

Е. А. Бунеева^{1, 2}, А. А. Толкачева¹
Д. А. Черенков^{1, 2}, В. В. Ивченко^{1, 2}, О. С. Корнеева¹

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БАКТЕРИЙ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*
И *BRADYRHIZOBIUM ELKANII*
В СОСТАВЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИНОКУЛЯНТА
ДЛЯ СЕМЯН СОИ

130

¹ Воронежский государственный университет инженерных технологий,
Воронеж, Россия

² Всероссийский научно-исследовательский институт
сахарной свеклы и сахара им. А.Л. Мазлумова, Воронеж, Россия

Поступила в редакцию 01.11.2025 г.

Принята к публикации 12.12.2025 г.

doi: 10.5922/vestniknat-2026-1-9

Для цитирования: Бунеева Е.А., Толкачева А.А., Черенков Д.А., Ивченко В.В., Корнеева О.С. Исследование эффективности использования бактерий *Bradyrhizobium japonicum* и *Bradyrhizobium elkanii* в составе микробиологического инокулянта для семян сои // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. Сер.: Естественные науки. 2026. №1. С. 130–144. doi: 10.5922/vestniknat-2026-1-9.

Актуальной проблемой выращивания сои является разработка биологических инокулянтов на основе симбиотических азотфиксирующих микроорганизмов, обеспечивающих культуру необходимым количеством азота для полноценного развития растения и накопления достаточного количества белка. В частности, наиболее востребованы биологические инокулянты, содержащие клетки живых азотфиксирующих микроорганизмов. Перспективными объектами для разработки таких препаратов выступают клубеньковые бактерии рода *Bradyrhizobium*. Цель исследования заключалась в выделении и изучении бактерий *Bradyrhizobium japonicum* и *Bradyrhizobium elkanii* и разработке на их основе микробиологического инокулянта для семян сои. Подобраны оптимальные условия культивирования выделенных клубеньковых бактерий для накопления максимального титра жизнеспособных клеток. Разработан состав микробиологического инокулянта и создан его прототип. Получены результаты полевых испытаний опытных образцов нового биопрепарата. Доказана эффективность применения разработанного инокулянта, содержащего клубеньковые бактерии *Bradyrhizobium japonicum* и *Bradyrhizobium elkanii* в выращивании сои.

Ключевые слова: биопрепарат, клубеньковые бактерии, *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium elkanii*, микробиологический инокулянт, титр, соя, семена



Введение

Соя (*Glycine max* (L.) Merr.) — одна из самых востребованных бобовых культур в Российской Федерации. Ее ценность определяется биохимическим составом, так как содержание белка в семенах сои может достигать 50 %. На фоне ежегодного увеличения посевных площадей сои существует проблема недостаточного азотного питания. Это связано с тем, что основным веществом, необходимым для полноценного развития данной культуры, является азот, который чаще всего находится в недоступной для усвоения форме. Как правило, для решения этой проблемы применяют минеральные азотные удобрения. Однако они оказывают негативное влияние на почву, кроме того, нитраты могут накапливаться в самих растениях. Сегодня в сельскохозяйственном секторе активно развивается направление разработки биологических безопасных для окружающей среды удобрений, которые повышают уровень полезных микроорганизмов в почве и показывают высокую эффективность при применении [1; 3; 5; 12].

Альтернативой минеральным азотным удобрениям могут выступать препараты на основе симбиотических азотфиксирующих микроорганизмов. Они способны переводить молекулярный азот в соединения, доступные для питания растений. Известно, что симбиоз между бобовыми растениями и азотфиксирующими микроорганизмами способствует интенсивному росту растений и накоплению азота в почве. Так, для сои наиболее эффективными фиксаторами атмосферного азота выступают симбиотические бактерии семейства *Rhizobiaceae*. Известно, что симбиоз сои с клубеньковыми бактериями позволяет обеспечить до 70 % потребности растения в азотном питании. Типичными представителями семейства *Rhizobiaceae*, обитающего на клубеньках сои, являются бактерии рода *Bradyrhizobium* [4; 8; 9].

По данным современных научных работ, обработка семян сои инокулянтом, содержащим бактерии рода *Bradyrhizobium*, способствует повышению урожайности и улучшению качественных характеристик культуры [2; 6]. Перспективным направлением исследований при разработке новых препаратов является поиск наиболее эффективных штаммов клубеньковых бактерий [13; 15]. Это обусловлено сорто-штаммовой специфичностью микроорганизмов — симбионтов сои [11]. Ранее опубликованы труды по подбору отдельных штаммов ризобий для конкретного сорта сои, которые были выделены из почвы или непосредственно из клубеньков. Применение таких бактерий в составе биопрепаратов показало высокую эффективность в повышении урожайности сои и содержании белка в семенах [7].

