

10. Morita T., Konishi M., Fukuoka T. et al. Microbial conversion of glycerol into glycolipid biosurfactants, mannosylerythritol lipids, by a basidiomycete yeast, *Pseudozyma antarctica* JCM 10317^T // J. Biosci. Bioeng. – 2007. – **104**, N 1. – P. 78–81.
11. Pal M.P., Vaidya B.K., Desai K.M. et al. Media optimization for biosurfactant production by *Rhodococcus erythropolis* MTCC 2794: artificial intelligence versus a statistical approach // J. Ind. Microbiol. Biotechnol. – 2009. – **36**, N 5. – P. 747–756.
12. Pirog T.P., Antonuk S.I., Karpenko Y.V., Shevchuk T.A. The influence of conditions of *Acinetobacter calcoaceticus* K-4 strain cultivation on surface-active substances synthesis // Appl. Biochem. Microbiol. – 2009. – **45**, N 3. P. 272–278.
13. Pirog T.P., Shevchuk T.A., Klimentko Yu. A. Intensification of surfactant synthesis in *Rhodococcus erythropolis* EK-1 cultivated on hexadecane // Appl. Biochem. and Microbiol. – 2010. – **46**, N 6. – P. 599–606.
14. Rooney A.P., Price N.P.J., Ray K.J., Kuo T.M. Isolation and characterization of rhamnolipid-producing bacterial strain from a biodiesel facility // FEMS Microbiol. Lett. – 2009. – **295**, N 1. – P. 82–87.
15. Rywinska A., Rymowicz W. High-yield production of citric acid by *Yarrowia lipolytica* on glycerol in repeated-batch bioreactors // J. Ind. Microbiol. Biotechnol. – 2010. – **37**, N 5. – P. 431–435.
16. Silva S.N.R.L., Farias C.B.B., Rufino R.D. et al. Glycerol as substrate for the production of biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa* UCP0992 // Colloids Surf. B: Biointerfaces. – 2010. – **79**, N 1. – P. 174–183.
17. Yazdani S., Gonzalez R. Anaerobic fermentation of glycerol: a path to economic viability for the biofuels industry // Curr. Opin. Biotechnol. – 2007. – **18**, N 3. – P. 213–219.
18. Yu K.O., Kim S.W., Han S.W. Reduction of glycerol production to improve ethanol yield in an engineered *Saccharomyces cerevisiae* using glycerol as a substrate // J. Bacteriol. – 2010. – **150**, N 2. – P. 209–214.
19. Zhu Y., Li J., Tan M. et al. Optimization and scale-up of propionic acid production by propionic-tolerant *Propionibacterium acidipropionici* with glycerol as the carbon source // Biore. Technol. – 2010. – **101**, N 22. – P. 8902–8906.

Отримано 16.11.2010

УДК 579.841.11.114

Р.В. Грицай, О.С. Броварська, Л.Д. Варбанець

*Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ ГСП, Д03680, Україна*

ВПЛИВ ТЕМПЕРАТУРИ КУЛЬТИВУВАННЯ НА СКЛАД ЛІПОПОЛІСАХАРИДІВ *RALSTONIA SOLANACEARUM*

Залежно від температури культивування *Ralstonia solanacearum* ICMP758 і ICMP749 в їхніх ліпополісахаридах (ЛПС) виявлено помітну відмінність хімічного складу. *R. solanacearum* ICMP758 раси 3, біовар 3, що походить із тропічного регіону, виявив помірні кількісні флуктуації компонентів ліпополісахариду в діапазоні досліджуваних температур. *R. solanacearum* ICMP749, що є представником адаптованої до помірного клімату раси 3, біовару 2, продемонстрував значні зміни в композиції ЛПС за температури 37 °С. Він характеризувався відсутністю рамнози, арабінози та ксилози, що є притаманними для О-специфічного полісахариду ЛПС більшості досліджених штабів *R. solanacearum*, а також втрачав 3-гідрокситетрадеканову кислоту, але появою ряду інших жирних кислот. Одночасне зростання відносного вмісту типових корових моносахаридів (глюкози, манози, глюкозаміну), дає можливість припустити утворення R-форми ЛПС під впливом підвищення температури культивування.

Ключові слова: *Ralstonia solanacearum*, температура вирощування, ліпополісахариди, склад.

