бульбочкових бактерій люпину, які проявляли слабку позитивну реакцію із отриманою антисироваткою у низьких розведеннях (до 1:50). Даний факт можна пояснити наявністю загальних соматичних антигенних детермінантів у ризобій люпину та штаму *Bradyrhizobium sp.* KB11.

Таблиця 1. Реакція культуральних антигенів штамів бульбочкових бактерій

Антигени (штами мікроорганізмів)	Рослина-господар	Антисироватка	
		KB11	M8
<i>Rhizobium simplex</i> шт. 820	<i>Onobrychis viciifolia</i>	–	–
<i>Rhizobium leguminosarum</i> <i>bv. viceae</i> шт. 250a	<i>Pisum sativum</i>	–	–
<i>Rhizobium leguminosarum</i> <i>bv. viceae</i> шт. 0419	<i>Faba bona</i>	–	–
<i>Rhizobium leguminosarum</i> <i>bv. viceae</i> шт. Ч14	<i>Carpodacus erythrina</i>	–	–
<i>Rhizobium trifolii</i> шт. 1326	<i>Trifolium pratense</i>	–	–
<i>Rhizobium galegae</i> шт. 0703	<i>Galega orientalis</i>	–	–
<i>Sinorhizobium meliloti</i> шт. 425a	<i>Medicago sativa</i>	–	–
<i>Mesorhizobium ciceri</i> шт. 522, 065, H12	<i>Cicer arietinum</i>	–	–
<i>Rhizobium lupini</i> шт. 367a, 5500/4, 4042 ₂ , 3a, 5л, 5854 ₃ , 8л	<i>Lupinus album</i>	+ до 1:50	–
<i>Rhizobium phaseoli</i> шт. ФБ1 700, Н6, ФБ2, ФБ3, ФБ4, ФА1, ФД1, ФД2, ФД3, ФД4	<i>Phaseolus vulgaris</i>	–	–
<i>Bradyrhizobium sp. (Vigna)</i> шт. В1, В2, В3, В4	<i>Vigna inguiculata</i>	–	–
<i>Bradyrhizobium sp. (Desmodium)</i> шт. 1, 2, 3	<i>Desmodium canadensis</i>	–	–

Показано, що антисироватка KB11 не реагує з жодним із повільнорослих штамів бульбочкових бактерій сої (табл. 2). Слід звернути увагу на те, що усі інтенсивнорослі штами бульбочкових сої різного еколого-географічного походження виявилися серологічно спорідненими до штаму *Bradyrhizobium sp.* KB11, до якого

отримано антисироватку. Тобто, усі досліджені штами ризобій сої з інтенсивним ростом належать до однієї серогрупи.

Таким чином, із застосуванням розробленої схеми імунізації кролів нами отримано імунну антисироватку до інтенсивнорослого штаму бульбочкових бактерій сої *Bradyrhizobium sp.* KB11, яка була використана для вивчення конкурентоспроможності цього штаму при взаємодії з соєю.

Таблиця 2. Реакція культуральних антигенів штамів бульбочкових бактерій сої з різною швидкістю росту

Штами мікроорганізмів	Антисироватка		Штами мікроорганізмів	Антисироватка		Штами мікроорганізмів	Антисироватка	
	KB11	M8		KB11	M8		KB11	M8
повільнорослі ризобії сої <i>B. japonicum</i>			повільнорослі ризобії сої <i>B. japonicum</i>			інтенсивнорослі ризобії сої <i>Bradyrhizobium sp.</i>		
6346	–	–	M8	–	+++	KB11	+++	–
46	–	–	43	–	+++	C1KB	+++	–
КН10	–	–	КС2-3	–	+++	КС1-9	+++	–
5Н	–	–	КС3-5	–	+++	КС1-91	+++	–
6Н	–	–	КС1-3	–	+++	КС2-2	+++	–
КН9	–	–	КС1-5	–	+++	К22	+++	–
СН1	–	–	22	–	+++	СК1	+++	–
СН2	–	–	Д2	–	+++	СК2	+++	–
СН5	–	–	AmBP	–	–	X1	+++	–
СН11	–	–	X9	–	–	X3	+++	–
KB2-9	–	–	Л8	–	–	X5	+++	–
Ки1	–	–	АС	–	–	СК5	+++	–
Ки2	–	–	12	–	–	СК7	+++	–
Ки4	–	–	9/2	–	–	СК8	+++	–
9	–	–	14	–	–	СК9	+++	–

Примітка. +++ ступінь аглютинації.

