

УДК 581.557:631.461.5

ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ ТА ФУНКЦІОНУВАННЯ СОЄВО-РИЗОБІАЛЬНОГО СИМБІОЗУ ПРИ ВИКОРИСТАННІ НОВИХ КУЛЬТУР *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*

С. К. Береговенко¹, П. П. Пухтаєвич¹, Р. А. Якимчук²

¹Інститут фізіології рослин і генетики НАН України
вул. Васильківська, 31/17; м. Київ, 03022, Україна; e-mail: azot@ifrg.kiev.ua

²Уманський державний педагогічний університет імені Павла Тичини
вул. Садова, 2; м. Умань, Черкаська область, 20300, Україна

У польових умовах досліджено нодуляційну та азотфіксувальну активність нових аналітично селекціонованих культур *Bradyrhizobium japonicum* AC-15, AC512, PC-18, а також продуктивність двох сортів сої Алмаз та Васильківська за інокуляції цими штамми. Доведено, що штам *B. japonicum* AC512 є найбільш ефективним при формуванні симбіозу із соєю, забезпечує істотний приріст урожаю зерна (10,7–11,5 %) у порівнянні з виробничим штамом Б34б. Селекціонований штам є висококонкурентоздатним (92 %) та технологічним, а відповідно перспективним біологічним агентом для виготовлення бактеріальних добрив під сою.

Ключові слова: соя (*Glycine max* (L) Merrill), симбіоз, ризобії, азотфіксувальна активність, штам, урожай.

Для підвищення продуктивності основних сільськогосподарських культур у аграрному виробництві довгий час застосовували великі кількості мінеральних добрив, особливо азотних. Однак їх промисловий синтез потребує великих енергетичних та економічних затрат, які призводять до значного здрожчання собівартості кінцевої продукції. У зв'язку з цим, практичне землеробство останнім часом все більше уваги приділяє нетрадиційним заходам інтенсифікації процесу вирощування культурних рослин, серед яких особливе місце належить мікробним препаратам, створеним на основі селекціонованих штамів мікроорганізмів специфічного функціонального спрямування.

У сучасних умовах господарювання розробка екологічно безпечних технологій вирощування бобових культур із максимальним використанням процесу симбіотичної азотфіксації має без перебільшення неоціненне значення [2; 5; 10; 13]. Створення і застосування біопрепаратів на основі азотфіксувальних мікроорганізмів сьогодні є одним із найбільш ефективних прийомів підвищен-

ня продуктивності бобових рослин і якості їх урожаю, який до того ж дозволяє зберегти родючість ґрунтів та екологічну рівновагу навколишнього середовища.

Загальні вимоги створення мікробних препаратів передбачають високий титр активних клітин, конкурентоспроможність, тривалий термін зберігання, транспортабельність, технологічність, а також економічність їх виробництва [3; 14].

Одним із важливих шляхів підвищення ефективності інокулянтів є селекція штамів із покращеними симбіотичними характеристиками та здатністю до виживання у стресових умовах [1; 15; 17; 21]. Експериментальні дані показують, що успішна інокуляція бобових рослин відбувається, коли титр бульбочкових бактерій складає не менше 10^4 клітин на 1 грам ґрунту [10]. Якщо бобову рослину, наприклад сою, висівати у нетрадиційному для неї регіоні, то специфічні ризобії, які здатні утворювати з нею симбіоз, у ґрунті відсутні. Тому для функціонування процесу фіксації атмосферного азоту у цьому разі необхідно обов'язково проводити інокуля-

цію інтродукованих рослин. Це дозволить покращити функціонування рослинно-мікробних систем за умов антропогенного навантаження, дефіциту вологи, високих температур, а також забезпечить можливість запобігти суттєвим втратам врожаю та зниженню показників його якості [6].

Якщо у ґрунті присутні місцеві раси бульбочкових бактерій, то слід враховувати їхню високу гетерогенність, а також можливість одночасного існування як вірулентних, так і фенотиповонаближених до них невірулентних штамів зі значною кількістю рекомбінантних генотипів [11; 12; 20]. Важливу роль у процесі формування структури популяцій бульбочкових бактерій та забезпеченні їх гетерогенності відіграє перенесення плазмід між ними, що сприяє утворенню не менше 100 нових генотипів мікроорганізмів протягом доби. За присутності рослини-хазяїна відбувається різке збільшення чисельності специфічних бульбочкових бактерій, оскільки в ризосфері бобових культур створюються більш сприятливі умови для їх розвитку, ніж у ґрунті, віддаленому від коренів [12; 19].

