Сільськогосподарська мікробіологія. 2023. Вип. 38. С. 29–39.
ISSN 1997-3004

https://doi.org/10.35868/1997-3004.38.29-39
УДК 576.871.155.557

КОМПЛЕКСНА ІНОКУЛЯЦІЯ СОЇ БУЛЬБОЧКОВИМИ БАКТЕРІЯМИ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* ЯК ЗАСІБ ОПТИМІЗАЦІЇ СИМБІОТИЧНОЇ АЗОТФІКСАЦІЇ

Н. А. Воробей, К. П. Кукол, П. П. Пухтаєвич, С. Я. Коць

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

Мета. *Визначити ефективні змішані інокулянти для сої на основі нових активних штамів Bradyrhizobium japonicum із різною інтенсивністю та динамікою азотфіксувальної активності для підсилення нодуляційних процесів і функціональної активності бобово-ризобіального симбіозу.* ***Методи.*** *Мікробіологічні, фізіологічні, статистичні, газова хроматографія. Досліджували бобово-ризобіальні системи на основі сої Glycine max L. (Merill) сорту Самородок за участю рекомбінантних штамів B. japonicum: B199, B201, Д47, Д48, Д52, Д60, Д63. За контроль слугував варіант — моноінокуляція сої B. japonicum 634б.* ***Результати.*** *Змішана інокуляція B. japonicum забезпечила позитивну онтогенетичну динаміку формування кореневих бульбочок у сої. Показник кількості кореневих бульбочок у дослідних рослин був вищим у 1,2–1,9 раза, як порівняти з контрольними з 18 по 45-ту доби вегетації сої. За інокуляції сої B. japonicum 634б + B201 та 634б + Д52 маса бульбочок на 45-ту добу вегетації збільшилася на 30,0–35,3 % проти контролю і була найбільшою (1,10–1,15 г/рослину) серед досліджуваних варіантів, як результат підсилювального ефекту комплексної бактеризації. Отримано позитивний синергічний ефект сумісного застосування штамів — інтенсифікацію азотфіксувальної активності кореневих бульбочок сої. У фази бутонізація-початок цвітіння та повного цвітіння за спільної інокуляції активними штамами B. japonicum 634б + Д47, 634б + Д52 та 634б + B201 азотфіксація бульбочок сої зросла на 10,7–25,5 % (на 32-гу добу) на 13,2–30,9 % (на 38-му добу), а також була вищою в 2,3–2,8 раза у фазу повного цвітіння (45-та доба вегетації сої), як порівняти з аналогічним показником контрольних рослин. У фазу повного цвітіння рослин (45-та доба вегетації) за змішаної інокуляції штамами B. japonicum 634б + Д47, 634б + B201, 634б + Д52 та B201 + Д52 надземна маса рослин перевищувала на 8,3–17,2 % рослини контрольного варіанту, що вірогідно забезпечувалося покращеними умовами їх азотного живлення — завдяки посиленій асиміляції N_2 кореневими бульбочками. Найбільш розвинена коренева система була у сої, інокульованої штамом B. japonicum 634б та B. japonicum 634б + Д52, B. japonicum 634б + B201 та B. japonicum Д48 + Д52.* ***Висновки.*** *Симбіотичні особливості активних рекомбінантних штамів B. japonicum та їх варіабельність за функціональною активністю на різних етапах онтогенезу сої доцільно враховувати у створенні комплексних азотфіксувальних бактеріальних препаратів під сою з ефектом мікробіологічної синергії.*

Ключові слова: *соя Glycine max L. (Merill), симбіоз, Bradyrhizobium japonicum, нодуляція, азотфіксувальна активність.*

Вступ. Найбільш ефективним екологічно безпечним технологічним прийомом у вирощуванні сої є інокуляція насіння препаратами на основі бульбочкових бактерій *Bradyrhizobium japonicum* [1; 2]. Сьогодні не викликає сумніву економічна цінність біологічної азотфіксації та її внесок у вирощування бобових культур і, зокрема, сої. Останніми роками за вирощуванням сої та лідерством у використанні біологічної азотфіксації (БАФ) на перше місце у світі вийшла Бразилія [3]. Російське вторгнення в Україну призвело до

© Н. А. Воробей, К. П. Кукол, П. П. Пухтаєвич, С. Я. Коць, 2023

стрімкого зростання цін на азотні добрива у 2022 році під час посіву основних сільськогосподарських культур та змусило багатьох агровиробників до суттєвого зменшення обсягів їх внесення [4]. Зазначені проблеми демонструють важливість біологічної азотфіксації, яка може замінити мінеральні азотні добрива для сої та зменшити їх використання у вирощуванні інших культур.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Мікробні інокулянти (біодобрива) привертають все більшу увагу, набуваючи популярності й масштабування ринку в сільському господарстві різних країн [5–7].

Завдяки здатності до фіксації азоту бульбочкові бактерії розглядають як цінний генетичний ресурс із широким спектром корисних для сільського господарства властивостей [8]. Інокуляція сприяє підвищенню продуктивності культур, поліпшенню якості продукції, зменшенню пестицидного навантаження на навколишнє середовище [2]. Проте біотичні та абіотичні стреси (засолення, дефіцит поживних речовин, водний стрес, підвищення температури, шкідники і збудники хвороб та ін.) можуть знизити позитивний ефект інокулянту [9; 10]. Щоб пом'якшити вплив цих факторів, низку досліджень було спрямовано на отримання змішаних інокулянтів із розширеними адаптаційними можливостями та толерантністю до негативних чинників довкілля [11–13].

Переважна більшість перших виготовлених інокулянтів містила лише один вид мікроорганізму, один високоактивний штам, специфічний до конкретної культури. У подальшому показали свою ефективність інокулянти на основі двох мікроорганізмів «одного типу», наприклад, два штами *Bradyrhizobium*. Використання двох штамів в одному інокулянті збільшує ймовірність того, що принаймні один із них утворить бульбочки та матиме позитивний вплив на метаболізм рослини [7]. Показано, що застосування композиції двох активних штамів — *B. japonicum* 46 та *B. japonicum* КВ11 — із різною швидкістю росту було ефективніше за моноінокуляцію та збільшувало врожайність сої на 21,4–30,0 % проти контролю без інокуляції. У бінарних композиціях ризобії з повільним та інтенсивним ростом підсилювали дію один одного і сприяли утворенню збалансованих симбіотичних систем без різкого домінування окремих штамів у бульбочкових популяціях [14]. Аналогічного висновку дійшли інші дослідники, вивчаючи сумісну інокуляцію сої штамами *B. japonicum* 634б, 646 з Tn5-мутантами *B. japonicum* Т66 та Т3-11 [15]. Проте наявні відмінності між штамами *B. japonicum* 46 (група USDA 6) та *B. japonicum* М8 (група USDA 4) в організації геному та фенотипових властивостях проявилися в тому, що формування бульбочок одним із них призводило до повного блокування бульбочкоутворення іншим штамом, який контактував із коренем на 6 діб пізніше [16].