Кроме того, важным требованием к разрабатываемым биопрепаратам является высокий титр жизнеспособных клеток (не менее 10^9 КОЕ/мл). Для этого необходимо оптимизировать условия культивирования применяемых штаммов по следующим параметрам: состав питательной среды, температура, pH среды, продолжительность культивирования [14]. К тому же клубеньковые бактерии зачастую неустойчивы к внеш-



ним воздействиям при обработке семян. Поэтому необходимо использовать соответствующие протекторы в качестве дополнительного компонента разрабатываемых инокулянтов [10].

В связи с вышесказанным, целью данного исследования стала разработка нового инокулянта для семян сои. Были поставлены следующие задачи: подбор оптимальных условий культивирования для выделенных клубеньковых бактерий, обеспечивающих накопление клеток в количестве не менее 1×10^9 КОЕ/мл; разработка состава и получение прототипа микробиологического инокулянта; проверка эффективности полученного препарата в полевых условиях.

Материалы и методы исследований

В качестве объектов исследования были выбраны азотфиксирующие бактерии *Bradyrhizobium japonicum* и *Bradyrhizobium elkanii*. Микроорганизмы выделяли из клубеньков сои на среде, содержащей следующие компоненты (г/л): бобовый отвар; сахароза — 2; K_2HPO_4 — 0,1; $MgSO_4 \times 7H_2O$ — 0,03; краситель конго-красный — 1; агар — 1,5. Выделенную культуру хранили на скошенном маннито-дрожжевом агаре следующего состава (г/л): маннит — 10,0; дрожжевой экстракт — 0,5; K_2HPO_4 — 0,5; $MgSO_4 \times 7H_2O$ — 0,2; NaCl — 0,1; агар-агар — 15,0; конго красный — 20 мкл.

Для подбора оптимального состава питательной среды изучали влияние источников углерода на интенсивность роста бактерий *Bradyrhizobium japonicum* и *Bradyrhizobium elkanii*. Для этого в колбы с основной средой (состав (г/л): дрожжевой экстракт — 0,5; K_2HPO_4 — 0,5; $MgSO_4 \times 7H_2O$ — 0,2; NaCl — 0,1; агар-агар — 15,0) в количестве 10 г/л вносили по очереди маннит, мальтозу, сахарозу, глюкозу, лактозу и глицерин. Для постановки контроля использовали среду без добавления углеродного источника. Питательные среды стерилизовали в автоклаве в течение 30 минут при температуре 110 °С. Чистые культуры симбиотических клубеньковых бактерий высевали в пробирки с каждой средой в 10 повторах, после чего термостатировали при температуре 30 °С в течение 72 и 120 часов. По интенсивности роста штриха определяли оптимальный источник углерода.

Для подбора оптимального значения температуры азотфиксирующие микроорганизмы культивировали в колбах глубинным способом в 250 мл маннито-дрожжевой среды в течение 120 часов и 200 об/мин на шейкере-качалке. В процессе инкубации поддерживали следующие температурные режимы: 26, 28, 30, 32, 34 °С. По истечении 120 часов определяли вес сухой биомассы. Для этого бюксы высушивали в сушильном шкафу течение 2 часов при температуре 110 °С. Биомассу отделяли от культуральной жидкости с помощью центрифугирования при 3000 об/мин в течение 10 минут, помещали в бюксы и высушивали при 110 °С пока масса не достигала постоянного значения (колебания не превышали $\pm 0,01$ г). Бюксы с высушенной биомассой переносили в эксикатор с силикагелем, остужали и взвешивали.

Для подбора оптимальной концентрации ионов H^+ азотфиксирующие микроорганизмы культивировали глубинным способом в 250 мл



маннито-дрожжевой среды в течение 120 часов и 200 об/мин. В колбах доводили рН среды до следующих значений: 5,5; 6,5; 7,0; 7,5; 8,0. По истечении 120 часов определяли вес сухой биомассы.

Для определения оптимальной продолжительности времени культивирования строили кривые роста *B. japonicum* и *B. Elkanii*. Бактерии культивировали в лабораторном ферментере объемом 3 л, заполненном на $\frac{2}{3}$ средой следующего состава (г/л): дрожжевой экстракт – 0,5; K_2HPO_4 – 0,5; $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0,2; NaCl – 0,1; маннит – 10. В среду вносили 7-суточный посевной материал в количестве 10 %. Процесс культивирования проводили при следующих параметрах:

- 1) время культивирования – 6 суток;
- 2) температура культивирования – 30 °С;
- 3) рН среды – 7;
- 4) частота перемешивания – 200 об/мин.

