

*Н.О. Леонова**Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна*

СИНТЕЗ АУКСИНІВ ТА ЦИТОКІНІНІВ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* ЗА ДІЇ ФЛАВОНОЇДІВ

Мета. Дослідити здатність різних за ефективністю симбіотичних азотфіксувальних бактерій сої *Bradyrhizobium japonicum* до синтезу фітогормонів стимулювальної дії – ауксинів та цитокінінів за дії рослинних флавоноїдів геністеїну і нарінгеніну. **Методи.** Позаклітинні фітогормональні сполуки виділяли із супернатанта культуральної рідини ризобій сої методом перерозподілу фітогормонів у двох фазах розчинників, що не змішуються між собою. Кількість синтезованих ауксинів і цитокінінів визначали методом спектроденситометричної тонкошарової хроматографії. **Результати.** Показана здатність штамів симбіотичних діазотрофів сої синтезувати ауксини (4-1067 мкг/г абсолютно сухої біомаси) та цитокініни (141-1554 мкг/г абсолютно сухої біомаси). Культивування у присутності флавоноїдних сполук геністеїну і нарінгеніну призводить до звуження спектру та зменшення кількості синтезованих фітогормонів ризобіями сої: не відмічено синтезу індол-3-карбокислової кислоти, індол-3-карбінолу, індол-3-оцтової кислоти гідразиду та зеатину. **Висновки.** Пригнічуючий вплив флавоноїдів на синтез фітогормонів у ризобій сої, ймовірно, може пояснюватися як зміною метаболізму мікросимбіонтів, що спрямований не на синтез вторинних метаболітів, а на запуск механізмів ефективної нодуляції, так і концентрацією флавоноїдних сполук у поживному середовищі.

К л ю ч о в і с л о в а: *Bradyrhizobium japonicum*, фітогормони, ауксини, цитокініни, флавоноїди, соя.

Відомо, що симбіоз бобових рослин і азотфіксувальних бактерій приводить до утворення бульбочок. Бульбочки є високоорганізованими кореневими утвореннями, що формуються у відповідь на ризобіальні *nod*-фактори та забезпечують бактерії спеціалізованою «еконішою» для оптимізації обміну поживних речовин і фіксації азоту. Розвиток бульбочок і проникнення ризобій у корені рослин керуються як мікро- так і макросимбіонтами [1]. Крім того, загальна кількість бульбочок на коренях контролюється системним механізмом, що має назву «ауторегуляція бульбочок». Всі ці процеси регулюються фітогормональними сполуками, передусім ауксинами та цитокінінами [2, 3]. Відомі два механізми, за допомогою яких фітогормони керують кількістю бульбочок: шляхом прямого синтезу ризобіями і через непрямі зміни пулу фітогормонів у рослині, викликані бактеріальними *nod*-факторами [4, 5]. Останні генетичні та фізіологічні дослідження вказують на вирішальні зміни, що викликані *nod*-факторами у зміні гормонального статусу в рослині як необхідної умови для успішного формування бульбочок [6, 7]. Фітогормони, синтезовані ризобіями, є вкрай необхідними для підвищення ефективності симбіозу.

Значна роль у формуванні та функціонуванні симбіозу належить також й іншим метаболітам симбіопартнерів – рослинним фенольним речовинам флавоноїдам, що виділяються у ризосферу [8, 9]. Ці речовини здатні впливати на розвиток

грунтових мікроорганізмів, зокрема, на фізіолого-біохімічну активність діазотрофів. Флавоноїди – найбільш чисельна група природних фенольних сполук, що виявлені у вищих рослин [10]. Синтез флавоноїдів притаманний, переважно, рослинам родини бобових *Leguminosae*, і зокрема – підродині *Papilionoideae*, хоча існують і певні виключення [11].

Роль флавоноїдів у рослинах багатофункціональна. Основною функцією цих фенольних сполук у рослинно-мікробних відносинах є взаємодія із продуктами *nod* D-гену ризобій із подальшою активацією транскрипції інших *nod*-генів. Флавоноїди активують *nod*-гени мікросимбіонтів, що регулюють процеси інфікування коренів бобових рослин ризобіями та формування нодуляційного апарату. Інші ефекти дії флавоноїдів на ризобії включають стимулювання хемотактичних відповідей мікроорганізмів [12–15].