Слід відзначити, що більшості аборигенних штамів ризобій притаманна низька азотфіксувальна активність, але в той же час вони характеризуються високою агресивністю і конкурентоздатністю. Тому рослини, взаємодіючи з ними, не можуть повністю реалізувати свій потенціал продуктивності. Недостатня конкурентоспроможність штамів бульбочкових бактерій, які використовуються для виготовлення бактеріальних добрив, є серйозною проблемою доцільності застосування передпосівної обробки насіння сої даними біопрепаратами. Здатність рослини-хазяїна вже на стадії преінфекції її коріння ризобіями цілеспрямовано «відбирати» з ґрунту специфічні штами бактерій, в тому числі і ті, що рідко трапляються в популяції ризосферних бульбочкових бактерій, дає змогу вирішити дану проблему [18]. Ці ризобії після виділення із кореневих бульбочок та детального вивчення їх культуральних, фізіолого-біохімічних та симбіотичних властивостей в умовах вегетаційних та польових дослідів, у подальшому можуть бути використані для виготовлення високоефективних бактеріальних добрив під бобові культури [1].

У попередніх дослідженнях було встановлено, що штами *Bradyrhizobium japonicum*

РС-08 та РС-09, створені методом аналітичної селекції, є найбільш ефективними при формуванні симбіозу з соєю сортів Мар'яна та Васильківська та забезпечують істотний приріст урожаю зерна, а тому є перспективними біологічними агентами при виготовленні сучасних бактеріальних добрив під сою [7; 9].

У зв'язку з цим, метою даної роботи було дослідження симбіотичної активності та впливу нових культур *B. japonicum*, створених методами аналітичної селекції, на продуктивність різних сортів сої у польових умовах.

Матеріали і методи. Об'єктами досліджень були нові аналітично селекціоновані культури *B. japonicum* АС-15, АС512, РС-18 з колекції мікроорганізмів відділу симбіотичної азотфіксації Інституту фізіології рослин і генетики НАН України, висока азотфіксувальна активність яких була показана раніше у вегетаційних дослідах. А також сорти сої Васильківська (селекція Одеського Селекційно-генетичного інституту, Інституту землеробства НААН України, ІФРГ НАН України) і Алмаз (селекція Полтавської аграрної академії), ранньостиглі, з нейтральною фотоперіодичною реакцією, холодо- та посухостійкі, з вегетаційним періодом розвитку 100–105 днів.

Польові випробування проводили на дослідній агробіостанції Уманського державного педагогічного університету імені Павла Тичини. Насіння сої висівали на темно-сірому опідзоленому ґрунті, на глибину 3–5 см із розрахунку 600 тис. схожих насінин на 1 га. Облікова площа дослідних ділянок складала 5 м², їх розміщення рендомізоване, повторність — чотирикратна.

Культури мікроорганізмів зберігаються в умовах музею при +4 °С на МДА (манітно-дріжджовий агар). Для відновлення життєдіяльності культур їх вирощували у пробірках на свіжому живильному середовищі МДА.

Для визначення інтенсивності росту досліджуваних культур *B. japonicum* качалочні колби з 350 мл середовища МД (манітно-дріжджове) або КМ (кукурудзяно-мелясне) засівали вихідною бактеріальною суспензією ризобій та культивували протягом зазначеного періоду (1–7 діб) при +28° С за умов аерації при використанні механізованої качалки. Виготовлені препарати на вермикуліті зберігали при кімнатній температурі (+18–20 °С).

Насіння сої перед посівом стерилізували 75 % етанолом і протягом 60 хвилин промивали у проточній воді, після чого обробляли суспензією зазначених вище ризобіальних культур однакової оптичної густини, яка складала 10^8 клітин у 1 мл інокулянту. Бактеріальне навантаження складало 200–300 тис. клітин ризобій на 1 насінину. Контролем слугував штам-стандарт *V. japonicum* 634б.

Конкурентоспроможність нових селекціонованих культур визначали непрямим методом за різницею накопичення маси рослинами за моно- та змішаної інокуляції [7].