Контроль титра КОЕ/мл определяли каждые 2 часа в процессе культивирования с помощью высева глубинным методом на чашки Петри с маннито-дрожжевым агаром. Количество выросших колоний подсчитывали через 72 часа инкубирования чашек при 30 °С. Обработку данных проводили с помощью пакета прикладных статистических программ Excel.

Исследование выживаемости микроорганизмов на семенах сои проводили с помощью микробиологического анализа и подсчета КОЕ/г. Для этого делали смыв с семян, обработанных исследуемыми инокулянтами, и серию разведений. На чашки Петри с маннито-дрожжевой агаризованной средой высевали разведения 10^5 , 10^7 и 10^9 . Чашки инкубировали при 30 °С в течение 72 часов, после чего подсчитывали число выросших колоний. Посев и подсчет каждого из разведений проводили в трех повторностях. Для описания морфологических признаков и идентификации выросших колоний микроорганизмов проводили окрашивание по Граму и микроскопирование.

В качестве дополнительного консервирующего компонента инокулянта использовали глицерин. Для проверки его эффективности получали опытные образцы инокулянтов. Микроорганизмы выращивали на маннито-дрожжевой среде следующего состава (г/л): маннит – 10,0; дрожжевой экстракт – 0,5; K_2HPO_4 – 0,5; $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0,2; NaCl – 0,1; рН среды 7,0. Культивирование проводили при температуре инкубации 30 °С в течение 120 часов по достижении максимальной плотности культуры – 2×10^9 КОЕ/мл. В полученные образцы добавляли следующие концентрации глицерина: 10, 20, 30, 40 %. В качестве контроля использовали инокулянт без добавления консерванта. Образцы хранили при температуре 20 °С в течение 15, 30, 45 и 60 суток. Выбор наиболее эффективной концентрации консерванта проводили с помощью определения жизнеспособности бактерий. Для этого образцы инокулянтов разводили до 10^7 ; разведения 10^4 – 10^7 высевали глубинно на чашки Петри с маннито-дрожжевой агаризованной средой следующего состава (г/л): маннит – 10,0; дрожжевой экстракт – 0,5; K_2HPO_4 – 0,5; $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0,2; NaCl – 0,1; агар-агар – 15,0; конго красный – 20 мкл. Чашки термостатировали при 30 °С в течение 24 часов. Подсчитывали количество КОЕ/г,



а также процент сохранивших жизнеспособность клеток относительно начального титра. Чистоту культуры в образцах инокулянта определяли методом микроскопирования выделенных колоний.

На этапе разработки состава прототипа микробиологического инокулянта был осуществлен подбор экстендера. В качестве экстендеров были исследованы растворы поливинилпирролидона, поливинилового спирта и гуммиарабика в концентрациях 1 и 2% каждый. Экстендеры наносили на семена сои и выдерживали при комнатной температуре в течение суток. Для инокуляции культуральную жидкость, содержащую 2×10^9 КОЕ/мл клеток клубеньковых бактерий, и экстендер смешивали в соотношении 1:1. В качестве контроля брали семена, обработанные препаратом без экстендера. По прошествии суток для определения числа живых бактерий был произведен смыв с семян и посев методом Коха.

Качество разработанного инокулянта определяли по структурному анализу сои. На опытном поле ФГБНУ «ВНИИСС им. А.Л. Мазлумова» высевали семена сои, обработанные препаратом с *Bradyrhizobium japonicum* (образец №1) и препаратом с *Bradyrhizobium elkanii* (образец №2), а также необработанные семена (контроль).

Результаты и их обсуждение

Оптимизация условий культивирования

Главная составляющая питательных сред для культивирования микроорганизмов — углеродный компонент, в качестве которого, как правило, используют различные сахара и спирты. Они обеспечивают энергетические потребности микроорганизмов и являются экономически целесообразными в применении. Результаты подбора углеводного компонента для симбиотических азотфиксирующих микроорганизмов представлены в таблице 1. На контрольной среде без источника углерода через 72 и 120 часов штаммы показали отрицательный рост (0 баллов). На средах с лактозой и глицерином наблюдали скудный рост (0–1 балл). На средах с сахарозой, глюкозой и мальтозой через 72 часа рост был скудный (1–2 балла), а к 120 часам культивирования уже от умеренного до хорошего (2–3 балла). Самый обильный рост культуры показали на среде с маннитом через 120 часа — 4 балла. По результатам опыта в качестве источника углерода был выбран маннит в дозировке 10 г/л.

