

ДОСЛІДЖЕННЯ СИМБІОТИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ Tn5-МУТАНТІВ БУЛЬБОЧКОВИХ БАКТЕРІЙ СОЇ

Василюк В.М., Маменко П.М., Береговенко С.К.

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України,
вул. Васильківська, 31/17, м. Київ, 03022, Україна

*В умовах вегетаційних експериментів вивчали ефективність формування і функціонування азотфіксувальних систем сої (*Glycine max* (L.) Merr.) із різними за симбіотичними характеристиками Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* 646. Встановлено, що інокуляція насіння високовірулентними, проте малоактивними транспозоновими мутантами 107 і 113 викликала зниження у рослин біометричних показників і насінневої продуктивності у порівнянні з інокуляцією контрольними (вихідним 646 і виробничим 6346) штамами. Відмічено, що Tn5-мутант 118-8 відзначався низькою нодуляційною і азотфіксувальною активністю. Бактеризація насіння високоактивними мутантами 21-2 і 17-2 забезпечувала достовірний приріст урожайності сої у порівнянні з контролем. Зазначені Tn5-мутанти можуть бути перспективним вихідним матеріалом для подальшої селекції виробничих штамів бульбочкових бактерій.*

Ключові слова: *Bradyrhizobium japonicum*, *Glycine max* (L.) Merr., Tn5-мутант, симбіоз, симбіотичні властивості.

Підвищення ефективності аграрного виробництва і отримання максимальної кількості рослинницької продукції за мінімальних матеріальних та енергетичних затрат можливе за умови інтенсифікації процесу симбіотичного зв'язування азоту атмосфери бобовими рослинами і здатності останніх формувати високоактивні симбіотичні азотфіксувальні системи з бульбочковими бактеріями [1, 2]. Суттєве зростання ефективності бобово-ризобіальної симбіотичної системи можна досягти шляхом координованої селекції нових сортів бобових рослин і штамів бульбочкових бактерій [3]. Широке використання методів молекулярної генетики і генної інженерії дає можливість досліджувати гени, відповідальні за симбіотичну азотфіксацію, і розширювати спектр спадкової мінливості ризобій, що є основою для спрямованого конструювання нових штамів із господарсько-цінними ознаками.

Існує велика група ризобіальних генів, які контролюють розвиток симбіозу, а також його ефективність. Проте відсутність фенотипового їх прояву у вільноіснуючих ризобій суттєво ускладнює роботу з отримання різних за ефективністю мутантів цих бактерій [4].

Вирішення даної проблеми можливе за використання методу транспозонового мутагенезу. Основою цього методу є здатність рухомих генетичних елементів – транспозонів вбудовуватися в ген-мішень, інактивовувати його і мітити маркером стійкості до антибіотиків, викликаючи широкий спектр поодиноких генетичних мутацій. Транспозон має містити маркери стійкості до певних антибіотиків, за допомогою яких випадки транспозиції можна легко виділити селекцією на обумовлену транспозоном стійкість [5, 6].

Одним із підходів у дослідженні фізіолого-біохімічних процесів, які відбуваються за симбіозу бобових рослин із бульбочковими бактеріями, є створення і вивчення різних за ефективністю симбіотичних систем, що дає можливість дослідити основні етапи становлення й розвитку взаємовідносин між партнерами бобово-ризобіального симбіозу, а також вивчити структурні особливості будови симбіотичних органів рослин та підібрати критерії для селекції нових вискоелективних штамів бульбочкових бактерій.

Створення різних за ефективністю азотфіксувальних систем ризобії – бобові рослини як модельних для вивчення фізіолого-біохімічних процесів цього симбіозу має велике теоретичне значення і практичну цінність. Від того, наскільки ефективно функціонує симбіотична система, залежить її продуктивність і вклад в азотний баланс ґрунту.

Серед зернобобових культур чільне місце займає соя як за площею посівів, так і за цінністю утворюваної продукції. За обсягами виробництва і використання вона в кілька разів перевищує всі разом узяті однорічні зернобобові рослини і займає чільне місце в світі серед високобілкових і олійних культур [7].

