

УДК 581.557 : 631.461.5

ЕФЕКТИВНІСТЬ СИМБІОТИЧНИХ СИСТЕМ СОЇ РІЗНИХ ГРУП СТИГЛОСТІ ЗА ІНОКУЛЯЦІЇ TN5-МУТАНТАМИ *Bradyrhizobium japonicum*

© 2014 р. П. М. Маменко¹, С. М. Маліченко¹,
А. В. Жемойда¹, Л. Ю. Соболенко²

¹Інститут фізіології рослин і генетики
Національної академії наук України
(Київ, Україна)

²Уманський державний педагогічний університет ім. Павла Тичини
(Умань, Черкаська обл., Україна)

В умовах польового дослідження вивчали ефективність симбіотичної взаємодії нових ризобій сої (*Glycine max*), отриманих методом Tn5-мутагенезу штаму 646 *Bradyrhizobium japonicum* із використанням плазмід pSUP::2021:Tn5 та pSUP::5011:Tn5 mob. Показано, що прояв симбіотичних властивостей інокулянтів залежить від сортових особливостей рослин, водночас *B. japonicum* В₁-20 забезпечував високу активність азотфіксуючого комплексу на обох сортах сої. Виявлено, що усі досліджувані Tn5-мутанти забезпечували достовірну прибавку урожаю зерна сої сорту Аннушка, а при інокуляції насіння сої сорту Васильківська лише два мутанти – 21-2 і В₁-20 – перевищували за своєю ефективністю штам-стандарт.

Ключові слова: *Bradyrhizobium japonicum*, *Glycine max*, Tn5-мутанти, азотфіксуюча активність, продуктивність, симбіоз

Серед сучасних напрямів розвитку агробіотехнологій, що відрізняються не лише своєю ефективністю, а й безпекою для навколишнього середовища, особливо перспективним є застосування біологічної фіксації атмосферного азоту симбіотичними системами рослин і мікроорганізмів (Доросинский, 1970; Генетика ..., 1998; Коць та ін., 2001; Stacey et al., 2006). Визначальним фактором ефективного симбіозу є високоактивні конкурентоздатні штами ризобій, які спроможні з одного боку, забезпечувати високий рівень біологічної фіксації азоту, а з іншого – успішно конкурувати з місцевими расами ризобій та рештою ґрунтової мікрофлори і зберігати при цьому активність за несприятливих умов довкілля.

Особливістю ґрунтових популяцій бульбочкових бактерій є висока гетерогенність еко-типів і поліморфізм. Крім того їм притаманна поява великої кількості рекомбінантних форм (панміктичність) (Jong, 1992; Проворов, Воро-

бьев, 2000; Проворов, Воробьев, 2003). Існування ризобій у асимбіотичній формі з часом знижує їх здатність до зв'язування атмосферного азоту. Водночас більшість ґрунтових ризобій зберігає високу агресивність і конкурентоздатність, що дозволяє їм ефективно взаємодіяти з рослиною-хазяїном, істотно знижуючи при цьому її урожайність через низький рівень забезпечення азотом.

Тому для підвищення інтенсивності симбіотичної азотфіксації необхідно постійно вести селекцію мікросимбіонтів із поліпшеними симбіотичними характеристиками. Для цього тривалий час використовували аналітичну селекцію бульбочкових бактерій із природних популяцій (Коць и др., 2011). Однак відібрані у процесі селекції штами характеризуються вузькою сортовою специфічністю до рослини-хазяїна і за ефективністю часто не перевищують штамми-стандарту більш ніж на 5-10% (Коць и др., 2011).

Використання біотехнологій у генетичній інженерії мікроорганізмів відкрило можливість для створення штамів ризобій із підвищеною здатністю до засвоєння азоту атмосфери, які

Адреса для кореспонденції: Маменко Павло Миколайович, Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, вул. Васильківська, 31/17, Київ, 03022, Україна;
e-mail: p_mamenko@ukr.net

повною мірою можуть забезпечувати рослину-хазяїна його сполуками. Одним із таких підходів є застосування мобільних генетичних елементів (транспозонів) для трансформації геному мікроорганізмів. Перевагою даного методу є отримання поодиноких неререверсивних мутацій, а також внесення у геном бактерії маркерів, що значною мірою полегшує і прискорює відбір трансформованих ризобій на селективних середовищах (Rhizobiacea, 2002; Маліченко та ін., 2007).

