

УДК 581.557:577.175.1

БАЛАНС ІОК ТА ЗЕАТИНУ В РОСЛИНАХ СОЇ ЗА ІНОКУЛЯЦІЄЮ НАСІННЯ РІЗНИМИ ШТАМАМИ Й МУТАНТАМИ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*

М.В. ВОЛКОГОН, П.М. МАМЕНКО, С.Я. КОЦЬ

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17*

Показано зміну вмісту ІОК та зеатину в рослинах сої *Glycine max* (L.) Merr. за умов інокуляції штамми й Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* із різними симбіотичними характеристиками. Зазначено тісний зворотний зв'язок між вмістом ІОК і нітрогеназною активністю бульбочок. Показано, що зміна вмісту зеатину в бульбочках прямо залежить від їхньої азотфіксувальної активності та накопичення маси рослинами. Зроблено висновок щодо перспективності вивчення ролі фітогормонів у процесах біологічної фіксації азоту за розширення спектра досліджуваних сполук, які виявляють фітогормональну активність.

Ключові слова: *Glycine max* (L.) Merr., *Bradyrhizobium japonicum*, фітогормони, азотфіксація, симбіоз, Tn5-мутанти.

Як відомо, рослини родини бобових здатні утворювати симбіотичні системи з азотфіксувальними ризобіальними мікроорганізмами. Формування симбіотичного апарату є складним багатоступінчастим процесом, контрольованим на різних рівнях організації рослин і мікроорганізмів [2, 9, 21, 22, 27, 28]. Ключовою ланкою мікробно-рослинної взаємодії є утворення унікальних органів на коренях рослин — бульбочок, де створюються необхідні умови для фіксації молекулярного азоту [3, 21, 28]. Специфічність взаємодії і, як було показано низкою досліджень [1, 26], складна структура кореневих бульбочок потребують високого ступеня регуляції біохімічних процесів, в якій певне місце належить фітогормонам. Здатність синтезувати ці сполуки — одна з головних характеристик ризосферних, епіфітних та симбіотичних бактерій [12, 18]. У рослинах фітогормони діють послідовно обумовлюючи збалансований перебіг процесів росту і розвитку, що забезпечується синхронним функціонуванням біохімічних механізмів [7]. Однак дані щодо механізмів фітогормональної регуляції симбіотичних взаємовідносин бобових рослин і бульбочкових бактерій здебільшого мають фрагментарний характер, потребують уточнень та систематизації. Розумінню специфіки фітогормональної реакції рослин на інокуляцію можуть сприяти дослідження з використанням ризобій зі зміненими культурально-біохімічними і симбіотичними ознаками [5, 11, 27].

Особливості взаємодії бактерій з рослиною за участю фітогормонів потребують всебічного дослідження і з практичного погляду. Біологічно активні речовини (у тім числі фітогормони) розглядаються як чинники формування і функціонування системи ґрунт—мікроорганізми—росли-

на, їх запропоновано враховувати під час розробки і впровадження нових підходів до керування продукційним процесом зернових і бобових культур [3, 4, 14, 18]. Нез'ясованим залишається питання щодо можливості й доцільності комплексного застосування біологічно активних речовин і нових активних штамів бульбочкових бактерій, у тім числі їх Tn5-мутантів, які сприяють максимальному прояву азотфіксувального потенціалу бобових [5, 11, 20, 27].

Метою наших досліджень було встановлення зміни балансу фітогормонів ауксинової та цитокінінової природи в органах рослин сої за інокуляції штамми й Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* різної активності, визначення зв'язку між вірулентністю штамів, нітрогеназною активністю кореневих бульбочок, ефективністю симбіозу і вмістом фітогормонів.

