

## ФІЗІОЛОГІЯ І БІОХІМІЯ РОСЛИН

УДК 581.1.557:631+577.152.1

### АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ И ПОЛИФЕНОЛОКСИДАЗЫ В КЛУБЕНЬКАХ И КОРНЯХ СОИ, ИНОКУЛИРОВАННОЙ Tn5-МУТАНТАМИ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*

© 2008 г. Е. Д. Кругова, С. Я. Коць,  
Н. М. Мандровская, В. Н. Василюк

*Институт физиологии растений и генетики  
Национальной академии наук Украины  
(Киев, Украина)*

Изучали активность пероксидазы и полифенолоксидазы в симбиотических системах растений сои с Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* разной азотфиксирующей активности и вирулентности. Установлено, что максимальные показатели пероксидазной активности на протяжении вегетационного периода (от 3-х настоящих листьев до полного цветения) характерны для корней в фазе бутонизации, а клубеньков – полного цветения растений. Уровень активности фермента в исследуемых органах зависит, в основном, от азотфиксирующей активности штаммов или мутантов ризобий. Активность полифенолоксидазы в корневых клубеньках сои связана с вирулентностью штаммов или Tn5-мутантов ризобий.

**Ключевые слова:** *Glycine max (L.) Merr., Bradyrhizobium japonicum, Tn5-мутанты, пероксидаза, полифенолоксидаза*

Для симбиоза бобовые растения – клубеньковые бактерии рода *Rhizobium* характерно наличие специфических молекулярных сигналов, которые четко организованы во времени и пространстве в течение органогенеза клубеньков. В частности, взаимодействие симбионтов сопровождается генерацией активных форм кислорода (АФК), образующихся в ходе защитных реакций растения-хозяина при действии биотических и абиотических факторов, а также инфицирования микроорганизмами [16, 17]. Термин АФК включает свободные радикалы – супероксидный анион ( $O_2^-$ ) и гидроксильный радикал ( $OH^-$ ), а также пероксид водорода ( $H_2O_2$ ) и синглетный кислород ( $^1O_2$ ). АФК в растениях образуются в основном в процессах дыхания, фотосинтеза и фиксации молекулярного азота. Реальная угроза супероксидного ра-

дикала и  $H_2O_2$  состоит в их способности действовать как предшественники гидроксилрадикала, который окисляет аминокислотные остатки белков, жирные кислоты фосфолипидов и ДНК [11].

В результате комплексного и непрерывного молекулярного взаимодействия между ризобиями и бобовым растением в течение жизни клубенька образуются большие количества АФК, как результат защитных реакций растения-хозяина при окислении фенолов пероксидазой и полифенолоксидазой. Наиболее вероятно, что ранняя продукция  $H_2O_2$  – часть «окислительного взрыва» [14], но на более поздних стадиях формирования клубеньков усиленное образование  $H_2O_2$  может быть связано также с формированием клеточной оболочки и «сшиванием» гликопротеинов [18].

В последние годы активно обсуждается возможность участия окислительно-восстановительных ферментов в регуляторных

## АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ И ПОЛИФЕНОЛОКСИДАЗЫ

процессах, а именно в передаче сигналов, обеспечивающих формирование ответа растительной клетки на действие биотических и абиотических факторов. Присущая ризобиям способность угнетать индукцию соответствующих реакций у гомологичных хозяев может быть обусловлена их потенциальными симбиотическими свойствами, такими как активность, вирулентность и конкурентоспособность, которые реализуются как при возникновении симбиоза, так и в процессе его функционирования. Изучение особенностей этих реакций в симбиотических системах, образованных ризобиями с различными свойствами, стало возможным благодаря наличию коллекции мутантов *Bradyrhizobium japonicum*, полученных методом Tn5-мутагенеза. Исследуемые мутанты имеют широкий спектр культурально-морфологических признаков и физиолого-биохимических свойств [5], в связи с чем они способны образовывать с растениями сои симбиоз различной эффективности [2].