Тому метою нашої роботи було дослідження процесів формування і функціонування симбіозу рослин сої із різними за ефективністю транспозоновими мутантами *Bradyrhizobium japonicum*.

Матеріали й методи. У дослідженнях використовували рослини сої *Glycine max* (L.) Merr. сорту Мар'яна спільної селекції

Інституту фізіології рослин і генетики (ІФРГ) НАН України, Селекційно-генетичного інституту й Інституту землеробства УААН. У роботі застосовували повільнорослі штами 646 і 634 б *Bradyrhizobium japonicum* із музейної колекції ІФРГ НАН України, а також Тп5-мутанти штаму *B. japonicum* 646, отримані у відділі симбіотичної азотфіксації ІФРГ НАН України [8].

Рослини сої вирощували в умовах вегетаційного досліду на промитому річковому піску по 6–8 од. у посудинах Вагнера ємністю 13 кг, які попередньо стерилізували 20 %-ним розчином H_2O_2 , за природного освітлення та вологості субстрату 60 % повної вологоємності. Джерелом мінерального живлення була поживна суміш Гельрігеля, що містила, крім інших елементів живлення, 0,25 норми азоту з додаванням мікроелементів Мо, В і Fe. Як контроль використовували вихідний 646 та виробничий 634 б штами *B. japonicum*.

Насіння сої стерилізували протягом 15 хв 70 %-ним розчином етанолу, після чого 2 год. промивали водою. Ризобіальні штами і Тп5-мутанти вирощували на манітно-дріжджовому агарі протягом 8 діб за температури 28 °С. Інокуляцію насіння здійснювали шляхом зволоження його протягом години бактеріальною суспензією із концентрацією 10^8 клітин/мл, після чого його висівали у вегетаційні посудини. Відбір рослин для аналізу проводили у фазі утворення 3-х справжніх листків, бутонізації і цвітіння. Повторність дослідів 8–10-разова.

У відібраних зразках обраховували кількість тамасу утворених бульбочок на коренях сої, а також продуктивність рослин.

Азотфіксувальну (нітрогеназну) активність визначали ацетиленовим методом [9] на газовому хроматографі “Chromatograph-504” (Польща).

Усі результати оцінювали статистично за загальноприйнятою методикою [10]. У таблицях і рисунках подані середньоарифметичні значення та їх стандартні похибки.

Результати та їх обговорення. Формування ефективного бобово-ризобіального симбіозу – це результат складної взаємодії між рослинним і бактеріальним геномом. Для створення симбіотичних систем із різним рівнем ефективності ми проводили інокуляцію насіння сої відібраними в результаті первинного скринінгу Тп5-мутантами ризобій.

Однією з важливих симбіотичних характеристик бульбочко-

вих бактерій є вірулентність, тобто здатність проникати в коріння рослини-господаря і ініціювати утворення бульбочок. Результати наших досліджень показали (табл. 1), що кількість бульбочок у рослин сої усіх варіантів зростала в онтогенезі. У фазу формування 3-х справжніх листків найбільш вірулентним виявився Tn5-мутант 21-2, за інокуляції яким підвищувалось бульбочкоутворення на 25 % у порівнянні з інокуляцією штамом *B. japonicum* 646. У той же період тенденцію до збільшення кількості бульбочок відмічали у рослин, інокульованих Tn5-мутантом 113. Усі інші досліджувані Tn5-мутанти характеризувалися нижчою нодуляційною активністю, ніж вихідний 646 та виробничий 634 б штами.

Проте, за масою сформованих бульбочок у фазу утворення 3-х справжніх листків три Tn5-мутанти (21-2, 9-1 і 17-2) значно перевищували контроль (табл. 2). Бульбочки, утворені цими мутантами, були зосереджені, в основному, у верхній частині головного кореня, мали більші розміри у порівнянні з інокуляцією іншими досліджуваними ризобіями.