Раніше ми досліджували вплив флавоноїдів дайдзеїну, кверцетину, геністеїну та нарінгеніну на фізіологічну активність бульбочкових бактерій сої та функціонування основних ферментів асиміляції амонію [16–18]. Метою даної роботи було дослідити здатність різних за ефективністю симбіотичних азотфіксувальних бактерій сої *Bradyrhizobium japonicum* до синтезу фітогормонів стимулювальної дії – ауксинів та цитокінінів за дії рослинних флавоноїдів геністеїну і нарінгеніну.

Матеріали та методи дослідження. Об'єктами досліджень були штами бульбочкових бактерій сої, що відрізняються за активністю азотфіксації в умовах симбіозу: високоефективні штами *B. japonicum* УКМ В-6018 і УКМ В-6035, які формують на коренях сої активний азотфіксувальний апарат і сприяють підвищенню урожаю та збільшенню вмісту протеїну в насінні сої (з колекції відділу загальної та ґрунтової мікробіології Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, депоновані в Українській колекції мікроорганізмів); малоефективний штам *B. japonicum* 21110, який формує на коренях сої бульбочки з низькою азотфіксувальною активністю і мало впливає на урожай та його якість (одержаний у попередні роки з колекції Всеросійського науково-дослідного інституту сільськогосподарської мікробіології РАСГН, Санкт-Петербург, Пушкін); неефективний штам *B. japonicum* 604к, який формує на коренях сої бульбочки з відсутньою азотфіксувальною активністю (наданий у попередні роки співробітниками Інституту сільського господарства Криму НААН).

У роботі використовували синтетичні флавоноїди (*Sigma*, Німеччина): *геністеїн* – представник підгрупи ізофлавоноїдів та класу ізофлавонів, є одним із основних флавоноїдних компонентів кореневих ексудатів рослин сої та сигнальною молекулою соєво-ризобіального симбіозу; *нарінгенін* – відноситься до підгрупи еуфлавоноїдів та класу флаванонів, є сигнальною молекулою пулу кореневих ексудатів не комплементарного для *B. japonicum* макросимбіонта – гороху [19, 20].

Культивування бактерій здійснювали в колбах об'ємом 750 мл на качалці (220 об/хв) за температури 26-28°C впродовж 72-96 год на рідкому поживному середовищі Ісварана наступного складу (г/л): маніт – 10,0; дріжджовий екстракт – 2,0; глюконат кальцію – 1,5; K_2HPO_4 – 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,2; NaCl – 0,1; $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ – 0,01; рН 7,2. Як посівний матеріал використовували культури *B. japonicum* у експоненційній фазі росту (92-96 год), вирощені на середовищі Ісварана. Кількість посівного матеріалу становила 5% об'єму середовища. Флавоноїди вносили у поживне середовище для культивування ризобій у концентраціях 0,01 нМ – для геністеїну та 10 нМ – для нарінгеніну. Нами раніше показано, що

за дії цих концентрацій флавоноїдів ростова активність у азотфіксувальних штамів *B. japonicum* суттєво зростала [16]. Окрім того, згідно з даними літератури, саме піко- та наномолярні кількості флавоноїдів індукують експресію генів, що відповідають за нодуляцію [15, 20].

Для відділення біомаси культуральну рідину бактерій центрифугували впродовж 20 хв при 9000 об/хв і температурі +4°C. Клітини бактерій відмивали від залишків екзополімерів фізіологічним розчином тричі, кожний раз центрифугували за тих же умов. Надосадові рідини використовували для подальших досліджень із метою екстракції фітогормональних сполук, а осад клітин суспендували в дистильованій воді, потім висушували при 103-105°C у сушильній шафі до постійної маси. Кількість абсолютно сухої біомаси (АСБ) мікроорганізмів визначали ваговим методом.