Зразки рослин для аналізу азотфіксувальної активності корневих бульбочок ацетиленовим методом [16] відбирали у фазах початку бутонізації та початку цвітіння. Ацетиленвідновлювальну активність визначали на газовому хроматографі «Agilent GC system 6850» (США) з полуменево-іонізаційним детектором. Розділення газів проводили на колонці (Supelco Porapak N) за температури термостата 55 °С і детектора 150 °С. Газом-носієм був гелій (20 мл за 1 хвилину). Об'єм аналізованої проби газової суміші становив 1 см³, як стандарт використовували чистий етилен (Sigma-Aldrich, N 536164, США).

Урожай з дослідних ділянок збирали після досягнення повної стиглості зерна. Результати дослідів опрацьовували статистично [4]. У таблицях представлені середні значення отриманих показників та середньоквадратичні відхилення.

Результати та їх обговорення. Мікробіологічна промисловість при створенні нових біопрепаратів передбачає дотримання ряду важливих умов технології їх виробництва, однією з яких є висока швидкість росту бактерій з певними генетичними властивостями на дешевих субстратах, що забезпечують їх життєдіяльність.

У табл. 1 показана інтенсивність росту бульбочкових бактерій сої на манітно-дріжджовому (МД) та кукурудзяно-мелясовому (КМ) середовищах. Величина титру бактерій усіх дослідних штамів у першу добу інкубації на МД була значно вищою, ніж на КМ субстраті, лише культура ризобій нового штаму АС–15 наростала з однаковою швидкістю незалежно від складу живильного середовища. Незважаючи на високу інтенсивність розмноження усіх бактерій в першу добу, домінував за цим показником виробни-

чий штам *V. japonicum* 634б. Але вже на 7-й день інкубації спостерігалось значне збільшення титру нових селекціонованих штамів порівняно зі штамом-стандартом. Також слід відмітити доцільність використання кукурудзяно-мелясного середовища, як дешевого субстрату, для виготовлення в подальшому бактеріальних препаратів, оскільки титр нових селекціонованих штамів на даному живильному середовищі був досить високим.

Таблиця 1. Інтенсивність росту *V. japonicum* на середовищах із різними джерелами азоту

Культура	Живильне середовище	Тривалість інкубації, діб		
		1	2	7
		КУО на 1 мл		
		10 ⁷	10 ⁹	10 ¹²
634б	МД	250 ± 7	271 ± 13	12 ± 1
	КМ	114 ± 6	128 ± 6	19 ± 2
АС–15	МД	96 ± 3	120 ± 13	35 ± 3
	КМ	95 ± 3	290 ± 19	31 ± 3
АС512	МД	172 ± 2	201 ± 18	34 ± 2
	КМ	51 ± 2	66 ± 2	33 ± 1
РС–18	МД	118 ± 2	151 ± 3	38 ± 4
	КМ	65 ± 4	129 ± 6	32 ± 3

Примітка: МД — манітно-дріжджове середовище; КМ — кукурудзяно-мелясне середовище; КУО — кількість колонієутворюючих одиниць.

У табл. 2 наведено результати зміни титру бульбочкових бактерій сої АС–15, АС512, РС–18 у препаратах на вермикюліті, залежно від терміну зберігання. Дані таблиці свідчать, що ризобії добре приживаються і розмножуються на твердому носії. Через 10 діб титр бактерій збільшився на порядок, протягом наступних 30 діб їх кількість також зростала, але вже не так інтенсивно. Найбільш активно на вермикюліті розмножувався новий штам *V. japonicum* АС512, кількість КУО перевищувала контроль на 56,1 млрд/г.

Важливим етапом дослідження біологічних властивостей бульбочкових бактерій з метою подальшого практичного використання є визначення їх конкурентоспроможності, тобто здатності певного штаму виживати в ґрунті та конкурувати з іншими штамми того ж виду за сайти зв'язування і прикріплення, які локалізовані в клітинах коренів бобо-

Таблиця 2. Титр ризобій сої у вермикультурному препараті залежно від терміну зберігання, КУО млрд/г

Варіанти	Термін зберігання, діб		
	1	10	40
6346	0,11 ± 0,002	7,5 ± 0,08	30,5 ± 1,7
АС-15	0,21 ± 0,008	6,2 ± 0,06	35,6 ± 2,1
АС512	0,76 ± 0,020	7,5 ± 0,30	86,6 ± 7,0
РС-18	0,17 ± 0,006	8,5 ± 0,31	50,5 ± 3,2

вих рослин. До того ж, конкурентоспроможність разом з азотфіксувальною активністю і генетичною сумісністю з рослиною-хазяїном визначає ефективність симбіозу бобових рослин і бульбочкових бактерій [10].