Таблица 1

Интенсивность роста клубеньковых бактерий

Штамм	Интенсивность роста штамма													
	72 часа инкубации							120 часов инкубирования						
	Контроль	Маннит	Мальтоза	Сахароза	Глюкоза	Лактоза	Глицерин	Контроль	Маннит	Мальтоза	Сахароза	Глюкоза	Лактоза	Глицерин
<i>B. japonicum</i>	0	2	1	1	1	0	0	0	4	2	3	2	1	1
<i>B. elkanii</i>	0	3	2	2	1	1	1	0	4	2	3	2	1	1



Одним из главных факторов, влияющих на выход биомассы микроорганизмов, выступает температура культивирования. Клубеньковые бактерии являются мезофилами, то есть их температурный оптимум лежит в диапазоне 25–30 °С. В таблице 2 приведены результаты подбора оптимального значения температуры культивирования *B. japonicum* и *B. elkanii*. В ходе опыта было определено, что наибольший выход биомассы азотфиксирующих бактерий достигался при 30 °С. При температуре 26 °С выход биомассы уменьшался на 50 %. При увеличении температуры до 32 °С количество биомассы снижалось на 9 и 24 % для *B. japonicum* и *B. elkanii* соответственно.

Таблица 2

Влияние температуры культивирования на выход биомассы клубеньковых бактерий

Штамм	Количество сухой биомассы, г/л				
	26 °С	28 °С	30 °С	32 °С	34 °С
<i>B. japonicum</i>	1,03	1,83	2,17	2,09	1,98
<i>B. elkanii</i>	1,15	1,88	2,42	2,24	1,85

По отношению к реакции среды клубеньковые бактерии относятся к нейтрофилам, то есть их оптимум рН лежит в диапазоне 6,5–7,5. В таблице 3 приведены результаты по подбору оптимального значения рН при культивировании для *B. japonicum* и *B. elkanii*. Определено, что наибольшее значение выхода биомассы достигается в нейтральной среде — при рН=7. В кислой среде (рН=5,5) выход биомассы снижался на 80 %. В щелочной среде (рН=8,0) выход биомассы микроорганизмов снижался на 60 %.

Таблица 3

Влияние рН среды на выход биомассы клубеньковых бактерий

Штамм	Количество сухой биомассы, г/л				
	5,5	6,5	7,0	7,5	8,0
<i>B. japonicum</i>	0,51	2,04	2,53	1,89	1,01
<i>B. elkanii</i>	0,45	1,99	2,58	1,83	1,05

Наибольшее количество биомассы микроорганизмов достигается в конце логарифмической фазы культивирования. Результаты определения оптимального времени культивирования *B. japonicum* и *B. elkanii* представлены на рисунках 1 и 2.

На графиках видно, что у бактерий рода *Bradyrhizobium* лаг-фаза начиналась через 77–80 часов культивирования. Логарифмическая фаза начиналась на 81-м часу культивирования. Через 120 часов накапливалось максимальное количество биомассы клубеньковых бактерий: для *B. japonicum* она составляет 2×10^9 КОЕ/мл, для *B. elkanii* – $2,1 \times 10^9$ КОЕ/мл. По результатам культивирования можно сделать вывод, что выбранные штаммы являются медленно растущими, так как максимальной плотности обе культуры достигли через 5 суток.



Рис. 1. Кривая роста *B. japonicum* при глубинном культивировании на маннито-дрожжевой среде



Рис. 2. Кривая роста *B. elkanii* при глубинном культивировании на маннито-дрожжевой среде

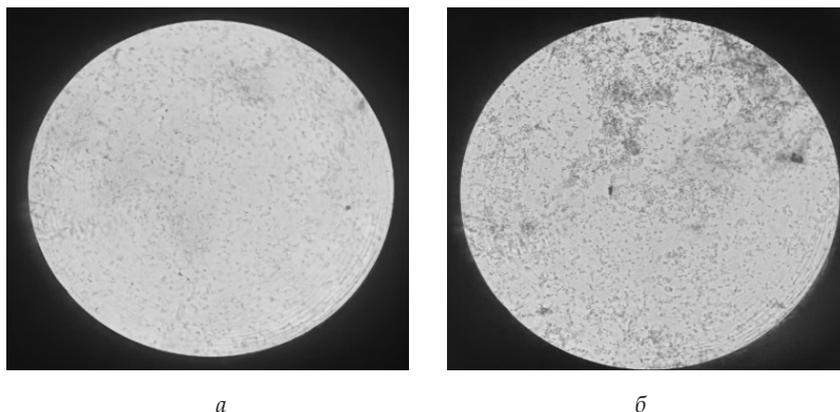
Стандартизация и консервация жидкой культуры

Стандартизация титра культуральной жидкости заключается в высеве смывов с обработанных семян полученными образцами препаратов на питательную среду, подсчете выросших колоний и их микроскопировании. В смывах с семян сои, обработанных препаратом с *B. elkanii*, наблюдали грамтрицательные, неспорообразующие мелкие палочковидные бактерии, которые соответствует указанному виду бактерий. В смывах с семян сои, обработанных препаратом с *Bradyrhizobium japonicum*, наблюдали грамтрицательные, неспорообразующие палочковидные бактерии, которые соответствуют указанному виду бактерий. Результаты представлены в таблице 4 и на рисунке 3.