У фазу бутонізації зростання кількості утворених бульбочок відмічали у рослин, інокульованих Tn5-мутантами 107 і 113 (табл. 1). Ця тенденція зберігалася до закінчення спостережень – під час цвітіння сої різниця між згаданими мутантами та вихідним штамом 646 становила відповідно 62,1 і 112,1 %. Отже, Tn5-мутанти 107 і 113 характеризувалися найвищою вірулентністю порівняно з іншими досліджуваними бульбочковими бактеріями. Збільшення нодуляційної активності у цих Tn5-мутантів спостерігали на пізніх етапах формування симбіотичних взаємовідносин. Бульбочки, утворені ними, були дрібні, мали незначну масу у порівнянні з вихідним штамом та іншими мутантами (табл. 2). Винятком був Tn5-мутант 118-8, який упродовж усього періоду дослідження викликав утворення бульбочок значно меншої маси у порівнянні з іншими варіантами.

Усі досліджувані мутанти, за винятком 107 і 113, у фазу бутонізації за нодуляційною здатністю (табл. 1) та масою утворених бульбочок (табл. 2) були менш активними або знаходилися за цими показниками на рівні вихідного штаму. Аналогічна закономірність спостерігалася і в період цвітіння сої.

Відомо, що лише деякі гени вірулентності є спільними для всіх видів ризобій, тоді як більшість із них – видо- або штамоспецифічні: вони контролюють структурні модифікації Nod-42

факторів, що визначають специфічність їх морфогенетичної дії на рослину. Тобто, зміни нодуляційної активності бульбочкових бактерій по відношенню до рослини-господаря можуть бути викликані мутаціями генів вірулентності ризобій [11].

Таблиця 1. Утворення бульбочок (од./рослину) на коренях сої під впливом інокуляції Tn5-мутантами В. жаронісит 646

Варіанти досліджу	Фаза розвитку рослин		
	3 справжніх листки	бутонізація	цвітіння
Штам			
634 б	26,87 ± 2,28	35,50 ± 1,97	53,83 ± 1,74
646	28,75 ± 1,79	42,50 ± 2,32	66,00 ± 5,70
Tn5-мутант			
21-2	36,00 ± 2,63	37,62 ± 2,63	66,00 ± 5,77
9-1	21,87 ± 1,46	39,12 ± 2,36	63,17 ± 2,68
17-2	27,00 ± 2,08	42,87 ± 2,93	61,33 ± 4,54
35-2	24,37 ± 2,16	36,37 ± 1,60	73,00 ± 3,01
107	22,25 ± 1,87	50,25 ± 1,67	107,00 ± 3,76
113	33,75 ± 2,88	56,37 ± 2,08	140,00 ± 6,48
118-8	17,12 ± 1,19	37,25 ± 2,64	47,67 ± 4,12

Найважливішим показником ефективності функціонування симбіотичних систем є азотфіксувальна активність (АФА) кореневих бульбочок. Нами встановлено, що у різні фази розвитку рослин Tn5-мутанти 21-2, 9-1 і 17-2 підвищували АФА сої у порівнянні з інокуляцією штамом-стандартом і вихідним штамом (рис.). Показано, що в період утворення 3-х справжніх листків найвищою АФА характеризувався мутант 17-2. У фазу бутонізації ми відмічали зниження АФА у цього Tn5-мутанта у порівнянні з вихідним штамом на 26,2 %. Протягом фази цвітіння рослин

показники активності кореневих бульбочок для цього мутанта були вищими у порівнянні до *B. jaropiscum* 646, проте достовірно не відрізнялися від цих показників штаму 634 б.

