

А.К. САДАНОВ, Ж.А. БАЙГОНУСОВА, Г.Д. УЛТАНБЕКОВА, М. УСИКБАЕВА,  
Г.М.МАХАНБЕТОВА

РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, г. Алматы

## ИЗУЧЕНИЕ АЗОТФИКСИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ И КОНКУРЕНТНОЙ СПОСОБНОСТИ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ РОДОВ *BRADYRHIZOBIUM* И *SINORHIZOBIUM*

### Аннотация

Изучена азотфиксирующая активность и конкурентная способность 5 штаммов клубеньковых бактерий сои рода *Bradyrhizobium* и 4 штаммов клубеньковых бактерий люцерны рода *Sinorhizobium*. По изученным производственно-ценным показателям проведена селекция штаммов и отобраны варианты клубеньковых бактерий с высоким уровнем нитрогеназной активности и конкурентной способности: *Bradyrhizobium japonicum* АКС-17 и *Bradyrhizobium sp.* М-1, *Sinorhizobium meliloti* Л5-1. Уровень нитрогеназной активности у отобранных штаммов варьирует от 11,7 до 12,8 нмоль  $C_2H_4$ /час, конкурентная способность составляет 64-85%.

**Ключевые слова:** Азотфиксирующая активность, клубеньковые бактерии, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*

Микроорганизмы играют большую роль в повышении плодородия почвы, т. к. в процессе роста и развития улучшают ее структуру, обогащают питательными веществами, способствуют более полному использованию удобрений [1]. Большое значение для питания растений азотом имеют почвенные микроорганизмы, которые минерализуют содержащийся в почве органический азот, превращая его в аммиак, используемый растениями. Однако запасы азота в почве невелики (до 150 кг/га), в то время как в атмосфере количество азота практически неисчерпаемо. В большинстве агросистем большая часть азота (около 80 %) фиксируется при симбиозе бобовых растений с клубеньковыми бактериями родов *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mezorhizobium*. Бобовые растения (соя, горох, фасоль и др.) обеспечивают 25–35 % мирового производства белка. Количество фиксируемого азота у бобовых в зависимости от вида растения колеблется от 72 до 200 кг/га за сезон, причем многолетние кормовые культуры обеспечивают более интенсивную фиксацию азота. Азот, фиксируемый в клубеньках бобовых, гораздо дешевле, чем азотные удобрения.

Азотфиксирующая активность клубеньковых бактерий бобовых меняется и в зависимости от физиологического состояния растения-хозяина и от фаз развития, и, кроме того, интенсивность азотфиксации неодинакова в течение вегетации. Это объясняется тем, что не во все периоды роста растение может выделять такое количество энергетического материала, которое необходимо на азотфиксацию. Жизнедеятельность клубеньковых бактерий начинается вместе с началом фотосинтеза и ограничивается периодом от первых настоящих листьев до цветения. Фиксация азота атмосферы достигает своего максимума в фазу полной бутонизации растений и в начале цветения, т.е. в период максимального поступления продуктов фотосинтеза в корневые клубеньки, когда растение предъявляет больше всего требований к азоту. Процесс накопления азота в клубеньках происходит до полного цветения, а после цветения резко убывает. Фиксированный клубеньковыми бактериями атмосферный азот поступает в почву с растительными остатками бобовых. После их разложения этот азот закрепляется в почве. В различных условиях симбиотическая фиксация позволяет повысить содержание азота в почве на 50–300 кг/га в год. Расчет и прогнозирование влияния симбиотической фиксации азота на продукционный процесс бобовых культур является актуальной практической задачей. Необходимость решения этой задачи связана, во-первых, с решением вопроса о

целесообразности применения минеральных (азотных) удобрений под бобовые, во-вторых, с выявлением путей повышения эффективности фиксации азота.