Микробиологический анализ инокулированных семян

Препарат	КОЕ/г	Микроорганизм	Морфологические признаки
1	$1,8 \times 10^9$	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	Мелкие палочковидные бактерии, граммотрицательные, подвижные, не образуют спор
2	$1,6 \times 10^9$	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	Палочковидные бактерии, граммотрицательные, подвижные, не образуют спор



а

б

Рис. 3. Световая микроскопия, увеличение 90×15 , Nikon eclipse E200:
а – *Bradyrhizobium elkanii*; б – *Bradyrhizobium japonicum*

Результаты исследования влияния концентрации глицерина на количество жизнеспособных бактерий в среде представлены в таблице 5.

Таблица 5

Определение жизнеспособности микроорганизмов при разной концентрации глицерина

Количество дней	Жизнеспособные микроорганизмы, %				
	Концентрации глицерина				
	10 %	20 %	30 %	40 %	Контроль
15	95,3	96,8	97,5	95,6	83,5
30	84,8	90,4	96,8	87,2	50,2
45	74,2	85,9	95,7	74,3	36,7
60	53,6	74,6	94,9	63,9	30,5

Самый низкий процент жизнеспособных бактерий наблюдали в образцах с концентрацией глицерина 10 и 40 %, самый высокий – при концентрации 30 %. В препаратах, содержащих 10 и 20 %, обнаружена посторонняя микрофлора ($2,0 \times 10^3$ и $1,5 \times 10^2$ КОЕ/г соответственно). В препаратах с концентрацией глицерина 30 и 40 % посторонней микрофлоры не обнаружено. Таким образом, была подобрана оптимальная концентрация вносимого консерванта – 30 %.

**Разработка состава прототипа микробиологического инокулянта**

Для защиты клубеньковых бактерий от внешних негативных факторов и лучшей адгезии на семена используют прилипатели (экстендеры). Результаты подбора экстендера представлены в таблице 6. При использовании в качестве протектора поливинилового спирта в концентрации 2 % наибольшая доля бактерий сохраняет жизнеспособность. Для *B. japonicum* и *B. elkanii* она составила 62 и 65 % соответственно.

Таблица 6

Доля выживших в течение 24 часов после инокуляции бактерий

Состав экстендера	Бактерии, сохранившие жизнеспособность в сравнении с контролем, %	
	<i>B. japonicum</i>	<i>B. elkanii</i>
Поливинилпирролидон, 1 %	30	31
Поливинилпирролидон, 2 %	51	48
Поливиниловый спирт, 1 %	55	54
Поливиниловый спирт, 2 %	62	65
Гуммиарабик, 1 %	10	11
Гуммиарабик, 2 %	17	14

Изучение влияния инокулянта на сою в полевых условиях

Результаты определения начала времени формирования клубеньков на корнях приведены в таблице 7. Набухание семян, появление мелких корешков, вынос семядолей на поверхность у опытных образцов №1 и 2 наблюдали через 2 дня после посева, у контрольного образца – через 3 дня. Росток и первичные листья у опытных образцов №1 и 2 наблюдали на 3 день после посева, у контрольного – на 4 день. Появление всходов и начало формирования главного и боковых корней у образцов №1 и 2 начиналось на 10 день, у контрольного образца – на 11 день. Образование клубеньков началось в фазу появления первого тройчатого листа: у образцов №1 и 2 – на 23 день, у контрольного образца – на 25 день.

Таблица 7

Результаты определения начала времени формирования клубеньков на корнях

Наблюдаемые изменения	Опытный образец		
	к	1	2
	Количество дней после посева		
Набухание семян, появление мелких корешков, вынос семядолей	3	2	2
Появление ростка и первичных листьев	4	3	3
Всходы сои, формирование главного и боковых корней	11	10	10
Появление первого тройчатого листа, образование клубеньков	25	23	23



Наблюдение опытных образцов после высева и до фазы образования тройчатого листа

Начиная с фазы тройчатого листа велись наблюдения за динамикой формирования клубеньков. Результаты представлены в таблице 8.

Таблица 8

Динамика формирования клубеньков

Фаза роста	День	Количество клубеньков на 1 растение, шт			Масса клубеньков, мг		
		к	1	2	к	1	2
Всходы	10–11	–	–	–	–	–	–
Образование первого тройчатого листа	23,25	1	2	2	2,24	3,95	3,78
Бутонизация	54,56	3	8	10	6,79	12,34	13,45
Цветение	65,67	5	11	12	10,25	18,96	18,43
Плодообразование	73	5	11	12	10,25	18,96	18,43
Созревание	85	4	10	10	8,76	16,45	15,67

Из таблицы видно, что наибольшее количество клубеньков образуется в фазе цветения, и их масса достигает максимального значения. У образцов № 1, 2 данные показатели в два раза больше, чем у контроля. На рисунке 4 представлены сформировавшиеся клубеньки на образцах сои. В заключительной фазе созревания наблюдается уменьшение количества клубеньков и их массы.