Методика

Дослідження проводили з рослинами сої (*Glycine max* (L.) Merr.) сорту Мар'яна (селекція Інституту фізіології рослин і генетики НАН України — ІФРГ, Селекційно-генетичного інституту та Інституту землеробства УААН), інокульованими різними за ефективністю штамми *B. japonicum* 646 (вихідний штам, високоактивний), 604к (неактивний) та Tn5-мутантами штаму 646: 21-2 (активний), 9-1 (активний), 107 (малоактивний), 113 (малоактивний) із музейної колекції азотфіксувальних мікроорганізмів відділу симбіотичної азотфіксації ІФРГ [11].

Рослини сої вирощували в умовах вегетаційного досліду в 16-кілограмових посудинах Вагнера на промитому річковому піску вологістю 60 % ПВ за природного освітлення. Джерело мінерального живлення — поживна суміш Гельрігеля, збагачена мікроелементами молібденом, бором, манганом і міддю та збіднена на азот — 0,2 норми (1 норма азоту відповідає 708 мг $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ на 1 кг субстрату) [5].

Перед висіванням простерилізоване 70 %-м етанолом і промите під проточною водою протягом 1 год насіння інокульовали суспензіями бульбочкових бактерій різної ефективності, концентрація бактерій становила 10^7 клітин в 1 мл. Рослини для аналізів відбирали на початку формування їхнього симбіотичного апарату (15-та доба після появи сходів) та під час його активного функціонування (35-та доба після появи сходів).

Вміст фітогормонів визначали методом кількісної спектроденситометричної тонкошарової хроматографії [13]. Для цього фітогормони з рослинної наважки екстрагували 96 %-м етанолом, екстракт випарювали на ротаційному випарнику (HEIDOLPH Laboport 4000 efficient, Німеччина) і повторно розчиняли в 1,5 мл спирту. Екстракт очищали хроматографуванням на пластинках «Сорбфіл ПТСХ-АФ-А-УФ» (Росія) в різних системах розчинників: хлороформі ($R_f = 0$), 12,5 %-му розчині аміаку ($R_f = 1$), етилацетаті : оцтовій кислоті (19:1). Після очищення зони, що збігалися за R_f із нанесеними раніше стандартами фітогормонів, знімали й елюювали: зеатин — спиртом, ІОК — етилацетатом. Елюат ІОК рехроматографували на пластинках, вкритих оксидом силіцію («Merck» № 105554, Німеччина), у системі розчинників хлороформ — етилацетат — оцтова кислота (100:100:1), елюат зеатину — на пластинках, вкритих оксидом алюмінію («Merck» № 105550, Німеччина), у системі розчинників хлороформ — оцтова кислота (19:1). Кількісне детек-

тування фітогормонів здійснювали сканувальним спектроденситометром «Camag TLC Scanner» (Швейцарія).

Активність процесу азотфіксації визначали ацетиленовим методом [23]. Корені з бульбочками вміщували в скляні флакони, що герметично закривалися, місткістю 75 см³, в яких створювали 10 %-ву концентрацію ацетилену. Тривалість інкубації — 1 год. Після експозиції газової суміші, яка містила етилен, що виділився в результаті редукції ацетилену нітрогеназою, аналізували на газовому хроматографі «Agilent GC system 6850» (США) з полуменево-іонізаційним детектором. Гази розділяли на колонці («Supelco Porapak N») за температури термостата 55 °С, детектора — 150 °С. Газом-носієм слугував гелій (20 мл/хв). Об'єм аналізованої проби газової суміші становив 1 см³. Як стандарт застосовували чистий етилен («Sigma-Aldrich» № 536164, США).

Експериментальні дані оброблені статистично методом дисперсійного аналізу за Доспеховим [8] із використанням комп'ютера і залученням пакетів спеціальних програм Microsoft Excel'03 та Statgraphics Plus 3.0.

Результати та обговорення

Процес становлення бобово-ризобіального симбіозу охоплює низку послідовних етапів — від адсорбції бактеріальних клітин на поверхні корневих волосків та інфікування до утворення особливих симбіотичних форм — бактероїдів. У зрілих бактероїдах синтезується складний ферментний комплекс — нітрогеназа, який каталізує процес відновлення молекулярного азоту атмосфери [10]. Слід наголосити, що рослина-хазяїн, утворюючи спеціалізовані структури — бульбочки, здатна істотно впливати на чисельність і фізіологічну активність бульбочкових бактерій; це виявляється на всіх етапах становлення симбіотичних відносин [9, 28].