Колективом бразильських дослідників підтверджено переваги спільної інокуляції квасолі звичайної *Phaseolus vulgaris* L. бульбочковими бактеріями *Rhizobium tropici* CIAT 899 разом із *Bradyrhizobium diazoefficiens* USDA 110 і *Bradyrhizobium elkanii* 29w. Показано, що *Bradyrhizobium* підвищує ефективність симбіозу *Rhizobium* та сприяє збільшенню біомаси і накопиченню N [17]. За даними Hungria et al. [7; 18], одноразова інокуляція *R. tropici* підвищила врожайність квасолі на 8,3 %, тоді як співінокуляція покращила врожайність на 19,6 %.

Серед багатьох відомих на ринку України вітчизняних комплексних препаратів вирізняються біоінокулянт Різолайн-р (містить у своєму складі чотири штами *B. japonicum*, які пристосовані до різних ґрунтово-кліматичних умов) та Ризоактив (містить 3 штами *B. japonicum*: eko/001, eko/002 та eko/003). Композиція цих бактерій є комплементарною до більшості сортів сої вітчизняної та зарубіжної селекції, що забезпечує ефективнішу азотфіксацію і підвищення врожайності бобових культур, покращує агрохімічні та фізичні показники ґрунту, а також забезпечує рослини ростостимулювальними речовинами [19].

Змішані інокулянти можуть поєднувати різні мікроорганізми, основними процесами яких є БАФ (*Bradyrhizobium* spp., *Rhizobium* spp.), вироблення фітогормонів (*Azospirillum* spp., *Pseudomonas* spp.), солюбілізація фосфату (*Bacillus* spp.), захист від збудників хвороб різної етіології та індукування фітоімунітету (*Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp.) та ін. [20]. Спільна інокуляція насіння сої *Bradyrhizobium* і *Azospirillum* значно посилює ріст кореневої системи рослин, збільшує кількість і масу бульбочок, фіксацію N_2 [21], концентрацію азоту в пагонах та зерні, урожайність зерна [18; 22; 23], а також підвищує толерантність до дефіциту води [24].

Крім *Azospirillum* spp., застосування інших PGPB (ризобактерії, що сприяють росту рослин) — *Pseudomonas* sp. [25], *Bacillus* sp. [11; 26] — було ефективним у спільній інокуляції з *Bradyrhizobium*. Полівекторна дія комплексних інокулянтів забезпечує кращі умови для проростання насіння і розвитку паростків за рахунок покращення фосфорного живлення та ширшого спектру біологічно активних речовин із ростостимулювальними та протекторними властивостями [27]. Ефективність змішаної інокуляції тісно пов'язана з відповідним добором штамів до генотипу рослини, концентрації клітин кожного з них та способу інокуляції.

Пошук шляхів мобілізації внутрішніх резервів азотфіксаторів для досягнення максимальної інтенсифікації процесу біологічної фіксації атмосферного азоту є нині досить актуальним [28].

Метою роботи було визначити ефективні змішані інокулянти для сої на основі нових активних штамів *B. japonicum* із різною інтенсивністю та динамікою азотфіксувальної активності для підсилення нодуляційних процесів і функціональної активності бобово-ризобіального симбіозу.

Матеріали та методи досліджень. Дослід проводили з рослинами сої *Glycine max* L. (*Merill*), сорт — Самородок, ранньостиглий (вегетаційний період — 97–108 днів), рекомендований для вирощування в зоні Степу, Лісостепу та Полісся, посухостійкий. Оригінатор: Інститут кормів та сільського господарства Поділля НААН. Маса 1000 насінин — 135–150 г. Вміст у насінні білка — 40–43 %, жиру — 21–23 %. Урожайність зерна — 22–40 ц/га. Сорт є лідером за показниками якості в Україні.

Як штами-інокулянти сої використали бульбочкові бактерії *Bradyrhizobium japonicum* із музейної колекції азотфіксувальних мікроорганізмів Інституту фізіології рослин і генетики НАН України (ІФРГ НАНУ): штам *B. japonicum* 634б та рекомбінантні штами *B. japonicum* В199, В201 (Tn5-мутанти штаму 646), Д47, Д48, Д52, Д60, Д63 (Tn5-мутанти штаму 634б), отримані внаслідок транспозонового мутагенезу (pSUP5011::Tn5*mob*).

Культури *B. japonicum* вирощували на середовищі МДА (манітно-дріжджовий агар) [29]. Для приготування інокуляційних суспензій біомасу бактерій змивали з поверхні МДА стерильною водою. Бінарні (змішані) інокулянти готували на основі суспензій двох різних штамів *B. japonicum* у співвідношенні 1:1. Бактеріальний титр моно- та змішаних суспензій становив 10^9 кл./мл. Насіння сої, простерилізоване 70 %-ним етанолом протягом 15 хв. промивали водою, інокулювали моно- та змішаними суспензіями бульбочкових бактерій протягом 60 хвилин. Інокульоване насіння сої висівали в субстрат (річковий пісок), збагачений сумішшю Гельрігеля із вмістом 0,25 норми азоту $Ca(NO_3)_2$ [30].

Симбіотичну ефективність бактеризації сої змішаними культурами бульбочкових бактерій *B. japonicum* досліджено в умовах вегетаційного досліду. У кожній посудині (на 4,0 кг субстрату) вирощували по 6 рослин сої за 60 %-ної вологості субстрату та природного освітлення. Вегетаційні досліди розміщували на спеціально обладнаному майданчику ІФРГ НАН України. Повторюваність у варіантах досліду — 7-разова.

Біометричні показники (масу сирої речовини надземної частини рослин, коренів і бульбочок) визначали у 10-кратній повторності. Відбори рослин сої здійснено на 18-ту добу після появи дружних сходів (фаза двох справжніх листків, початок утворення 3-го листка), 25-ту добу (фаза трьох справжніх листків), 32-гу добу (фаза — бутонізації-початку цвітіння), 38-му добу (фаза повного цвітіння), 45-ту добу (фаза повного цвітіння, 5 справжніх листків). Азотфіксувальну активність кореневих бульбочок сої визначали за методом Харді [31] і виражали в мікромолях етилену, який утворився бульбочками однієї рослини за 1 год. Газову суміш аналізували на газовому хроматографі Agilent Technologies 6850 Network GC System. Визначення проводили у 4-кратній біологічній повторності.

Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали за загальноприйнятими методиками із залученням пакету програм Microsoft Excel 2019. У таблицях наведено середньоарифметичні дані та їх стандартні похибки.