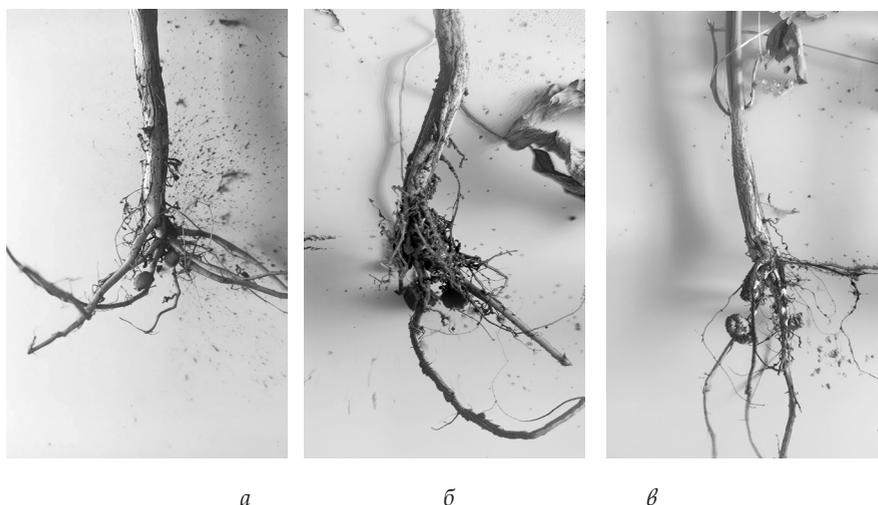


Рис. 4. Сформировавшиеся клубеньки на образцах сои:
а – контроль; *б* – образец №1; *в* – образец №2

Наблюдения за динамикой формирования зеленой массы растений так же начинали с фазы первого тройчатого листа. Результаты представлены в таблице 9.

Таблица 9

Динамика роста зеленой массы сои

Фаза роста	День	Зеленая масса растений сои, г		
		к	1	2
Всходы	10–11	—	—	—
Образование первого тройчатого листа	23, 25	10,28	13,41	13,95
Бутонизация	54, 56	28,76	39,08	37,23
Цветение	65, 67	35,76	45,17	53,54
Плодообразования	73	33,65	44,18	51,78
Созревания	85	30,76	42,65	49,76

140

Как видно из таблицы, образование зеленой массы у обработанных образцов начиналось на 2 дня раньше, чем у контрольного образца. Максимальное количество зеленой массы, состоящей из стеблей и листьев, у всех образцов было отмечено в фазу цветения. У образцов № 1, 2 зеленая масса превышала контроль в 1,3–1,5 раза. Начиная с фазы плодообразования, количество зеленой массы опытных растений уменьшалось.

Урожайность изучаемых образцов составила 30,0 ц/га в контроле, 32,1 ц/га в первом варианте и 33,0 ц/га во втором варианте. Превышение над контролем составило от 2,1 до 3,0 ц/га (табл. 10). Высота растений сои колебалась от 86,7 до 93,8 см (рис. 5).

Таблица 10

Урожайность и длина вегетационного периода сои 2024 г.

Сортообразец	Урожай, ц/га	Прибавка к контролю, ц/га	Вегетационный период, дни
Контроль	30,0	—	97
Вариант 1	32,1	+2,1	97
Вариант 2	33,0	+3,0	97
НСР – 1,529			



Рис. 5. Выращенная соя



Таким образом, урожайность сои, семена которой были обработаны инокулянтами 1 и 2, больше урожайности неинокулированной на 2,1 ц/га (1) и 3,0 (2) ц/га, соответственно.

Выводы

1. Подобраны оптимальные условия культивирования *Bradyrhizobium elkanii* и *Bradyrhizobium japonicum* для накопления титра клеток $2,1 \times 10^9$ КОЕ/мл и $2,0 \times 10^9$ КОЕ/мл соответственно. Температура 30 °С, рН среды 7,0, продолжительность 120 часов, источник углерода – маннит.

2. Разработан состав прототипа микробиологического инокулянта. В качестве консерванта выбран глицерин в дозировке 30 % от объема культуральной жидкости. В качестве экстендера выбран раствор 2 % поливинилового спирта, смешиваемый с бактериальной суспензией в соотношении 1:1.