З огляду на відсутність бульбочок на коренях рослин і нітрогеназної активності на 15-ту добу після сходів, для характеристики симбіотичних систем сої — *V. japonicum* ми зосереджувались на даних, отриманих на 35-ту добу (табл. 1). Найвищу нодуляційну активність мав штам

ТАБЛИЦЯ 1. Маса, кількість та нітрогеназна активність бульбочок сої за інокуляції різними за ефективністю штамми й Тп5-мутантами *V. japonicum* (35-та доба після появи сходів)

Варіант	Кількість бульбочок, шт./рослину	Маса бульбочок, мг/рослину	Нітрогеназна активність, мкмоль С ₂ Н ₄ /(рослину · год)
Контроль (без інокуляції)	—	—	—
Інокуляція			
Штам <i>V. japonicum</i> 646	76,7 ± 7,7	0,68 ± 0,05	4,60 ± 0,12
Штам <i>V. japonicum</i> 604к	149,3 ± 10,4*	0,53 ± 0,05	0,002 ± 0,00*
Тп5-мутант 21-2	56,3 ± 1,8	0,53 ± 0,06	4,92 ± 0,45
Тп5-мутант 9-1	63,7 ± 6,7	0,63 ± 0,12	3,42 ± 0,15*
Тп5-мутант 107	64,0 ± 8,6	0,46 ± 0,04*	1,93 ± 0,26*
Тп5-мутант 113	55,3 ± 6,0	0,58 ± 0,04	1,08 ± 0,17*
НІР _{0,5}	22,7	0,19	0,72

*Статистично вірогідна різниця порівняно з інокуляцією штамом *V. japonicum* 646.

БАЛАНС ІУК И ЗЕАТИНА В РАСТЕНИЯХ СОИ ПРИ ИНОКУЛЯЦИИ

ТАБЛИЦЯ 2. Накопичення надземної та кореневої маси рослинами сої, інокульованими різними за ефективністю штамми й Tn5-мутантами *V. japonicum*

Варіант	Доба після появи сходів			
	15-та		35-та	
	Надземна маса, г	Маса кореня, г	Надземна маса, г	Маса кореня, г
Контроль (без інокуляції)	3,27 ± 0,23	2,29 ± 0,10	6,34 ± 0,38	6,22 ± 0,53
Інокуляція				
Штам <i>V. japonicum</i> 646	3,15 ± 0,19	2,39 ± 0,07	9,82 ± 1,38*	7,82 ± 0,44
Штам <i>V. japonicum</i> 604к	3,62 ± 0,21	2,54 ± 0,12	6,51 ± 0,47	5,68 ± 0,46
Tn5-мутант 21-2	3,26 ± 0,12	2,05 ± 0,09	9,25 ± 0,34*	5,91 ± 0,58
Tn5-мутант 9-1	3,68 ± 0,06	2,15 ± 0,03*	11,49 ± 0,54*	7,20 ± 0,76
Tn5-мутант 107	3,14 ± 0,26	2,62 ± 0,14	7,42 ± 0,53	5,37 ± 0,62
Tn5-мутант 113	3,49 ± 0,17	2,33 ± 0,20*	7,38 ± 0,32	6,73 ± 0,24
НІР _{0,5}	0,57	0,36	1,30	1,65

*Статистично вірогідна різниця порівняно з контролем.

V. japonicum 604к, хоча маса сформованих за його участю бульбочок була меншою, ніж у варіанті з виробничим штамом *V. japonicum* 646. Tn5-мутанти останнього як високо-, так і малоактивні, за показником маси бульбочок були менш ефективними або на рівні вихідного штаму.