При вивченні специфічності антисироватки до повільнорослого штаму бульбочкових бактерій сої *B. japonicum* M8 встановлено, що вона не реагує із штамми, які належать до філогенетично віддалених ризобій родів *Rhizobium*, *Sinorhizobium* та *Mezorhizobium* (табл. 1). Основна частина повільнорослих штамів бульбочкових бактерій сої та усі інтенсивнорослі штами

виявилися серологічно відмінними від штаму *B. japonicum* M8. До серогрупи M8 були віднесені сім повільнорослих ризобій сої *B. japonicum* 43, КС2-3, КС3-5, КС1-3, КС1-5, 22 та Д2 (табл. 2).

Отже, обидві антисироватки (як до інтенсивнорослого штаму бульбочкових бактерій сої *Bradyrhizobium sp.* KB11, так і до повільнорослого штаму *B. japonicum* M8) можна використовувати для вивчення конкурентних взаємовідносин штамів за умови відсутності у ґрунті серологічно ідентичних ризобій.

На початковому етапі ми досліджували конкурентоспроможність зазначених штамів у вегетаційному досліді на стерильному безазотистому субстраті (вермикуліт). Як видно з даних табл. 3, у контрольному варіанті без інокуляції бульбочки на коренях рослин були відсутні. За контрольованих умов у варіантах із моноінокуляцією як повільнорослим штамом, так і інтенсивнорослим штамом усі 100,0 % бульбочок були утворені за участі відповідного штаму. При спільній обробці насіння сої обома штамми у рівному співвідношенні інтенсивнорослий штам *Bradyrhizobium sp.* KB11 виявився більш конкурентоспроможним (КС=58,3 %), ніж повільнорослий штам *B. japonicum* M8 (КС=41,7 %).

Таблиця 3. Конкурентоспроможність бульбочкових бактерій сої з повільним та інтенсивним ростом (вегетаційний дослід, вермикуліт)

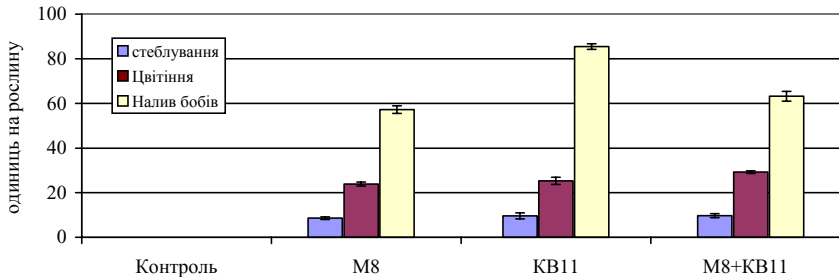
Варіанти дослідів	Кількість бульбочок, утворених штамом, %	
	M8	KB11
Контроль (без інокуляції)	0	0
Інокуляція <i>B. japonicum</i> M8	100,0	0
Інокуляція <i>Bradyrhizobium sp.</i> KB11	0	100,0
Інокуляція <i>B. japonicum</i> M8+ <i>Bradyrhizobium sp.</i> KB11	41,7	58,3

Оскільки відомо, що на конкурентоспроможність бульбочкових бактерій суттєво впливають едафічні фактори (рівень рН, вологість та температура ґрунту), а також ризосферна мікробіота [11], то наші дослідження були продовжені у польовому досліді на дерново-підзолистому ґрунті.

Аналіз показників бульбочкоутворення показав, що за

відсутності специфічних мікросимбіонтів сої у ґрунті в усіх варіантах з інокуляцією спостерігалось інтенсивне інфікування кореневої системи рослин інтродукованими ризобіями (рис. 1). У контрольному варіанті (без обробки) кореневі бульбочки були відсутні.

Рис. 1. Вплив спільної інокуляції повільно-



та інтенсивнорослими штамами ризобій на кількість корневих бульбочок сої (польовий дослід)

На початкових етапах онтогенезу помітної різниці між варіантами за цим показником не виявлено. У фазу цвітіння у варіанті із спільною інокуляцією повільнорослим штамом *B. japonicum* M8 та інтенсивнорослим штамом *Bradyrhizobium sp.* KB11 кількість бульбочок була достовірно більшою (на 10–22 %) порівняно з моноінокуляцією. Однак у фазу наливу бобів найвищий рівень бульбочкоутворення відмічено у варіанті з інтенсивнорослим штамом *Bradyrhizobium sp.* KB11.