В связи с этим целью нашей работы было изучение уровня активности окислительно-восстановительных ферментов – пероксидазы и полифенолоксидазы – в симбиотических системах растений сои с Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* различной активности и вирулентности, а также выявление связи между активностью этих ферментов и азотфиксирующей активностью и нодуляционной способностью ризобий.

### МЕТОДИКА

Объектами исследования были разные по эффективности симбиотические системы, образованные при участии растений сои (*Glycine max* (L.) Merr.) сорта Марьяна и Tn5-мутантов *Bradyrhizobium japonicum* 646 с различной вирулентностью и азотфиксирующей активностью, полученных в Институте физиологии растений и генетики НАН Украины [5] методом транспозонового мутагенеза с использованием плазмиды pSUP2021. Контролем служили растения, инокулированные штаммом *B. japonicum* 646. В качестве стандарта использовали производственный штамм 6346. Семена сои перед посевом стерилизовали 15 мин 70%-ным раствором этилового спирта и промывали проточной водой. Инокуляцию семян проводили суспензией бактерий в концентрации  $10^8$  клеток/мл.

Растения выращивали в условиях вегетационного опыта в 13-килограммовых сосудах Вагнера. Субстрат выращивания – промытый

речной песок, обогащенный питательным раствором Гельригеля (0,25 нормы азота). Растения выращивали при влажности субстрата 60 % и естественном освещении.

Азотфиксирующую активность определяли ацетиленовым методом [12] на газовом хроматографе Chromatograph – 504 (Польша) и выражали в микромолях этилена, образованного клубеньками одного растения за 1 ч.

Пероксидазную активность определяли, используя в качестве восстановителя пероксида водорода гваякол [2]. Активность фермента выражали в микромолях окисленного гваякола за 1 мин на 1 г сырой ткани.

Полифенолоксидазную активность определяли с пирокатехином [8]. Активность фермента выражали в микромолях окисленной за 1 мин аскорбиновой кислоты на 1 г сырого вещества.

Определения проводили в 4 – 8 кратных биологических повторностях. В таблицах представлены средние арифметические значения и их стандартные ошибки.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В опытах использовали штаммы и Tn5-мутанты *B. japonicum*, основные симбиотические характеристики которых – азотфиксирующая активность и вирулентность (нодуляционная активность) – представлены в табл. 1 и 2.

По вирулентности – способности клубеньковых бактерий проникать в ткань корня, размножаться там и вызывать образование клубеньков [6], исследуемые штаммы и Tn5-мутанты ризобий были сгруппированы как высоковирулентные – 6346, 646, 21-2, 107, 113, средневирулентные – 9-1, 17-2, 35-2 и низковирулентные – 118-8. Штаммы и транспозоновые мутанты ризобий, как истинно вирулентные культуры, обладали нодуляционной активностью – способностью формировать настоящие клубеньки.

Исследуемые штаммы и Tn5-мутанты клубеньковых бактерий, обладающие высокой вирулентностью, отличались по своей способности ассимилировать молекулярный азот в симбиозе с растением. Образуя клубеньки, некоторые из них активно фиксировали азот, у других эта функция была выражена слабее. Так, в группу с высокой азотфиксирующей активностью попали штаммы 6346 и 646, а также мутанты 21-2, 9-1 и 17-2, два из которых – 9-1 и

Таблица 1

Характеристика штаммов и Tn5-мутантов *Bradyrhizobium japonicum* по симбиотическим свойствам

Вариант	Азотфиксирующая активность			Вирулентность		
	высокая	средняя	низкая	высокая	средняя	низкая
Штамм <i>B. japonicum</i>						
6346	+			+		
646	+			+		
Tn5-мутант <i>B. japonicum</i>						
21-2	+			+		
9-1	+				+	
17-2	+				+	
107			+	+		
113			+	+		
35-2		+			+	
118-8			+			+