Разом із тим відібрані після мутагенезу ризобії з підвищеною азотфіксуючою активністю або здатністю утворювати більшу кількість бульбочок не завжди сприяють формуванню рослинами більшої вегетативної маси чи урожаю зерна (Маліченко та ін., 2006; 2010; Коць и др., 2011). Тому метою даної роботи було дослідження симбіотичних властивостей транспозонових мутантів *B. japonicum* та їх впливу на формування урожаю сортів сої різних груп стиглості в польових умовах.

МЕТОДИКА

Польові випробування ефективності інокуляції сої Tn5-мутантами проводили на дослідних ділянках агробіостанції Уманського державного педагогічного університету ім. Павла Тичини на двох різних за строком дозрівання сортах сої *Glycine max* L. Merr.: Аннушка – ранньостигла та Васильківська – середньорання. Для інокуляції насіння обох сортів було відібрано п'ять Tn5-мутантів: 9-2, 17-2, 21-2, що отримані за допомогою плазмід pSUP::2021:Tn5 та B₁-16, B₁-20, для одержання яких використовували плазмиду pSUP::5011:Tn5 mob (Воробей та ін., 2012). Реципієнтом слугував штам *B. japonicum* 646. Контролем слугували штам-стандарт *B. japonicum* 6346 та варіант зі спонтанною інокуляцією. Ґрунт дослідних ділянок темно-сірий, опідзолений. Облікова площа кожної ділянки 5 м², повторність – п'ятиразова, розміщення ділянок рандомізоване.

Насіння сої перед посівом у ґрунт інокулювали суспензією зазначених вище ризобіальних штамів однакової оптичної густини, яка складала 10⁸ клітин в 1 мл інокулянту. Посів сої проводили на глибину 3-5 см із розрахунку 600 тис. схожих насінин на 1 га.

Рослини сої сорту Аннушка для аналізу відбирали у фазі бутонізації–початку цвітіння та масового цвітіння, сорту Васильківська – початку бутонізації та початку цвітіння. Визначали вплив інокуляції ризобіями на наростання вегетативної маси рослин, кількість і масу бу-

льбочок, їх азотфіксуючу активність та зернову продуктивність після досягнення повної стиглості. Біологічна повторність визначень 7-разова.

Азотфіксуючу активність (АФА) визначали ацетиленовим методом (Hardy et al., 1968) на газовому хроматографі «Agilent GC system 6850» (США) з полуменево-іонізаційним детектором. Розділення газів проводили на колонці (Supelco Porapak N) за температури термостата 55°C і детектора 150°C. 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, № 536164, США).

Результати дослідів опрацьовували статистично (Доспехов, 1985). У таблицях представлені середні значення отриманих показників та середньоквадратичні відхилення.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

У природних умовах за наявності в ґрунті популяцій аборигенних рас ризобій вірулентний штам, внесений у вигляді бактеріального добрива, не завжди першим інфікує рослину, оскільки місцеві раси ризобій завжди більш пристосовані до певних умов довкілля і мають можливість зайняти домінуюче положення в ризосфері та ризоплані рослин (Окогум, 2003). Тому ефективність інтродукції нових штамів бульбочкових бактерій значною мірою залежить від вірулентності бактерій, тобто їх здатності проникати в клітини кореня, розмножуватись там та ініціювати утворення бульбочок (Проворов, Воробьев, 2000; Schlöter et al., 2000).

У польових умовах інокуляція траспозоновими мутантами забезпечувала формування на рослинах сої сорту Аннушка більшої кількості бульбочок порівняно зі спонтанною інокуляцією та обробкою стандартом *B. japonicum* 6346 (табл. 1). У фазі бутонізації–початку цвітіння найбільш вірулентними виявилися мутанти B₁-16 та 17-2. Останній до того ж у цей період формувал найбільшу масу бульбочок. Під час масового цвітіння усі досліджувані ризобії формували більшу кількість бульбочок порівняно зі штамом-стандартом, проте найбільше їх утворилося на рослинах, інокульованих Tn5-мутантами B₁-16 і 21-2. Останній виявився лідером і за масою бульбочок у цьому відборі.