Основными критериями первоначального отбора штаммов клубеньковых бактерий, как известно, являются качественные проявления способностей ризобий к симбиозу с растением - хозяином, выражающиеся в нодулирующей способности и азотфиксирующей активности [2]. В настоящее время установлено, что определяющими признаками эффективного симбиоза являются количественные признаки как наиболее значимые: *конкурентная способность* – способность изучаемого штамма ризобий формировать клубеньки на корнях растения – хозяина в присутствии других штаммов клубеньковых бактерий, *симбиотическая эффективность* - способность создавать эффективный симбиоз и повышать продуктивность бобовых культур [3,4,5,6]. Наличие всех этих признаков у выделенных штаммов клубеньковых бактерий является основанием для отбора с целью разработки биопрепаратов на их основе.

В России и Украине выпускают несколько препаратов клубеньковых бактерий: нитрагин и ризоторфин, ризобин. Эти препараты производятся на основе активных жизнеспособных клубеньковых бактерий из рода *Rhizobium*.

Целью данных исследований было изучение азотфиксирующей активности и конкурентоспособности клубеньковых бактерий сои и люцерны, выделенных из агробиоценозов бобовых растений Республики Казахстан.

### Материалы и методы исследования

Объектами исследований являлись клубеньковые бактерии люцерны: *Sinorhizobium meliloti* штамм Л5-1, *Sinorhizobium sp.* штаммы ЛБ-1, ЛМ-1, ЛЕ-1 и сои *Bradyrhizobium japonicum* штамм АКС-17, *Bradyrhizobium sp.* штаммы М-1, Д-1, К-1, Х-1: Штаммы клубеньковых бактерий инкубировали на агаровой среде Мазэ в течение 24 часов при температуре 28<sup>0</sup>С.

Азотфиксирующую (нитрогеназную) активность штаммов клубеньковых бактерий сои и люцерны изучали ацетиленовым методом [7]. Клубеньковые бактерии инкубировали на агаровой среде следующего состава, (г/л): КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub>-1,0; МgSO<sub>4</sub>-0,3; сахара -2,0; бобовый отвар-50; рН 7,0. Микроорганизмы выращивали в закрытых ватными пробками флаконах. Для инициации роста добавляли минимальное количество источника связанного азота (0,0001—0,005% дрожжевого экстракта). В конце инкубационного периода ватную пробку заменяли стерильной резиновой пробкой. Газообразный ацетилен собирали в вытяжном шкафу следующим образом. В пробирку, наполовину заполненную 15 мл воды, добавляли небольшое количество (около 1 г) карбида кальция. Пробирку закрывали пробкой с отверстием, через которое она с помощью резиновой трубки соединялась с химическим стаканом с водой. Ацетилен вводили в сосуд с культурой через резиновую пробку до концентрации 10% (по объему). Через различные промежутки времени инкубации отбирали пробы газа по 1 мл из сосуда с культурой и проверяли наличие этилена методом газовой хроматографии. Азотфиксирующую активность определяли по восстановлению ацетилена в этилен методом газовой хроматографии на хроматографе марки «Хром-3» на колонке с силикагелем АСК при температуре 50<sup>0</sup>С. Величину нитрагеназной активности выражали в нмоль С<sub>2</sub>Н<sub>4</sub>/ч/ 1 млн. штаммов клубеньковых бактерий.

Конкурентоспособность клубеньковых бактерий сои и люцерны определяли методом генетического маркирования [8]. Исследуемые штаммы ризобий культивировали на минерально-растительной среде (МРС) с возрастающими (от 20 до 1000 ед/мл) дозами антибиотика (стрептомицина). Полученные резистентные варианты использовали для проведения вегетационных исследований. На каждый вариант вегетационного опыта сеяли по 100 штук семян. Далее изучали конкурентную способность (*str<sup>r</sup>*) – мутантов клубеньковых бактерий сои и люцерны. В стерильные чашки Петри разливали среду МРС без антибиотика и отдельно такую же среду с 1000