Один із найбільш небезпечних патогенів рослин – *Ralstonia solanacearum* характеризується широкими адаптивними властивостями. Частково це обумовлено складною структурою представників виду, який, згідно з фенотиповою класифікацією, утворений п'ятьма расами та п'ятьма біотипами. Однак представники раси 3 біотипу 2, що походять із передгірних районів Анд і характеризуються пристосуваннями до умов субтропічного клімату, змогли поширитись територією Європи, в природних умовах, на північ аж до скандинавських країн [10]. Подолання основної перешкоди на цьому шляху – температурного фактору, пов'язане із рядом модифікацій фізіолого-біохімічних властивостей патогену, ключові з яких спрямовані на забезпечення функціонального гомеостазу клітинних мембран.

© Р.В. Грицай, О.С. Броварська, Л.Д. Варбанець, 2011

Специфічними макромолекулами грамнегативних бактерій, що беруть участь в реалізації бар'єрної, регуляторної та захисної функцій зовнішньої клітинної мембрани є ліпополісахариди (ЛПС). Доведеною є залежність між хімічною структурою даних глікополімерів та стійкістю їхніх носіїв до катіонних антимікробних сполук [5]. Показана здатність очищених ЛПС викликати симптоми ураження при інокуванні листків вразливих рослин та залежність інтенсивності реакції гіперчутливості від вуглеводного складу О-специфічного полісахариду (ОПС), свідчать на користь участі ліпополісахаридів в процесі міжклітинної взаємодії патоген-хазяїн [14]. З іншого боку структура ЛПС підпорядковується участі в стабілізації структури зовнішньої клітинної мембрани, як основного її компоненту. Це реалізується через хімічні зв'язки із мембранними протеїнами (ліпополісахарид-білковий комплекс) та залученням жирних кислот ліпиду А у визначенні фізико-хімічного стану ліпідного бішару.

Як було показано на прикладі представників родів *Pseudomonas* [12] та деяких інших, при зниженні температури середовища спостерігається подовження ланцюга ОПС, а верхні порогові температури можуть призводити до виникнення R-форм. В плані модифікацій жирнокислотного складу, поширеною серед мезофільних бактерій є збільшення частки гідроксильованих ацильних залишків ліпиду А при зниженні температури культивування [13]. За тих же умов, для ентеробактерій характерною є заміна додеканової кислоти пальмітолеїновою (цис-9-гексадеценовою), що обумовлене експресією гену *lpxP* [19].

Вивчення впливу факторів зовнішнього середовища на хімічний склад ліпополісахаридів *R. solanacearum*, чому присвячена дана робота, раніше не проводилось.

Матеріали і методи. Об'єктом дослідження слугували штами *Ralstonia solanacearum* 749 (біовар 2) та 758 (біовар 3), ізолювані з картоплі та томатів, відповідно. Культуру бактерій вирощували в колбах на качалках (240 об./хв.) протягом 48 год на синтетичному середовищі [18], за температури 28 °C та 37 °C.

Ліпополісахариди виділяли водно-фенольним методом Вестфалія і Янна [2]. Очищення препаратів ЛПС проводили ультрацентрифугованням (105 000 g, 4 год) та осадженням ТХУ. Визначення вмісту вуглеводів здійснювали методом Dubois [7], нуклеїнових кислот методом Спіріна [3], білку – методом Лоурі [15], 2-кето-3-дезоксикетонної кислоти – тіобарбітуровим методом, глюкозаміну – з використанням оцтового ангідриду [1].

Ідентифікацію нейтральних моносахаридів проводили після гідролізу препаратів у 2 н розчині HCL протягом 5 год при 100 °C. Підготовку зразків до аналізу, яке полягало у переведення моносахаридів у форму ацетатів поліолів, здійснювали за методом Albersheim [4]. Аналізували на хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973 inert, колонка DB-225 mS 30m × 0,25mm × 0,25µm, газ носій – гелій, потік через колонку 1 мл/хв. Температура випаровувача – 250 °C, інтерфейсу – 280 °C, термостата – 220 °C (режим ізотермічний). Пробу вводили з діленням потоку 1:100. Ідентифікацію моносахаридів проводили шляхом порівняння часу утримання ацетатів поліолів стандартних і досліджуваних зразків, а також з використанням комп'ютерної бази даних ChemStation. Кількісне співвідношення окремих моносахаридів визначали у відсотках від суми площ піків моносахаридів.