Нами також виявлено, що всі мутанти за азотфіксуючою активністю значно перевершували штам 6346, інокуляція яким, у свою чергу, підвищувала азотфіксацію симбіозу сої на фоні

Таблиця 1. Симбіотичні характеристики Tn5-мутантів *B. japonicum* 646 при інокуляції сої сорту Аннушка

Варіант	Кількість бульбочок, шт./рослину	Маса бульбочок, г/рослину	АФА, мкмоль C ₂ H ₄ /(рослину· год)
І відбір – бутонізація–початок цвітіння			
Спонтанна інокуляція	10,3 ± 1,1	0,19 ± 0,03	1,74 ± 0,22
6346	14,3 ± 0,8	0,24 ± 0,02	1,83 ± 0,20
9-2	13,8 ± 1,4	0,28 ± 0,04	3,81 ± 0,56
17-2	20,0 ± 1,9	0,40 ± 0,02	6,02 ± 0,46
21-2	15,0 ± 2,0	0,28 ± 0,03	3,19 ± 0,37
B ₁ -16	20,3 ± 1,7	0,30 ± 0,04	3,04 ± 0,52
B ₁ -20	13,5 ± 0,6	0,31 ± 0,04	5,34 ± 1,01
II відбір – масове цвітіння			
Спонтанна інокуляція	12,5 ± 1,3	0,30 ± 0,03	2,24 ± 0,41
6346	13,0 ± 0,7	0,36 ± 0,07	3,16 ± 0,31
9-2	18,3 ± 0,7	0,35 ± 0,04	4,84 ± 0,51
17-2	17,8 ± 1,4	0,45 ± 0,03	5,63 ± 0,46
21-2	19,3 ± 1,1	0,53 ± 0,06	5,26 ± 0,49
B ₁ -16	19,5 ± 0,6	0,46 ± 0,06	5,25 ± 0,61
B ₁ -20	17,0 ± 1,1	0,45 ± 0,03	5,02 ± 0,15

Таблиця 2. Симбіотичні характеристики Tn5-мутантів *B. japonicum* 646 при інокуляції сої сорту Васильківська

Варіант	Кількість бульбочок, шт./рослину	Маса бульбочок, г/рослину	АФА, мкмоль C ₂ H ₄ /(рослину· год)
І відбір – початок бутонізації			
Спонтанна інокуляція	9,3 ± 1,9	0,16 ± 0,03	1,64 ± 0,01
6346	16,3 ± 1,5	0,20 ± 0,03	2,71 ± 0,14
9-2	12,3 ± 0,8	0,17 ± 0,01	2,09 ± 0,29
17-2	10,8 ± 1,1	0,21 ± 0,02	2,72 ± 0,43
21-2	14,8 ± 1,4	0,23 ± 0,01	3,64 ± 0,73
B ₁ -16	9,8 ± 1,4	0,17 ± 0,01	2,38 ± 0,27
B ₁ -20	14,5 ± 1,0	0,25 ± 0,03	5,01 ± 0,46
II відбір – початок цвітіння			
Спонтанна інокуляція	11,0 ± 0,7	0,30 ± 0,02	1,73 ± 0,28
6346	19,3 ± 0,8	0,38 ± 0,03	2,04 ± 0,24
9-2	16,8 ± 0,9	0,40 ± 0,02	3,34 ± 0,26
17-2	13,3 ± 1,4	0,37 ± 0,01	3,31 ± 0,30
21-2	25,0 ± 0,7	0,56 ± 0,04	3,46 ± 0,21
B ₁ -16	15,5 ± 1,8	0,41 ± 0,04	2,84 ± 0,31
B ₁ -20	25,8 ± 2,0	0,44 ± 0,03	3,77 ± 0,54

спонтанної інокуляції (табл. 1). У той же час найбільш активними азотфіксаторами за результатами двох відборів виявились симбіотичні системи, сформовані штамами 17-2 та B₁-20, що дозволяє розглядати їх як найбільш перспективні інокулянти для сої сорту Аннушка.

У результаті досліджень ефективності формування і функціонування симбіотичних систем сої сорту Васильківська було встановлено, що досліджувані транспозонові мутанти є ефективнішими лише на фоні аборигенних ризобій (табл. 2).