Результати досліджень та їх обговорення. Інокуляція насіння сої ризобіями запускає природний процес формування на коренях рослин симбіотичних органів — бульбочок, у яких відбувається асиміляція атмосферного азоту мікросимбіонтом. Згідно з літературними даними, упродовж 12–18 діб від початку інфікування рослинної клітини бактерії інтенсивно діляться, і лише після цього на поверхні кореневої системи з'являється ризобіальний наріст [32]. За нашими спостереженнями, у цьому дослідженні комплексна інокуляція сої *B. japonicum* була корисною протягом усього періоду росту рослин. Вона сприяла утворенню більшої кількості симбіотичних органів як у ранній період, що є особливо важливим етапом для встановлення симбіотичних взаємозв'язків між рослинами сої та азотфіксувальними бактеріями, так і в період найбільш інтенсивного перебігу фізіологічних процесів.

За комплексної інокуляції сої двома різними штамами *B. japonicum* відзначено більш інтенсивне утворення бульбочок як порівняти з моноінокуляцією штамом *B. japonicum* 634б (табл. 1). Показник кількості кореневих бульбочок у дослідних рослин був вищим у 1,2–1,9 раза з 18 по 45-ту добу вегетації сої проти контрольних рослин. Як виняток, змішана інокуляція сої *B. japonicum* В199 + Д60 забезпечила таку ж кількість бульбочок, як і за використання штаму 634б, проте їхня маса була більшою. Найбільша кількість бульбочок сформувалась у рослин, бактеризованих змішаними інокулянтами *B. japonicum* 634б+Д52, 634б + В201 та Д48 + Д63 (табл. 1).

Збільшення кількості кореневих бульбочок забезпечило зростання їхньої загальної маси у рослин усіх варіантів досліду. Водночас на 18-ту добу вегетації сої бульбочки були ще дуже дрібні, внаслідок чого майже не відділялися від коренів рослин, що завадило отримати достовірні показники їхньої маси. За нашими спостереженнями за змішаної бактеризації сої *B. japonicum* 634б + Д52, *B. japonicum* 634б + В201 та моноінокуляції штамом 634б отримано найбільшу масу кореневих бульбочок на 25-ту добу вегетації рослин, а за використання *B. japonicum* 634б + Д52, *B. japonicum* Д48 + Д52 і *B. japonicum* В201 + Д52 — на 32-гу добу, як порівняти з показником інших варіантів досліду (табл. 2).

У фазу повного цвітіння (38 та 45-та доба) мікробіологічна синергія комплексних інокулянтів *B. japonicum* за показником нодуляції була ефективнішою за моноінокуляцію (контроль) (табл. 2). Найбільші показники нодуляції забезпечили комплексні інокулянти *B. japonicum* 634б + Д52 та *B. japonicum* 634б + В201, маса бульбочок зросла на 30,0–35,3 % проти контрольних рослин.

Отримані результати свідчать про перевагу комплексної бактеризації сої та різну динаміку формування симбіотичних органів залежно від бактеріальних агентів, які входять до складу інокулянтів. Ефективність

Таблиця 1. ***Кількість кореневих бульбочок*** *(од./рослину)* ***у сої сорту Самородок, інокульованої B. japonicum***

Варіанти досліду	Фаза розвитку, доба після появи перших сходів				
	початок утворення 3-го справжнього листка, 18-та	трьох справжніх листків, 25-та	бутонізації-початку цвітіння, 32-га	повного цвітіння, 38-ма	повного цвітіння, 45-та
634б (контроль)	43,0 ± 3,5	46,0 ± 3,5	48,3 ± 4,7	53,0 ± 3,2	56,0 ± 6,0
634б + Д47	58,3 ± 3,2	59,0 ± 4,3	60,0 ± 4,5	70,3 ± 6,2	73,5 ± 6,4
634б + Д52	74,3 ± 6,2	82,0 ± 2,5	92,0 ± 4,7	70,7 ± 6,2	74,3 ± 5,5
634б + В201	72,6 ± 4,4	72,0 ± 3,5	73,7 ± 4,4	77,0 ± 5,4	92,7 ± 7,2
Д48 + Д52	60,6 ± 5,5	64,3 ± 3,6	64,0 ± 4,5	65,0 ± 3,6	66,6 ± 5,5
Д48 + Д63	52,0 ± 4,8	55,3 ± 3,7	58,7 ± 4,3	73,3 ± 6,2	75,0 ± 5,4
В199 + Д60	36,0 ± 2,7	42,6 ± 4,0	49,3 ± 3,4	52,0 ± 4,8	56,0 ± 5,2
В201 + Д52	64,6 ± 5,3	69,3 ± 4,7	70,0 ± 6,2	72,7 ± 5,6	74,0 ± 6,8

Таблиця 2. ***Маса бульбочок*** *(г/рослину)* ***на коренях рослин сої сорту Самородок, інокульованої B. japonicum***

Варіанти досліду	Фаза розвитку, доба після появи перших сходів			
	трьох справжніх листків, 25-та	бутонізації-початку цвітіння, 32-та	повного цвітіння, 38-ма	повного цвітіння, 45-та
634б (контроль)	0,24 ± 0,02	0,43 ± 0,04	0,68 ± 0,05	0,8 ± 0,05
634б + Д47	0,18 ± 0,01	0,40 ± 0,02	0,84 ± 0,03	0,832 ± 0,05
634б + Д52	0,31 ± 0,03	0,72 ± 0,04	0,75 ± 0,04	1,11 ± 0,06
634б + В201	0,30 ± 0,01	0,38 ± 0,02	0,78 ± 0,03	1,15 ± 0,07
Д48 + Д52	0,20 ± 0,02	0,65 ± 0,04	0,72 ± 0,03	0,73 ± 0,04
Д48 + Д63	0,22 ± 0,02	0,41 ± 0,03	0,87 ± 0,05	0,86 ± 0,03
В199 + Д60	0,19 ± 0,01	0,37 ± 0,01	0,75 ± 0,04	0,90 ± 0,04
В201 + Д52	0,22 ± 0,02	0,48 ± 0,02	0,80 ± 0,06	0,89 ± 0,03

інокулянтів проявляється в кількості та масі сформованих бульбочок, але більшою мірою в їхній здатності зв'язувати атмосферний азот і стимулювати ріст і розвиток бобових рослин.

Тривалий час на основі штаму аналітичної селекції *B. japonicum* 634б виготовляють бактеріальні препарати під сою. Бактерії цього штаму активно колонізують кореневу систему, формують симбіоз із різними сортами сої. Моноінокуляція сої сорту Самородок *B. japonicum* 634б забезпечила найбільшу азотфіксувальну активність лише на 18 та 25-ту добу вегетації рослин (як виняток — варіант досліду *B. japonicum* 634б + В201), але в наступні фази розвитку істотно поступалася варіантам із застосуванням більшості комплексних препаратів (табл. 3).

Рекомбінантні штами *B. japonicum* відібрано як активні мікросимбіонти сої, тому їх використали як компоненти бінарних азотфіксувальних інокулянтів для посилення нодуляційної та азотфіксувальної здатності бобово-ризобіальних симбіозів.