3. Проведены полевые испытания разработанного прототипа инокулянта. Определено, что формирование клубеньков началось с фазы образования настоящего тройчатого листа и закончилось в фазе цветения. В среднем число клубеньков было выше на 50 % по сравнению с необработанными контрольными образцами. Количество зеленой массы растений, выращенных из обработанных семян, превышало контроль в 1,3–1,5 раза. Урожайность обработанных растений оказалась выше контроля в среднем на 2,1–3 ц/га.

Таким образом, разработанные инокулянты на основе бактерий *Bradyrhizobium japonicum* и *Bradyrhizobium elkanii* могут применяться в сельском хозяйстве для повышения продуктивности выращивания сои.

Список литературы

1. Chibeba A.M., Kyei-Boahen S., de Fátima Guimarães M. et al. Towards sustainable yield improvement: field inoculation of soybean with *Bradyrhizobium* and co-inoculation with *Azospirillum* in Mozambique // Arch Microbiol. 2020 №202 (9). P. 2579–2590. doi: 10.1007/s00203-020-01976-y.

2. Jarecki W. Soybean Response to Seed Inoculation or Coating with *Bradyrhizobium japonicum* and Foliar Fertilization with Molybdenum // Plants (Basel). 2023. №12 (13). P. 2431. doi: 10.3390/plants12132431.

3. da Conceição Jesus E., de Almeida Leite R., do Amaral Bastos R. et al. Co-inoculation of *Bradyrhizobium* stimulates the symbiosis efficiency of *Rhizobium* with common bean // Plant Soil. 2018. №425. P. 201–215. doi: 10.1007/s11104-017-3541-1.

4. Lima A.F., Salles J.S., Vendruscolo E.P. et al. Management of Inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and Application of Vitamins for Hydroponic Soybean Cultivation // Int J Microbiol. 2024. P. 446–463. doi: 10.1155/2024/4463693.

5. Lodeiro A.R. Interrogantes en la tecnología de la inoculación de semillas de soja con *Bradyrhizobium* spp [Queries related to the technology of soybean seed inoculation with *Bradyrhizobium* spp] // Rev Argent Microbiol. 2015. №47 (3). P. 261–273. doi: 10.1016/j.ram.2015.06.006.



6. Mathenge C., Thuita M., Masso C. et al. Variability of soybean response to rhizobia inoculant, vermicompost, and a legume-specific fertilizer blend in Siaya County of Kenya // Soil and Tillage Research. 2019. №194. P. 1–13. doi: 10.1016/j.still.2019.06.007.

7. Omari R. A., Yuan K., Anh K. T. et al. Enhanced Soybean Productivity by Inoculation With Indigenous *Bradyrhizobium* Strains in Agroecological Conditions of Northeast Germany // Front Plant Sci. 2022. №12. P. 770–780. doi: 10.3389/fpls.2021.707080.

8. Pan H., Shim A., Lubin M. B., Belin B. J. Hopanoid lipids promote soybean – *Bradyrhizobium* symbiosis // bioRxiv [Preprint]. 2023. P. 556–574. doi: 10.1101/2023.09.04.556284.

9. Tao J., Wang S., Liao T., Luo H. Evolutionary origin and ecological implication of a unique nif island in free-living *Bradyrhizobium* lineages // ISME J. 2021. №11. P. 3195–3206. doi: 10.1038/s41396-021-01002-z.

10. Zeffa D. M., Fantin L. H., Koltun A. et al. Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on co-inoculation with *Bradyrhizobium* in soybean crop: a meta-analysis of studies from 1987 to 2018 // Peer J. 2020. №9. P. 79–85. doi: 10.7717/peerj.7905.

11. Васильчиков А. Г., Акулов А. С. Поиск высокоэффективных инокулянтов для перспективных сортообразцов сои // Зернобобовые и крупяные культуры. 2019. №4 (32). С. 66–71. doi: 10.24411/2309-348X-2019-11134.

12. Смирнова И. Э., Саданов А. К. Бактерии для повышения урожайности сои // Актуальная биотехнология. 2021. №1. С. 61–65. doi: 10.20914/2304-4691-2021-1-61-65.

13. Смирнова И. Э., Саданов А. К., Бабаева Ш. А. и др. Штамм клубеньковых бактерий для создания биоудобрения для культуры сои (*Glycine max* (L.) Merr.) // Микробиология и вирусология. 2023. №2 (41). С. 117–130. doi: 10.53729/MV-AS.2023.02.07.

14. Сорокина А. И., Якименко М. В., Бегун С. А. Динамика роста титра микробных клеток штаммов *Bradyrhizobium japonicum* и *Sinorhizobium fredii* при глубинном культивировании в лабораторном ферментере // Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук. 2021. №3 (217). С. 92–99. doi: 10.37102/0869-7698_2021_217_03_15.

15. Умаров Б. Р. Ризобияльные бактерии рода *Sinorhizobium fredii* и *Bradyrhizobium japonicum* вступающие в симбиоз с растениями сои // Universum: Химия и биология. 2019. №4 (58).