На початку бутонізації найбільшу кількість бульбочок було сформовано штамом 6346. За масою бульбочок штам-стандарт перевищували лише мутанти 21-2 і B₁-20, які і забезпечували їх найвищу азотфіксуючу активність. У період цвітіння ці ризобії домінували над штамом 6346 та іншими мутантами за усіма досліджуваними критеріями. На нашу думку, варто також зауважити, що у цей період за показником азотфіксуючої активності усі мутанти виявились ефективнішими від штаму-стандарту.

Таким чином, ряд досліджуваних Tn5-мутантів забезпечував ефективніше порівняно

ЕФЕКТИВНІСТЬ СИМБІОТИЧНИХ СИСТЕМ СОЇ

Таблиця 3. Ефективність формування вегетативної маси (г/рослину) сої сорту Аннушка при інокуляції Тп5-мутантами *B. japonicum* 646

Варіант	Бутонізація–початок цвітіння		Масове цвітіння	
	Надземна маса	Маса кореня	Надземна маса	Маса кореня
Спонтанна інокуляція	7,39 ± 0,41	0,98 ± 0,06	7,44 ± 0,52	0,99 ± 0,04
6346	7,96 ± 0,35	1,08 ± 0,02	9,29 ± 0,45	1,16 ± 0,07
9-2	14,0 ± 0,80	1,89 ± 0,13	13,87 ± 0,91	1,79 ± 0,14
17-2	13,03 ± 1,21	1,69 ± 0,13	15,43 ± 1,36	1,89 ± 0,15
21-2	9,16 ± 1,06	1,28 ± 0,12	12,10 ± 0,89	1,76 ± 0,13
B ₁ -16	11,53 ± 0,92	1,43 ± 0,15	19,65 ± 0,93	1,88 ± 0,17
B ₁ -20	10,50 ± 0,66	1,09 ± 0,09	13,72 ± 1,43	1,69 ± 0,24

Таблиця 4. Ефективність формування вегетативної маси (г/рослину) сої сорту Васильківська при інокуляції Тп5-мутантами *B. japonicum* 646

Варіант	Початок бутонізації		Початок цвітіння	
	Надземна маса	Маса кореня	Надземна маса	Маса кореня
Спонтанна інокуляція	5,93 ± 0,34	0,77 ± 0,06	13,26 ± 0,79	1,41 ± 0,07
6346	6,91 ± 0,32	0,95 ± 0,06	14,60 ± 1,39	1,70 ± 0,18
9-2	12,68 ± 1,09	1,58 ± 0,10	23,87 ± 1,74	2,01 ± 0,15
17-2	10,01 ± 0,59	1,41 ± 0,11	18,19 ± 0,99	1,84 ± 0,17
21-2	14,59 ± 0,56	1,86 ± 0,18	25,53 ± 1,23	2,30 ± 0,19
B ₁ -16	8,23 ± 0,63	1,04 ± 0,08	18,57 ± 0,88	2,11 ± 0,10
B ₁ -20	9,20 ± 0,83	1,32 ± 0,12	21,76 ± 0,87	1,99 ± 0,10

Таблиця 5. Вплив інокуляції Тп5-мутантами *B. japonicum* 646 на продуктивність сої сорту Аннушка

Варіант	Урожай, ц/га	Прибавка урожаю			
		до контролю		до 6346	
		ц/га	%	ц/га	%
Спонтанна інокуляція	23,3 ± 0,7	-	-	-	-
6346	25,9 ± 1,0	2,6	11,2	-	-
9-2	28,7 ± 0,5	5,4	23,2	2,8	10,8
17-2	28,2 ± 0,7	4,9	21,0	2,3	8,9
21-2	28,5 ± 0,7	5,2	22,3	2,6	10,0
B ₁ -16	29,6 ± 1,3	6,3	27,0	3,7	14,3
B ₁ -20	28,4 ± 1,1	5,1	21,9	2,5	9,6
НІР ₀₅	2,1				

із штамом-стандартом формування і функціонування симбіотичного апарату на обох сортах сої, що значною мірою відрізняються за вегетаційним періодом. Серед досліджуваних транспозонових мутантів лише один (B₁-20) мав високу активність азотфіксуючого комплексу одночасно на обох сортах сої.