Оскільки відносну конкурентоспроможність *V. jaronicum* визначають за масою сухих рослин при змішаній інокуляції активним і неактивним штамами [7], для створення модельної конкуренції насіння сої інокулювали кожною досліджуваною культурою ризобій окремо або сумішшю нової культури (АС-15, АС512, РС-18) з неактивним штамом (604к). У табл. 3 наведено показники відносної конкурентоспроможності трьох нових культур *V. jaronicum*. Більш конкурентними виявилися ризобії АС512 (92 %) та АС-15 (87 %). Штам РС-18 також мав високу конкурентоздатність (80 %) у порівнянні з контролем, але дещо меншу порівняно з іншими досліджуваними культурами бульбочкових бактерій сої.

Ефективність симбіозу бобових рослин і бульбочкових бактерій визначається за показниками нодуляційної й азотфіксувальної здатності ризобій, а також за його продуктивністю [8; 10]. Подальшою метою роботи було дослідження в польових умовах сим-

біотичної активності двох сортів сої Алмаз та Васильківська за інокуляції новими культурами бульбочкових бактерій.

За даними табл. 4 і 5 у ґрунті, де висівалися дослідні сорти сої, присутні аборигенні раси ризобій. Але кількість і маса утворених ними бульбочок на корінні рослин суттєво поступалися аналогічним показникам варіантів із застосуванням інокулянтів на основі виробничого штаму 6346 та нових штамів АС-15, АС512 і РС-18 *V. jaronicum*. Найбільшою нодуляційною активністю характеризувалися бактеріальні культури АС512 та

Таблиця 3. Вегетативна маса рослин та відносна конкурентоздатність при моно- та змішаній інокуляції сої активним і неактивним штамми *V. jaronicum*

Штами	Маса сухих рослин, г на посудину	Приріст маси сухих рослин, г на посудину		Відносна конкурентоздатність, %
		шт ⁺	шт ⁻	
Контроль (інокуляція 604к)	8,01 ± 0,30			
6346	11,94 ± 0,44	3,94		81
6346 + 604к	11,21 ± 0,42		3,21	
АС-15	11,06 ± 0,30	3,06		87
АС-15 + 604к	10,66 ± 0,46		2,66	
АС512	12,24 ± 0,46	4,24		92
АС512 + 604к	11,89 ± 0,54		3,89	
РС-18	10,14 ± 0,60	2,14		80
РС-18 + 604к	9,72 ± 0,30		1,72	

Таблиця 4. Кількість та маса кореневих бульбочок сої сорту Алмаз за інокуляції новими селекціонованими штамми *V. jaronicum*

Варіанти досліджу	Початок бутонізації		Початок цвітіння	
	Кількість бульбочок, шт.	Маса бульбочок, г	Кількість бульбочок, шт.	Маса бульбочок, г
Контроль (без інокуляції)	7,6 ± 1,11	0,11 ± 0,01	10,50 ± 1,25	0,15 ± 0,04
6346	13,3 ± 1,22	0,19 ± 0,02	23,00 ± 2,12	0,31 ± 0,02
АС-15	15,1 ± 1,30	0,21 ± 0,03	25,95 ± 1,51	0,30 ± 0,02
АС512	22,3 ± 1,74	0,29 ± 0,04	30,25 ± 2,15	0,38 ± 0,03
РС-18	21,1 ± 1,56	0,26 ± 0,02	28,75 ± 1,05	0,35 ± 0,01

Таблиця 5. Кількість та маса корневих бульбочок сої сорту Васильківська за інокуляції новими селекціонованими штамами *V. jarrowii*

Варіанти дослідів	Початок бутонізації		Початок цвітіння	
	Кількість бульбочок, шт.	Маса бульбочок, г	Кількість бульбочок, шт.	Маса бульбочок, г
Контроль (без інокуляції)	8,5 ± 1,20	0,14 ± 0,02	11,0 ± 0,51	0,21 ± 0,02
6346	15,3 ± 1,30	0,20 ± 0,03	18,5 ± 0,65	0,32 ± 0,01
АС-15	11,5 ± 1,70	0,19 ± 0,02	16,8 ± 1,20	0,30 ± 0,02
АС512	20,8 ± 1,13	0,32 ± 0,03	23,0 ± 1,10	0,47 ± 0,05
РС-18	18,8 ± 1,18	0,30 ± 0,02	24,0 ± 1,30	0,39 ± 0,03

РС-18, така закономірність була властива для кількості і маси бульбочок, утворених як на корінні сої сорту Алмаз, так і сорту Васильківська.