ед. стрептомицина на мл среды. Состав среды МРС, (г/л):  $K_2HPO_4$ -0,5;  $KH_2PO_4$ -0,5;  $MgSO_4$ -0,1;  $CaSO_4$ -0,1;  $NaCl$ -0,2;  $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \times 4H_2O$ -следы; маннит или глюкоза-20,0; соевая мука-10,0; pH 6,8-7,0. Клубеньки, взятые с корней сои, в возрасте не менее 5 недель, стерилизовали, и помещали в стерильную чашку Петри с водой. На 2 чашки Петри со стрептомицином (1000 ед/мл) и 1 чашку без антибиотика (контроль) стерильно пинцетом размещали клубеньки и раздавливали, делая поверхностный мазок. Предварительно под чашки Петри подкладывали расчерченные шаблоны на 25 гнезд, на одной чашке анализировали 25 клубеньков. Инкубирование исследуемых чашек проводили в течение 7-10 дней. С одного варианта анализировали по 50 клубеньков. После этого подсчитывали количество клубеньков, давших рост клубеньковых бактерий на обычной среде и среде со стрептомицином. Результаты рассчитывали по следующей формуле:  $КС\% = N_{стр}^f \times 100 / N_0$ .

### Результаты исследований

Селекцию активных штаммов клубеньковых бактерий сои и люцерны проводили на основе определения их азотфиксирующей активности и конкурентной способности.

Данные, полученные при изучении азотфиксирующей активности и конкурентной способности 5 штаммов клубеньковых бактерий сои рода *Bradyrhizobium* и 4 штаммов клубеньковых бактерий люцерны род *Sinorhizobium* приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Нитрогеназная активность и конкурентоспособность клубеньковых бактерий родов *Bradyrhizobium* и *Sinorhizobium*

Штаммы клубеньковых бактерий	Нитрогеназная активность, нмоль $C_2H_4$ /ч/ 1 млн. штаммов клубеньковых бактерий	Конкурентоспособность, %
<b>Штаммы рода <i>Bradyrhizobium</i></b>		
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> АКС-17	12,8	70%
<i>Bradyrhizobium sp.</i> М-1	11,7	85%
<i>Bradyrhizobium sp.</i> Д-1	11,0	65%
<i>Bradyrhizobium sp.</i> К-1	7,2	38%
<i>Bradyrhizobium sp.</i> Х-1	8,0	45%
<b>Штаммы рода <i>Sinorhizobium</i></b>		
<i>Sinorhizobium meliloti</i> Л5-1	12,0	64%
<i>Sinorhizobium sp.</i> ЛБ-1	7,0	37%
<i>Sinorhizobium sp.</i> ЛМ-1	5,5	30%
<i>Sinorhizobium sp.</i> ЛЕ-1	5,3	25%

Азотфиксирующая активность штаммов клубеньковых бактерий сои (8,0-12,8 нмоль  $C_2H_4$ /ч) была выше по сравнению с активностью клубеньковых бактерий люцерны (5,3-12,0 нмоль  $C_2H_4$ /ч). Установлено, что наиболее высокой нитрогеназной активностью обладали штаммы клубеньковых бактерий сои *Bradyrhizobium japonicum* АКС-17 и *Bradyrhizobium sp.* М-1; среди клубеньковых бактерий люцерны - *Sinorhizobium meliloti* штамм Л5-1. Уровень нитрогеназной активности составлял для *Bradyrhizobium japonicum* АКС-17 – 12,8 нмоль  $C_2H_4$ /час, *Bradyrhizobium sp.* М-1 - 11,7 нмоль  $C_2H_4$ /час, *Sinorhizobium meliloti* Л5-1 – 12,0 нмоль  $C_2H_4$ /час.

Конкурентная способность штаммов клубеньковых бактерий сои (45-85%) была также выше по сравнению с активностью клубеньковых бактерий люцерны (25-64%). При изучении конкурентной способности клубеньковых бактерий сои и люцерны выявлены варианты, обладающие высокой конкурентной способностью: *Bradyrhizobium japonicum* АКС-17 - 70%, *Bradyrhizobium sp.* М-1 - 85%, *Sinorhizobium meliloti* Л5-1 – 64%.

Таким образом, на основе изучения производственно-ценных показателей клубеньковых бактерий сои рода *Bradyrhizobium* и люцерны рода *Sinorhizobium* проведен отбор штаммов, обладающих наиболее высокой азотфиксирующей

активностью и конкурентной способностью. Штаммы *Bradyrhizobium japonicum* АКС-17, *Bradyrhizobium sp.*М-1 и *Sinorhizobium meliloti* Л5-1 обладают наиболее высокими производственно-ценными показателями и являются перспективными для разработки на их основе биопрепаратов для растениеводства.