Позаклітинні фітогормони ауксини та цитокініни виділяли із супернатантів культуральних рідин *B. japonicum* шляхом перерозподілу фітогормонів у двох фазах розчинників, що не змішуються між собою: етилацетаті (для ауксинів), рН 3,0 і н-бутанолі (для цитокінінів), рН 8,0 [21]. Одержані екстракти випарювали під вакуумом при 40-45°C. Сухий залишок розчиняли в 5 мл етанолу, перенесли у мікропробірки. Етанольні екстракти надосадових рідин досліджуваних ризобій сої використовували для накопичувальної тонкошарової хроматографії. Попереднє очищення і концентрування фітогормонів проводили на пластинках із силікагелем марки «Silufol UV₂₅₄» (*Chemapol*, Чехія) у суміші розчинників, застосованих послідовно: хлороформ, 12,5 % водний аміак, етилацетат: оцтова кислота (20:1). Очищені таким чином екстракти цитокінінів та індольних сполук розділяли на пластинках з оксидом алюмінію та кремнію «Merck», №5554, F₂₅₄ (Німеччина). У першому випадку використовували суміш н-бутанол: аміак: вода (86:5:9), у другому – хлороформ: етилацетат: оцтова кислота (100:100:1) [22]. Кількісне детектування фітогормонів здійснювали за допомогою скануючого спектроденситометра «Сорбфіл» (Росія). Кількість позаклітинних фітогормонів розраховували у мкг на 1 г АСБ продуцента. Стандартами були синтетичні фітогормони *Sigma* (Німеччина) і *Acros Organic* (Бельгія): *ауксини* – індоліл-3-оцтова кислота, індол-3-масляна кислота, індол-3-карбоксілова кислота, індол-3-карбінол, індол-3-оцтової кислоти гідрозид, індол-3-карбоксальдегід; *цитокініни* – зеатин, зеатинрибозид, кінетин, ізопентеніл-аденін, ізопентеніл-аденозин рибозильований.

Результати та їх обговорення. Встановлено, що синтез ауксинів для ризобій є штамовою ознакою, що не пов'язана з їх симбіотичною активністю (табл. 1). Зокрема, неактивний штам *B. japonicum* 604к, який у симбіозі утворює велику кількість бульбочок з практично відсутньою нітрогеназною активністю, здатен синтезувати ауксини у великих кількостях – більше 1000 мкг/г АСБ. Штам синтезує індольні сполуки (індол-3-карбоксілову кислоту, індол-3-карбінол та індол-3-оцтової кислоти гідрозид), але не синтезує фізіологічно активного для рослин ауксину – індол-3-оцтової кислоти (ІОК). Сумарний рівень синтезу ауксинів у штаму 604к перевищує у 1,4 рази відповідний показник у вискоєфективного штаму УКМ В-6035, який синтезував із представлених індольних сполук лише ІОК у великій кількості, що перевищувала 770 мкг/г АСБ.

За присутності у поживному середовищі специфічного флавоноїду геністеїну суттєво знижувався синтез позаклітинних ауксинів ризобіями сої *B. japonicum* 604к – у 172 рази і *B. japonicum* УКМ В-6035 – у 151 раз, а для штамів 21110 та УКМ В-6018 відмічено незначне стимулювання синтезу і збільшення загальної

Таблиця 1

Продуктування позаклітинних ауксинів *B. japonicum* різної симбіотичної активності

Штами ризобій	Ауксини, мкг/г абсолютно сухої біомаси						
	ІОК	Індол-3-масляна кислота	Індол-3-карбоксальдегід	Індол-3-карбоксилова кислота	Індол-3-карбінол	Індол-3-оцтової кислоти гідразид	Загальна кількість
Без флавоноїдів							
604к	–*	–	–	216,1	442,3	408,9	1067,3
21110	3,8	–	–	–	–	–	3,8
УКМ В-6018	8,9	–	0,4	4,60	–	–	13,9
УКМ В-6035	772,8	–	–	–	–	–	772,8
За присутності геністеїну (0,01 нМ)							
604к	5,6	0,6	–	–	–	–	6,2
21110	11,3	–	1,2	–	–	–	12,5
УКМ В-6018	16,8	–	–	–	–	–	16,8
УКМ В-6035	5,0	–	–	–	–	–	5,0
За присутності нарінгеніну (10 нМ)							
604к	4,5	1,0	–	–	–	–	5,5
21110	3,8	–	0,5	–	–	–	4,3
УКМ В-6018	9,5	–	–	–	–	–	9,5
УКМ В-6035	10,0	–	–	–	–	–	10,0

* «←» фітогормони не виявлені.