Таблица 2

Динамика общей азотфиксирующей активности корневых клубеньков сои (мкмоль C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/(растение · ч)), инокулированной Tn5-мутантами *B. japonicum* 646

Вариант	Фаза развития		
	Три настоящих листа	Бутонизация	Цветение
Штамм <i>B. japonicum</i>			
6346	8,34 ± 1,08	37,77 ± 3,66	44,75 ± 4,39
646	6,38 ± 0,62	40,11 ± 2,28	38,84 ± 2,35
Tn5-мутант <i>B. japonicum</i>			
21-2	9,64 ± 0,88	49,05 ± 3,75	36,72 ± 3,06
9-1	8,69 ± 0,66	34,59 ± 3,26	62,86 ± 5,56
17-2	12,33 ± 1,11	29,59 ± 2,26	48,20 ± 4,77
107	0,67 ± 0,08	5,00 ± 0,48	9,37 ± 0,84
113	0,19 ± 0,01	1,06 ± 0,10	7,18 ± 0,70
35-2	1,52 ± 0,25	15,32 ± 1,31	32,88 ± 2,94
118-8	0,04 ± 0,00	0,30 ± 0,03	4,11 ± 0,33

17-2 имели средние показатели по вирулентности. В группе с низкой азотфиксирующей активностью – мутанты 107, 113 и 118-8, из которых только один мутант – 118-8 был низковирулентным, а два других отнесены к высоковирулентным (табл. 2).

Основные результаты определения пероксидазной активности в симбиотических системах сои – Tn5-мутанты *B. japonicum* представлены в табл. 3 и 4. Следует отметить, что активность фермента в корнях и корневых клубеньках сои за вегетационный период растений (от фазы 3-х настоящих листьев до фазы полного цветения) имела стабильно высокий уровень. Максимальные показатели пероксидазной активности корней наблюдали преимущественно в фазе бутонизации, а клубеньков – в фазе полного цветения растений. Повышенный уровень пероксидазной активности имели растения,

бактеризованные ризобиями с высокой азотфиксирующей активностью: 21-2, 9-1, 17-2.

В корнях инокулированных растений сои выявлена зависимость величины пероксидазной активности от азотфиксирующей активности микросимбионтов. Так, корни растений, бактеризованных Tn5-мутантами клубеньковых бактерий с высокой азотфиксирующей активностью (21-2, 9-1, 17-2) отличались также и повышенным уровнем активности пероксидазы в течение всего вегетационного периода по сравнению с растениями, инокулированными транспозоновыми мутантами со средней (35-2) и низкой (107, 113, 118-8) активностью нитрогеназы.

Уровень активности пероксидазы в корневых клубеньках, как и в корнях, изменялся в зависимости от азотфиксирующей активности штамма (6346, 646) или мутантов ризобий,

**АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ И ПОЛИФЕНОЛОКСИДАЗЫ**

**Таблица 3**  
**Динамика пероксидазной активности (ПА) в корнях растений сои, инокулированной клубеньковыми бактериями разной активностью (мкмоль гваякола/(г сырого вещества · мин))**

Вариант	Фаза развития							
	Три настоящих листа		Бутонизация		Цветение			
	ПА	% к исходному штамму	ПА	% к исходному штамму	ПА	% к исходному штамму	ПА	% к исходному штамму
6346	86,0 ± 7,0	108	126,5 ± 11,0	125	119,7 ± 10,3	125		
646	79,3 ± 4,2	100	101,2 ± 10,0	100	96,1 ± 8,3	100		
21-2	80,2 ± 6,0	101	104,6 ± 9,1	103	123,2 ± 11,3	128		
9-1	84,3 ± 7,1	106	114,7 ± 10,4	113	102,9 ± 8,3	107		
17-2	128,2 ± 9,7	162	145,0 ± 12,6	143	143,4 ± 11,8	149		
107	70,3 ± 6,0	89	91,0 ± 7,9	90	92,7 ± 7,7	96		
113	65,2 ± 3,8	82	86,9 ± 8,3	86	83,5 ± 8,2	87		
35-2	72,6 ± 6,1	92	99,5 ± 8,3	98	96,8 ± 5,7	100		
118-8	64,3 ± 6,7	81	91,07 ± 7,4	90	77,6 ± 6,0	81		

