

А.И. СОРОКИНА, М.В. ЯКИМЕНКО, С.А. БЕГУН

## Динамика роста титра микробных клеток штаммов *Bradyrhizobium japonicum* и *Sinorhizobium fredii* при глубинном культивировании в лабораторном ферментере

Представлены результаты исследований динамики роста бактериальных клеток штаммов *Bradyrhizobium japonicum* (Jordan, 1982) и *Sinorhizobium fredii* (Scholla, Elkan, 1984) в жидкой культуре в течение 24, 48, 72 ч глубинного культивирования, усваивающих широкий спектр источников углеродного питания. Наиболее технологичными по способности накапливать высокий титр КОЕ/мл в условиях глубинного культивирования оказались штаммы *B. japonicum* ТМ-455, БМ-88, ТМ-469, БМ-91 и *S. fredii* ОБ-46, 071, ТБ-496, СБ-38. При 72-часовом культивировании в лабораторном ферментере серии TN-50L при температуре культивирования +28 °С, вращении мешалки 70 об/мин и  $pH_{\text{среды}}$  6,73 – 6,77 получен максимальный титр активных клеток штаммов *B. japonicum* СМ-42 и *S. fredii* ББ-49, составивший  $8 \cdot 10^9$  КОЕ/мл и  $17 \cdot 10^9$  КОЕ/мл соответственно.

Ключевые слова: ризобии, штамм, *B. japonicum*, *S. fredii*, глубинное культивирование, титр, источники углерода, питательная среда.

**Dynamics of growth of microbial cell titer of *Bradyrhizobium japonicum* and *Sinorhizobium fredii* strains during submerged cultivation in a laboratory fermenter.** A.I. SOROKINA, M.V. YAKIMENKO, S.A. BEGUN (Federal Scientific Center “All-Russian Research Institute of Soybeans”, Blagoveshchensk).

The results of studies of the dynamics of growth of bacterial cells of *Bradyrhizobium japonicum* (Jordan, 1982) and *Sinorhizobium fredii* (Scholla, Elkan, 1984) strains in liquid culture for 24, 48, 72 hours of submerged cultivation, assimilating a wide range of carbon sources, are presented. The most technological in ability of accumulation high titer CFU/ml in conditions of submerged cultivation are the strains of *B. japonicum* ТМ-455, БМ-88, ТМ-469, БМ-91 and *S. fredii* ОБ-46, 071, ТБ-496, СБ-38. The maximum titer of active cells of *B. japonicum* СМ-42 and *S. fredii* ББ-49 strains was obtained during 72-hour cultivation in a laboratory TN-50L series fermenter, at a cultivation temperature +28°C, stirrer rotation at 70 rpm and  $pH_{\text{medium}}$  6.73–6.77, which amounted to  $8 \cdot 10^9$  CFU/ml and  $17 \cdot 10^9$  CFU/ml, respectively.

Key words: rhizobia, strain, *B. japonicum*, *S. fredii*, submerged cultivation, titer, carbon sources, nutrient medium.

### Введение

В современных экономических условиях стала очевидной необходимость биологизации сельскохозяйственного производства для повышения плодородия почв и получения высоких урожаев [9, 14, 20]. Один из способов достижения этой цели – частичное или полное замещение агрохимикатов препаратами симбиотических микроорганизмов,

\* СОРОКИНА Арина Игоревна – кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник, ЯКИМЕНКО Мария Владимировна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, БЕГУН Степан Алексеевич – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник (Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт соев», Благовещенск). \*E-mail: mariy-y@yandex.ru