Таблиця 2. Маса бульбочок (г/рослину) на коренях сої під впливом інокуляції різними Tn5-мутантами *B. jaropiscum* 646

Варіанти досліджу	Фаза розвитку рослин		
	3 справжніх листки	бутонізація	цвітіння
Штам			
634б	0,15 ± 0,01	0,41 ± 0,03	0,64 ± 0,03
646	0,18 ± 0,01	0,56 ± 0,04	1,31 ± 0,09
Tn5-мутант			
21-2	0,24 ± 0,02	0,51 ± 0,02	1,16 ± 0,06
9-1	0,21 ± 0,01	0,54 ± 0,02	1,14 ± 0,06
17-2	0,21 ± 0,02	0,56 ± 0,04	1,15 ± 0,06
35-2	0,14 ± 0,01	0,39 ± 0,02	0,88 ± 0,03
107	0,09 ± 0,01	0,31 ± 0,02	0,41 ± 0,04
113	0,08 ± 0,01	0,33 ± 0,02	0,68 ± 0,03
118-8	0,02 ± 0,00	0,23 ± 0,02	0,47 ± 0,03

Tn5-мутант 21-2 у першу фазу відбору за абсолютним значенням АФА перевищив *B. jaropiscum* 634б, але ця різниця була недостовірною (рис.). У цього мутанта максимальні показники активності кореневих бульбочок спостерігали у фазу бутонізації, а в період цвітіння рослин вони знижувалися. Це співпадає із динамікою АФА вихідного штаму 646, у якого пік азотфіксувальної активності

також припадав на фазу бутонізації рослин. Усі інші досліджувані Tn5-мутанти і виробничий штам 634 б підвищували АФА протягом вегетації рослин, максимум якої припадав на фазу цвітіння.

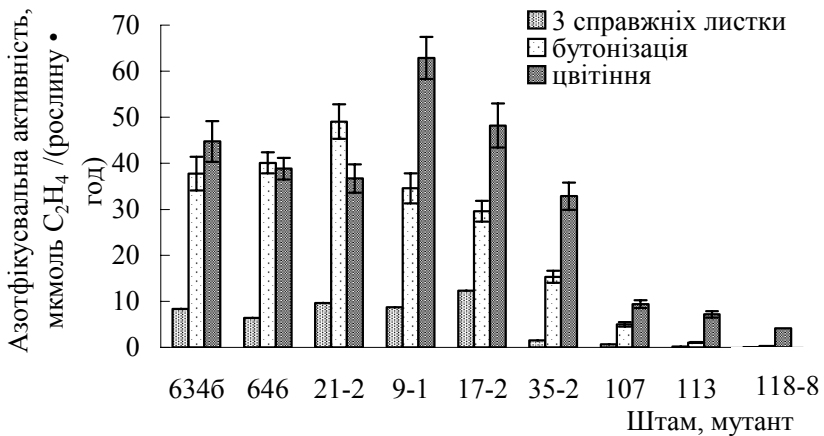


Рис. Динаміка загальної азотфіксувальної активності корневих бульбочок сої, інокульованої Tn5-мутантами *V. japonicum* 646

Нами відмічено Tn5-мутанти 107, 113, 35-2 і 118-8, інокуляція якими призводила до значного зниження азотфіксувальної активності бульбочок протягом досліджуваного періоду вегетації сої (рис.), хоча транспозоновий мутант 35-2 у фазу цвітіння рослин характеризувався дещо вищою АФА у порівнянні із зазначеними Tn5-мутантами.

Між нодуляційною здатністю бульбочкових бактерій та їх азотфіксувальною активністю не завжди існує прямий зв'язок. Підтвердженням цього є дані, отримані нами при інокуляції рослин сої високовірулентними Tn5-мутантами 107 і 113, які характеризувалися низькою АФА протягом усього періоду досліджень (рис.). Встановлено, що Tn5-мутант 21-2, який у фазу утворення у сої 3-х справжніх листків відзначався найвищою вірулентністю (табл. 1), збільшував АФА у фазу бутонізації рослин.

Від активності фіксації молекулярного азоту бульбочковими бактеріями і подальшого розподілу продуктів асиміляції між різними органами рослини залежить формування вегетативної і насінневої продуктивності. Встановлено, що інокуляція рослин сої Tn5-

мутантами 21-2, 9-1 і 17-2 стимулювала наростання надземної маси (табл. 3). У фазу появи 3-х справжніх листків найвищі показники маси надземної частини зафіксовані у варіанті з інокуляцією мутантом 17-2. Це відповідає найвищій АФА бульбочок у рослин цього варіанту (рис.).