Таблица 4

Пероксидазная активность в корневых клубеньках сон, инокулированной ризобиями различной активности (мкмоль гваякола/(г сырого вещества · мин))

Вариант	Фаза развития											
	Три настоящих листа		Бутонизация		Цветение		Три настоящих листа		Бутонизация		Цветение	
	ПА	% к исходному штамму	ПА	% к исходному штамму	ПА	% к исходному штамму	ПА	% к исходному штамму	ПА	% к исходному штамму	ПА	% к исходному штамму
6346	108,0 ± 8,0	131	109,7 ± 9,0	108	128,2 ± 11,2	89						
646	82,6 ± 6,1	100	101,0 ± 5,8	100	143,3 ± 11,2	100						
21-2	98,1 ± 7,8	119	114,6 ± 9,3	113	163,6 ± 10,0	114						
9-1	101,2 ± 9,1	123	108,0 ± 6,0	107	156,5 ± 11,1	108						
17-2	118,5 ± 8,4	143	115,0 ± 9,8	114	162,6 ± 11,2	113						
107	93,7 ± 7,3	113	108,0 ± 8,7	107	143,7 ± 12,3	100						
113	85,4 ± 6,3	103	97,1 ± 6,1	96	116,5 ± 9,8	81						
35-2	94,7 ± 6,7	115	101,0 ± 6,9	100	142,1 ± 11,3	99						
118-8	76,8 ± 6,9	93	94,4 ± 8,1	93	110,3 ± 10,0	77						

КРУГОВА и др.

## АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ И ПОЛИФЕНОЛОКСИДАЗЫ

которыми они образованы (табл. 4). Следует отметить, что мутант 107, отобранный по результатам микровегетационного опыта как малоактивный, но высоковирулентный, в вегетационных опытах проявил себя как среднеактивный. При этом его корневые клубеньки отличались высокой пероксидазной активностью в течение всего периода вегетации растений. Согласно данным Акимовой и соавт. [1], инокулированные бобовые растения имеют более высокий уровень пероксидазной активности по сравнению с неинокулированными, что может быть одним из механизмов саморегуляции процесса нодуляции.

На основании данных литературы, можно полагать, что высокий уровень пероксидазной активности у сои, инокулированной штаммами и Tn5-мутантами *B. japonicum* с повышенной азотфиксирующей активностью, свидетельствует о возможном изменении фитогормонального баланса симбиотической системы. Известно, что в ответ на инфицирование в клубеньке изменяется соотношение между ауксинами и цитокининами в сторону увеличения количества ауксинов [9]. Перераспределение фитогормонального баланса бобового растения, инокулированного ризобиями, влияет на его ростовые процессы. Дополнительным подтверждением особой роли пероксидазы в метаболизме растений является ее способность осуществлять не только окислительную деградацию ауксина, но и участвовать в ряде других реакций: процессах фотосинтеза, катаболизме фенольных соединений (окислении флавоноидов), лигнификации клеточных стенок, а также общих процессах биологического окисления [3, 4].