У підсумку досліджень отримано позитивну синергію функціональної активності симбіотичних систем сої, сформованих різними штамами бульбочкових бактерій *B. japonicum*. Спільна інокуляція сої двома штамами *B. japonicum* (634б + Д47, 634б + Д52 та

Таблиця 3. ***Онтогенетична динаміка азотфіксувальної активності бульбочок сої*** *(мкмоль C_2H_4/(рослину·год))* ***сорту Самородок, інокульованої B. japonicum***

Варіанти досліду	Фаза розвитку, доба після появи перших сходів				
	початок утворення 3-го справжнього листка, 18-та	трьох справжніх листків, 25-та	бутонізації-початку цвітіння, 32-га	повного цвітіння, 38-ма	повного цвітіння, 45-та
634б (контроль)	0,36 ± 0,04	6,11 ± 0,53	11,71 ± 1,03	20,84 ± 1,72	7,93 ± 0,45
634б + Д47	0,20 ± 0,03	3,55 ± 0,27	12,97 ± 0,89	27,28 ± 1,67	22,20 ± 1,21
634б + Д52	0,27 ± 0,01	4,08 ± 0,31	14,70 ± 1,20	24,32 ± 1,49	18,40 ± 1,09
634б + В201	0,27 ± 0,01	6,84 ± 0,42	13,85 ± 0,96	23,60 ± 0,89	18,62 ± 1,12
Д48 + Д52	0,36 ± 0,02	3,96 ± 0,15	10,83 ± 0,64	19,21 ± 0,61	15,75 ± 0,98
Д48 + Д63	0,17 ± 0,01	2,69 ± 0,11	9,00 ± 0,69	22,44 ± 1,64	18,10 ± 1,17
В199 + Д60	0,12 ± 0,01	2,28 ± 0,09	8,82 ± 0,50	20,26 ± 1,09	17,31 ± 1,04
В201 + Д52	0,11 ± 0,01	2,25 ± 0,04	10,11 ± 0,66	19,76 ± 0,88	29,78 ± 2,45

634б + В201) сприяла збільшенню азотфіксувальної активності (АФА) симбіозів на 10,8–25,5 % (32-га доба вегетації, бутонізація-початок цвітіння) та на 13,2–30,9 % (38-ма доба, повне цвітіння) проти рослин, інокульованих лише *B. japonicum* 634б. У фазу повного цвітіння (45-та доба вегетації сої) функціональна активність бульбочок сої помітно зменшилася: на 38,0 % — у рослин, інокульованих *B. japonicum* 634б, та на 18,6–24,4 % — за комплексної інокуляції *B. japonicum* 634б + рекомбінантний штам відповідно, як порівняти з попередньою фазою. Водночас інтенсивність азотфіксації бульбочок, сформованих унаслідок застосування комплексних інокулянтів (634б + рекомбінантний штам), зростала в 2,3–2,8 раза проти моноінокуляції.

Інокуляція сої комплексом бактерій на основі виключно рекомбінантних штамів із 18 по 32-гу добу вегетації рослин була менш ефективною щодо азотфіксації, на рівні контрольних рослин — на 38-му добу, але забезпечила істотне підвищення АФА на 45-ту добу вегетації (фаза повного цвітіння сої), що сприяло пролонгації активної азотфіксації у цей період. Отже, подовження періоду активної асиміляції N_2 забезпечували ризобії, здатні до підвищеної функціональної активності в симбіозі з соєю у період початку формування генеративних органів (табл. 3). Найбільшу інтенсивність азотфіксації на 45-ту добу вегетації сої сорту Самородок отримано за застосування змішаних інокулянтів *B. japonicum* 634б + Д47 та *B. japonicum* В201 + Д52.

Надземна маса рослин забезпечує фотосинтетичну діяльність і значною мірою впливає на продуктивність рослин, а саме на врожайність зерна. Значною мірою інтенсивність нагромадження біомаси надземної частини рослин залежить від рівня доступної вологи в ґрунті, температурного режиму та тривалості світлового дня [7]. За оптимальних умов вологозабезпечення сої, що підтримувалося регулярним поливом рослин, комплексна інокуляція сої була ефективнішою за моноінокуляцію. У фазу повного цвітіння рослин на 45-ту добу вегетації у варіантах із комплексною інокуляцією штамами *B. japonicum* 634б + Д47, 634б + В201, 634б + Д52 та В201 + Д52 надземна маса рослин перевищувала на 8,1–17,2 % показник рослин контрольного варіанту (табл. 4), що вірогідно забезпечувалося покращеними умовами азотного живлення рослин, завдяки підвищеній асиміляції N_2 кореневими бульбочками.

Забезпечення рослин поживними речовинами залежить від розмірів кореневої системи, а також від швидкості їх поглинання, оскільки елементи мінерального живлення проходять через поверхню коренів. Передпосівна інокуляція позитивно впливає на розвиток рослин, формування симбіотичного апарату, а також збільшує адсорбуючу поверхню коренів до 43 % проти варіанту без бактеризації [33]. Повноцінний розвиток кореневої системи рослин сої сорту Самородок дав змогу забезпечити їх поживними речовинами

Таблиця 4. ***Динаміка накопичення надземної маси та маси кореня*** *(г/рослину)* ***рослин сої сорту Самородок, інокульованої бульбочковими бактеріями B. japonicum***

Варіанти досліду	Фаза розвитку, доба після появи перших сходів					
	трьох справжніх листків, 25-та		бутонізації-початку цвітіння, 32-га		повного цвітіння, 45-та	
	надземна маса	маса кореня	надземна маса	маса кореня	надземна маса	маса кореня
634б	2,74 ± 0,10	3,06 ± 0,26	4,06 ± 0,17	5,16 ± 0,31	8,56 ± 0,41	8,20 ± 0,36
634б + Д47	2,98 ± 0,13	2,96 ± 0,23	4,28 ± 0,18	4,06 ± 0,12	9,25 ± 0,43	8,07 ± 0,27
634б + Д52	2,84 ± 0,11	2,79 ± 0,13	4,35 ± 0,14	4,41 ± 0,26	10,03 ± 0,64	8,32 ± 0,23
634б + В201	3,74 ± 0,15	3,38 ± 0,17	4,67 ± 0,22	3,61 ± 0,22	9,85 ± 0,52	8,62 ± 0,21
Д48 + Д52	2,92 ± 0,12	2,64 ± 0,16	4,42 ± 0,16	4,45 ± 0,12	8,21 ± 0,37	8,58 ± 0,24
Д48 + Д63	3,31 ± 0,20	3,39 ± 0,27	3,98 ± 0,13	3,44 ± 0,20	8,64 ± 0,39	8,31 ± 0,40
В199 + Д60	2,73 ± 0,14	3,04 ± 0,12	3,71 ± 0,19	2,99 ± 0,12	8,70 ± 0,50	7,86 ± 0,31
В201 + Д52	2,76 ± 0,18	3,23 ± 0,28	4,85 ± 0,27	4,56 ± 0,17	9,27 ± 0,61	8,10 ± 0,58