Для визначення жирнокислотного складу препарати гідролізували в 1,5 % розчині хлористого ацетилю в метанолі (попередньо охолодженому) при температурі 100 °C в запаяних ампулах протягом 4 год. Метиллові ефіри жирних кислот екстрагували тричі гексаном (по 3 мл). Фракцію н-гексану відбирали і висушували на вакуумному випаровувачі. Аналіз отриманих метилових ефірів жирних кислот проводили на хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973 inert. Колонка HP-5MS, довжина 30 м, внутрішній діаметр 0,25 мм, товщина фази 0,25 µm. Температурний режим 150-250 °C, градієнт температури 4 °C/хв, газ-носієй – гелій, швидкість потоку через колонку 1,2 мл/хв. Ділення потоку 1:100. Обробку результатів проводили з використанням комп'ютерної бази даних та стандартної суміші метилових ефірів жирних кислот (виробник Supelco, США).

Результати та їх обговорення. Досліджувані бактерії відрізнялися виходом ЛПС, причому *R. solanacearum* 749 характеризувався зменшенням вмісту препарату на порядок за температури культивування 37 °C, тоді як для *R. solanacearum* 758 даний показник зменшувався майже в два рази. Загальною тенденцією було зменшення вмісту вуглеводів при підвищенні температури культивування (табл. 1).

Хімічна характеристика ЛПС *R. solanacearum* (% до сухої маси препарату)

ЛПС	Вихід препарату:		Вуглеводи, %	Білок, %	Нуклеїнові к-ти, %
	мг	%			
749 (28 °C)	400	2,3	50	сл.	2,3
749 (37 °C)	14	0,23	40	сл.	3,0
758 (28 °C)	275	4,4	60	сл.	4,3
758 (37 °C)	187	2,3	34	сл.	4,3

Примітка: «сл.» – слідові кількості

В ЛПС *R. solanacearum* 749, вирощеного за оптимальних умов, домінуючим моносахаридом була рамноза (табл. 2), що є притаманним для О-специфічних полісахаридів (ОПС) ЛПС більшості штамів цього виду. В той час як ЛПС, ізольований з культури, вирощеної за підвищеної температури 37 °C, характеризувався майже повною відсутністю рамнози (0,2 %), а домінуючим моносахаридом була глюкоза. Оскільки відомо, що при підвищенні температури росту в ЛПС скорочується кількість і довжина ОПС, то можна припустити, що при 37 °C синтезувався ЛПС, який знаходиться в *R. solanacearum* 749 в R-формі. Одночасне зростання відносного вмісту типових для олігосахаридів кору моносахаридів (глюкози, манози та глюкозаміна) підтверджує це припущення. Це узгоджується із даними літератури стосовно інших грамнегативних бактерій [11, 12], однак для *R. solanacearum*, описується нами вперше. Неможливість виявити в складі ЛПС *R. solanacearum* 749 КДО тіобарбітуровим методом може вказувати на нетипову конфігурацію замісників біля даного моносахариду [6], як характерну особливість цього штаму. Загалом, вуглеводна частина ЛПС *R. solanacearum* 749 зазнає більшої модифікації під впливом температури, ніж *R. solanacearum* 758, моносахаридний склад якого змінюється лише у кількісному відношенні.

Таблиця 2

Моносахаридний склад ЛПС *R. solanacearum*

Моносахариди	749		758	
	+28°C	+37°C	+28°C	+37°C
% до загальної суми площ піків				
Рамноза	82,5	0,2	-	1,7
Арабіноза	1,8	0,6	-	-
Ксилоза	1,2	-	-	-
Х	-	-	53,6	14,5
Маноза	-	0,7	21,8	40,6
Галактоза	-	-	6,3	8,5
Глюкоза	6,4	98,2	18,3	34,7
Гептоза	8,1	-	-	-
% до сухої маси препарату				
КДО	сл.	сл.	3,4	2,3
Глюкозамін	0,8	1,2	1,0	3,0

Примітка: «-» не виявлено

Це ж саме стосується і композиції гідрофобної частини ЛПС дослідних об'єктів (табл. 3). Так, жирнокислотний склад ЛПС *R. solanacearum* 758 зазнає лише кількісних змін, в той час як в ЛПС *R. solanacearum* 749 при температурі вирощування 37 °C спостерігається поява нових компонентів ліпиду А. Спільним для обох випадків є зміна в сторону зростання відносного вмісту жирних кислот із довгими та насиченими вуглеводними ланцюгами. Це узгоджується із загальною закономірністю температурно-залежної зміни ліпідного складу клітинних мембран, що спрямовані на підтримання їх фізико-хімічних властивостей.