При бактеризації насіння Тп5-мутантами 107, 113, 35-2 і 118-8 спостерігали зниження маси надземної частини рослин у фазу появи 3-х справжніх листків у порівнянні з іншими досліджуваними варіантами (табл. 3). Ця тенденція зберігалася до кінця спостережень і у фазу цвітіння відмічалось значне відставання у розвитку цих рослин у порівнянні з варіантами із застосуванням інших досліджуваних мутантів і контрольних штамів. Винятком є мутант 35-2, який у фазу цвітіння підвищував наростання надземної маси рослин сої, проте, за цим показником достовірно не перевищував виробничий штам 634 б.

Відомо, що рослини сої, які відчувають стрес унаслідок нестачі азоту за слабкої азотфіксації, формують фотосинтетичний апарат низької активності [12] і з цієї причини можуть відставати у рості через недостатнє засвоєння вуглецю при фотосинтезі. Існують дані, що у кормових бобів після досягнення максимального рівня азотфіксації і акумуляції рослинами достатньої кількості азоту зазвичай настає період так званого С-лімітованого росту [13]. У проведених дослідженнях ми, вочевидь, спостерігали таке явище у рослин, інокульованих неактивними Тп5-мутантами 107, 113, 35-2 і 118-8, що є наслідком азотного голодування рослин. Саме дефіцит симбіотично фіксованого азоту в даному випадку може бути обмежуючим фактором росту рослин сої в умовах неефективного симбіозу.

Таким чином, нами встановлено позитивний вплив інокуляції насіння сої активними Тп5-мутантами 21-2, 9-1 і 17-2 на наростання маси рослин протягом усього періоду досліджень. Відповідно, використання транспозонових мутантів 107, 113, 35-2 і 118-8 мало негативний ефект на ростові параметри сої і призводило до зниження цих показників.

Під час проведення вегетаційних експериментів для обліку урожайності до репродуктивної фази ми залишали по 6 рослин сої у посудині. Найвищий достовірний результат у порівнянні з вихідним і виробничим штамми встановлено у варіантах, де інокулянтами були Тп5- мутанти 21-2 і 17-2 (табл. 4). У той же час

значне зниження урожайності насіння (на 11–22 %) відмічали у рослин, бактеризованих мутантами 107, 113, 35-2 і 118-8, порівняно до контрольного варіанту з бактеризацією штамом-стандартом 634 б.

Таблиця 3. Динаміка наростання сирієї вегетативної маси (г/рослину) сої, інокульованої Тп5-мутантами В. жароісит 646

Варіанти досліду	Фаза розвитку рослин					
	3 справжніх листки		бутонізація		цвітіння	
	маса надземної частини	маса кореня	маса надземної частини	маса кореня	маса надземної частини	маса кореня
Штам						
634б	6,08±0,44	4,36±0,24	10,90±0,42	7,33±0,64	14,11±1,30	9,28±0,51
646	6,33±0,35	3,72±0,19	11,52±0,27	8,27±0,19	15,39±0,89	9,23±0,61
Тп5-мутант						
21-2	7,07±0,22	4,48±0,11	13,26±0,48	8,79±0,41	17,38±0,46	9,54±0,79
9-1	7,06±0,30	4,92±0,14	12,08±0,34	8,14±0,20	16,31±1,39	8,25±0,42
17-2	7,28±0,37	3,85±0,26	13,33±0,53	7,86±0,20	16,19±1,28	8,13±0,71
107	5,56±0,20	4,04±0,11	9,23±0,59	8,69±0,64	9,46±0,72	6,28±0,38
113	5,53±0,29	3,30±0,13	8,24±0,23	7,52±0,29	9,16±0,56	6,57±0,43
35-2	5,25±0,40	3,55±0,28	8,75±0,65	6,55±0,32	13,41±0,86	8,15±0,25
118-8	5,11±0,32	3,93±0,13	7,29±0,29	7,91±0,38	8,98±0,77	8,57±0,54

Отже, ми встановили, що за інокуляції Тп5-мутантами 21-2 і 17-2, які у різні фази розвитку рослин відзначалися високою АФА кореневих бульбочок і збільшували наростання вегетативної маси у порівнянні з контролями, рослини забезпечували достовірний приріст урожаю. Проте, треба відзначити, що близький за АФА до зазначених вище мутантів Тп5-мутант 9-1 за цим показником суттєво не відрізнявся від варіантів із бактеризацією виробничим штамом 634 б. Можливо, це пов'язано із неправильним перерозподілом продуктів асиміляції атмосферного азоту у рослин, бактеризованих цим мутантом.