та сприяв формуванню активного симбіотичного апарату сої, ефективному перебігу процесу біологічної азотфіксації (на фоні 0,25 н азоту за Гельрігелем у субстраті вирощування рослин). У рослин, інокульованих *B. japonicum* 634б, визначено найбільшу масу коренів із 18 по 32-гу добу вегетації сої. На 45-ту добу вегетації (фаза повного цвітіння рослин) у сої за змішаної інокуляції *B. japonicum* 634б + Д52, *B. japonicum* 634б + В201 і *B. japonicum* Д48 + Д52 та моноінокуляції штамом *B. japonicum* 634б відзначено найбільш розвинену кореневу систему, що підтверджується найвищим показником її маси (табл. 4).

За результатами дослідження найбільш ефективними комплексними інокулянтами визначено *B. japonicum* 634б + В201, *B. japonicum* 634б + В52 та *B. japonicum* В201 + В52. Створення комплексних інокулянтів з ефектом синергічної позитивної дії є одним із найбільш перспективних напрямів розвитку препаратів бульбочкових бактерій. Сумісне застосування двох активних штамів *B. japonicum* із підвищеною активністю азотфіксації у різні фази вегетації сої суттєво переважає за ефективністю моноінокуляцію і сприяє утворенню збалансованих симбіотичних систем для покращення азотного живлення сої та підвищення її продуктивності. Зменшуючи залежність від надходження мінерального азоту, бактеризація може знизити будь-які негативні екологічні наслідки надмірного застосування мінерального N. Симбіотичний потенціал бульбочкових бактерій можливо підвищити, створивши комплексні інокулянти на основі мікроорганізмів із різними агрономічно корисними властивостями: зокрема здатністю до активної нодуляції, фіксації азоту та ін.

Такі дослідження необхідні для отримання знань, спрямованих на виробництво нових комерційних змішаних інокулянтів і розробки альтернативних способів їх застосування. Тема ефективності синергічної дії змішаних інокулянтів широко вивчається дослідниками різних країн [34; 35]. Стратегія змішаної інокуляції презентує новий біотехнологічний інструмент для підвищення врожайності сої без додавання будь-яких хімічних азотних добрив, у такий спосіб сприяючи сталому розвитку в сільському господарстві.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Коць С. Я., Моргун В. В., Патыка В. Ф., Даценко В. К., Кругова Е. Д., Кириченко Е. В. … Надкерничная Е. В. Биологическая фиксация азота. Бобово-ризобиальный симбиоз. Т. 1. К. : Логос, 2010. 508 с.

3. Патика В. П., Коць С. Я., Волкогон В. В., Шерстобоєва О. В. Мельничук Т. М., Калініченко А. В., Гриник І. В. Біологічний азот. К. : Світ, 2003. 424 с.

3. Peoples M. B., Giller K. E. Jensen E. S., Herridge D. F. Quantifying country-to-global scale nitrogen fixation for grain legumes: I. Reliance on nitrogen fixation of soybean, groundnut and pulses. *Plant Soil*. 2021. Vol. 469. P. 1–14. http://dx.doi.org/10.1007/s11104-021-05167-6

4. Ціни на мінеральні добрива в Україні у 2023 році. *УкрАгроКонсалт*. Режим доступу: https://ukragroconsult.com/fertilizers-price

5. Novytska N., Gadzovskiy G., Mazurenko B., Kalenska S., Svistunova I., Martynov O. Effect of seed inoculation and foliar fertilizing on structure of soybean yield and yield structure in Western Polissya of Ukraine. *Agronomy Research*, 2020. Vol. 18(4). P. 2512–2519. https://doi.org/10.15159/ar.20.203

6. Zimmer S., Messmer M., Haase T., Piepho H.-P. Effects of soybean variety and Bradyrhizobium strains on yield, protein content and biological nitrogen fixation under cool growing conditions in Germany. *European Journal of Agronomy*. 2016. Vol. 72. P. 38–46. https://doi.org/10.1016/j.eja.2015.09.008

7. Hungria M., Nogueira M. A., Araujo R. S. Soybean seed co-inoculation with Bradyrhizobium spp. and Azospirillum brasilense: a new biotechnological tool to improve yield and sustainability. *American Journal of Plant Sciences*. 2015. Vol. 6(6). P. 811–817. https://doi.org/10.4236/ajps.2015.66087

8. Волкогон В. В. Мікробіологічні аспекти оптимізації азотного удобрення сільськогосподарських культур. К. : Аграрна наука, 2007. 144 с.

9. Thilakarathna M. S., Raizada M. N. A meta-analysis of the effectiveness of diverse rhizobia inoculants on soybean traits under field conditions. *Soil Biology and Biochemistry*. 2017. Vol. 105. P. 177–196. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.1 1.022

10. Samago T. Y., Anniye E. W., Dakora F. D. Grain yield of common bean (Phaseolus vulgaris L.) varieties is markedly increased by rhizobial inoculation and phosphorus application in Ethiopia. *Symbiosis*. 2018. Vol. 75. P. 245–255. https://doi.org/10.1007/s13199-017-0529-9

11. Korir H., Mungai N. W., Thuita M., Hamba Y., Masso C. Co-inoculation effect of rhizobia

and plant growth promoting rhizobacteria on common bean growth in a low phosphorus soil. *Frontiers in Plant Science*. 2017. Vol. 8. P. 1–10. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00141

12. Benidire L., Lahrouni M., El Khalloufi F., Gottfert M., Oufdou K. Effects of Rhizobium leguminosarum inoculation on growth, nitrogen uptake and mineral assimilation in Vicia faba plants under salinity stress. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 2017. Vol. 19(4). P. 889–901.

13. Youseif S. H., El-Megeed F. H. A., Saleh S. A. Improvement of faba bean yield using Rhizobium/Agrobacterium inoculant in low-fertility sandy soil. *Agronomy*. 2017. Vol. 7. 2. https://doi.org/10.3390/agronomy7010002

14. Крутило Д. В. Ефективність спільної інокуляції сої штамами Bradyrhizobium japonicum з різною швидкістю росту. *Вісник аграрної науки*. 2017. Т. 95(10). С. 5–9. https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201710

15. Маліченко С. М., Даценко В. К., Маменко П. М., Омельчук С. В., Коць С.Я. Взаємодія Tn5-мутантів Bradyrhizobium japonicum з іншими ризобіальними штамами за сумісної інокуляції сої. Физиология и биохимия культ. растений. 2009. Т. 41(3). С. 235–241.