На цьому фоні звертає на себе увагу втрата 3-гідрокситетрадеканової кислоти в складі ліпиду А ЛПС *R. solanacearum* 749 за температури 37 °C. Нещодавно було показано існування гомолога та клонуванням підтверджено активність гену *PagL* у *R. solanacearum* штамів Molk2, біовар 1 та IPO 1609, біовар 2 (*PagL* GenBank Gene ID: 6953433 та 6957738 відповідно), який раніше [8] був описаний для ентеробактерій. Кодований даним геном фермент зов-

нішньої мембрани характеризується деацилазною активністю та має здатність відщеплювати 3-гідрокситетрадеканову кислоту від глюкозаміну ліпиду А. Для ентеробактерій підтверджено залежність *PagL* від двокомпонентної мембранної регуляторної системи PhoP-PhoQ, що чутлива до концентрації іонів магнію, присутності катіонних пептидів та рН середовища [16]. Існування відповідної регуляторної системи для *R. solanacearum* не підтверджено, тож можливо, для цього виду, ген *PagL* піддається регуляції іншими факторами.

Таблиця 3

Жирнокислотний склад ліпиду А ЛПС *R.solanacearum*

Кислота	749		758	
	+28°C	+37°C	+28°C	+37°C
% до загальної суми площ піків				
C _{14:0}	41,3	6,2	1,8	2,3
iC _{15:0}	-	3,9	-	-
aiC _{15:0}	-	2,9	-	-
3-ОН-C _{14:0}	39,6	-	10,0	14,5
C _{16:1}	-	8,6	-	-
C _{16:0}	5,5	62,7	31,5	25,6
C _{17:0}	-	2,4	-	-
2-ОН-C _{16:0}	9,8	2,7	-	-
3-ОН-C _{16:0}	-	-	7,0	14,5
cisC _{18:1}	-	5,3	-	-
tC _{18:1}	-	-	19,6	20,6
C _{18:0}	-	5,3	10,0	6,8
C _{19:0}	3,8	-	16,0	11,9
X	-	-	4,1	3,8

Примітка: «-» не виявлено

Таким чином, нами виявлено помітну відмінність між дослідними штамми залежно від хімічного складу їхніх ЛПС від температури культивування. *R. solanacearum* 758, раси 3, біовар 3, що походить із тропічного регіону, виявив помірні кількісні флуктуації компонентів ліпополісахариду в діапазоні досліджуваних температур. *R. solanacearum* 749, що є представником адаптованої до помірного клімату раси 3, біовару 2, продемонстрував значні зміни в композиції ЛПС за температури 37 °С. Втрата ним ОПС, означає зростання чутливості до антимікробних сполук, і як показано для інших штамів *R. solanacearum* [17], призводить також до позбавлення фітопатогенних властивостей. Відщеплення 3-гідрокситетрадеканової кислоти ліпиду А, через послаблення гідрофобної взаємодії між його ацильними замісниками, веде до інтенсифікації виходу ЛПС в середовище, наслідком чого стає послаблення бар'єрної функції зовнішньої клітинної мембрани [9]. Індукція підвищеною температурою вказаних змін поставить під питання можливість виживання бактерій у природних умовах.

Р.В. Грицай, О.С. Броварская, Л.Д. Варбанец

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Киев

**ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА СОСТАВ
ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ *RALSTONIA SOLANACEARUM***

Резюме

В зависимости от температуры культивирования *Ralstonia solanacearum* ICMP758 и ICMP749 в их липополисахаридах (ЛПС) выявлено умеренные отличия химического состава. *R. solanacearum* ICMP758 расы 3, биовар 3, который происходит из тропического региона, выявил умеренные количественные флуктуации компонентов липополисахарида в диапазоне исследованных температур. *R. solanacearum* ICMP749, который является представителем адаптированной к умеренному климату расы 3, биовара 2, показал значительные изменения в композиции ЛПС при температуре 37 °С. Он характеризовался отсутствием рамнозы, арабинозы и ксилозы, которые являются характерными для О-специфических полисахаридов ЛПС большинства исследованных штаммов *R. solanacearum*, а также утратой 3-гидрокситетраде-

кановой кислоты, но появлением ряда других жирных кислот. Одновременное увеличение относительно содержания типичных коровых моносахаридов (глюкозы, маннозы, глюкозамина), дает возможность предположить образование R-формы ЛПС под влиянием повышения температуры культивирования.