которые в природе успешно обеспечивают своих хозяев питательными веществами и защищают их от биотических и абиотических стрессов [7, 19, 21]. В связи с этим особенно актуально применение биопрепаратов, которые содержат клубеньковые бактерии семейства *Rhizobiaceae*, вступающие в симбиоз с корневыми системами бобовых растений и снабжающие растение азотом, фиксированным ими из воздуха [4, 8, 22]. Опыт применения подобных препаратов свидетельствует о том, что это наиболее простой, экономичный и совершенно безопасный для человека, животных и других компонентов биоценозов способ увеличения продуктивности растений [5, 11, 13]. Кроме того, использование сельхозпроизводителями ризобияльных препаратов способствует повышению качества выращиваемой продукции, улучшению свойств почвы [1, 26, 27]. Для достижения максимального эффекта от ризобияльных препаратов необходимо постоянно вести поиск новых высокоэффективных, обладающих повышенной конкурентной способностью штаммов клубеньковых бактерий, на основе которых готовят инокулянты [10, 16, 23]. Кроме того, ризобии, составляющие основу биопрепаратов, должны обладать способностью накапливать достаточное количество активных бактериальных клеток при культивировании в производственных условиях, так как одним из критериев качества микробиологических препаратов является высокий титр КОЕ, который для ризобияльных препаратов должен быть не менее  $10^7 - 10^9$ /мл [2, 17, 18].

Особенностью Дальневосточного региона является наличие в почвах активных природных популяций ризобий, что дает возможность отбирать наиболее ценные по хозяйственно полезным свойствам штаммы. В историческом плане это явление связано с повсеместным распространением в регионе дикорастущей сои и ее симбиотических взаимоотношений с определенной группой почвенных микроорганизмов [24]. В наших предыдущих исследованиях был изучен рост штаммов *B. japonicum* и *S. fredii* из коллекции ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои на средах с различными источниками углерода и отобраны культуры с универсальными способностями роста (усваивающие все предложенные источники), что предполагает их успешное культивирование в промышленных условиях [25].

Цель работы – изучить динамику роста бактериальных клеток в жидкой культуре в течение 24, 48, 72 ч глубинного культивирования штаммов *B. japonicum* и *S. fredii*, усваивающих широкий спектр источников углеродного питания.

### Объекты и методы

Исследования проведены в Федеральном научном центре «Всероссийский научно-исследовательский институт сои» (г. Благовещенск). Объекты исследований – штаммы ризобий сои *Bradyrhizobium japonicum* (Jordan, 1982) 648a, ТМ-455, БМ-91, БМ-88, ТМ-469, МС-63 и *Sinorhizobium fredii* (Scholla, Elkan, 1984) 071, ОБ-46, КБ-11, СБ-43, ТБ-496, СБ-38, выделенные из природных популяций Дальнего Востока. В качестве стандартов использовали запатентованные штаммы СМ-42 (для *B. japonicum*) и ББ-49 (для *S. fredii*).

Глубинное культивирование чистых культур ризобий сои амурской селекции, отобранных для исследований, проводили на питательной среде № 79 следующего состава, г/л:  $K_2HPO_4$  – 0,5; NaCl – 0,1;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  – 0,2;  $CaCO_3$  – следы; дрожжевой экстракт – 1,0; маннит – 20,0; агар-агар – 20,0, где вместо маннита в качестве источника углерода использовали глюкозу (для штаммов *B. japonicum*) и сахарозу (для штаммов *S. fredii*) согласно ранее проведенным исследованиям [25]. Отработку параметров культивирования проводили на лабораторном ферментере TN-50L (максимально возможная скорость вращения мешалки 70 об/мин) объемом 50,0 л, мощностью воздушного компрессора 1,1 кВт (максимальное давление 0,7 МПа, объем производимого газа 0,11 м<sup>3</sup>). Для засева ферментера использовали 5–7-суточный посевной материал в количестве 10 % от объема питательной среды. Посевной материал готовили путем выращивания чистых культур на лабораторной

качалке в колбах объемом 250 мл с жидкой питательной средой (100 мл) в термостате при температуре +27–28 °С [3, 6, 12]. Титр КОЕ/мл и рН культуральной жидкости определяли через 24, 48, 72 ч культивирования, подсчет количества клеток изучаемых штаммов в инокуляте проводили методом серийных разведений и их пересевом методом Коха на плотную питательную среду [15].

Статистическую обработку полученных данных проводили методами дисперсионного и корреляционного анализа с использованием программы Statistica 10 (StatSoft Inc., США).

## Результаты и обсуждение

На первоначальном этапе в лабораторных условиях из коллекции ФНЦ ВНИИ сои были отобраны технологичные штаммы, усваивающие широкий спектр источников углеродного питания [25]. На 7-е сутки роста 85 % исследуемых штаммов *B. japonicum* на питательной среде без источника углеродного питания показали скудный рост штриха чистой культуры, 9 % – умеренный (табл. 1).