16. Крутило Д. В. Симбіотичні взаємовідносини між штамами Bradyrhizobium japonicum різних генетичних груп і рослинами сої. *Мікробіологічний журнал*. 2017, Т. 79(6). С. 82–94. https://doi.org/10.15407/microbiolj79.06.082

17. Jesus E. C., Leite R. A., Bastos R. A., Aragao O. O. S., Araujo P. A. Co-inoculation of Bradyrhizobium stimulates the symbiosis efficiency of Rhizobium with common bean. *Plant and Soil*. 2018. Vol. 425. P. 201–215. https://doi.org/10.1007/s11104-017-3541-1

18. Hungria M., Nogueira M. A., Araujo R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with Rhizobia and Azospirilla: strategies to improve sustainability. *Biology and Fertility of Soils*. 2013. T. 49. P. 791–801. http://dx.doi.org/10.1007/s00374-012-0771-5

19. Ефективна інокуляція насіння сої. *БТУ Центр*. Режим доступу: https://btu-center.com/uknow/efektivna-inokulyatsiya-nasinnya-soi/

20. Santos M. S., Nogueira M. A., Hungria M. Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. *AMB Express*. 2019. Vol. 9. 205. https://doi.org/10.1186/s13568-019-0932-0

21. Chibeba A. M., Guimarres M. D. F., Brito O. R., Nogueira M. A., Araujo R. S., Hungria M. Co-inoculation of soybean with Bradyrhizobium and Azospirillum promotes early nodulation. *American Journal of Plant Sciences.* 2015. Vol. 6(10). P. 1641–1649. http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2015.610164

22. Rondina A. B. L., Sanzovo A. W. S., Guimaraes G. S., Wendling J. R., Nogueira M. A., Hungria M. Changes in root morphological traits in soybean co-inoculated with Bradyrhizobium spp. and Azospirillum brasilense or treated with A. brasilense exudates. *Biology and Fertility of Soils*. 2020. Vol. 56. P. 537–549. http://dx.doi.org/10.1007/s00374-020-01453-0

23. Barbosa J. Z., Hungria M., da Silva Sena J. V., Poggere G., dos Reis A. R., Correa R. S. Meta-analysis reveals benefits of co-inoculation of soybean with Azospirillum brasilense and Bradyrhizobium spp in Brazil. *Applied Soil Ecology*. 2021. Vol. 163. P. 103–913. http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.103913

24. Silva E. R., Zoz J., Oliveira C. E. S., Zuffo A. M., Steiner F., Zoz T., Vendruscolo E. P. Can co-inoculation of Bradyrhizobium and Azospirillum alleviate adverse effects of drought stress on soybean (Glycine max L. Merrill.)? *Archives of Microbiology*. 2019. Vol. 201(3). P. 325–335. https://doi.org/10.1007/s00203-018-01617-5

25. Pawar P. U., Kumbhar C. T., Patil V. S., Khot G. G. Effect of co-inoculation of Bradyrhizobium japonicum and Pseudomonas fluorescens on growth, yield and nutrient uptake in soybean [Glycine max (L.) Merrill]. *Crop Research*. 2018. Vol. 53. P. 57–62. https://doi.org/10.5958/2454-1761.2018.00009.8

26. Petkar V. V., Deshmukh T. T., Jadhav A. N. Effect of dual inoculation of Bacillus subtilis and Bradyrhizobium japonicum on growth parameters of soybean (Glycine max L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2018. Vol. 7. P. 563–567. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.710.062

27. Миколаєвський В. П., Сергієнко В. Г., Титова Л. В. Вплив інокулянтів на формування симбіотичних систем, розвиток хвороб та продуктивність сої різних сортів. *Мікробіологія і біотехнологія*. 2016. № 3. С. 57–68. https://doi.org/10.18524/2307-4663.2016.3(35).78032

28. Alam F., Bhuiyan M. A., Alam S. S., Waghmode T. R., Kim P. J., Lee Y. B. Effect of Rhizobium sp. BARIRGm901 inoculation on nodulation, nitrogen fixation and yield of soybean (Glycine max) genotypes in gray terrace soil. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2015. Vol. 79(10). P. 1660–1668. https://doi.org/10.1080/09168451.2015.1044931

29. Антипчук А. Ф., Піляшенко-Новохатний А. І., Євдокименко Т. М. Практикум з мікробіології. К. : Університет «Україна», 2011. 155 с.

30. Гродзинский А. М., Гродзинский Д. М. Краткий справочник по физиологии растений. К. : Наукова Думка, 1964. 388 с.

31. Hardy R. W. F., Holsten R. D., Jackson E. K., Burris R. S. The acetylene-ethylene assay for

N_2-fixation: laboratory and field evolution. *Plant Physiology*. 1968. № 43. P. 1185–1207. https://doi.org/10.1104/pp.43.8.1185

32. Eviner V., Chapin F. Plant-microbial interaction. *Nature*. 1997. Vol. 385(6611). P. 26–27. https://doi.org/10.1038/385026a0

33. Гуменюк І. І., Грузінський С. Ю., Бровко І. С., Чабанюк Я. В. Коренева система сої за дії Bradyrhizobium japonicum. *Agroecological journal*. 2018. № 1. С. 138–143.

34. Ulzen J., Abaidoo R. C., Mensah N. E., Masso C., Abdel Gadir A. H. Bradyrhizobium inoculants enhance grain yields of soybean and cowpea in Northern Ghana. *Frontiers in Plant Science*. 2016. Vol. 7. 1770. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01770

35. Iutynska H., Goloborodko S, Tytova L., Dubynska O. Effectiveness of endophytic-rhizobial seed inoculation of soybean (Glycine max (L.) Merr.) cultivated in irrigated soil. *Journal of Central European Agriculture*. 2022. Vol. 23(1). P. 40–53. https://doi.org/10.5513/JCEA01/23.1.3397

Отримано 15.08.2023

https://doi.org/10.35868/1997-3004.38.29-39

UDC 576.871.155.557

COMPLEX INOCULATION OF SOYBEANS WITH NODULE BACTERIA *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* AS A MEASURE TO OPTIMIZE SYMBIOTIC NITROGEN FIXATION