Ключевые слова: липополисахариды, состав, температура выращивания, *Ralstonia solanacearum*.

R.V. Gritsay, O.S. Brovarkaya, L.D. Varbanets

*Zabolotny Institute of Microbiology and Virology,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv*

INFLUENCE OF CULTIVATION TEMPERATURE ON LIPOPOLYSACCHARIDE COMPOSITION OF *RALSTONIA SOLANACEARUM*

Summary

Depending on cultivation temperature of *R. solanacearum* ICMP758 and ICMP749 moderate differences of lipopolysaccharide (LPS) chemical composition have been established. *R. solanacearum* ICMP758 race 3, biovar 3, which originates from tropical region, has revealed moderate quantitative fluctuations of lipopolysaccharide components in the investigated temperature range. *R. solanacearum* ICMP749, which is a representative of race 3, biovar 2, adapted to moderate climate exerted essential changes in LPS composition at 37 °C. It was characterised by the absence of rhamnose, arabinose and xylose, which are typical of O-specific polysaccharides of LPS of most investigated *R. solanacearum* strains, by the loss of 3-hydroxytetradecanoic acid but the appearance of a number of other fatty acids. Simultaneous increase of relative content of typical core monosaccharides (glucose, mannose, glucosamine), gives a possibility to propose the formation of R-LPS under the increase of the cultivation temperature.

The paper is presented in Ukrainian.

Key words: lipopolysaccharides, composition, temperature of cultivation, *Ralstonia solanacearum*

The authors' address: Gritsay R.V., Zabolotny Institute of Microbiology and Viriology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, MSP, D 03680, Ukraine.

1. Варбанец Л.Д., Здоровенко Г.М., Книрель Ю.А. Методы исследования эндотоксинов. – К.: Наук. думка, 2006. – 237 с.
2. Вестфаль О., Янн К. Бактериальные липополисахариды // Методы исследования углеводов. – М.: Мир, 1975. – С. 325–333.
3. Спирин А.С. Определение нуклеиновых кислот // Биохимия. – 1958. – Т. 23. – С. 562–662.
4. Albershein P., Nevis D.J., English P.D., Karr A. A method for analysis of sugars in plant cell wall polysaccharides by gas-liquid chromatography // Carbohydr. Res. – 1976. – V. 5. – P. 340–345.
5. Brandenburg K. Temperature dependence of the binding of endotoxins to the polycationic peptides polymyxin B and its nonapeptide / Brandenburg K., David A., Howe J., Koch M.H., Andrä J., Garidel P. // Biophys. J. – 2005. – V. 88. – P. 1845-1858.
6. Caroff M., Lebbar S., Szabó L. Do endotoxins devoid of 3-deoxy-D-manno-2-octulosonic acid exist? // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1987. – V. 143. – P. 845-847.
7. Dubois M., Gilles K., Hamilton J., Rebers P.A., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances // Anal. Chem. – 1956. – V. 28. – P. 350–356.
8. Geurtsen J., Steeghs L., Hove J.T., van der Ley P., Tommassen J. Dissemination of lipid A deacylases (pagL) among gram-negative bacteria: identification of active-site histidine and serine residues // J Biol Chem. – 2005. – V. 280. – P. 8248-8259.
9. Geurtsen J., Steeghs L., Hamstra H.J., Ten Hove J., de Haan A., Kuipers Tommassen J., van der Ley P. Expression of the lipopolysaccharide-modifying enzymes PagP and PagL modulates the endotoxic activity of *Bordetella pertussis* B. // Infect Immun. – 2006. – V. 74. – P. 5574-5585.
10. Janse J.D. Potato brown rot in western Europe-history, present occurrence and some remarks on possible origin, epidemiology and control strategies // Bull. OEPP. – 1996. – V. 26. – P. 679–695.
11. Kawaoka Y., Otsuki K., Tsubokura M. Growth temperature-dependent variation in the bacteriophage-inactivating capacity and antigenicity of *Yersinia enterocolitica* lipopolysaccharide // J Gen Microbiol. – 1983. – V. 129. – P. 2739-2747.