#### Литература:

- 1 Чмиль Т.И., Чуркина Г.Н. Азотфиксирующая активность бобовых растений-источник восполнения азота почвы // Состояние и перспективы развития почвоведения. Алматы.-2005.- С.106-107.
- 2 Онищук, О.П. В Гены, контролирующие нодуляционную конкурентоспособность клубеньковых бактерий и ее использование в селекции/ Онищук О.П. и др. // Генетика.- 1995. - Т. 31, №3. - С.293-303.
- 3 Шарыпова Л. А., Симаров Б. В. Способ сравнения конкурентоспособности эффективных штаммов *Rhizobium meliloti* // Тр. ВНИИ с.х. микробиологии. - 1985. - С. 85-91.
- 4 Федоров, С.Н. Получение мутантов с измененными симбиотическими свойствами у *Rhizobium meliloti* под действием УФ-лучей // С.-х. биология. - 1987. - №9. - С.44-49.
- 5 Araujo, R.S. Hydrophobic mutant of *Rhizobium altered* in nodulation competitiveness and growth in the rhizosphere // Appl. Environ. Microbiol. – 1994. -Vol. 60. - P.1430-1436.
- 6 Robleto, E. A. Effects of bacterial antibiotic production on rhizosphere microbial communities from a culture-independent perspective // Appl. Environ. Microbiol.-1998. - Vol. 64.- P. 5020-5022.
- 7 Методические указания по использованию ацетиленового метода при селекции бобовых культур на повышение симбиотической азотфиксации: утв. Всесоюз. науч.- исслед. ин-т с.-х. микробиол.- Ленинград, 1982. -10с.
- 8 Методические рекомендации. Способы, приемы изучения и отбора эффективных штаммов клубеньковых бактерий сои. Российская Академия сельскохозяйственных наук. ВНИИС. – Благовещенск, 2005.- С. 34-35

#### Түйін

А.Қ. САДАНОВ, Ж.А. БАЙГОНУСОВА, Г.Д. ҰЛТАНБЕКОВА, М. УСИКБАЕВА,  
Г.М.МАХАНБЕТОВА

ҚР ҒК БЖҒМ РМК «Микробиология және вирусология институты», Алматы қ.

#### **BRADYRHIZOBIUM И SINORHIZOBIUM ТЕГІНЕ ЖАТАТЫН ТҮЙНЕКТІ БАКТЕРИЯЛАРДЫҢ АЗОТФИКСАЦИЯЛАУШЫ БЕЛСЕНДІЛІГІ МЕН БӘСЕКЕЛЕСТІК ҚАБІЛЕТТІЛІГІН ЗЕРТТЕУ**

Өндірістік-құнды көрсеткіштерге ие штаммдардың селекциясы өткізілді және нитрогеназды белсенділіктің және бәсекелестік қабілеттілігі жоғарытүйнекті бактериялардың нұсқалары іріктеліп алынды: *Bradyrhizobium japonicum* АКС- 17 *Bradyrhizobium sp.*М-1(сояның түйнекті бактериялары), *Sinorhizobium meliloti* Л5-1(жоңышқаның түйнекті бактериялары). Іріктелініп алынған штамдардың нитрогеназдыбелсенділік деңгейі11,7-ден 12,8 дейін нмоль С<sub>2</sub>Н<sub>4</sub>/сағат,бәсекелестік қабілеттілігі 64-85% көрсетті.

A.K. SADANOV, ZH.A. BAYGONUSOVA, G.D. ULTANBEKOVA, M. USIKBAEVA, G.M. MAHANBETOVA

RSOE "Institute of Microbiology and Virology", Committee of Science, Ministry of Education and Science, Almaty, Republic of Kazakhstan

**STUDY ON THE NITROGEN-FIXING ACTIVITY AND COMPETITIVE ABILITY OF THE ROOT NODULE BACTERIA BELONGING TO THE GENERA *BRADYRHIZOBIUM* AND *SINORHIZOBIUMA***

**Summary**

The nitrogen-fixing activity and competitive ability of five strains of soybean root nodule bacteria belonging to the genus *Bradyrhizobium*, and 4 strains of alfalfa nodule bacteria of the genus *Sinorhizobium*, were studied. By the examined productive-valuable characteristics, a selection of strains was carried out, and the variants of nodule bacteria with high levels of nitrogenase activity and competitive ability were chosen: *Bradyrhizobium japonicum* AKS-17 and *Bradyrhizobium* sp. M-1, *Sinorhizobium meliloti* L5-1. The level of nitrogenase activity in the selected strains ranged from 11.7 to 12.8 nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/h, the competitive ability was of 64-85%.