N. A. Vorobey, K. P. Kukol, P. P. Pukhtaievych, S. Ya. Kots

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv
e-mail: n-vorobey@ukr.net

Objective. *Establish effective mixed inoculants for soybeans based on new active strains of Bradyrhizobium japonicum with different intensity and dynamics of nitrogen-fixing activity to improve nodulation processes and functional activity of legume-rhizobia symbiosis.* ***Methods.*** *Microbiological, physiological, statistical, gas chromatography. Legume-rhizobia systems based on Glycine max L. (Merill) soybean, variety Samorodok, were studied using recombinant strains of B. japonicum: B199, B201, Д47, Д48, Д52, Д60, Д63. Monoinoculation of soybean with B. japonicum 634б served as the control.* ***Results.*** *Mixed inoculation of B. japonicum ensured positive ontogenetic dynamics of root nodule formation in soybean. The indicator of the number of root nodules in experimental plants was 1.2–1.9 times higher versus the control plants from Day 18 to 45 of soybean vegetation. When soybeans were inoculated with B. japonicum 634б + B201 and 634б + Д 52, the mass of nodules at Day 45 of vegetation increased by 30.0–35.3 % versus the control and was the highest (1.10–1.15 g/plant) among the studied variants, as a result of the strengthening effect of complex bacterization. A positive synergistic effect of the combined use of strains was obtained — intensification of the nitrogen-fixing activity of soybean root nodules. In the phase of budding/beginning of flowering and full flowering under combined inoculation with active strains of B. japonicum 634б + Д47, 634б + Д52 and 634б + B201, nitrogen fixation of soybean nodules increased by 10.7–25.5 % (at Day 32), by 13.2–30.9 % (at Day 38), and was also 2.3–2.8 times higher in the phase of full flowering (Day 45 of soybean vegetation) versus the similar indicator of control plants. In the phase of full flowering of plants (Day 45 of vegetation), under mixed inoculation with strains of B. japonicum 634б + Д47, 634б + B201, 634б + Д52 and B201 + Д52, the aboveground mass of plants exceeded that of control plants by 8.3–17.2 % variant, which was probably provided by improved conditions of their nitrogen nutrition, due to enhanced assimilation of* N_2 *by root nodules. The most developed root system was in soybeans inoculated with strains B. japonicum 634б and B. japonicum 634б + Д52, B. japonicum 634б + B201 and B. japonicum Д48 + Д52.* ***Conclusion.*** *Symbiotic features of active recombinant strains of B. japonicum and their variability in functional activity at different stages of soybean ontogenesis should be taken into account when*

creating complex nitrogen-fixing bacterial preparations for soybeans with the effect of microbiological synergy.

Key words: *Glycine max L. (Merill) soybean, symbiosis, Bradyrhizobium japonicum, nodulation, nitrogen-fixing activity.*

REFERENCES

1. Kots, S. Ya., Morgun, V. V., Patyka, V. F., Datsenko, V. K., Krugova, O. D., Kyrychenko, O. V., … Nadkernichnaya, E. V. (2010). *Byolohycheskaya fyksatsyya azota. Bobovo-ryzobyal'ny symbyoz* [Biological nitrogen fixation. Legume-rhizobial symbiosis]. Vol. 1. Kiev: Logos [in Russian].

2. Patyka, V. P., Kots, S. Ya., Volkohon, V. V., Sherstoboieva, O. V. Melnychuk, T. M., Kalinichenko, A. V., & Hrynyk, I. V. (2003). *Biolohichnyi azot* [Biological nitrogen]. Kyiv: Svit [in Ukrainian].

3. Peoples, M. B., Giller, K. E., Jensen, E. S., & Herridge, D. F. (2021). Quantifying country-to-global scale nitrogen fixation for grain legumes: I. Reliance on nitrogen fixation of soybean, groundnut and pulses. *Plant Soil, 469*, 1–14. http://dx.doi.org/10.1007/s11104-021-05167-6

4. Tsiny na mineralni dobryva v Ukraini u 2023 rotsi [Mineral fertiliser prices in Ukraine in 2023]. *UkrAghroKonsalt.* Retrieved from https://ukragroconsult.com/fertilizers-price

5. Novytska, N., Gadzovskiy, G., Mazurenko, B., Kalenska, S., Svistunova, I., & Martynov, O. (2020). Effect of seed inoculation and foliar fertilizing on structure of soybean yield and yield structure in Western Polissya of Ukraine. *Agronomy Research*, *18*(4), 2512–2519. https://doi.org/10.15159/ar.20.203

6. Zimmer, S., Messmer, M., Haase, T., & Piepho, H.-P. (2016). Effects of soybean variety and Bradyrhizobium strains on yield, protein content and biological nitrogen fixation under cool growing conditions in Germany. *European Journal of Agronomy*, *72*, 38–46. https://doi.org/10.1016/j.eja.2015.09.008

7. Hungria, M, Nogueira, M. A., & Araujo, R. S. (2015) Soybean seed co-inoculation with Bradyrhizobium spp. and Azospirillum brasilense: a new biotechnological tool to improve yield and sustainability. *American Journal of Plant Sciences. 6*(6), 811–817. https://doi.org/10.4236/ajps.2015.66087

8. Volkohon, V. V. (2007). *Mikrobiolohichni aspekty optymizatsii azotnoho udobrennia silskohospodarskykh kultur* [Microbiological aspects of nitrogen fertilizer optimization of agricultural crops]. Kyiv: Ahrarna nauka [in Ukrainian].

9. Thilakarathna, M. S., & Raizada, M. N. (2017). A meta-analysis of the effectiveness of diverse rhizobia inoculants on soybean traits under field conditions. *Soil Biology and Biochemistry*, *105*, 177–196. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.11.022

10. Samago, T. Y., Anniye, E. W. & Dakora, F. D. (2018). Grain yield of common bean (Phaseolus vulgaris L.) varieties is markedly increased by rhizobial inoculation and phosphorus application in Ethiopia. *Symbiosis*, *75*, 245–255. https://doi.org/10.1007/s13199-017-0529-9

11. 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. *Frontiers in Plant Science*, *8*, 1–10. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00141

12. Benidire, L., Lahrouni, M., El Khalloufi, F., Gottfert, M., & Oufdou, K. (2017). Effects of Rhizobium leguminosarum inoculation on growth, nitrogen uptake and mineral assimilation in Vicia faba plants under salinity stress. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *19*(4), 889–901.

13. Youseif, S. H., El-Megeed, F. H. A., & Saleh, S. A. (2017). Improvement of faba bean yield using Rhizobium/Agrobacterium inoculant in low-fertility sandy soil. *Agronomy*, *7*, 2. https://doi.org/10.3390/agronomy7010002

14. Krutylo, D. V. (2017). Efektyvnist spilnoi inokuliatsii soi shtamamy Bradyrhizobium japonicum z riznoiu shvydkistiu rostu [Efficiency of joint inoculation of soya bean by strains of Bradyrhizobium japonicum with different growth rate]. *Visnyk ahrarnoi nauky — Bulletin of Agrarian Science, 95(10),* 5–9 [in Ukrainian]. https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201710

15. Malichenko, S. M., Datsenko, V. K., Mamenko, P. M., Omelchuk, S. V., & Kots, S. Ya. (2009). Vzaiemodiia Tn5-mutantiv Bradyrhizobium japonicum z inshymy ryzobialnymy shtamamy za sumisnoi inokuliatsii soi [Interaction of Tn5-mutants of Bradyrhizobium japonicum with other rhizobial strains at combined inoculation of soybean]. *Fyzyolohyia y byokhymyia kulturnykh rastenyi — Physiology and biochemistry of cultivated plants*, *41*(3), 235–241 [in Ukrainian].