Таблица 1  
Интенсивность роста штаммов видов *B. japonicum*, *S. fredii* на питательной среде № 79 с различными источниками углеродного питания (7-е сутки после посева)

Интенсивность роста штриха чистой культуры	Количество штаммов, давших рост на питательной среде № 79, шт.											
	<i>B. japonicum</i>						<i>S. fredii</i>					
	без углевода	маннит	мальтоза	глюкоза	сахароза	лактоза	без углевода	маннит	мальтоза	глюкоза	сахароза	лактоза
Обильный	0	0	0	0	0	0	21	16	15	20	7	
Хороший	0	4	2	2	3	0	0	15	18	13	16	26
Умеренный	4	24	17	22	15	4	1	7	8	13	6	8
Скудный	40	19	26	21	27	36	13	1	2	3	2	3
Нет роста	3	0	2	2	2	7	30	0	0	0	0	0

При добавлении в питательную среду мальтозы, глюкозы, сахарозы, маннита интенсивность роста бактериальной массы изучаемых штаммов возрастала (рис. 1).

Наилучший рост штриха чистых культур *B. japonicum* был отмечен на средах с маннитом и глюкозой.

Штаммы *S. fredii* практически не росли на питательной среде № 79 без углевода, но показали интенсивный рост бактериальной массы со всеми испытываемыми

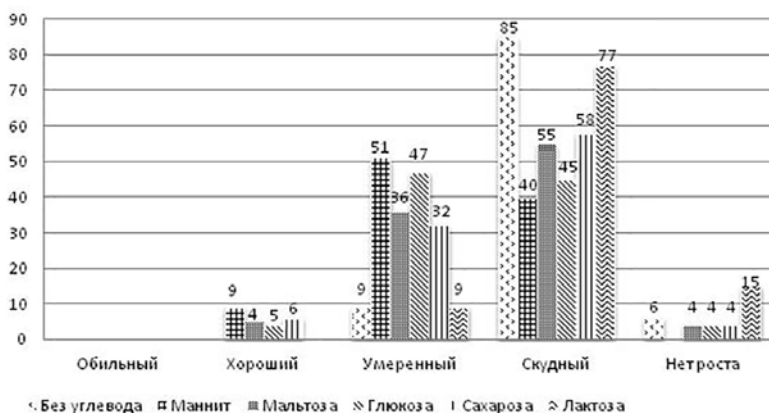


Рис. 1. Интенсивность роста штаммов *B. japonicum* на питательной среде № 79 с различными источниками углеродного питания (7-суточная культура), %

источниками углеродного питания. Наибольшее количество штаммов *S. fredii*, показавших обильный и хороший рост (82 %), было в вариантах с добавлением в питательную среду маннита и сахарозы (рис. 2).

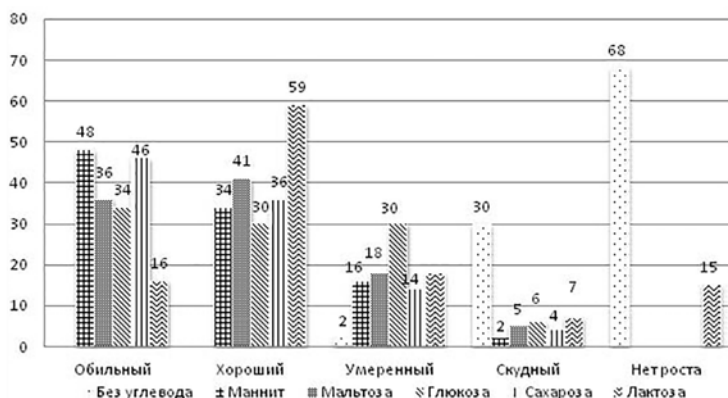


Рис. 2. Интенсивность роста штаммов *S. fredii* на питательной среде № 79 с различными источниками углеродного питания (7-суточная культура), %

Статистическая обработка полученных данных показала сильные различия в характеристиках роста штриха чистых культур на питательной среде при однородной популяции штаммов каждого вида (табл. 2, 3).