кількості ауксинів у 1,2-3,2 рази (табл. 1). Нами не було виявлено у надосадовій рідині досліджуваних ризобій таких індольних сполук як індол-3-карбоксилова кислота, індол-3-карбінол та індол-3-оцтової кислоти гідразид. Натомість – штам 604к синтезував індол-3-масляну кислоту – ауксин, що раніше не був у нього знайдений, але кількісно присутність даної сполуки була дуже незначною. Слід відмітити, що за присутності геністеїну у всіх бульбочкових бактерій була виявлена ІОК, але концентрація її лише у вискоєфективного штаму УКМ В-6035 зменшилася у 158 разів. Для інших ризобій відмічено зростання продуктування ІОК у 2-3 рази, а у неефективного штаму спостерігали появу синтезу даної сполуки.

За присутності у поживному середовищі неспецифічного для соєво-ризобіального симбіозу флавоноїду нарінгеніну загальна кількість позаклітинних ауксинів у досліджуваних штамів *B. japonicum* 604к і *B. japonicum* УКМ В-6035 теж суттєво зменшувалася, як і при внесенні геністеїну. Пригнічення продуктування ауксинів при цьому складало 77-194 рази. Також не було виявлено у надосадовій рідині ризобій індольних сполук: індол-3-карбоксилової кислоти, індол-3-карбінолу та індол-3-оцтової кислоти гідразиду, але відмічено стимулювання синтезу індол-3-масляної кислоти у *B. japonicum* 604к, якої не було без внесення в середовище флавоноїдів. Слід підкреслити, що за присутності у середовищі нарінгеніну, аналогічно до дії геністеїну, у всіх бульбочкових бактерій була виявле-

на ІОК, навіть у неефективного штаму 604к, який не продукував даного ауксину без внесення флавоноїдів, але концентрація її лише у високоефективного штаму УКМ В-6035 зменшилася у майже 80 разів.

Спектр цитокінінів, синтезованих ризобіями сої різної ефективності, відрізнявся як якісним, так і кількісним складом. Так, високоефективний симбіонт УКМ В-6018 продукував найбільшу кількість цитокінінів (~ 1555 мкг/ г АСБ), серед яких переважав зеатин-рибозид (55 % від загальної кількості) (табл. 2). Штам також був здатний синтезувати значну кількість інших цитокінінів, зокрема, зеатин і ізопентеніл-аденозин рибозильований.

Відомо, що рибозильований зеатин є транспортною формою цитокінінів, фізіологічна активність якої дуже низька. Синтез цієї форми цитокінінів при формуванні симбіотичних стосунків з бактеріями дозволяє рослині отримувати готову транспортну форму, що з висхідним током потрапляє до надземної частини рослини, там піддається гідролізу і включається в регуляцію метаболізму клітин, змінюючи пул фізіологічно активних цитокінінів у рослинних тканинах та підсилюючи певні ланки метаболізму [23]. Тобто, чим вище здатність ризосферних бактерій до синтезу рибозильованих форм цитокінінів, тим вище рівень їх спеціалізованої адаптації до рослини-господаря.

Інший високоефективний штам УКМ В-6035 синтезував менше позаклітинних цитокінінів (~ 740 мкг/ г АСБ), при цьому серед всіх сполук так само як і для попереднього штаму УКМ В-6018 значно переважав синтез зеатин-рибозиду (91 % від загальної кількості), а співвідношення форм цитокінінів дещо відрізнялося; останній синтезував більше ізопентеніл-аденозину. Слід відмітити, що кількість зеатин-рибозиду, синтезованого обома високоефективними штамми бульбочкових бактерій сої, була в 1,7-7,9 разів вище, ніж у малоефективного і неактивного штамів.