**Key words:** Nitrogen-fixing, competitive ability, *bradyrhizobium*, *sinorhizobium*

Microorganisms play a significant role in increasing the soil fertility because in the process of growth and development improve its structure, enrich with nutrients, contribute to more efficient use of fertilizers [1]. Soil microorganisms which mineralize the soil organic nitrogen converting it into ammonia used by plants are of great importance for the plant nitrogen nutrition. However, resources of nitrogen in the soil are small (up to 150 kg/ha) while in atmosphere the amount of nitrogen is virtually inexhaustible. In most agricultural systems, the greater part of the nitrogen (nearly 80%) is fixed in the symbiosis of legumes with root nodule bacteria belonging to the genera *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mezorhizobium*. Legumes (soybeans, peas, beans, etc.) provide 25-35 % of the worldwide protein production. Amount of nitrogen fixed in legumes depending on the plant species ranges from 72 to 200 kg/ha per season, at that the perennial fodder crops provide more intensive nitrogen fixation. The nitrogen fixed in the legume nodules is much cheaper than nitrogen fertilizers.

The nitrogen-fixing activity of legume root nodule bacteria changes depending on both the physiological state of host-plant and stages of development, and moreover, the intensity of nitrogen fixation varies during the growing season. This is due to the fact that in not all periods of growth a plant is able to release as much energy material as necessary for nitrogen fixation. Vital activity of root nodule bacteria begins with the photosynthesis start and is limited to the period from the first true leaves up to blossoming. Fixation of atmospheric nitrogen reaches its maximum in the phase of full plant budding and early blossoming, i.e. during the period of maximum inflow of photosynthesis products in the root nodules, when the plant makes most of the requirements for nitrogen. The accumulation of nitrogen in the nodules occurs before full blossoming, and after the blossoming falls off sharply. Fixed by root nodule bacteria atmospheric nitrogen enters the soil with the legume plant residues. After their decomposition, this nitrogen is fixed in the soil. In various circumstances, the symbiotic fixation increases nitrogen content in the soil by 50-300 kg/ha. The calculation and prediction of the influence of symbiotic nitrogen fixation on the production process of legumes is an urgent practical problem. The need to solve this problem is related, first, to the issue of whether the use of mineral (nitrogen) fertilizers for legumes is reasonable, and secondly, to the identifying ways to raise the nitrogen fixation efficiency.

The main criteria for the initial selection of nodule bacteria strains are known to be the qualitative manifestations of rhizobial ability to symbiosis with the host-plant, expressed in the nodulating capacity and nitrogen-fixing activity [2]. To date, it is established that the

determining features of an effective symbiosis are quantitative characters as the most significant: *competitive ability* - the ability of the rhizobial strain under study to form nodules on the roots of the host-plant in the presence of other strains of nodule bacteria; *symbiotic effectiveness* - the ability to create an effective symbiosis and enhance the productivity of legumes [3, 4, 5, 6]. Availability of all these characters in the isolated strains of root nodule bacteria is the basis for selection with intent to develop the biological preparations on their basis.

In Russia and Ukraine, several preparations of root nodule bacteria are produced: nitragin, and rizotorfin, rizobin. These preparations are made on the basis of active viable root nodule bacteria belonging to the genus *Rhizobium*.

The purpose of this research was to study the nitrogen-fixing activity and competitive ability of soybean and alfalfa root nodule bacteria, isolated from agrobiocenoses of leguminous plants of the Republic of Kazakhstan.