16. Krutylo, D. V. (2017). Symbiotychni vzaiemovidnosyny mizh shtamamy Bradyrhizobium japonicum riznykh henetychnykh hrup i roslynamy soi [Symbiotic relationship between Bradyrhizobium japonicum strains of different genetic groups and soybean plants]. *Mikrobiolohichnyi zhurnal — Microbiological journal*, *79*(6), 82–94 [in Ukrainian]. https://doi.org/10.15407/microbiolj79.06.082

17. Jesus, E. C., Leite, R. A., Bastos, R. A., Aragao, O. O. S., & Araujo, P. A. (2018). Co-inoculation of Bradyrhizobium stimulates the symbiosis efficiency of Rhizobium with common bean. *Plant and Soil*, *425*, 201–215. https://doi.org/10.1007/s11104-017-3541-1

18. Hungria, M., Nogueira, M. A., & Araujo, R. S. (2013). Co-inoculation of soybeans and common beans with *Rhizobia* and *Azospirilla*: strategies to improve sustainability. *Biology and Fertility of Soils*, *49*, 791–801. http://dx.doi.org/10.1007/s00374-012-0771-5

19. *Efektyvna inokuliatsiia nasinnia soi* [Effective inoculation of soybean seeds]. BTU Tsentr. Retrieved from https://btu-center.com/uknow/efektivna-inokulyatsiya-nasinnya-soi/ [in Ukrainian].

20. Santos, M. S., Nogueira, M. A., & Hungria, M. (2019). Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. *AMB Express*, *9*, 205. https://doi.org/10.1186/s13568-019-0932-0

21. Chibeba, A. M., Guimarгes, M. D. F., Brito, O. R., Nogueira, M. A., Araujo, R. S., & Hungria, M. (2015). Co-inoculation of soybean with Bradyrhizobium and Azospirillum promotes early nodulation. *American Journal of Plant Sciences, 6*(10), 1641–1649. http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2015.610164

22. Rondina, A. B. L., Sanzovo, A. W. S., Guimaraes, G. S., Wendling, J. R., Nogueira, M. A., & Hungria, M. (2020). Changes in root morphological traits in soybean co-inoculated with Bradyrhizobium spp. and Azospirillum brasilense or treated with A. brasilense exudates. *Biology and Fertility of Soils*, *56*, 537–549. http://dx.doi.org/10.1007/s00374-020-01453-0

23. Barbosa, J. Z., Hungria, M., da Silva Sena, J. V., Poggere, G., dos Reis, A. R., & Correa, R. S. (2021). Meta-analysis reveals benefits of co-inoculation of soybean with Azospirillum brasilense and Bradyrhizobium spp in Brazil. *Applied Soil Ecology*, *163*, 103–913. http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.103913

24. Silva, E. R., Zoz, J., Oliveira, C. E. S., Zuffo, A. M., Steiner, F., Zoz, T., & Vendruscolo, E. P. (2019). Can co-inoculation of Bradyrhizobium and Azospirillum alleviate adverse effects of drought stress on soybean (Glycine max L. Merrill.)? *Archives of Microbiology*, *201*(3), 325–335. https://doi.org/10.1007/s00203-018-01617-5

25. Pawar, P. U., Kumbhar, C. T., Patil, V. S., & Khot, G. G. (2018). Effect of co-inoculation of Bradyrhizobium japonicum and Pseudomonas fluorescens on growth, yield and nutrient uptake in soybean [Glycine max (L.) Merrill]. *Crop Research*, *53*, 57–62. https://doi.org/10.5958/2454-1761.2018.00009.8

26. Petkar, V. V., Deshmukh, T. T., & Jadhav, A. N. (2018). Effect of dual inoculation of Bacillus subtilis and Bradyrhizobium japonicum on growth parameters of soybean (Glycine max L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *7*, 563–567. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.710.062

27. Mykolaievski, V. P., Sergienko, V. G., & Tytova, L. V. (2016). Vplyv inokuliantiv na formuvannia symbiotychnykh system, rozvytok khvorob ta produktyvnist soi riznykh sortiv [Inoculants influence on the symbiotic systems formation, diseases development and productivity of the different soybean cultivars]. *Mikrobiolohiia i biotekhnolohiia — Microbiology and biotechnology*, *3*, 57–68 [in Ukrainian]. https://doi.org/10.18524/2307-4663.2016.3(35).78032

28. Alam, F., Bhuiyan, M. A., Alam, S. S., Waghmode, T. R., Kim, P. J., & Lee, Y. B. (2015). Effect of Rhizobium sp. BARIRGm901 inoculation on nodulation, nitrogen fixation and yield of soybean (Glycine max) genotypes in gray terrace soil. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, *79*(10), 1660–1668. https://doi.org/10.1080/09168451.2015.1044931

29. Antipchuk, A. F., Pilyashenko-Novokhatny, A. I., & Yevdokymenko, T. M. (2011). Workshop on Microbiology. Kyiv: "University of Ukraine" [in Ukrainian].

30. Grodzinsky, A. M., & Grodzinsky, D. M. (1973). *Kratkyy spravochnyk po fyzyolohyy rastenyy* [Brief guide to plant physiology]. Kiev: Naukova Dumka [in Russian].

31. Hardy, R. W. F., Holsten, R. D., Jackson, E. K., & Burris, R. S. (1968). The acetylene-ethylene assay for N_2-fixation: laboratory and field evolution. *Plant Physiology*, *43*, 1185–1207. https://doi.org/10.1104/pp.43.8.1185

32. Eviner, V., & Chapin, F. (1997). Plant-microbial interaction. *Nature*, *385*(6611), 26–27. https://doi.org/10.1038/385026a0

33. Humeniuk, I. I., Gruzinsky, S. Y., Brovko, I. S., & Chabaniuk, Y. V. (2018). Koreneva systema soi za dii Bradyrhizobium japonicum [Soybean root system under the influence of Bradyrhizobium japonicum]. *Ahroekolohichnyi zhurnal — Agroecological journal*, *1*, 138–143 [in Ukrainian].

34. Ulzen, J., Abaidoo, R. C., Mensah, N. E., Masso, C., & Abdel Gadir, A. H. (2016). Bradyrhizobium inoculants enhance grain yields of soybean and cowpea in Northern Ghana. *Frontiers in Plant Science*, *7*, 1770. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01770

35. Iutynska, H., Goloborodko, S, Tytova, L., & Dubynska, O. (2022). Effectiveness of endophytic-rhizobial seed inoculation of soybean (Glycine max (L.) Merr.) cultivated in irrigated soil. *Journal of Central European Agriculture*, *23*(1), 40–53. https://doi.org/10.5513/JCEA01/23.1.3397

Received 15.08.2023