Результати серологічного аналізу бульбочок свідчать, що, на відміну від вегетаційного дослідження, у польових умовах за сумісної інокуляції досліджуваними штамми конкурентоспроможнішим виявився повільнорослий штам *B. japonicum* M8 (табл. 4). Залежно від фази розвитку сої він утворював на коренях рослин 67,9–73,3 % бульбочок. Штам з інтенсивним ростом *Bradyrhizobium sp.* KB11 виявлено лише у 26,7–32,1 % бульбочок. Отже, рівень конкурентоспроможності штамів бульбочкових бактерій може змінюватися залежно від фізико-хімічних та біологічних факторів середовища. Аналогічні результати були отримані іншими дослідниками при вивченні симбіотичних властивостей ризобій гороху, конюшини та сої [11, 12].

Таблиця 4. Конкурентоспроможність бульбочкових бактерій сої з повільним та інтенсивним ростом (польовий дослід, дерново-підзолистий ґрунт)

Варіанти досліду	Стеблування		Цвітіння		Налив бобів	
	кількість бульбочок, утворених штамом, %					
	M8	KB11	M8	KB11	M8	KB11
Контроль (без інокуляції)	0	0	0	0	0	0
Інокуляція <i>B. japonicum</i> M8	100,0	0	100,0	0	100,0	0
Інокуляція <i>Bradyrhizobium sp.</i> KB11	0	100,0	0	100,0	0	100,0
Інокуляція <i>B. japonicum</i> M8+ <i>Bradyrhizobium sp.</i> KB11	67,9	32,1	73,3	26,7	68,8	31,2

Слід зазначити, що спільна інокуляція повільно- та інтенсивнорослим штамом виявилася ефективнішою порівняно з моноінокуляцією за впливом на наростання маси бульбочок (рис. 2). Залежно від фази розвитку рослин у варіанті з сумісною інокуляцією двома штамми маса бульбочок була на 14–37 % більшою, ніж у варіантах із моноінокуляцією. Свого максимуму цей показник сягав у фазу наливу бобів.

Найвищий рівень симбіотичної азотфіксації також відмічено за спільного впливу повільно- та інтенсивнорослого штамів бульбочкових бактерій сої (рис. 3). У фазі цвітіння і наливу бобів у комбінації *B. japonicum* M8+*Bradyrhizobium sp.* KB11 кількість фіксованого азоту була достовірно більшою на 14,7–24,2 % порівняно з моноінокуляцією.

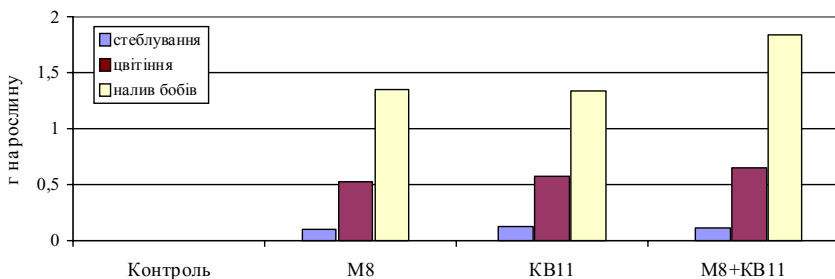


Рис. 2. Вплив спільної інокуляції повільно- та інтенсивнорослими штамми ризобій на формування маси корневих бульбочок сої (польовий дослід, дерново-підзолистий ґрунт). 1 – стеблування ($НІР_{05}=0,02$), 2 – цвітіння ($НІР_{05}=0,05$), 3 – налив бобів ($НІР_{05}=0,08$)

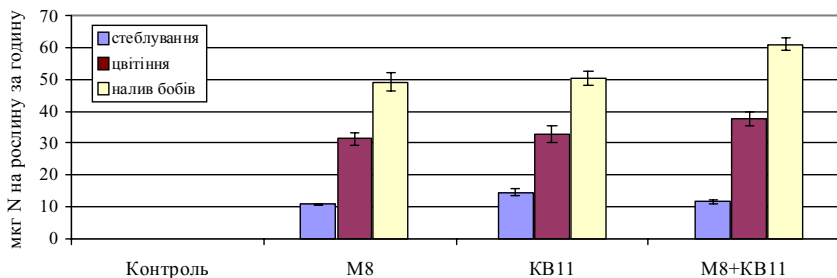


Рис. 3. Вплив спільної інокуляції повільно- та інтенсивнорослими штамами бульбочкових бактерій на активність симбіотичної азотфіксації сої (польовий дослід, дерново-підзолистий ґрунт)

Отже, нами виявлено, що за сумісної дії штамів із різною швидкістю росту підвищується реакція рослин на інфікування ризобіями, в результаті чого інокуляційний процес розвивається інтенсивніше порівняно із застосуванням штамів окремо.