На даний момент відомо, що у ризобій існує кілька груп генів, які контролюють ефективність формування і функціонування симбіотичного апарату. Це *nod*-гени, які кодують процес формування бульбочок, *nif*-гени, від функ-

ціонування яких безпосередньо залежить фіксація молекулярного азоту, і *fix*-гени, які контролюють симбіотичну азотфіксацію (Генетика ..., 1998; Проворов, Воробьев, 2000). Разом із тим здатність рослини-хазяїна вже на стадії передінфекції спрямовано «відбирати» з ґрунту певні штами бактерій, у тому числі й ті, що рідко зустрічаються в популяціях ризосферних бульбочкових бактерій, є одним із основних факторів, які забезпечують ефективність симбіозу (Rhizobiacea, 2002). Саме комплементарні партнери (сорт рослини і, відповідно, ефективний для рослини штам) забезпечують активну фік-

Таблиця 6. Вплив інокуляції Tn5-мутантами *B. japonicum* 646 на продуктивність сої сорту Васильківська

Варіант	Урожай, ц/га	Прибавка урожаю			
		до контролю		до 6346	
		ц/га	%	ц/га	%
Спонтанна інокуляція	32,4 ± 1,9	-	-	-	-
6346	37,1 ± 1,0	4,7	14,5	-	-
9-2	40,0 ± 2,6	7,6	23,5	2,9	7,8
17-2	38,7 ± 0,9	6,3	19,4	1,6	4,3
21-2	41,2 ± 1,3	8,8	27,2	4,1	11,1
B ₁ -16	38,4 ± 0,9	6,0	18,5	1,3	3,5
B ₁ -20	40,9 ± 0,9	8,5	26,2	3,8	10,2
НІР ₀₅	3,2				

сацію біологічного азоту та розкривають потенціал продуктивності рослин (Марьюшкин і др., 1990; Толкачев, Сичкар, 2003; Коць і др., 2007).

При дослідженні динаміки наростання вегетативної маси сої сорту Аннушка було виявлено, що інокуляція Tn5-мутантами сприяла активнішому нагромадженню надземної маси, порівняно з варіантом, де насіння обробляли штамом-стандартом (табл. 3).

Проте, якщо у фазі бутонізації–початку цвітіння найвищу ефективність мали штами 9-2 і 17-2, то у фазі масового цвітіння найвищий приріст надземної маси був у варіантах з інокуляцією 17-2 та B₁-16.

При обробці насіння сої сорту Васильківська, як і у досліді на сорті Аннушка, усі транспозонові мутанти ефективніше стимулювали розвиток надземної маси, порівняно із інокуляцією штамом 6346 (табл. 4). При цьому найбільший ефект спостерігали при обробці Tn5-мутантами 9-2 і 21-2, який зберігався протягом обох відборів.

Інтегральним показником ефективності передпосівної бактеризації бобових культур, як відомо, є урожай зерна. При порівнянні впливу інокуляції Tn5-мутантами на формування врожаю сої обох сортів видно (табл. 5, 6), що в польових умовах інокуляція насіння сої сорту Аннушка усіма досліджуваними Tn5-мутантами забезпечувала достовірну прибавку врожаю зерна як у порівнянні зі спонтанною інокуляцією (21–27 %), так і з обробкою штамом-стандартом (8,9-14,3 %). Найкращими симбіопартнерами для сої сорту Аннушка виявилися Tn5-мутанти 9-2, 21-2, B₁-16.

Рослини сої сорту Васильківська мали вищий потенціал урожайності. І якщо на фоні спонтанної інокуляції усі досліджувані транспозонові мутанти забезпечували достовірний

приріст урожаю на 18,5–27,2 %, то у порівнянні зі штамом 6346 лише Tn5-мутанти 21-2 і B₁-20 забезпечували достовірну прибавку врожаю.

Таким чином, для отримання максимальної урожайності сортів сої, що відрізняються за строками дозрівання, необхідна інокуляція різними, більш комплементарними їм ризобіями. Стає очевидним, що для досягнення найефективнішої реалізації потенціалу симбіотичної азотфіксації необхідно постійно вести координовану селекцію рослин і бульбочкових бактерій, спрямовану на створення комплементарних генотипів мікро- і макросимбіонтів. Разом із тим, отримані результати свідчать, що не завжди висока азотфіксуюча активність чи вірулентність мікросимбіонта є визначальними у формуванні продуктивності рослини-хазяїна.