12. Kropinski A. M., Lewis V., Berry D. Effect of growth temperature on the lipids, outer membrane proteins, and lipopolysaccharides of *Pseudomonas aeruginosa* PAO // J. Bacteriol. – 1987. – V. 69. – P. 1960-1966.
13. Kumar G. S., Jagannadham M. V., Ray M. K. Low-temperature-induced changes in composition and fluidity of lipopolysaccharides in the antarctic psychrotrophic bacterium *Pseudomonas syringae* // J. Bacteriol. – 2002. – V. 184. – P. 6746-6749.
14. Lerouge I., Vanderleyden J. O-antigen structural variation: mechanisms and possible roles in animal/plant-microbe interactions // FEMS Microbiol Rev. – 2002. – V. 26. – P. 17-47.
15. Lowry O., Rosenbrough N., Farr A., Randall R. Protein measurement with the Folin reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – V. 193. – P. 265-275.
16. Monsieurs P., De Keersmaecker S., Navarre W.W., Bader M.W., De Smet F., McClelland M., Fang F.C., De Moor B., Vanderleyden J., Marchal K. Comparison of the PhoPQ regulon in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* // J Mol Evol. – 2005. – V. 60. – P. 462-474.
17. Titarenko E., López-Solanilla E., García-Olmedo F., Rodríguez-Palenzuela P. Mutants of *Ralstonia* (*Pseudomonas*) solanacearum sensitive to antimicrobial peptides are altered in their lipopolysaccharide structure and are avirulent in tobacco // J Bacteriol. – 1997. – V. 179. – P. 6699-6704.
18. Vidaver A. Synthetic and complex media for the rapid detection of fluorescence of phytopathogenic *Pseudomonads*: Effect of the carbon source // Appl. Microbiol. – 1967. – V. 15. – P. 1523-1524.
19. Vorachek-Warren M.K., Carty S.M., Lin S., Cotter R.J., Raetz C.R. An *Escherichia coli* mutant lacking the cold shock-induced palmitoleoyltransferase of lipid A biosynthesis: absence of unsaturated acyl chains and antibiotic hypersensitivity at 12 degrees C // J Biol Chem. – 2002. – V. 277. – P. 14186-14193.

Отримано 21.09.2010

УДК 631.461.5 + 631.811.98

И.В. Драговоз, Н.О. Леонова, Г.А. Иутинская

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, МСП, Д 03680, Украина*

СИНТЕЗ ФИТОГОРМОНОВ ШТАММАМИ *BRADYRHIZOBIUM* *JAPONICUM* РАЗЛИЧНОЙ СИМБИОТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ

*Исследована гормонсинтезирующая способность ризобий сои и проведено сравнение этого показателя с симбиотической эффективностью штаммов *Bradyrhizobium japonicum* в условиях вегетационного и полевого опытов.*

*Синтез экзогенных цитокининов высокоэффективными штаммами ризобий сои значительно (в 3–11 раз) превышает их образование у малоэффективного и неэффективного штаммов. Обсуждается возможность использования в качестве характеристики симбиотической эффективности различных штаммов *B. japonicum* их способность продуцировать экзогенные фитогормоны цитокининовой природы.*

*Ключевые слова: *Bradyrhizobium japonicum*, фитогормоны, цитокинины, симбиотическая активность штамма, продуктивность.*

Известно, что биологическая активность штаммов азотфиксирующих микроорганизмов является характеристикой, которая напрямую связана с продуктивностью растений [15]. В связи с этим оценка биологической активности диазотрофных микроорганизмов очень важна на этапе лабораторного скрининга наиболее эффективных штаммов, способствующих повышению продуктивности бобовых культур (сои, гороха, люцерны и т.п.) [1]. Традиционно для характеристики биологической активности штаммов клубеньковых бактерий, в частности, рода *Bradyrhizobium*, используют такие показатели, как вирулентность штамма, его нодуляционная способность, симбиотическая эффективность (количество и масса клубеньков, нарастание надземной массы и корней растения, нитрогеназная активность клубеньков, урожайность и качество зерна) [6]. Однако эти показатели можно исследовать в условиях вегетационного или полевого опытов и, к тому же, они не достаточно объективно отражают активность определенных штаммов. Так, например, нет прямой корреляции между высокой вирулентностью некоторых штаммов рода *Bradyrhizobium* и зерновой продуктивностью бобовых культур [5, 6, 11].

© И.В. Драговоз, Н.О. Леонова, Г.А. Иутинская, 2011