Щодо синтезу позаклітинних цитокінінів *B. japonicum* за дії флавоноїдів геністеїну та нарінгеніну, то тенденція до суттєвого зменшення їх кількості анало-

Таблиця 2

Продуктування позаклітинних цитокінінів *B. japonicum* різної симбіотичної активності (мкг/г абсолютно сухої біомаси)

Штами ризобій	Зеатин	Зеатин-рибозид	Ізопентеніл-аденін	Ізопентеніл-аденозин	Загальна кількість
Без флавоноїдів					
604к	15,4	108,8	—*	17,4	141,6
21110	22,0	136,0	—	8,0	166,0
УКМ В-6018	345,0	855,0	1,7	352,4	1554,1
УКМ В-6035	60,3	672,6	4,9	—	737,8
За присутності геністеїну (0,01 нМ)					
604к	—	24,0	3,4	—	27,4
21110	—	7,5	—	3,0	10,5
УКМ В-6018	—	14,2	—	5,0	19,2
УКМ В-6035	—	20,0	—	—	20,0
За присутності нарінгеніну (10 нМ)					
604к	—	19,0	1,3	—	20,3
21110	—	13,0	—	1,5	14,5
УКМ В-6018	—	—	—	3,0	3,0
УКМ В-6035	—	15,3	—	—	15,3

* «—» фітогормони не виявлені.

гічна до синтезу ауксинів (табл. 2). Слід зауважити, що за дії флавоноїдів не було відмічено продукування зеатину – фізіологічно-активного цитокініну у жодного з досліджених штамів.

За присутності у поживному середовищі специфічного флавоноїду геністеїну суттєво знижувався синтез позаклітинних цитокінінів всіма ризобіями (табл. 2). Цей показник зменшився у 5-16 разів для неефективного та малоефективного штамів, і у 37-80 разів у високоефективних. Суттєвий інгібувальний ефект спостерігали і при продукуванні ризобіями транспортної форми цитокінінів – зеатин-рибозиду (зменшення кількості у надосадовій рідині ризобій у 4,5-60 раз). Натомість – у *B. japonicum* 604к відмічено появу синтезу невеликої кількості ізопентеніл-аденіну (3,4 мкг/ г АСБ) і пригнічення синтезу рибозильованої форми – ізопентеніл-аденозину.

За дії неспецифічного флавоноїду нарінгеніну теж спостерігали суттєве зниження загальної кількості цитокінінів, що складало 7-11 разів для штамів 604к і 21110 та 48-500 раз – для УКМ В-6018 і УКМ В-6035. Продукування зеатин-рибозиду при цьому зменшувалось у 6-44 рази, а для високоефективного штаму УКМ В-6018 – повністю інгібувалось. Реакція неефективного штаму 604к на присутність цього флавоноїду у середовищі була аналогічною до дії геністеїну.

Відомо, що флавоноїди виділяються рослинами-господарями у ризосферу при проростанні насіння та активують *nod*-гени мікросимбіонтів. Ці гени керують механізмами інфікування коренів бобових рослин ризобіями та відповідають за формування нодуляційного апарату [9, 12, 13, 15]. Тому, напевно, пригнічуючий вплив досліджених флавоноїдів на синтез фітогормонів у ризобій сої і пояснюється перебудовою метаболізму мікросимбіонтів, що спрямований не на синтез вторинних екзометаболітів (зокрема і фітогормонів), а на активізацію *nod*-генів, синтез *Nod*-факторів і запуск механізмів ефективної нодуляції.

У той же час в літературі зустрічаються нечисленні відомості, що додавання флавоноїдів – індукторів нодуляції стимулює синтез ауксинів, зокрема, ІОК у ризобій. Відомо, що за допомогою мас-спектрометричного аналізу культуральних супернатантів у штаму *Rhizobium* sp. NGR234 показана можливість синтезу ІОК трьома різними шляхами [5]. У результаті впливу на штам флавоноїду дайдзеїну синтез ІОК сильно збільшувався *nodD1*-, *nodD2*- і *SyrM2*-залежним чином. Це пояснюється активізацією локуса *y4wEFG*, що кодує білки, які беруть участь у синтезі ІОК. Окрім того відомо, що флавоноїди різної природи і у різних концентраціях можуть бути як стимуляторами, так й інгібіторами фізіологічної активності мікросимбіонтів [14, 19, 20]. Але такі дослідження на сьогодні майже не проводяться.

У нашій роботі показано, що наявність флавоноїдів геністеїну і нарінгеніну у поживному середовищі для культивування ризобій сої у концентраціях 0,01 та 10 нМ, що є аналогічними кількостям, у яких ці фенольні сполуки виділяються рослинами у ризосферний ґрунт на початкових етапах формування симбіотичних систем і стимулюють ріст бактерій, призводило до зменшення спектру та кількості синтезованих *B. japonicum* фітогормонів ауксинової та цитокінінової природи. У подальшому слід проводити дослідження з використанням ширшого діапазону концентрацій флавоноїдів, оскільки саме від них і залежить фізіологічна активність цих сполук щодо мікроорганізмів.