Фенольные соединения регулируют процесс образования клубеньков, вызывают хемотаксис и экспрессию генов нодуляции у ризобий на стадии преинфекции. Имеются сведения, что фенольные соединения выступают в роли сигнальных веществ или индукторов генов вирулентности в момент взаимодействия микро- и макросимбионтов. При изучении химической природы сигнальных веществ или индукторов Nod-генов, которые выделяются корнями растения-хозяина, была установлена их флавоноидная природа, что и показано на примере нескольких пар симбионтов. Для пары *Glycine max* (L.) Merr. – *Bradyrhizobium japonicum* индукторами являются изофлавоны – дадзеин и генестеин [13]. Окисление флавоноидов *in planta* катализируется в основном полифенолоксидазами (катехолоксидазами и лакказами) и пероксидазами. Активности данных

ферментов индуцируются как в течение вегетации растений, так и под действием стрессов окружающей среды, в частности, инфицирования микроорганизмами – так называемые «патогенные атаки». Состав фенольных соединений и их количество в растении от момента инфицирования бобовых, образования клубенька и до их старения существенно изменяется.

В опытах с соей было установлено, что в процессе вегетации происходит накопление в тканях фенольных соединений, которые достигают максимального значения в фазе бутонизации растений [7]. Согласно нашим данным, в корневых клубеньках растений сои, бактеризованных разными по азотфиксирующей активности транспозоновыми мутантами, уровень активности полифенолоксидазы в основном (кроме низковирулентного мутанта 118-8) повышается к фазе бутонизации (табл. 5). Эти данные свидетельствуют об участии фенольных соединений как в процессах общего метаболизма растений в целом, так и в связанных с азотфиксацией, в частности.

Сравнения уровня активности полифенолоксидазы в корневых клубеньках, образованных разными по активности и вирулентности штаммами и Tn5-мутантами клубеньковых бактерий, свидетельствует о возможной связи активности этого фермента со свойством вирулентности ризобий. Так, высоковирулентные штаммы 6346, 646 и мутанты 21-2, 9-1, 107 имели повышенную активность полифенолоксидазы по сравнению с ее уровнем в клубеньках, образованных средневирулентными мутантами 9-1, 17-2, 35-2 (табл. 5). Полифенолоксидаза в корневых клубеньках сои, образованных неактивным, низковирулентным мутантом 118-8, имела самый низкий уровень ферментативной активности.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о важной роли фенольных соединений в бобово-ризобальном симбиозе, поскольку они не только индуцируют возникновение симбиоза как сигналы – посредники при действии Nod-факторов на перераспределение ауксина, контролируя таким образом образование клубеньков, но и остаются регуляторами физиологического состояния симбиотической системы как на стадиях активной азотфиксации, так и старения клубеньков [15].

Наличие высокого уровня полифенолоксидазной активности в азотфиксирующих клубеньках, отмеченное в наших опытах, служит подтверждением предположения о сходстве

Таблица 5

Полифенолоксидазная активность (ПФА) корневых клубеньков сои, инокулированной ризобиями разной активности (мкмоль окисленной аскорбиновой кислоты/(г сырого вещества · мин))

Вариант	Фаза развития							
	Три настоящих листа		Бутонизация		Цветение			
	ПФА	% к исходному штамму	ПФА	% к исходному штамму	ПФА	% к исходному штамму	ПФА	% к исходному штамму
6346	82,5 ± 6,1	106	Штамм <i>B. Jarovisic</i>		67,5 ± 5,4	93		
646	77,5 ± 5,3	100	97,5 ± 8,6	126	72,5 ± 6,8	100		
21-2	67,3 ± 5,1	87	85,0 ± 7,3	100				
9-1	60,0 ± 4,8	77	Тп5-мутант <i>B. Jarovisic</i>		65,0 ± 4,3	90		
17-2	50,0 ± 3,4	65	90,0 ± 8,4	116	35,0 ± 1,6	48		
107	72,5 ± 6,1	94	80,0 ± 8,1	94	27,5 ± 1,3	38		
113	62,5 ± 5,8	81	70,0 ± 6,3	82	70,0 ± 6,3	97		
35-2	45,0 ± 3,7	58	82,5 ± 7,1	97	67,5 ± 3,7	93		
118-8	30,0 ± 2,9	39	77,5 ± 6,2	91	32,5 ± 1,4	45		
			67,5 ± 5,3	79	17,5 ± 0,9	24		
			22,5 ± 2,2	26				

## АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ И ПОЛИФЕНОЛОКСИДАЗЫ

некоторых реакций – ответов растений на инфицирование патогенными микроорганизмами и инокуляцию ризобиями [10]. Однако в клубеньках результатом этих реакций является не инактивация микроорганизма, как это происходит в случае с патогенами, а регуляция его размножения и метаболической активности в симбиосамах.