Також встановлено, що обробка насіння високовірулентними, проте малоактивними Tn5-мутантами 107, 113 і 35-2 викликала зниження біометричних показників і насінневої продуктивності рослин. Вірогідно, що за рахунок низької фіксації молекулярного азоту у рослини не надходили речовини, необхідні для нормального росту, розвитку і репродуктивної активності симбіотичної системи.

Таблиця 4. Урожайність насіння сої, інокульованої Tn5-мутантами *V. japonicum* 646

Варіанти дослідів	Маса насіння, г/посудину	Приріст до контролю (<i>V. japonicum</i> 634 б), %	Приріст до контролю (<i>V. japonicum</i> 646), %
Штам			
634 б	21,71 ± 0,42	–	+ 1,31
646	21,43 ± 0,60	– 1,30	–
Tn5-мутант			
21-2	26,43 ± 1,19	+ 21,75	+ 23,35
9-1	22,70 ± 1,65	+ 4,57	+ 5,94
17-2	24,13 ± 2,67	+ 11,15	+ 12,61
107	17,72 ± 0,62	– 18,36	– 17,29
113	15,90 ± 1,87	– 26,78	– 25,82
35-2	11,34 ± 1,60	– 47,75	– 47,06
118-8	11,95 ± 1,99	– 44,95	– 44,02
НІР ₀₅	1,67		

Отже, нами були створені різні за ефективністю симбіотичні системи сої, в яких мікропартнерами були окремі Tn5-мутанти *V. japonicum* 646. Використані в дослідженнях мутанти відрізнялися за своїми симбіотичними характеристиками. Показано, що високовірулентні мутанти не завжди сприяють підвищенню азотфіксувальної активності корневих бульбочок і продуктивності рослин, а висока активність азотфіксації не завжди приводить до збільшення насінневої продуктивності сої. Окрім того, нами відмічено Tn5-мутант 118-8, який характеризувався низькою нодуляційною і азотфіксувальною активністю. За інокуляції двома із досліджуваних мутантів (21-2 і 17-2) підвищувалася насіннева продуктивність рослин. Отже, зазначені Tn5-мутанти можуть формувати ефективні симбіотичні системи сої і потребують

подальшого випробування в умовах польових експериментів.

Таким чином, методом транспозонового мутагенезу отримано Tn5-мутанти, які використані в модельних дослідах при вивченні функціонування бобово-ризобіальної системи і можуть бути перспективним вихідним матеріалом для подальшої селекції виробничих штамів бульбочкових бактерій.

1. O'Hara G.W. The role of nitrogen fixation in crop production //J. of Crop Prod. – 1998. – Vol. 1. – P. 115–138.

2. Graham P.H., Vance C.P. Nitrogen fixation in perspective: an overview of research and extension needs //Field Crops Res. – 2000. – Vol. 65. – P. 93–106.

3. Пропоров Н.А., Симаров Б.В. Генетический полиморфизм бобовых культур по способности к симбиозу с клубеньковыми бактериями //Генетика. – 1992. – Т. 28, № 6. – С. 5–14.

4. Тихонович И.А., Пропоров Н.А. Генетика симбиотической азотфиксации с основами селекции. – С.-Пб.: Наука, 1998. – 194 с.

5. Генетические основы селекции клубеньковых бактерий / Симаров Б.В., Аронштам А.А., Новикова Н.И. и др. – Л.: Агропромиздат, 1990. – 192 с.

6. Hayes F. Transposon-based strategies for microbial functional genomics and proteomics //Annu. Rev. Genet. – 2003. – Vol. 37. – P. 3–29.