Щодо азотфіксувальної активності соєво-ризобіальних симбіотичних систем встановлено значну перевагу вихідного штаму *V. japonicum* 646 та його активного Tn5-мутанта 21-2 над малоактивними Tn5-мутантами цього штаму 107 і 113 (див. табл. 1). Рослини, інокульовані штамом *V. japonicum* 604к, практично не фіксували атмосферного азоту, хоча мали велику кількість корневих бульбочок.

На 15-ту добу після появи сходів істотних відмін між варіантами досліджу за показником маси рослин сої не зафіксовано, що цілком закономірно в контрольованих вегетаційних умовах за ще несформованого симбіотичного апарату. Ефективність інокуляції сої ризобіями підтверджена на 35-ту добу — надземна маса рослин, інокульованих активним штамом *V. japonicum* 646 та його Tn5-мутантами 9-1 і 21-2, перевищувала контроль на 40—80 % (табл. 2). Водночас різниця за масою коренів залишалась невірогідною.

Дослідженнями зміни фітогормонального балансу рослин сої, інокульованих різними за ефективністю штамми й Tn5-мутантами *V. japonicum*, на ранніх етапах онтогенезу виявлено низку закономірностей (рис. 1, 2).

Так, у коренях рослин сої на 15-ту добу після появи сходів ауксинова активність була в 1,5—2 рази вищою в разі використання активних мутантів 9-1, 21-2 та неактивного штаму 604к (1,79—2,19 мкг/г сирої речовини) порівняно з вихідним штамом *V. japonicum* 646, малоактивними Tn5-мутантами 107 і 113 та варіантом без інокуляції (контроль) (1,01—1,79 мкг/г сирої речовини) (див. рис. 1). На 35-ту добу після появи сходів вміст ІОК у коренях рослин сої збільшувався у всіх дослідних варіантах. Рослини, інокульовані активними мутантами штаму *V. japonicum* 646 9-1 та 21-2, характеризувались найвищим вмістом ауксинів у коренях (відповідно 6,24 і 8,24 мкг/г сирої речовини). Вміст ІОК у ко-

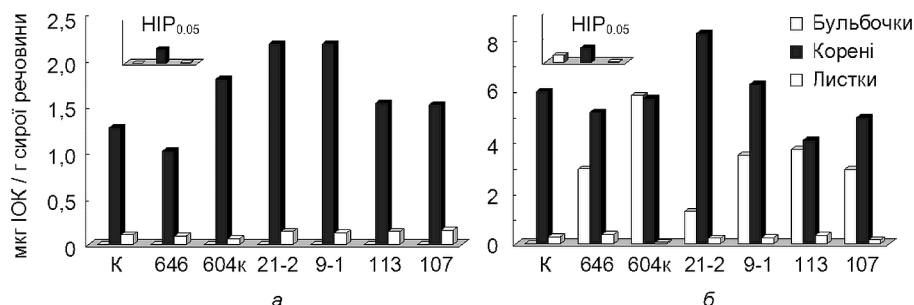


Рис. 1. Вміст ІОК у рослинах сої за інокуляції різними за активністю штаммами і Tn5-мутантами *B. japonicum* на 15-ту (а) та 35-ту (б) добу після появи сходів. Тут і на рис. 2: К — контрольний варіант без інокуляції

ренях рослин, бактеризованих малоактивними мутантами 107 і 113, був на рівні 4,06—4,94 мкг/г сирової речовини, що на 15—30 % менше, ніж у контролі (5,97 мкг/г сирової речовини), а також у варіантах із застосуванням вихідного штаму 646 (5,15 мкг/г сирової речовини) та неактивного штаму 604к (5,69 мкг/г сирової речовини) (див. рис. 1).