На нашу думку, дослідження впливу флавоноїдних сполук на фізіологічну активність азотфіксуювальних бульбочкових бактерій, зокрема на синтез фітогормонів-стимуляторів, актуальні і необхідні для розуміння процесів формування

і пошуку шляхів підвищення активності і ефективності симбіотрофних систем. Останнє має важливе значення і може бути використано для розробки нових біопрепаратів із фітостимулювальною активністю для рослинництва.

Н.О. Леонова

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, 03143, Украина*

СИНТЕЗ АУКСИНОВ И ЦИТОКИНИНОВ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* ПРИ ВЛИЯНИИ ФЛАВОНОИДОВ

Р е з ю м е

Цель. Исследовать способность различных по эффективности симбиотических азотфиксирующих бактерий сои *Bradyrhizobium japonicum* к синтезу фитогормонов стимулирующего действия – ауксинов и цитокининов при влиянии растительных флавоноидов генистеина и нарингенина. **Методы.** Внеклеточные фитогормональные соединения выделяли из супернатанта культуральной жидкости ризобий сои методом перераспределения фитогормонов в двух фазах растворителей, не смешивающихся между собой. Количество синтезированных ауксинов и цитокининов определяли методом спектроденситометрической тонкослойной хроматографии. **Результаты.** Показана способность штаммов симбиотических diaзотрофов сои синтезировать ауксины (4-1067 мкг/ г абсолютно сухой биомассы) и цитокинины (141-1554 мкг/ г абсолютно сухой биомассы). Культивирование в присутствии флавоноидных соединений генистеина и нарингенина приводит к сужению спектра и уменьшению количества синтезированных фитогормонов ризобиями сои: не отмечено синтеза индол-3-карбокисловой кислоты, индол-3-карбинола, индол-3-уксусной кислоты гидразида и зеатина. **Выводы.** Угнетающее влияние флавоноидов на синтез фитогормонов у ризобий сои, вероятно, может объясняться как изменением метаболизма микросимбионтов, который направлен не на синтез вторичных метаболитов, а на запуск механизмов эффективной нодуляции, так и концентрацией флавоноидных веществ в питательной среде.

К л ю ч е в ы е с л о в а: *Bradyrhizobium japonicum*, фитогормоны, ауксины, цитокинины, флавоноиды, соя.

N.O. Leonova

*Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine,
154 Zabolotny St., Kyiv, 03143, Ukraine*

AUXINS AND CYTOKININES SYNTHESIS BY *BRADYRHIZOBIUM* *JAPONICUM* UNDER FLAVONOIDS INFLUENCE

S u m m a r y

Aim. Research the ability of different by effectiveness symbiotic nitrogen-fixing soybean bacteria *Bradyrhizobium japonicum* to the synthesis of phytohormones-stimulators auxins and cytokinins for the actions of plant flavonoids genistein and naringenin. **Methods.** Extracellular phytohormonal compound isolated from the supernatant culture liquid of

the soybean rhizobia by redistribution of phytohormones in two phases solvent immiscible with each other. Auxins and cytokinins were determined by thin layer spectra densitometry chromatography. **Results.** Shown the ability of symbiotic diastrophic soybean strains to synthesize auxins (4-1067 mg/ g of absolutely dry biomass) and cytokinins (141-1554 mg/ g of absolutely dry biomass). Cultivation soybean rhizobia in the presence of flavonoid compounds genistein and naringenin leads to the narrowing of the range and reducing the number of phytohormones: unchecked synthesis of indole-3-carboxylic acid, indole-3-carbinol, indole-3-acetic acid hydrazide and zeatin. **Conclusions.** Depressing effect of flavonoids on the phytohormones in soybean rhizobia synthesis is probably due to changes in metabolism microsymbiotic bacteria that are not aimed at the synthesis of secondary metabolites and to launch effective nodulating mechanisms, and also the concentration of flavonoid compounds in the nutrient medium.

Key words: *Bradyrhizobium japonicum*, plant hormones, auxins, cytokinins, flavonoids, soybean.