За даними, представленими на рис. 1 і 2, ацетиленвідновлювальна активність бульбочок, сформованих місцевими расами ризобій, була вдвічі меншою за показники варіанту із застосуванням виробничого штаму *V. jarrowii* 6346. Тобто в даному випадку ґрунтова мікрофлора не складала суттєвої конкуренції штамам, які застосовувалися для передпосівної бактеризації дослідних рослин.

Найбільша азотфіксувальна активність була притаманна новим аналітично селекціонованим штамам АС512 та РС-18, показники якої для сорту Алмаз у фазу початку бутонізації становили $8,95 \pm 0,43$ і $9,60 \pm$

$0,45$ мкмоль C_2H_4 / росл. × год, а для сорту Васильківська $5,14 \pm 0,28$ й $5,02 \pm 0,29$ мкмоль C_2H_4 / росл. × год відповідно. У фазу початку цвітіння найвищі показники ацетиленвідновлювальної активності були зафіксовані у варіантах із бактеризацією насіння обох сортів сої штамом АС512.

Головним показником ефективності передпосівної бактеризації насіння бобових культур, як відомо, є урожай зерна. Передпосівна бактеризація насіння сої сортів Алмаз і Васильківська виробничим та новими штамами *V. jarrowii* сприяла суттєвому збільшенню її продуктивності (табл. 6, 7). При цьому слід відзначити, що застосування нових селекціонованих ризобій було більш ефективним у порівнянні зі штамом-стандартом 6346. Так, показники урожаю зерна сої сорту

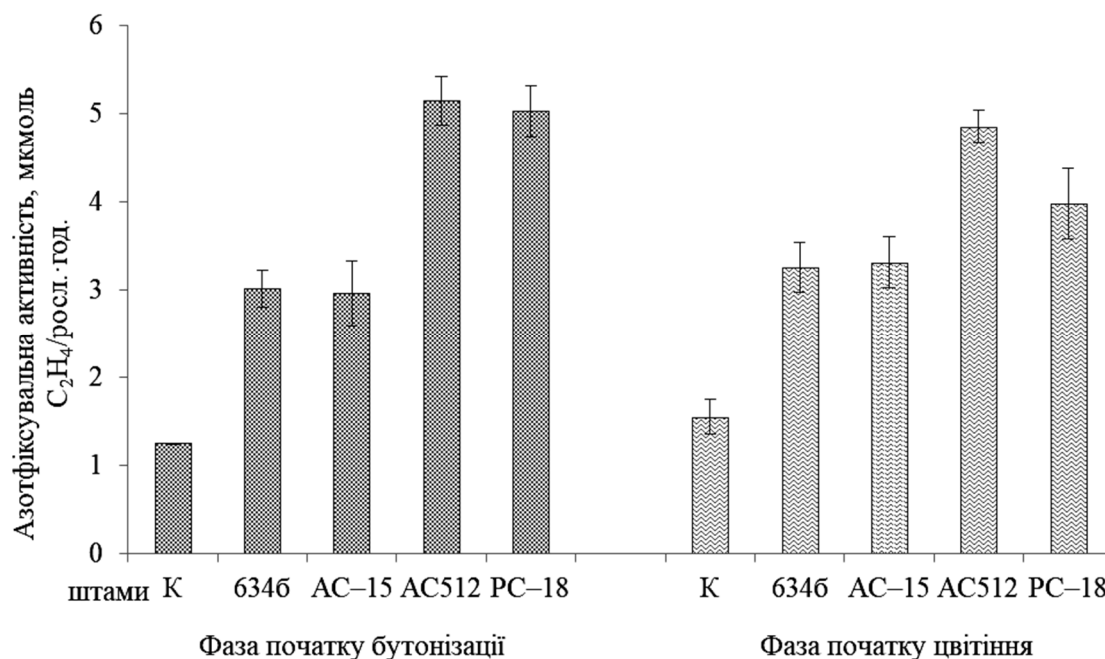


Рис. 1. Азотфіксувальна активність корневих бульбочок сої сорту Васильківська за інокуляції новими селекціонованими штамами *V. jarrowii*. К — контроль (без інокуляції).