На 35-ту добу після появи сходів у корневих бульбочках сої, інокульованих активним штамом *B. japonicum* 646 та його Tn5-мутантами 9-1 і 21-2, вміст ІОК був меншим (1,27—3,47 мкг/г сирової речовини) порівняно з показниками, отриманими за використання неактивного штаму 604к (5,81 мкг/г сирової речовини) й малоактивних Tn5-мутантів 107 і 113 (2,92—3,69 мкг/г сирової речовини). Слід відмітити тісний зворотний зв'язок ($r = -0,79$) між вмістом ІОК і нітрогеназною активністю бульбочок. Визначенням вмісту ІОК у листках рослин сої протягом вегетації не виявлено істотних відмін у всіх досліджуваних варіантах (див. рис. 1, а, б), хоча рослини, інокульовані штамом *B. japonicum* 604к, різнилися найнижчим вмістом ІОК у листках за вищих (на 15-ту добу) або на рівні контролю (на 35-ту добу) значень вмісту ІОК у коренях.

Згідно з літературними даними, інокуляція рослин завжди спричинює гіперпродукцію ауксинів [16, 24]. Це може бути пов'язане з наявністю в коренях на початкових етапах формування симбіозу меристематичних ділянок бульбочок, що розвиваються, а також із синтезом безпосередньо ризобіями індоліл-3-оцтової кислоти, продукування якої сприяє адгезії бактерій на поверхні кореня і викривленню корневих волосків [12, 17]. Однак зв'язок між здатністю окремих штамів бульбочко-

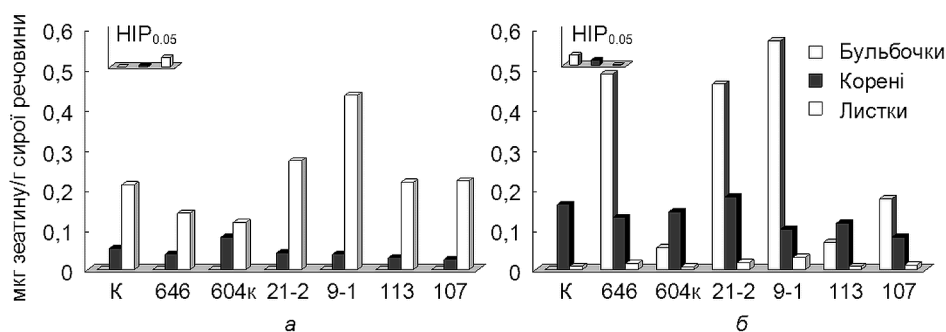


Рис. 2. Вміст зеатину в рослинах сої за інокуляції різними за активністю штаммами і Tn5-мутантами *B. japonicum* на 15-ту (а) та 35-ту (б) добу після появи сходів

вих бактерій синтезувати ІОК та їхньою вірулентністю простежується не завжди [16, 24]. У наших дослідах підвищення вмісту ІОК у коренях відмічено лише у варіантах із застосуванням активних Tn5-мутантів *B. japonicum* 21-2 і 9-1 та неактивного штаму 604к. Водночас інокуляція іншими ризобіями істотно не змінювала пулу ІОК у коренях порівняно з небактеризованими рослинами, а в деяких випадках (у варіантах із застосуванням малоактивних Tn5-мутантів *B. japonicum* 107 і 113) навіть зменшувала цей показник. Гіперпродукцію ауксинів у разі застосування штаму 604к можна пояснити його високою вірулентністю [15], причому (див. рис. 1), на відміну від варіантів із застосуванням штаму *B. japonicum* 646 та його Tn5-мутантів 9-1, 21-2 і 107, які різнилися підвищеним вмістом ІОК у коренях порівняно з бульбочками, у коренях рослин сої, інокульованих штамом 604к, перерозподіл ІОК між коренем і бульбочками не відбувається.