З іншого боку, перспективним стає створення універсальних комплексних бактеріальних добрив, які містять кілька штамів бульбочкових бактерій та здатні формувати ефективні взаємовідносини з сортами сої різних груп стиглості. При застосуванні таких комплексних добрив рослина сама буде добирати найбільш відповідного їй партнера. Це дозволить ефективніше використовувати потенціал біологічної фіксації азоту і створить передумови для підвищення продуктивності рослин.

ЛІТЕРАТУРА

- Воробей Н.А., Заєць В.М., Коць С.Я. Біотехнологія створення ефективних Tn5-мутантів бульбочкових бактерій конюшини *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* // Біотехнологія. – 2012. – Т. 5, № 3. – С. 53-61.
- Генетика симбиотической азотфиксации с основами селекции / Под ред. И.А.Тихоновича, Н.А. Прохорова. – СПб.: Наука, 1998. – 194 с.
- Доросинский Л.М. Клубеньковые бактерии и нитрагин. – Л.: Наука, 1970. – 191 с.

- Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Колос, 1985. – 371 с.
- Коць С.Я., Береговенко С.К., Кириченко Е.В., Мельникова Н.Н. Особенности взаимодействия растений и азотфиксирующих микроорганизмов. – Киев: Наук. думка, 2007. – 315 с.
- Коць С.Я., Маліченко С.М., Кругова О.Д., Мандровська Н.М., Кириченко О.В. Фізіолого-біохімічні особливості живлення рослин біологічним азотом. – К.: Логос, 2001. – 271 с.
- Коць С.Я., Моргу́н В.В., Тихонович І.А., Проворов Н.А., Паты́ка В.Ф., Петриченко В.Ф., Мельникова Н.Н., Маменко П.Н. Биологическая фиксация азота: генетика азотфиксации, генетическая инженерия штаммов. – К.: Логос, 2011. – Т. 3. – 404 с.
- Маліченко С.М., Даценко В.К., Василюк В.М. Ефективність симбіотичних систем, утворених за участю сої і транспозантів бульбочкових бактерій *Bradyrhizobium japonicum* 646 // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. Біологія. – 2006. – Вип. 18. – С. 144-148.
- Маліченко С.М., Даценко В.К., Василюк В.М. Транспозоновий мутагенез штамів *Bradyrhizobium japonicum* // Физиология и биохимия культ. растений. – 2007. – Т. 39, № 5. – С. 409-418.
- Марьюшкин В.Ф., Даценко В.К., Курочкина Л.Л., Старченков Е.П., Михайлов В.Г. Изменчивость симбиотической азотфиксации у различных генотипов сои // Физиология и биохимия культ. растений. – 1990. – Т. 22, № 2. – С. 132-136.
- Маліченко С.М., Даценко В.К., Маменко П.М., Коць С.Я. Здатність транспозонових мутантів ризобій сої приживатись у ґрунті і зберігати симбіотичні властивості // Физиология и биохимия культ. растений. – 2010. – Т. 42, № 6. – С. 530-536.
- Проворов Н.А., Воробьев Н.И. Микроэволюционная генетика клубеньковых бактерий: молекулярные и популяционные аспекты // Генетика. – 2000. – Т. 36, № 12. – С. 1573-1578.
- Проворов Н.А., Воробьев Н.И. Микроэволюция клубеньковых бактерий при возникновении мутантов с измененной выживаемостью в системе «растение-почва» // Генетика. – 2003. – Т. 39, № 12. – С. 1594-1605.
- Толкачев Н.З., Сичкарь В.И. Координированная селекция сои и *Bradyrhizobium japonicum* на высокоэффективный симбиоз // Біологічні науки і проблеми рослинництва / Збірн. наук. праць Уманського держ. аграрн. ун-ту. – Умань, 2003. – С. 270-276.
- Jong J.P. Molecular population genetics and evolution of rhizobium // The nitrogen fixation and its research in China / Ed. J.E. Hong. – Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag, 1992. – P. 366-381.
- Hardy R.W.F., Holsten R.D., Jackson E.K., Burns R.C. The acetylene-etylene assay for nitrogen fixation: laboratory and field evaluation // Plant Physiol. – 1968. – V. 43 – P. 1185-1207.
- Okogum J.A., Sanginga N. Can introducer and indigenous rhizobial strains compete for nodule formation by promiscuous soybean in the moist savanna agroecological zone Nigeria // Biol. Fert. Soil. – 2003. – V. 38, № 1. – P. 26-31.
- Rhizobiaceae. Молекулярная биология бактерий, взаимодействующих с растениями / Под. ред. Г. Спайка, А. Кондороши, П. Хукаса. – Спб., 2002. – 563 с.
- Stacey G., Libault M., Brechermacher L., Wan J., May G.D. Genetics and functional genomics of legume nodulation // Curr. Opin. Plant Biol. – 2006. – V. 9. – P. 110-121.
- Schlottor M., Zebuhn M., Heulin T., Hartman A. Ecology and evolution of bacterial-microdiversity // FEMS Microbiol. Rev. – 2000. – V. 24. – P. 647-660.