7. Александров В.Т., Гладій М.В., Лавров Є.М., Рішар І.М. Зерновий та хлібопродуктивний товарообіг в Україні: Енциклопедичний довідник. – К.: АртЕк, 2000. – 544 с.

8. Маліченко С.М., Даценко В.К., Василюк В.М., Коць С.Я. Транспозононий мутагенез штамів *Bradyrhizobium japonicum* //Физиол. и биохим. культ. раст. – 2007. – Т. 39, № 5. – С. 409–418.

9. Hardy R.W.F., Holsten R.D., Jackson E.K., Burns R.C. The acetylene-ethylene assay for N₂-fixation: laboratory and field evaluation //Plant Physiol. – 1968. – Vol. 43, N 8. – P. 1185–1207.

10. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.

11. Тихонович И.А., Борисов А.Ю., Цыганов В.Е. и др. Интеграции генетических систем растений и микроорганизмов при симбиозе //Успехи соврем. биол. – 2005. – Т. 125, № 3. – С. 227–238.

12. Нгуен Т.Ч., Андреева Т.Ф., Строгонова Л.Е. и др. Фотосинтез и фиксация атмосферного азота у растений сои //Физиол. раст. – 1983. – Т. 30, № 4. – С. 674–681.

13. Жизневская Г.Я., Троицкая Г.Н., Дуброво П.Н., Косенко Л.В. Стресс от недостатка азота при неэффективном симбиозе у *Vicia faba* // Физиол. раст. – 1997. – Т. 44, № 5. – С. 676–682.

ИССЛЕДОВАНИЯ СИМБИОТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ Tn5-МУТАНТОВ КЛУБЕНЬКОВИХ БАКТЕРИЙ СОИ

Василюк В.Н., Маменко П.Н., Береговенко С.К.

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, г. Киев

*В условиях вегетационных опытов изучали эффективность формирования и функционирования азотфиксирующих систем сои (*Glycine max* (L.) Merr.) с разными по симбиотическим свойствам Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* 646. Установлено, что инокуляция семян высоковирулентными, но малоактивными транспозоновыми мутантами 107 и 113 вызывала снижение у растений биометрических показателей и семенной продуктивности по сравнению с контрольными (исходным 646 и производственным 6346) штаммами. Отмечено, что Tn5-мутант 118-8 отличался низкой нодуляционной и азотфиксирующей активностью. Бактеризация семян высокоактивными мутантами 21-2 и 17-2 обеспечивала достоверный прирост урожайности сои по сравнению с контролем. Отмеченные Tn5-мутанты могут быть перспективным исходным материалом для дальнейшей селекции производственных штаммов клубеньковых бактерий.*

Ключевые слова: *Bradyrhizobium japonicum*, *Glycine max* (L.) Merr., Tn5-мутант, симбиоз, симбиотические свойства.

INVESTIGATION OF SYMBIOTIC PROPERTIES OF Tn5-MUTANTS SOYBEAN NODULE BACTERIA

Vasyliuk V.M., Mamenko P.M., Beregovenko S.K.

Institute of Plant Physiology and Genetics, NAS of Ukraine, Kyiv

*Effectiveness forming and functioning of nitrogen-fixing systems created by soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) and Tn5-mutants of *Bradyrhizobium japonicum* 646 with different symbiotic properties were studied in green house experiments. Inoculation of seeds by Tn5-mutants 107 and 113 with high virulence, but low activities, lead to decrease of the biometric properties and enhanced yield of plant seeds in comparison with control strains wild 646 and production 6346. Tn5-mutant 118-8 had the low nodulation and nitrogen fixing activities. Inoculation of seeds by high activity mutants 21-2 and 17-2 got reliable increase grain yield of plants in comparison with control. Consequently, this Tn5-mutants may to be used as perspective initial material for the next selection productive nodulate bacteria strains.*

Key words: *Bradyrhizobium japonicum*, *Glycine max* (L.) Merr., Tn5-mutant, symbiosis, symbiotic properties.