Таблица 2

Статистические данные роста штаммов вида *B. japonicum* на питательной среде № 79 с различными углеводами на 7-е сутки (n = 47)

Углевод	Средняя арифметическая, x	Размах вариации, R	Стандартное отклонение, σ	Статистическая ошибка средней, m	Коэффициент вариации, C <sub>v</sub> , %
Без углеводов	1,02	4	5,7	0,83	37,73
Маннит	1,68	4	2,59	0,37	37,03
Мальтоза	1,40	4	4,30	0,63	45,66
Глюкоза	1,51	4	4,17	0,61	42,91
Сахароза	1,40	4	4,23	0,62	47,96
Лактоза	0,94	4	5,7	0,83	51,22

Дисперсия S<sub>d</sub> = 1,64

Таблица 3

Статистические данные штаммов вида *S. fredii* на питательной среде № 79 с различными углеводами (n = 44)

Углевод	Средняя арифметическая, x	Размах вариации, R	Стандартное отклонение, σ	Статистическая ошибка средней, m	Коэффициент вариации, C <sub>v</sub> , %
Без углеводов	0,33	4	4,92	0,74	152,46
Маннит	3,27	4	3,12	0,47	24,69
Мальтоза	3,09	4	3,13	0,47	27,43
Глюкоза	2,91	4	2,89	0,44	32,63
Сахароза	3,23	4	3,28	0,49	26,31
Лактоза	2,86	4	3,68	0,55	27,00

Дисперсия S<sub>d</sub> = 1,32

Статистическая обработка полученных данных показала сильные различия в характеристиках роста штриха на питательной среде при однородной популяции штаммов каждого вида (табл. 2, 3).

Отобранные из 47 коллекционных штаммов *B. japonicum* семь штаммов, усваивающих широкий спектр источников углеродного питания, при 72-часовом культивировании в лабораторном ферментере имели титр КОЕ·10<sup>9</sup>/мл в различное время экспозиции ферментации, исключение составил штамм МС-63, при этом рН питательной среды колебалась в узких пределах (рН<sub>среды</sub> 5,96–7,76) (табл. 4).

Таблица 4

Динамика роста активных клеток штаммов *B. japonicum* при глубинном культивировании в ферментере

Штамм	Период ферментации, ч	рН среды	Титр КОЕ·10 <sup>7</sup> /мл	Титр КОЕ·10 <sup>9</sup> /мл
СМ-42	24	6,83	1	1
	48	6,89	13	2
	72	6,77	37	8
648a	24	7,76	7	1
	48	7,35	1	–
	72	6,89	1	–
ТМ-455	24	7,30	1	1
	48	6,93	1	1
	72	6,81	3	1
БМ-91	24	7,33	4,3	–
	48	7,14	3,6	–
	72	6,00	6,6	1
БМ-88	24	7,38	–	–
	48	7,20	1	1
	72	7,15	3	1
ТМ-469	24	7,24	–	–
	48	6,73	1	1
	72	6,27	–	–
МС-63	24	7,28	1	–
	48	6,75	–	–
	72	5,96	–	–

Примечание. Прочерк – нет роста.

Наблюдения за ростом изучаемых штаммов *B. japonicum* в процессе глубинного культивирования показали, что штамм ТМ-455 сохранял титр  $1 \cdot 10^9$  КОЕ/мл на протяжении всего времени ферментации, у штамма 648 максимальный титр бактериальных клеток был отмечен при 24-часовом культивировании и рН<sub>среды</sub> 7,76. Штаммам БМ-88, ТМ-469 и БМ-91 понадобилось больше времени для наращивания биомассы необходимой концентрации в ферментере, они показали титр  $1 \cdot 10^9$  КОЕ/мл только через 48 и 72 ч культивирования соответственно. Штамм МС-63 уже при 24-часовом культивировании показал хороший титр  $1 \cdot 10^7$  КОЕ/мл при рН<sub>среды</sub> 7,28, но в дальнейшем рост микробных тел этого штамма прекратился. Штамм МС-63 оказался наиболее чувствительным к снижению активной кислотности субстрата. Максимальный титр клеток штамма-стандарта *B. japonicum* СМ-42 получен при 72-часовом глубинном культивировании и рН<sub>среды</sub> 6,77, он составил  $8 \cdot 10^9$  КОЕ/мл.