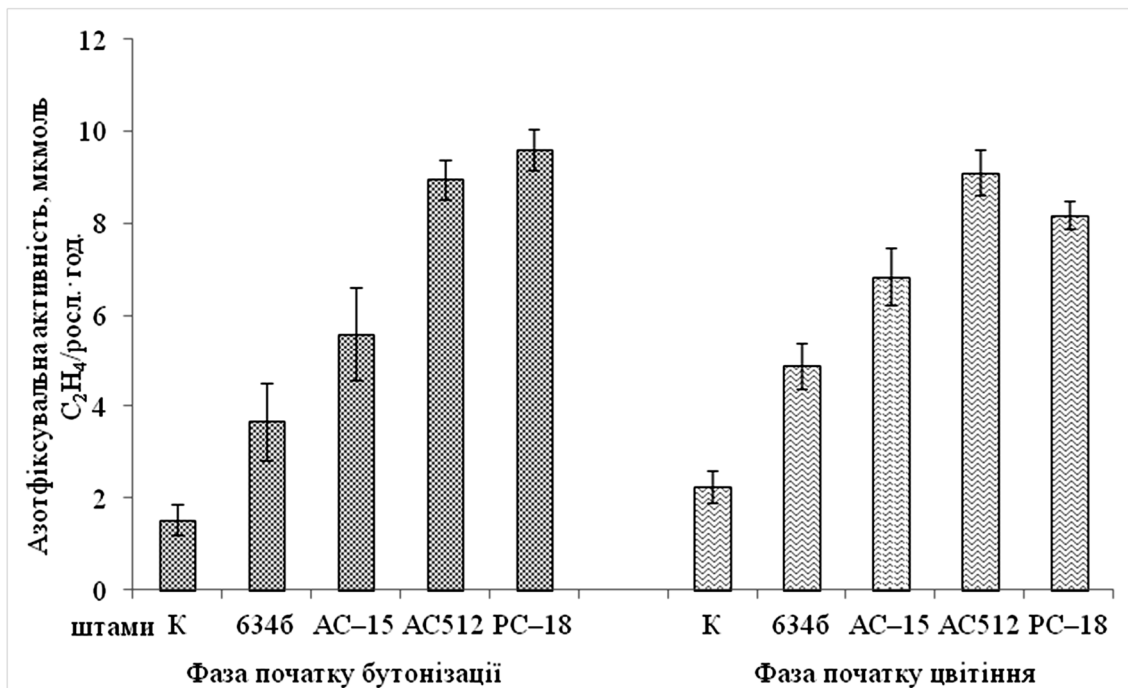


Рис. 2. Азотфіксувальна активність корневих бульбочок сої сорту Алмаз за інокуляції новими селекціонованими штамми *V. жорнісит*. К — контроль (без інокуляції).

Таблиця 6. Вплив інокуляції новими селекціонованими штамми *V. жорнісит* на продуктивність сої сорту Алмаз

Варіанти досліду	Урожай, ц/га	Прибавка до контролю, %	Прибавка до штаму 6346, %
Контроль (без інокуляції)	25,0 ± 0,7	—	—
6346	26,9 ± 0,6	7,6	—
AC-15	27,3 ± 1,1	9,2	1,5
AC512	30,0 ± 0,4	20,0	11,5
PC-18	28,7 ± 0,3	14,8	6,7
HP _{0,05}	2,7		

Таблиця 7. Вплив інокуляції новими селекціонованими штамми *V. жорнісит* на продуктивність сої сорту Васильківська

Варіанти досліду	Урожай, ц/га	Прибавка до контролю, %	Прибавка до штаму 6346, %
Контроль (без інокуляції)	28,5 ± 0,7	—	—
6346	30,8 ± 0,9	8,1	—
AC-15	32,3 ± 0,6	13,3	4,9
AC512	34,1 ± 0,7	19,6	10,7
PC-18	32,7 ± 0,5	14,7	6,2
HP _{0,05}	2,4		

Алмаз за інокуляції бульбочковими бактеріями AC512 достовірно перевищували варіант з інокуляцією виробничим штамом на 11,5 %. За бактеризації насіння вищевказаного сорту культурами *V. жорнісит* AC-15 та PC-18 урожай збільшився відповідно на 1,5 та 6,7 % у порівнянні з інокуляцією штамом 6346.

Порівнюючи урожайність зерна сої сорту Васильківська, інокуюваної новими штамми, з урожаєм у варіанті, де застосовували виробничий штам 6346, достовірний приріст отримали також при використанні бактеріальної культури AC512. Прибавка урожаю зерна від інокуляції штамми ризобій AC-15 й PC-18 знаходилась у межах похибки дослідження і становила відповідно 4,9 та 6,2 %.