Таким образом, проведенные нами исследования уровня активности окислительно-восстановительных ферментов растений сои с новыми мутантами клубеньковых бактерий, полученными методом транспозонного мутагенеза, позволяют полагать наличие зависимости пероксидазной активности корней и клубеньков от азотфиксирующей активности микросимбионта, тогда как для полифенолоксидазной активности корневых клубеньков таким связующим фактором выступает свойство вирулентности ризобий.

### ЛИТЕРАТУРА

1. *Акимова Г.П., Соколова М.Г., Нечаева Л.В. и др.* Роль ИУК и пероксидазы в инфицировании ризобиями растений гороха с разной степенью нодуляции // Физиология и биохимия культ. растений. – 2005. – Т. 37, № 1. – С. 58-65.
2. *Василюк В.М., Кругова О.Д., Мандровська Н.М., Коць С.Я.* Активність пероксидази і каталази у сої, інокульованої Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* // Физиология и биохимия культ. растений. – 2007. – Т. 39, № 4. – С. 334-342.
3. *Гуськов А.В.* Метаболизм ауксинов в растениях и его регуляция // Итоги науки и техники. Сер. Физиология растений. – М.: ВИНТИ. – 1991. – Т. 8. – 151 с.
4. *Карташова Е.Р., Руденская Г.Н., Юрина Е.В.* Полифункциональность растительных пероксидаз и их практическое использование // С.-х. биология. – 2000. – № 5. – С. 63-70.
5. *Маліченко С.М., Даценко В.К., Василюк В.М., Коць С.Я.* Транспозоновий мутагенез штамів *Bradyrhizobium japonicum* // Физиология и биохимия культ. растений. – 2007. – Т. 39, № 5. – С. 409-418.
6. *Мишустин Е.Н., Шильникова В.К.* Клубеньковые бактерии и инокуляционный процесс. – М.: Наука, 1973. – 288 с.
7. *Новикова Т.И., Сидорова К.К.* Исследование фенольного состава сортов и мутантных линий гороха, различающихся по симбиотической активности // Сибирский экол. журнал. – 2003. – № 1. – С. 101-106.
8. *Починок Х.Н.* Методы биохимического анализа растений. – Киев: Наук. думка, 1976. – 334 с.
9. *Федорова Е.Э., Альжаппарова Ж.К., Жизневская Г.Я. и др.* Фитогормоны в корневых клубеньках сои // Физиология растений. – 1992. – Т. 39, № 2, С. 224-230.
10. *Bartser A., Kobayashi H., Broughton W.L.* Rhizobial signals convert pathogens to symbionts at the legume interface. In *Plant Microbiology* / Ed. by M. Gillings, A. Holmes. Abingdon: Garland Science / BIOS Scientific Publishers, 2001. – P. 19-31.
11. *Hallivell B., Gutteridge J.M.C.* Free radicals in biology and medicine. – Oxford: Oxford University Press, 1999. – P. 37-44.
12. *Hardy R.W.F., Holsten R.D., Jackson E.K., Burns R.C.* The acetylene-ethylene assay for N<sub>2</sub>-fixation: laboratory and field evaluation // *Plant Physiol.* – 1968. – V. 43, N 8. – P. 1185-1207.
13. *Kosslak R., Bookland R., Burbakei H., Epaaeren E.* Appelbaum induction of *Bradyrhizobium japonicum* common nodulation genes by isoflavones isolated from *Glycine max* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1987. – V. 82. – P. 7428-7432.
14. *Lamb C., Dixon R.A.* The oxidative burst in plant disease resistance // *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1997. – V. 48. – P. 251 – 257.
15. *Pourcel L., Routaboul J.M., Cheynier R. et al.* Flavanoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions // *Trends Plant Sci.* – 2007. – V. 12, N 1. – P. 29-36.
16. *Ramu S.K., Peng H.M., Cook D.R.* Nod factor induction of reactive oxygen species production is correlated with expression of the early nodulin gene rip 1 in *Medicago truncatula* // *Mol. Plant – Microbe Interact.* – 2002. – V. 15. – P. 522-528.
17. *Santos R., Herouard D., Sigaud S. et al.* Oxidative burst in alfalfa – *Shinorhizobium meliloti* symbiotic interaction // *Mol. Plant – Microbe Interact.* – 2001. – V. 14. – P. 86-89.
18. *Wisniewski J.P., Rathbun E.A., Knox J.P., Brewin N.J.* Involvement of diamine oxidase and peroxidase in solubilization of the extracellular matrix: implications for pea nodule initiation by *Rhizobium leguminosarum* // *Mol. Plant – Microbe Interact.* – 2000. – V. 13. – P. 413-420.