Титр КОЕ·10<sup>7</sup> штаммов *S. fredii* в среднем был выше по сравнению с показателями штаммов *B. japonicum* (табл. 5). Наибольший титр клеток клубеньковых бактерий в этом разведении через 72 ч культивирования получен у штаммов 071 ( $26,6 \cdot 10^7$  КОЕ/мл при рН<sub>среды</sub> 6,59) и ББ-49 ( $40 \cdot 10^7$  КОЕ/мл при рН<sub>среды</sub> 6,73).

Максимальный титр клеток штамма *S. fredii* КБ-11 получен при 24-часовом культивировании и рН<sub>среды</sub> 6,77, он составил  $61 \cdot 10^7$  КОЕ /мл. Увеличение времени ферментации привело к снижению титра активных клеток штамма КБ-11. Через 72 ч культивирования титр клеток штаммов *S. fredii* ТБ-496 при рН<sub>среды</sub> 5,51 и ОБ-46 при рН<sub>среды</sub> 6,20 составил  $1 \cdot 10^9$  КОЕ/мл, штамма 071 –  $2 \cdot 10^9$  КОЕ/мл при рН<sub>среды</sub> 6,59. Штамм ТБ-496 сохранял титр  $1 \cdot 10^9$  КОЕ/мл на протяжении всего времени ферментации. У штамма СБ-43 в условиях

Таблица 5

Динамика роста активных клеток штаммов *S. fredii* при глубинном культивировании в ферментере

Штамм	Период ферментации, ч	pH среды	Титр КОЕ·10 <sup>7</sup> /мл	Титр КОЕ·10 <sup>9</sup> /мл
ББ-49	24	6,74	–	–
	48	6,55	4	2
	72	6,73	40	17
071	24	7,04	–	–
	48	6,69	4	1
	72	6,59	26,6	2
ОБ-46	24	7,70	3,5	–
	48	7,24	1	1
	72	6,20	1	1
КБ-11	24	6,77	61	–
	48	6,62	36	–
	72	6,46	8	–
СБ-43	24	7,29	–	–
	48	7,02	–	–
	72	7,07	–	–
ТБ-496	24	7,35	3	1
	48	6,06	2,3	1
	72	5,51	3	1
СБ-38	24	7,61	1	–
	48	7,21	37,6	2
	72	7,09	46,6	3

Примечание. Прочерк – нет роста.

Таблица 6

Корреляционная зависимость титра КОЕ штаммов от времени ферментации, *r*

<i>V. japonicum</i>			<i>S. fredii</i>		
Штамм	КОЕ·10 <sup>7</sup> /мл	КОЕ·10 <sup>9</sup> /мл	Штамм	КОЕ·10 <sup>7</sup> /мл	КОЕ·10 <sup>9</sup> /мл
ТМ-455	≈0,87	=1	071	≈0,93	=1
БМ-91	≈0,73	≈0,87	ОБ-46	≈–0,87	≈0,87
СМ-42	≈0,99	≈0,93	КБ-11	≈–0,99	0
648 <sub>a</sub>	≈–0,87	≈–0,87	ББ-49	≈0,91	≈0,92
БМ-88	≈0,98	≈0,87	СБ-43	0	0
ТМ-469	0	0	ТБ-496	0	0
МС-63	≈–0,87	0	СБ-38	≈0,95	≈0,98

глубинного культивирования рост микробных клеток в разведении 10<sup>7</sup> и 10<sup>9</sup> отсутствовал. Возможно, это связано с изменением метаболизма бактерий при глубинном культивировании, но в любом случае необходимо подбирать для штамма иные условия культивирования. Наилучший показатель количества микробных единиц (17 · 10<sup>9</sup> КОЕ/мл) при глубинном культивировании в лабораторном ферментере установлен у штамма *S. fredii* ББ-49 через 72 ч культивирования и рН<sub>среды</sub> 6,73.