### Materials and research methods

The objects of study were the root nodule bacteria of alfalfa: *Sinorhizobium meliloti* strain L5-1, *Sinorhizobium sp.* strains LB-1, LM-1, LE-1, and soybean: *Bradyrhizobium japonicum* strain AKS-17, *Bradyrhizobium sp.* strain M-1, D-1, K-1, X-1. The strains of nodule bacteria were incubated in the Maze agar medium for 24 hours at 28°C.

Nitrogen-fixing (nitrogenase) activity of strains of soybean and alfalfa nodule bacteria was studied using acetylene method [7]. Root nodule bacteria were incubated on agar medium having the following composition (g/l):  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ - 1.0;  $\text{MgSO}_4$ - 0.3; saccharose -2.0; bean broth -50; pH 7.0. Microorganisms were cultivated in vials closed with cotton stoppers. To initiate the growth, the minimum amount of fixed nitrogen source was added (0.0001-0.005 % of yeast extract). At the end of the incubation period a cotton stopper was replaced with a sterile rubber plug. Gaseous acetylene was collected in the exhaust hood as follows. In a tube half-filled with 15 ml of water a small amount (about 1 g) of calcium carbide was added. The tube was closed using a stopper with a hole, through which by means of the rubber tube it was connected to a beaker with water. Acetylene was introduced into a vessel with culture through a rubber stopper up to a concentration of 10% (by volume). Following various incubation periods, the gas samples were taken by 1 ml from the vessel with culture, and the presence of ethylene was examined by gas chromatography. Nitrogen-fixing activity was determined by acetylene reduction to ethylene using gas chromatography technique in the "Chromium-3" chromatograph on a column with ASK silica gel at 50°C. The nitrogenase activity value was expressed in  $\text{nmol C}_2\text{H}_4/\text{h}/1 \text{ mln}$  of strains of root nodule bacteria.

The competitive ability of soybean and alfalfa root nodule bacteria was determined by genetic marking procedure [8]. The investigated rhizobial strains were cultivated in mineral-plant nutrient medium (MPM) with increasing (from 20 to 1000 u/ml) doses of antibiotics (streptomycin). The resulting resistant variants were used in the vegetation studies. For each option of the vegetation experiment, the seeds by 100 pieces were sowed. Further, the competitive ability of ( $\text{str}^r$ ) -mutants of soybean and alfalfa nodule bacteria was studied. MPM without antibiotic and separately the same medium with 1000 units of streptomycin per ml of medium was poured into sterile Petri dishes. Composition of MPM (g/L):  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ - 0.5;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ - 0.5;  $\text{MgSO}_4$ - 0.1;  $\text{CaSO}_4$ - 0.1; NaCl - 0.2;  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}$  - trace concentration; mannitol or glucose -20.0; soya flour - 10.0; pH 6.8-7.0. Nodules taken from the soybean roots, aged for at least 5 weeks, were sterilized and placed in a sterile Petri dish with water. On 2 Petri dishes with streptomycin (1000 u/ml) and 1 without antibiotic (control), the nodules by means of sterile forceps were placed and crushed, making the surface smear. The lined templates for 25 sockets were previously put under the Petri dish; 25 nodules were tested on one dish. Incubation of the test plates lasted for 7-10 days. From one option 50 nodules were tested. After this, the number of nodules, which provided the growth of nodule bacteria in the standard medium and medium with streptomycin was counted. The results were calculated as

follows:  $NC\% = N_{str}^f \times 100 / N_0$ .

### Research results

Selection of active strains of soybeans and alfalfa root nodule bacteria was carried out on the basis of determining their nitrogen-fixing activity and competitive ability.

The data obtained in the studying nitrogen-fixing activity and competitive ability of 5 strains of soybean root nodule bacteria of the *Bradyrhizobium* genus and 4 strains of alfalfa nodule bacteria of the *Sinorhizobium* genus are given in Table 1.