Як видно з даних табл. 5, обробка насіння досліджуваними штамами сприяла збільшенню продуктивності сої на 0,67–1,11 т/га порівняно з варіантом без бактеризації. У варіантах із бінарною інокуляцією повільно- та інтенсивнорослим штамами (*B. japonicum* M8+*Bradyrhizobium sp.* KB11) відмічено достовірний приріст урожайності сої сорту Устя на 10,6–12,9 % порівняно з моноінокуляцією.

Таблиця 5. Вплив спільної інокуляції повільно- та інтенсивнорослими штамами ризобій на насінневу продуктивність сої сорту Устя (польовий дослід, дерново-підзолистий ґрунт)

Варіанти дослідів	Урожайність, т/га	Приріст урожаю, %		
		до контролю	до шт. M8	до шт. KB11
Контроль (без інокуляції)	2,03	100,0	—	—
Інокуляція <i>B. japonicum</i> M8	2,78	136,9	100,0	97,9
Інокуляція <i>Bradyrhizobium sp.</i> KB11	2,84	139,9	102,2	100,0
Інокуляція <i>B. japonicum</i> M8+ <i>Bradyrhizobium sp.</i> KB11	3,14	154,7	112,9	110,6
НІР ₀₅	0,22			

Таким чином, із застосуванням розробленої схеми імунізації кролів отримано імунну антисироватку до інтенсивнорослого штаму бульбочкових бактерій сої *Bradyrhizobium sp.* KB11, яка може бути використана для вивчення конкурентоспроможності цього штаму та для його моніторингу при інтродукції в агроценози сої. Показано, що конкурентоспроможність штамів бульбочкових бактерій сої з різною швидкістю росту змінюється залежно від фізико-хімічних та біологічних факторів середовища. За контрольованих умов вегетаційного дослідження повільнорослий штам *V japonicum* M8 утворював 41,7 % бульбочок, тоді як конкурентоспроможність штаму *Bradyrhizobium sp.* KB11 становила 58,3 %. У польових умовах це співвідношення змінилося: конкурентоспроможність штаму *V japonicum* M8, в середньому за вегетаційний період, дорівнювала 70,0 %, а штаму *Bradyrhizobium sp.* KB11 – 30,0 %.

Встановлено, що спільна інокуляція насіння сої штамами з повільним та інтенсивним ростом є ефективнішою (урожайність сої збільшується на 10,6–12,9 %) порівняно з моноінокуляцією.

Подальші дослідження конкурентних взаємовідносин штамів мікросимбіонтів сої з різною швидкістю росту дозволять глибше розкрити особливості формування та функціонування симбіотичних систем цієї рослини за сумісного інфікування ризобіями як за відсутності у ґрунті специфічних мікроорганізмів, так і на фоні місцевих популяцій ризобій сої.

1. Рябуха С.С. Фітосанітарний стан насіння сої у східній частині лісостепу України /С.С. Рябуха, Т.В. Сокол, С.Г. Понуренко О.П. Адаменко //Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Серія «Ентомологія та фітопатологія». – 2010. – № 1. – С. 104–108.

2. Крутило Д.В. Поширення та екологічні особливості бульбочкових бактерій сої в різних регіонах України: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.16 «Екологія» /Д.В. Крутило. – К., 2006. – 22 с.

3. Spaink H. *Rhizobiaceae: molecular biology of model plant-associated bacteria* /Spaink H., Kondorosi A., Ноукаас Р.; пер. с англ. И.А. Тихоновича и Н.А. Проворова. – С.Пб, 2002. – 568 с.

4. Патица В.П. Фенотипні та генотипні ознаки бульбочкових бактерій сої, поширених у ґрунтах України /В.П. Патица, Д.В. Крутило, О.В. Надкернична [та ін.] //Доп. НАН України. – 2010. – № 8. – С. 167.