У большинства штаммов вида *B. japonicum* и *S. fredii* титр КОЕ/мл зависел от времени экспозиции в ферментере. У штаммов 648а, МС-63, КБ-11 и ОБ-46 выявлена отрицательная корреляционная зависимость. Это связано с тем, что титр КОЕ/мл с увеличением времени экспозиции снижался. У штамма СБ-43 в титрах КОЕ·10<sup>7</sup>/мл и КОЕ·10<sup>9</sup>/мл рост микробных клеток отсутствовал, а у штамма ТБ-496 зависимости от времени ферментации и титром КОЕ не выявлено (табл. 6).

### Заключение

В результате исследования коллекционных штаммов *B. japonicum* и *S. fredii*, усваивающих широкий спектр источников углеродного питания, выявлено, что наиболее технологичными по способности накапливать высокий титр КОЕ/мл в условиях глубокого культивирования оказались штаммы *B. japonicum* ТМ-455, БМ-88, ТМ-469, БМ-91 и *S. fredii* ОБ-46, 071, ТБ-496, СБ-38. Максимальный титр клеток ризобий получен при культивировании в лабораторном ферментере серии TN-50L (время культивирования 72 ч, температура +28 °С, рН<sub>среды</sub> 6,73–6,77, скорость вращения мешалки 70 об/мин) штаммов *B. japonicum* СМ-42 и *S. fredii* ББ-49, он составил  $8 \cdot 10^9$  КОЕ/мл и  $17 \cdot 10^9$  КОЕ/мл соответственно.

Эти культуры можно использовать при производстве ризобияльных препаратов под сою.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Волобуев О.Г. Симбиотическая азотфиксация как фактор экологической безопасности почвы // Вестн. РУДН. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. 2011. № 1. С. 53–60.
2. Гаврилова Н.Н., Саданов А.К., Дадонова Т.Д., Ратникова И.А. Технологии производства биопрепаратов на основе клубеньковых бактерий // Изв. Нац. акад. наук Респ. Казахстан. Серия биол. и мед. 2015. № 1. С. 78–83.
3. Гарипова С.Р. Развитие методологических подходов к разработке микробных препаратов для повышения продуктивности и устойчивости сельскохозяйственных растений // Вестн. Оренбург. ун-та. 2009. № 10. С. 437–439.
4. Глянко А.К., Ищенко А.А., Филинова Н.В. Бобово-ризобияльный симбиоз: некоторые современные знания // Вестн. Харьк. нац. аграр. ун-та. Серия: Биология. 2017. Вып. 3 (42). С. 6–22.
5. Каримова Е.Р., Худайгулов Г.Г. Изучение влияния биопрепарата на основе клубеньковых бактерий *Rhizobium lupine* на бобовые и злаковые культуры // Вестн. ЮУрГУ. Серия: Пищевые биотехнологии. 2018. Т. 6, № 2. С. 52–57.
6. Картыжова Л.Е., Семенова И.В., Короленок Н.В., Алещенкова З.М., Романова Л.В. Эффективный штамм медленнорастущих клубеньковых бактерий *Bradyrhizobium japonicum* 84 KL – основа биоудобрения Соя Риз // Вестн. Нацыянальнай Акадэміі Навук Беларусі. Серия: біялагічных навук. 2014. № 2. С. 107–112.
7. Кожемяков А.П., Лактионов Ю.В., Попова Т.А., Орлова А.Г., Кокорина А.Л., Вайшла О.Б., Агафонов Е.В., Гужвин С.А., Чураков А.А., Яковлева М.Т. Агротехнологические основы создания усовершенствованных форм микробных биопрепаратов для земледелия // Сельскохозяйственная биология. 2015. Т. 50, № 3. С. 369–376.
8. Кокорина А.Л., Кожемяков А.П. Бобово-ризобияльный симбиоз и применение микробиологических препаратов комплексного действия – важный резерв повышения продуктивности пашни: лекция. СПб.: Изд-во СПбГАУ, 2010. 50 с.
9. Коломиец Э., Сверчкова М., Мандрик-Литвинкович М. Экологически безопасные биотехнологии для сельского хозяйства // Наука и инновации. 2019. № 3 (193). С. 4–8.
10. Крутило Д.В. Эффективность штаммов *Bradyrhizobium japonicum* на фоне местных популяций ризобий сои // Вестн. Алтай. гос. аграр. ун-та. 2014. Т. 114, № 4. С. 42–47.
11. Лактионов Ю.В. Создание стабильной формы ростстимулирующих микробиологических препаратов и их эффективность // Сельскохозяйственная биология. 2011. № 3. С. 116–118.
12. Методы культивирования азотфиксирующих бактерий. Способы получения и применения препаратов на их основе: метод. рекомендации / под ред. А.В. Хотяновича. М.: ВНИИСХМ, 1991. 60 с.
13. Миннебаев Л.Ф., Кузина Е.В., Рафикова Г.Ф., Чанышев И.О., Логинов О.Н. Продуктивность бобово-ризобияльного комплекса под влиянием ростстимулирующих штаммов микроорганизмов // Сельскохозяйственная биология. 2019. Т. 54, № 3. С. 481–493.
14. Петров В.Б., Чеботарь В.К., Казаков А.Е. Микробиологические препараты в биологизации земледелия России // Достижения науки и техники АПК. 2002. № 10. С. 16–20.