Поступила в редакцию  
06.02.2008 г.

**КРУГОВА и др.**

**PEROXIDASE AND POLYPHENOL OXIDASE ACTIVITY IN SOYBEAN  
NODULES AND ROOTS, INOCULATED BY Tn5-MUTANTS  
OF *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM***

O. D. Krugova, S. Ya. Kots, N. M. Mandrovska, V. M. Vasyliuk

*Institute of Plant Physiology and Genetics  
National Academy of Sciences of Ukraine  
(Kyiv, Ukraine)*

The activity of peroxidase and polyphenoloxidase in the symbiotic systems formed by soybean plants and Tn5-mutants of *Bradyrhizobium japonicum* with different nitrogen activity and virulence were studied. It was established maximum indexes of peroxidase activity during vegetative period (starting from 3 real leaves to full blossom) were observed in the roots at budding, and the nodules – at blossom. The level of enzyme activity in the investigated organs, mainly, was depended on nitrogen activity of the strains or mutants of rhizobia. The polyphenoloxidase activity in the roots nodules of the soybean depended on virulence of the strains or Tn5-mutants of rhizobia.

**Key words:** *Glycine max (L.) Merr., Bradyrhizobium japonicum, Tn5-mutants, peroxidase, polyphenoloxidase*

**АКТИВНІСТЬ ПЕРОКСИДАЗИ І ПОЛІФЕНОЛОКСИДАЗИ  
В БУЛЬБОЧКАХ І КОРЕНЯХ СОЇ, ІНОКУЛЬОВАННОЇ  
Tn5-МУТАНТАМИ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM***

О. Д. Кругова, С. Я. Коць, Н. М. Мандровська, В. М. Василюк

*Інститут фізіології рослин і генетики  
Національної академії наук України  
(Київ, Україна)*

Вивчали активність пероксидази і поліфенолоксидази в симбіотичних системах рослин сої з Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* різної азотфіксуючої активності та вірулентності. Встановлено, що максимальні показники пероксидазної активності протягом вегетаційного періоду (від 3-х справжніх листків до повного цвітіння) характерні для коренів у фазі бутонізації, а бульбочок – повного цвітіння рослин. Рівень активності ферменту в досліджуваних органах залежить, в основному, від азотфіксуючої активності штамів або мутантів ризобій. Активність поліфенолоксидази у корневих бульбочках сої пов'язана з вірулентністю штамів або Tn5-мутантів ризобій.

**Ключові слова:** *Glycine max (L.) Merr., Bradyrhizobium japonicum, Tn5-мутанти, пероксидаза, поліфенолоксидаза*