5. Крутило Д.В. Біологічна різноманітність бульбочкових бактерій сої в ґрунтах України /Д.В. Крутило, О.В. Надкернична, Т.М. Ковалевська, В.П. Патица //Мікробіол. журн. – 2008. – Т. 70, № 6. – С. 27–34.

6. Берестецкий О.А. Методические рекомендации по получению

новых штаммов клубеньковых бактерий и оценке их эффективности /О.А. Берестецкий. – Л., 1979. – 33 с.

7. Комок М.С. Застосування реакції аглютинації для ідентифікації *Bradyrhizobium japonicum* М 8 /М.С. Комок, І.В. Волкова, В.В. Волкогон //С.-г. мікробіологія. – 2009. – Вип. 9. – С. 115–124.

8. Кэбот Э. Экспериментальная иммунология /Э. Кэбот, Б. Мейер. – М.: Медицина, 1968. – 677 с.

9. Hardy R.W.F. The acetylene-ethylene assay for N₂-fixation: Laboratory and field evaluation /R.W.F. Hardy, R.D. Holsten, E.K. Jackson, R.C. Burns // Plant Physiol. – 1968. – Vol. 43, № 8. – P. 1185–1207.

10. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта /Б.А. Доспехов. – М.: Агропромиздат, 1985. – 352 с.

11. Чундерова А.И. О взаимоотношениях клубеньковых бактерий с растением-хозяином и перспективах повышения эффективности симбиоза / Чундерова А.И. //Тр. ВНИИСХМ. – Л., 1985. – Т. 50. – С. 7–29.

12. Васильева Н.Д. Серологическое разнообразие клубеньковых бактерий *Rhizobium japonicum* в почвах СССР и селекция эффективных конкурентоспособных штаммов: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.07 «Микробиология» /Н.Д. Васильева. – Л., 1985. – 17 с.

КОНКУРЕНТОСПОСОБНОСТЬ ШТАММОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ С МЕДЛЕННЫМ И ИНТЕНСИВНЫМ РОСТОМ

Крутило Д.В.

Институт сельскохозяйственной микробиологии НААН,
г. Чернигов

Получена иммунная антисыворотка к интенсивнорастущему штамму клубеньковых бактерий *soi Bradyrhizobium sp. KB11*, которая может быть использована для изучения конкурентоспособности этого штамма и для его мониторинга при интродукции в агроценозы *soi*. Показано, что при выращивании *soi* на стерильном вермикулите медленнорастущий штамм *V japonicum M8* образовывал 41,7% клубеньков, тогда как конкурентоспособность штамма *Bradyrhizobium sp. KB11* составила 58,3%. В условиях полевого опыта, наоборот, конкурентоспособность *V japonicum M8*, в среднем за вегетационный период, равнялась 70,0%, а штамм *Bradyrhizobium sp. KB11* – 30,0%. Совместная инокуляция семян *soi* штаммами с медленным и интенсивным ростом оказалась более эффективной (урожайность *soi* увеличивалась на 10,6–12,9%) в сравнении с моноинокуляцией.

Ключевые слова: клубеньковые бактерии, конкурентоспособность, *soi*, симбиотическая система.

THE COMPETITIVENESS OF SOYBEAN NODULE BACTERIA STRAINS WITH SLOW AND INTENSIVE GROWTH RATES

Krutylo D.V.

Institute of Agricultural Microbiology NAAS, Chernihiv

The immune antiserum was obtained to the intensive growing strain of soybean nodule bacteria Bradyrhizobium sp. KB11, which can be used for the competitiveness study of this strain and its monitoring at introduction to soybean agrocenosis. It was shown, that at growing of soybean on the sterile vermiculite the slow growing strain B japonicum M8 have formed 41,7 % nodules, while competitiveness of the strain Bradyrhizobium sp. KB11 was 58,3 %. In the field conditions, vice versa, the competitiveness of the strain B japonicum M8 (average for vegetation period) was 70,0 %, with 30 % for the strain Bradyrhizobium sp. KB11. Co-inoculation of soybean seeds with the strains of both growth types appeared to form the most effective symbiosis (the productivity of soybean crop has increased on 10,6–12,9 %) in comparison to mono inoculation.

Key words: *nodule bacteria, competitiveness, soybean, symbiotic system.*