Доведено, що ауксини впливають на симбіотичні взаємовідносини бобових рослин і бульбочкових бактерій не ізольовано, а спільно з іншими фітогормонами, наприклад цитокінінами. Вважають [20, 24], що останні беруть участь у процесі ініціації й росту бульбочок, утворенні поліплоїдних клітин. Встановлено також, що бульбочкові бактерії, особливо високовірулентні штами, активно синтезують цитокініни [12], які разом з ауксинами можуть бути тригерами ендоредуплікації та мітозів у інфікованих клітинах кореня [25]. Водночас літературні дані не дають підстав стверджувати, що між азотфіксуючою активністю кореневих бульбочок і вмістом у них цитокінінів існує залежність. Нез'ясованим залишається питання щодо існування зв'язку між здатністю бактерій до синтезу цитокінінів та їх вірулентністю.

У процесі визначення вмісту цитокінінів (зокрема зеатину) в органах рослин сої, інокульованої різними за активністю штамми та Tn5-мутантами *B. japonicum* (рис. 2), виявили низку закономірностей.

Так, на 15-ту добу після появи сходів у коренях рослин, інокульованих *B. japonicum* 604к, відмічено підвищений (в 1,5 раза) порівняно з контролем рівень зеатину, що, можливо, пов'язано з високою вірулентністю цього штаму. Аналізом вмісту зеатину в коренях інших рослин доведено незначне зниження його рівня у сої, інокульованої штамом *B. japonicum* 646 і активними Tn5-мутантами 21-2 і 9-1, та зменшення його вмісту майже в 1,5 раза у варіантах з інокуляцією малоактивними мутантами *B. japonicum* 107 і 113 (див. рис. 2).

Подібно до ауксинів, цитокініни виявляють атрагувальну дію, підсилюючи транспорт органічних і неорганічних речовин. У результаті в одних органах відбувається гальмування ростових процесів, в інших — активація [7]. За наявності у ґрунті оптимальних доз поживних речовин на 15-ту добу після сходів ми спостерігали підвищення рівнів ауксинів і зеатину в листках у всіх дослідних варіантах і зменшення пулу зеатину в коренях рослин сої за винятком варіанта з використанням штаму *B. japonicum* 604к.

Дослідженням вмісту цитокінінів у листках сої встановлено, що на 15-ту добу після появи сходів у рослин, інокульованих активними Tn5-мутантами 21-2 і 9-1, вміст зеатину був вищим (відповідно в 1,3 і 2 рази) порівняно з іншими варіантами. На 35-ту добу загальний вміст зеатину в листках рослин усіх варіантів знижувався, проте тенденція до збільшеного пулу останнього у рослин, інокульованих активними штамми ризобій, залишалась (див. рис. 2). Це можна пояснити участю ци-

токінінів у регулюванні процесів хлоропластогенезу й фотосинтетичної активності рослин [19]. Аналізом рослин сої, інокульованих неактивним штамом *B. japonicum* 604к, виявлено низький вміст зеатину в її листках порівняно з контролем протягом усіх досліджуваних етапів онтогенезу.

Експериментально встановлено, що в бульбочках інокульованих рослин вміст зеатину збільшений у 3–10 разів (до 0,5 мкг/г сирової речовини) у варіантах із використанням штаму *B. japonicum* 646 та його високоактивних Tn5-мутантів 9-1, 21-2 порівняно з варіантами з інокуляцією рослин сої неактивним штамом *B. japonicum* 604к (0,05 мкг/г сирової речовини), а також Tn5-мутантами *B. japonicum* 113, 107 (відповідно 0,07 і 0,18 мкг/г сирової речовини). Це доводить пряму залежність вмісту цитокінінів у бульбочках рослин від азотфіксувальної активності симбіотичних систем сої зі штамми-інокулянтами ($r = 0,86$) й накопиченням надземної маси ($r = 0,91$).

Отримані результати доповнюють наявні літературні дані щодо змін фітогормонального балансу рослин за їх інокуляції штамми бульбочкових бактерій [12, 17, 18, 25, 28]. Інокуляція сої різними за активністю штамми й Tn5-мутантами *B. japonicum* приводила до змін вмісту ІОК у різних органах рослин протягом усього періоду спостережень. Відмічено чітку залежність між активністю штаму-інокулянта і вмістом зеатину в листках і бульбочках досліджених рослин сої. Результати виконаних експериментів підтверджують перспективність подальших досліджень за істотного збільшення кількості відборів та розширення спектра досліджуваних фітогормонально активних сполук.