Надійшла до редакції
24.01.2014 р.

EFFICIENCY OF SYMBIOTIC SYSTEMS FORMED BY SOYBEAN OF DIFFERENT MATURITY GROUPS UNDER INOCULATION WITH TN5 MUTANTS OF *Bradyrhizobium japonicum*

P.M. Mamenko¹, S.M. Malichenko¹, A.V. Zhemojda¹, L.Yu. Sobolenko²

¹*Institute of Plant Physiology and Genetics
National Academy of Sciences of Ukraine
(Kyiv, Ukraine)*

e-mail: p_mamenko@ukr.net

²*Pavlo Tychyna Uman State Pedagogical University
(Uman, Cherkassy region, Ukraine)*

The efficiency of symbiotic interaction of different soybean (*Glycine max*) cultivars inoculated with the recombinants obtained by Tn5 mutagenesis of *Bradyrhizobium japonicum* using the plasmids

pSUP::2021 and pSUP::5011 mob have been studied in field. It was shown that revealing symbiotic properties of the inoculants depended on plant cultivar peculiarities. At the same time *B. japonicum* B₁-20 provided high activity of nitrogen fixing complex in the case of both soybean cultivars. All the Tn5 mutants were shown to provide reliable increase of grain yield of soybean cultivar Annushka. The increasing the grain yield was observed compared to strain-standart while the seeds of soybean cultivar Vasilkovskaya were inoculated with the mutants 21-2 and B₁-20.

Key words: *Bradyrhizobium japonicum*, *Glycine max*, Tn5 mutants, productivity, symbiosis

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ СИМБИОТИЧЕСКИХ СИСТЕМ СОИ
РАЗНЫХ ГРУПП СОЗРЕВАНИЯ ПРИ ИНОКУЛЯЦИИ Tn5-МУТАНТАМИ
*Bradyrhizobium japonicum***

П. Н. Маменко¹, С. М. Маличенко¹, А. В. Жемойда¹, Л. Ю. Соболенко²

¹*Институт физиологии растений и генетики
Национальной академии наук Украины
(Киев, Украина)
e-mail: p_mamenko@ukr.net*

²*Уманский государственный педагогический университет им. Павла Тычины
(Умань, Черкасская обл., Украина)*

В условиях полевого опыта изучали эффективность симбиотического взаимодействия новых ризобий сои (*Glycine max*), полученных методом Tn5-мутагенеза штамма 646 *Bradyrhizobium japonicum* с использованием плазмид pSUP::2021:Tn5 и pSUP::5011:Tn5 mob. Показано, что проявление симбиотических свойств инокулянтов зависит от сортовых особенностей растений. Вместе с тем *B. japonicum* B₁-20 обеспечивал высокую активность азотфиксирующего комплекса на обоих сортах сои. Обнаружено, что все исследуемые Tn5-мутанты обеспечивали достоверную прибавку урожая зерна сои сорта Аннушка, а при инокуляции семян сои сорта Васильковская только два мутанта – 21-2 и B₁-20 – превышали по своей эффективности штамм-стандарт.

Ключевые слова: *Bradyrhizobium japonicum*, *Glycine max*, Tn5-мутанты, азотфиксирующая активность, продуктивность, симбиоз