Об авторах

Екатерина Александровна Бунеева – студ., Воронежский государственный университет инженерных технологий, Россия; лаборант-исследователь, Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара им. А. Л. Мазлумова, Россия.

E-mail: buneeva5katerina@yandex.ru

Анна Александровна Толкачева – ст. преп., Воронежский государственный университет инженерных технологий, Россия.

ORCID: 0000-0003-0725-6482

E-mail: anna-biotech@yandex.ru

SPIN-код: 3621-2463



Дмитрий Александрович Черенков – д-р биол. наук, проф., Воронежский государственный университет инженерных технологий; вед. науч. сотр., Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара им. А. Л. Мазлумова, Россия.

ORCID: 0000-0002-8564-8919

E-mail: d.cherenkov@mail.ru

SPIN-код: 4196-4407

Василиса Владимировна Ивченко – студ., Воронежский государственный университет инженерных технологий, Россия; техник IV категории, Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара им. А. Л. Мазлумова, Россия.

E-mail: ivchenko.vasilisa@yandex.ru

Ольга Сергеевна Корнеева – проректор по научно-исследовательской деятельности, Воронежский государственный университет инженерных технологий, Россия.

ORCID: 0000-0002-2863-0771

E-mail: korneeva-olgas@yandex.ru

SPIN-код: 3616-5977

*E. A. Buneeva^{1,2}, A. A. Tolkacheva¹
D. A. Cherenkov^{1,2}, V. V. Ivchenko^{1,2}, O. S. Korneeva¹*

**STUDY OF THE EFFECTIVENESS OF USING BACTERIA
BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM AND BRADYRHIZOBIUM ELKANII
AS A MICROBIOLOGICAL INOCULANT FOR SOY SEEDS**

¹ Voronezh State University of Engineering Technologies, Russia

² All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar, Russia

Received 01 November 2025

Accepted 12 December 2025

doi: 10.5922/vestniknat-2026-1-9

To cite this article: Buneeva E. A., Tolkacheva A. A., Cherenkov D. A., Ivchenko V. V., Korneeva O. S., 2026, Study of the effectiveness of using bacteria *Bradyrhizobium japonicum* and *Bradyrhizobium elkanii* as a microbiological inoculant for soy seeds, *Vestnik of Immanuel Kant Baltic Federal University. Series: Natural Sciences*, №4 P. 130 – 144. doi: 10.5922/vestniknat-2026-1-9.

A current challenge in soybean cultivation is the development of biological inoculants based on symbiotic nitrogen-fixing microorganisms, which provide the crop with the necessary amount of nitrogen for full plant development and sufficient protein accumulation. In particular, biological inoculants containing live nitrogen-fixing microbial cells are in high demand. Nodulating bacteria of the genus Bradyrhizobium are considered promising candidates for such inoculants. The aim of this study was to isolate and investigate Bradyrhizobium japonicum and Bradyrhizobium elkanii and to develop a microbiological seed inoculant based on



these bacteria. Optimal cultivation conditions were determined to achieve the maximum titer of viable bacterial cells. A microbiological inoculant composition was developed, and a prototype was created. Field trials of the experimental samples of the new bioproduct were conducted. The study demonstrates the effectiveness of the developed inoculant containing *Bradyrhizobium japonicum* and *Bradyrhizobium elkanii* in soybean cultivation.

Keywords: biological product, nodule bacteria, *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium elkanii*, microbiological inoculant, titer, soy, seeds

The authors

144

Ekaterina A. Buneeva, student, Voronezh State University of Engineering Technologies, Russia; lab.-researcher, All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar named after A. L. Mazlumov, Russia.

E-mail: buneeva5katerina@yandex.ru

Anna A. Tolkacheva, Senior Lecturer, Voronezh State University of Engineering Technologies, Russia.

ORCID: 0000-0003-0725-6482

E-mail: anna-biotech@yandex.ru

SPIN code: 3621-2463

Prof. Dmitry A. Cherenkov, Voronezh State University of Engineering Technologies; Leading Researcher, All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar named after A. L. Mazlumov, Russia.

ORCID: 0000-0002-8564-8919

E-mail: d.cherenkov@mail.ru

SPIN code: 4196-4407

Vasilisa V. Ivchenko, student, Voronezh State University of Engineering Technologies, Russia; technician of the IV category, All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar named after A. L. Mazlumov, Russia.

E-mail: ivchenko.vasilisa@yandex.ru

Olga S. Korneeva, Vice-Rector for Research Activities, Voronezh State University of Engineering Technologies, Russia.

ORCID: 0000-0002-2863-0771

E-mail: korneeva-olgas@yandex.ru

SPIN code: 3616-5977