Table 1 - Nitrogenase activity and competitive ability of nodule bacteria belonging to the genera *Bradyrhizobium* and *Sinorhizobium*

Strains of nodule bacteria 1	Nitrogenase activity, nmol C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> /h/1 mln of strains of nodule bacteria 2	Competitive ability, % 3
<i>Strains of the genus Bradyrhizobium</i>		
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> AKS-17	12,8	70%
<i>Bradyrhizobium sp.</i> M-1	11,7	85%
<i>Bradyrhizobium sp.</i> D-1	11,0	65%
<i>Bradyrhizobium sp.</i> K-1	7,2	38%
<i>Bradyrhizobium sp.</i> X-1	8,0	45%
<i>Strains of the genus Sinorhizobium</i>		
<i>Sinorhizobium meliloti</i> L5-1	12,0	64%
<i>Sinorhizobium sp.</i> LB-1	7,0	37%
<i>Sinorhizobium sp.</i> LM-1	5,5	30%
<i>Sinorhizobium sp.</i> LE-1	5,3	25%

The nitrogen-fixing activity of strains of soybean root nodule bacteria (8.0-12.8 nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/h) was higher as compared to the activity of alfalfa root nodule bacteria (5.3-12.0 nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/h). It was found that the strains of soybean root nodule bacteria *Bradyrhizobium japonicum* AKS-17 and *Bradyrhizobium sp.* M-1 possessed the highest nitrogenase activity; among alfalfa nodule bacteria – *Sinorhizobium meliloti* L5-1 strain. The level of nitrogenase activity was for *Bradyrhizobium japonicum* AKS-17 - 12.8 nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/h, *Bradyrhizobium sp.* M-1 - 11.7 nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/h, *Sinorhizobium meliloti* L5-1 - 12.0 nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/h.

The competitive ability of strains of soybean root nodule bacteria (45-85 %) was also higher as compared to the activity of alfalfa root nodule bacteria (25-64 %). When studying the competitive ability of soybean and alfalfa root nodule bacteria, variants with high competitive ability were identified: *Bradyrhizobium japonicum* AKS-17 - 70%, *Bradyrhizobium sp.* M-1 - 85 %, *Sinorhizobium meliloti* L5-1 - 64%.

Thus, by studying the productive-valuable characteristics root nodule bacteria of soybean belonging to the genus *Bradyrhizobium* and alfalfa of the genus *Sinorhizobium* the selection of strains with the highest nitrogen-fixing activity and competitive ability was realized. The strains *Bradyrhizobium japonicum* AKS-17, *Bradyrhizobium sp.* M-1 and *Sinorhizobium meliloti* L5-1 possess the highest productive-valuable characteristics and are promising for the development on their base of biological preparations for plant growing.

### References:

- 1 Chmil T.I., Churkina G.N. Nitrogen-fixing activity of leguminous plants - a source for replenishing soil nitrogen // State and prospects of the soil science development. Almaty. - 2005. - P.106-107.
- 2 Onischuk O.P. Genes that control nodulation competitive ability of root nodule bacteria and its use in the selection // Genetics. - 1995. – Vol.3, №3. - P. 293-303.
- 3 Sharypova L. A., Simarov B. V. Way of comparison of competitiveness of effective strains of *Rhizobium meliloti* // approved by the All-Union Research Institute of Agricultural Microbiology. - 1985. - Page 85-91.
- 4 Fedorov S.N., Simarov B.V. Preparation of mutants with altered symbiotic properties in

*Rhizobium meliloti* by UV rays // Agricultural biology. - 1987. - №9. - P.44 -49.

5 Araujo R.S. E.A. Robleto, Handelsman J.A. Hydrophobic mutant of *Rhizobium* altered in nodulation competitiveness and growth in the rhizosphere // Appl. Environ. Microbiol. - 1994. -Vol. 60. - P.1430- 1436.

6 Robleto E. A., Borneman J., Triplett E. W. Effects of bacterial antibiotic production on rhizosphere microbial communities from a culture-independent perspective // Appl. Environ. Microbiol.- 1998 . - Vol. 64. - P. 5020-5022.

7 Guidelines on the use of acetylene method in the selection of leguminous crops to improve symbiotic nitrogen fixation: approved by the All-Union Research Institute of Agricultural Microbiology. - Leningrad, 1982.- 10 p.

8 Guidelines. Methods, techniques of studying and selection of efficient strains of soybean nodule bacteria. Russian Academy of Agricultural Sciences. ARRIC - Blagoveshchensk, 2005. -P.34-35