Слід зауважити, що новий штам *V. жорнісит* AC512, який використовували для передпосівної бактеризації насіння сої сортів Алмаз і Васильківська, виявився найбільш конкурентоспроможним не тільки у порівнянні з виробничим штамом 6346, а й з аборигенними штамми ґрунтової мікрофлори. Прибавка урожаю при цьому в середньому становила 19,8 %.

Отже, для досягнення найефективнішої реалізації потенціалу симбіотичної азотфіксації необхідно постійно вести координовану селекцію рослин і бульбочкових бактерій, спрямовану на створення комплементарних генотипів мікро- і макросимбіонтів.

Усі нові культури *B. japonicum* за ефективністю і продуктивністю створених ними симбіотичних систем перевищують штам-стандарт 6346. Найефективнішим з них для виготовлення бактеріальних добрив під сою є штам AC512, оскільки урожай зерна збільшується від його застосування на 10,7–11,5 % у порівнянні із виробничим штамом. Конкурентоздатність селекціонованого штаму AC512 становить 92 %.

1. Воробей Н. А. Характеристика бульбочкових бактерій *Sinorhizobium meliloti*, виділених із біоценозів зони Полісся України, за симбіотичними показниками / Воробей Н. А., Коць С. Я. // Физиология растений и генетика. — 2014. — Т. 46, № 6. — С. 525–534.

2. Дідович С. В. Біологічні засоби інтенсифікації симбіотичної азотфіксації у сучасних технологіях вирощування бобових культур / С. В. Дідович, М. З. Толкачев, С. Ф. Абдурашитов // XII з'їзд Товариства мікробіологів України : тез. доп. (Ужгород, 25–30 травня, 2009). — Ужгород : Патент, 2009. — С. 301.

3. Доросинский М. Л. Клубеньковые бактерии и нитрагин / М. Л. Доросинский. — Л. : Колос, 1970. — 191 с.

4. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта / Б. А. Доспехов. — М. : Агропромиздат, 1985. — 351 с.

5. Иванов А. Л. Сельскохозяйственная микробиология и проблемы повышения эффективности и экологической безопасности земледелия на ландшафтной основе / А. Л. Иванов // Тез. докл. Всерос. конф. — СПб., 2001. — С. 9–11.

6. Коць С. Я. Биологическая фиксация азота: бобово-ризобиальный симбиоз / [С. Я. Коць, В. В. Моргун, В. Ф. Патыка и др.]. — К. : Логос, 2011. — Т. 2. — 532 с.

7. Ефективність, конкурентоздатність і технологічність нових аналітично селекціонованих штамів бульбочкових бактерій сої / С. М. Маліченко, С. В. Омельчук, П. М. Маменко, С. Я. Коць // Физиология и биохимия культурных растений. — 2013. — Т. 45, № 1. — С. 53–60.

8. Ефективність симбіотичних систем сої різних груп стиглості за інокуляції Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* / П. М. Маменко, С. М. Маліченко, А. В. Жемойда, Л. Ю. Соболенко // Вісник Харківського національного аграрного університету. Сер. : Біологія. — 2014. — Вип. 2 (32). — С. 56–62.

9. Ефективність симбіозу та продуктивність сої, інокульованої новими аналітично селекціонованими культурами *Bradyrhizobium japonicum* /

[П. М. Маменко, С. М. Маліченко, С. В. Омельчук та ін.] // Вісник Харківського національного аграрного університету. Сер. : Біологія. — 2014. — Вип. 1 (31). — С. 72–78.

10. Біологічний азот / [В. П. Патица, С. Я. Коць, В. В. Волкогон та ін.]. — К. : Світ, 2003. — 422 с.

11. Проворов Н. А. Эволюционная генетика клубеньковых бактерий: молекулярные и популяционные аспекты / Н. А. Проворов, Н. И. Воробьев // Генетика. — 2000. — Т. 36, № 12. — С. 1573–1587.

12. Проворов Н. А. Микроэволюция клубеньковых бактерий при возникновении мутантов с измененной выживаемостью в системе «растение-почва» / Н. А. Проворов, Н. И. Воробьев // Генетика. — 2003. — Т. 39, № 12. — С. 1594–1605.