1. Андреева И.Н., Козлова Г.И., Мандхан К., Измайлов С.Ф. Структурные особенности различающихся по эффективности азотфиксации клубеньков бобовых // Физиология растений. — 1992. — 39, № 2. — С. 314–324.
2. Біологічний азот / В.П. Патики, С.Я. Коць, В.В. Волкогон та ін. Ред.: В.П. Патики. — К.: Світ, 2003. — 424 с.
3. Волкогон В.В., Наджернична О.В., Ковалевська Т.М. та ін. Мікробні препарати у землеробстві. Теорія і практика. — К.: Аграрна наука, 2006. — 312 с.
4. Волкогон В.В., Сальник В.П. Значення регуляторів росту рослин у формуванні активних азотфіксувальних симбіозів та асоціацій // Физиология и биохимия культ. растений. — 2005. — 37, № 3. — С. 187–197.
5. Генетика симбиотической азотфиксации с основами селекции / Под ред. И.А. Тихоновича, Н.А. Проворова. — СПб.: Наука, 1998. — 194 с.
6. Гродзинский А.М., Гродзинский Д.М. Краткий справочник по физиологии растений. — Киев: Наук. думка, 1973. — 591 с.
7. Дерфлинг К. Гормоны растений. Системный подход: Пер. с нем. Н.С. Гельман / Под ред. В.И. Кефели. — М.: Мир, 1985. — 304 с.
8. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. — М.: Колос, 1979. — 376 с.
9. Коць С.Я., Береговенко С.К., Кириченко Е.В., Мельникова Н.Н. Особенности взаимодействия растений и азотфиксирующих организмов. — Киев: Наук. думка, 2007. — 316 с.
10. Кретович З.Л. Усвоение и метаболизм азота у растений. — М.: Наука, 1987. — 490 с.
11. Маліченко С.М., Даценко В.К., Василюк В.М., Коць С.Я. Транспозоновий мутагенез штаму *Bradyrhizobium japonicum* // Физиология и биохимия культ. растений. — 2007. — 39, № 5. — С. 409–418.
12. Сабельникова В.И. Основные закономерности стимулирующего действия *Rhizobium* на процессы роста бобовых растений и эффективность бактериализации в агроэкологических условиях Молдавской ССР: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — Киев, 1983. — 48 с.
13. Савинский С.В., Драгвозов И.В., Педченко В.К. Определение зеатина, индолил-3-уксусной и абсцизовой кислот из одной растительной пробы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Физиология и биохимия культ. растений. — 1991. — 23, № 6. — С. 606–614.