15. Практикум по микробиологии / под ред. Н.С. Егорова. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1976. 307 с.
16. Саданов А.К., Гаврилова Н.Н., Дадонова Т.Н., Ратникова И.А. Критерии отбора клубеньковых бактерий в состав биопрепаратов для обогащения почвы биологическим азотом и повышения урожайности бобовых культур // News of the National academy of sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of biological and medical. 2015. Vol. 1, N 307. P. 115–124.
17. Сидоренко О.Д. Перспективы использования биологических препаратов на основе микроорганизмов // Изв. ТСХА. 2012. № 6. С. 70–79.
18. Сытников Д.М. Биотехнология микроорганизмов – азотфиксаторов и перспективы применения препаратов на их основе // Биотехнология. 2012. Т. 5, № 4. С. 34–45.
19. Тихонович И.А. Использование биопрепаратов – дополнительный источник элементов питания растений // Плодородие. 2011. № 3. С. 9–13.
20. Тихонович И.А., Проворов Н.А. Сельскохозяйственная микробиология как основа экологически устойчивого агропроизводства: фундаментальные и прикладные аспекты // Сельскохозяйственная биология. 2011. № 3. С. 3–9.
21. Ториков В.Е., Сорокин А.Е. Биологизация земледелия как основа современного сельскохозяйственного производства // Аграр. вестн. Урала. 2011. № 5 (84). С. 18–20.
22. Турина Е.Л. Высокопродуктивные растительно-микробные системы в агроценозах бобовых культур // Рос. с.-х. наука. 2015. № 3. С. 28–30.
23. Урамян Г.Р. Биопрепараты на основе *Bradyrhizobium japonicum* и проблемы их применения // Вестн. соврем. исслед. 2019. Вып. 2–7 (29) (февр.). С. 78–81.
24. Якименко М.В., Бегун С.А. Отличительные признаки быстро- и медленнорастущих клубеньковых бактерий сои, обитающих в дальневосточных почвах // Рос. с.-х. наука. 2020. № 6. С. 38–41.
25. Якименко М.В., Бегун С.А., Сорокина А.И. Оценка интенсивности роста штаммов *Bradyrhizobium japonicum* и *Sinorhizobium fredii* дальневосточной селекции на средах с различными углеводами // Достижения науки и техники АПК: спец. выпуск по материалам Междунар. науч.-практ. конф. «Научное обеспечение устойчивого развития агропромышленного комплекса» (16–17 июля 2020 г., ДальНИИСХ). 2020. Т. 34, № 6. С. 33–37.
26. Co-inoculation of *Bradyrhizobium* stimulates the symbiosis efficiency of *Rhizobium* with common bean / E. da C. Jesus, R. de A. Leite, R. do A. Bastos et al. // Plant Soil. 2018. N 425. P. 201–215.
27. Effects of inoculation by *Bradyrhizobium japonicum* strains on nodulation, nitrogen fixation, and yield of *lablab purpureus* in Algeria / A. Benselama, S. Tallan, S.M. Ounane et al. // Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences Special Issue. 2014. N 2. P. 1870–1876.