13. Самошкин В. И. Влияние инокуляции и азота минеральных удобрений на фиксацию соей молекулярного азота / В. И. Самошкин, Н. З. Толкачев // Биологическая фиксация молекулярного азота. — К. : Наук. думка, 1983. — С. 74–76.

14. Хотянович А. В. Методы культивирования бактерий, способы получения и применения препаратов на их основе (методические рекомендации) / А. В. Хотянович. — Л., 1991. — 60 с.

15. Selection of stress-tolerant rhizobial isolates of wild legumes growing in dry regions of Rajasthan, India / S. F. Ali, L. S. Rawat, M. K. Meghvansi, S. K. Mahna // Journal of Agricultural and Biological Science. — 2009. — Vol. 4, № 1. — P. 13–18.

16. 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. <https://doi.org/10.1104/pp.43.8.1185>.

17. O'Hara G. Selection of strains of root nodule bacteria to improve inoculant performance and increase legume productivity in stressful environments / G. O'Hara, R. Yates, J. Howieson // Inoculants and nitrogen fixation of legumes in Vietnam / ed. by D. Herridge. — ACIAR Proceedings, 2002. — Vol. 109 e. — P. 75–80.

18. *Rhizobiaceae*. Молекулярная биология бактерий взаимодействующих с растениями / под ред. Г. Спайнка, А. Кондорози, П. Хукас. — СПб. : ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, 2002. — 567 с.

19. Ecology and evolution of bacterial microdiversity / M. Schlöter, M. Leubhn, T. Heulin, A. Hartmann // FEMS Microbiol. Rev. — 2000. — Vol. 24 (5). — P. 647–660. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2000.tb00564.x>.

20. Young J. P. W. Molecular population genetics and evolution of Rhizobia / J. P. W. Young // The nitrogen fixation and its research in China / ed. Hong G. F. — Verlag Berlin Heidelberg. — 1992. — P. 365–381.

21. Diversity and environmental stress responses of rhizobial bacteria from Egyptian grain legumes / H. H. Zahran, M. Abdel-Fattah, M. M. Yas-

ser, A. M. Mahmoud, E. J. Bedmar // Australian Journal of Basic and Applied Sciences. — 2012. — Vol. 6 (10). — P. 571–583.

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СОЕВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НОВЫХ КУЛЬТУР *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*

С. К. Береговенко¹, П. П. Пухтаевич¹, Р. А. Якимчук²

¹Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, г. Киев

²Уманский государственный педагогический университет имени Павла Тычины, г. Умань

*В полевых условиях исследована нодуляционная и азотфиксирующая активность новых аналитически селекционированных культур *Bradyrhizobium japonicum* AC-15, AC512, PC-18, а также производительность двух сортов сои Алмаз и Васильковская в условиях инокуляции этими штаммами. Показано, что штамм *B. japonicum* AC512 является наиболее эффективным при формировании соево-ризобиального симбиоза, обеспечивает существенный прирост урожая зерна (10,7–11,5 %) по сравнению с производственным штаммом 634b. Селекционированный штамм является высококонкурентоспособным (92 %) и технологичным, а соответственно перспективным биологическим агентом для изготовления бактериальных удобрений под сою.*

Ключевые слова: соя (*Glicine max* (L) Merrill), симбиоз, ризобии, азотфиксирующая активность, штамм, урожай.

PECULIARITIES OF FORMATION AND FUNCTIONING OF SOYBEAN-RHIZOBIAL SYMBIOSIS UNDER THE USE OF NEW *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* CULTURES

S. K. Berehovenko¹, P. P. Pukhtaievych¹, R. Ya. Yakymchuk²

¹Institute of Physiology of Plants and Genetics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

²Uman State Pedagogical University named after Pavlo Tychyna, Uman

*In field conditions, the nodulation and nitrogen-fixing activity of new analytically-selected cultures of *B. japonicum* AC-15, AC512, PC-18, as well as the productivity of two varieties of soybeans Almaz and Vasylykivska under inoculation by these strains was studied. It has been proved that *Bradyrhizobium japonicum* AC512 strain is the most effective in the formation of symbiosis with soybean, it provides a significant increase in grain yield (10.7–11.5 %) compared with the production strain 634b. The selected strain is a highly competitive (92 %) and technologically advanced, and accordingly, promising biological agent for the production of bacterial fertilizers for soybean.*

Key words: soybean (*Glicine max* (L) Merrill), symbiosis, rhizobia, nitrogen-fixing activity, strain, yield.

Отримано 20.02.2018