14. Сытников Д.М., Киризий Д.А., Маличенко С.М., Коць С.Я. Продуктивность симбиоза соя—*Bradyrhizobium japonicum* при модификации активности клубеньковых бактерий экзогенными белками // Физиология растений. — 2007. — **54**, № 3. — С. 416—423.
15. Толкачев Н.З., Дубовенко Е.К., Чечельницкая Л.Н. Неактивный штамм клубеньковых бактерий сои // 9-й Баховский коллоквиум по азотфиксации, посвященный памяти чл.-кор. РАН В.Л. Кретьевича (Пушино, Россия, 24—26 янв 1995). — Пушино: ОНТИ ПНЦ РАН, 1995. — С. 28.
16. Федорова Е.Э., Жизневская Г.Я., Альжаппарова Ж.К., Измайлов С.Ф. Фитогормоны в азотфиксирующих клубеньках бобовых растений // Физиология и биохимия культ. растений. — 1991. — **23**, № 5. — С. 426—438.
17. Федорова Е.Э., Жизневская Г.Я., Калиберная Г.Я. и др. Метаболизм ИУК при установлении симбиоза между *Phaseolus vulgaris* и *Rhizobium phaseoli* // Там же. — 2000. — **47**, № 2. — С. 231—235.
18. Цавкелова Е.А., Климова С.Ю., Чердынцева Т.А., Нетрусов А.И. Микроорганизмы — продуценты стимуляторов роста растений и их практическое применение // Прикл. биохимия и микробиология. — 2006. — **42**, № 2. — С. 133—143.
19. Чернядьев И.И. Фотосинтез и цитокинины // Там же. — 1993. — **29**, № 5. — С. 644—673.
20. Badenoch-Jones J., Rolfe B.G., Letham D.S. Phytohormones, *Rhizobium* mutants, and nodulation in legumes: V. Cytokinin metabolism in effective and ineffective pea root nodules // Plant Physiol. — 1984. — **74**. — P. 239—246.
21. Bauer W.D. Infection of legumes by rhizobia // Annu. Rev. Plant Physiol. — 1981. — **32**. — P. 407—449.
22. Ferguson B.J., Mathesius U. Signaling interactions during nodule development // J. Plant Growth Regul. — 2003. — **22**, N 1. — P. 47—72.
23. 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. — **43**. — P. 1185—1207.
24. Hirsch A.M., Fang Y., Asad S., Kapulnik Y. The role of phytohormones in plant-microbe symbioses // Plant Soil. — 1997. — **194**, N 1—2. — P. 171—184.
25. Libbenga K.R., van Iren F., Bogers R.J., Schraag-Lamers M.F. The role of hormones and gradients in the initiation of cortex proliferation and nodule formation in *Pisum sativum* L. // Planta. — 2000. — **114**, N 1. — P. 29—39.
26. Pawlowski K., Bisseling T. Rhizobial and actinorhizal symbioses: What are the shared features? // Plant Cell. — 1996. — **8**. — P. 1899—1913.
27. Roberts G.P. Genetics and regulation of nitrogen fixation // Annu. Rev. Microbiol. — 1981. — **3**. — P. 207—233.
28. Spaink H.P. Root nodulation and infection factors produced by rhizobial bacteria // Ibid. — 2000. — **54**. — P. 257—288.

Отримано 05.03.2009

БАЛАНС ИУК И ЗЕАТИНА В РАСТЕНИЯХ СОИ ПРИ ИНОКУЛЯЦИИ СЕМЯН РАЗЛИЧНЫМИ ШТАММАМИ И МУТАНТАМИ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*

Н.В. Волкогон, П.Н. Маменко, С.Я. Коць

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

Показано изменение содержания ИУК и зеатина в растениях сои *Glycine max* (L.) Merr. при инокуляции штаммами и Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* с различными симбиотическими характеристиками. Отмечена тесная обратная связь между содержанием ИУК и нитрогеназной активностью клубеньков. Показано, что изменение содержания зеатина в клубеньках прямо зависит от их азотфиксирующей активности и накопления биомассы растениями. Сделан вывод о перспективности изучения роли фитогормонов в процессах биологической фиксации азота при расширении спектра исследуемых соединений, проявляющих фитогормональную активность.

IAA AND ZEATIN BALANCE IN SOYBEAN PLANTS UNDER SEEDS INOCULATION WITH VARIOUS STRAINS AND MUTANTS OF *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*

M.V. Volkogon, P.M. Mamenko, S.Ya. Kots

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasykivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

The changes in IAA and zeatin content in soybean plants *Glycine max* (L.) Merr. under the inoculation with strains and Tn5-mutants of *Bradyrhizobium japonicum* with various symbiotic characteristics were studied. The close reverse relationship between IAA content and nitrogenase activity was revealed. It was shown that changes in zeatin contents in nodules directly depend on their nitrogen fixing activity and accumulation of plants' biomass. The conclusion on perceptiveness of further investigation of plant hormones role in biological nitrogen fixation at broadening of studied phytohormonal substances was made.

Key words: *Glycine max* (L.) Merr., *Bradyrhizobium japonicum*, nitrogen fixation, symbiosis, phytohormones, Tn5-mutants.