1. Suzuki T., Kawaguchi M. Root nodulation: a developmental program involving cell fate conversion triggered by symbiotic bacterial infection // Cur. Opin. Plant Biol. – 2014. – **21**, N 10. – P. 16–22.
2. Fukaki H., Tasaka M. Hormone interactions during lateral root formation // Plant Mol. Biol. – 2009. – **69**, N 4. – P. 437–449.
3. Held M., Hou H., Miri M., Huynh Ch., Ross L., Hossain M.S. Sato S., Tabata S., Perry J., Wang T.L., Szczyglowski K. *Lotus japonicus* cytokinin receptors work partially redundantly to mediate nodule formation // Plant Cell. – 2014. – **26**, N 2. – P. 678–694.
4. Ferguson B.J., Mathesius U. Phytohormone regulation of legume-rhizobia interactions // J. Chem. Ecol. – 2014. – **40**, N 7. – P. 770–790.
5. Theunis M., Kobayashi H., Broughton W.J., Prinsen E. Flavonoids, NodD1, NodD2, and Nod-Box NB15 modulate expression of the y4wEFG locus that is required for indole-3-acetic acid synthesis in *Rhizobium* sp. strain NGR234 // MPMI. – 2004. – **17**, N 10. – P. 1153–1161.
6. *Biological nitrogen fixation*, 2 Volume Set / Ed. F.J. de Bruijn. – John Wiley & Sons. – 2015. – 1260 p.
7. Wang D., Yang Sh., Tang F., Zhu H. Symbiosis specificity in the legume – rhizobial mutualism // Cel. Microbiol. – 2012. – **14**, N 3. – P. 334–342.
8. Dixon R.A., Pasinetti G.M. Flavonoids and isoflavonoids: from plant biology to agriculture and neuroscience // Plant Physiol. – 2010. – **154**, N 2. – P. 453–457; doi: 10.1104/pp.110.161430.
9. Mierziak J., Kostyn K., Kulma A. Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment // Molecules. – 2014. – **19**. – P. 16240–16265; doi: 10.3390/molecules191016240.
10. Falcone Ferreyra M.L., Casati P. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications // Front Plant Sci. – 2012. – **3**, art. 222. doi: 10.3389/fpls.2012.00222.
11. Harborne J.B., Williams C.A. Advances in flavonoid research since 1992 // Phytochem. – 2000. – **55**. – P. 481–504.
12. Sugiyama A., Shitan N., Yazaki K. Involvement of a soybean ATP-binding cassette-type transporter in the secretion of genistein, a signal flavonoid in legume-*Rhizobium* symbiosis // Plant Physiol. – 2007. – **144**, N 4. – P. 2000–2008.

13. *Broughton W.J., Jabbouri S., Perret X.* Keys to symbiotic harmony // *J. Bacteriol.* – 2000. – **182**, N 20. – P. 5641–5652.
14. *Wang J., Eltoun I.E., Lamartiniere C.A.* Genistein alters growth factor signaling in transgenic prostate model (TRAMP) // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2004. – **219**, N 1–2. – P. 171–180.
15. *Gonzalez J.E., Marketon M.M.* Quorum sensing in nitrogen-fixing rhizobia // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 2003. – **67**, N 4. – P. 574–592.
16. *Леонова Н.О., Тумова Л.В., Танцюренко О.В., Антинчук А.Ф.* Фізіологічна активність бульбочкових бактерій сої (*Bradyrhizobium japonicum*) за дії флавоноїдів // *Наук. Вісник ЧНУ, Серія: Біологія.* – 2005. – **252**. – С. 132–139.
17. *Леонова Н.О., Тумова Л.В., Танцюренко О.В., Антинчук А.Ф.* Глутаматдегідрогеназна активність ризобій сої (*Bradyrhizobium japonicum*) за дії фіторегулювальних речовин // *Мікробіол. журн.* – 2006. – **68**, № 4. – С. 21–27.
18. *Лутинська Г.О., Тумова Л.В., Леонова Н.О., Бровко І.С.* Активність основних ферментів асиміляції амонію у *Bradyrhizobium japonicum* за дії рослинних індукторів флавоноїдної природи // *Мікробіол. журн.* – 2010. – **72**, № 6. – С. 23–29.
19. *Christie S., Walker A.F., Lewith G.T.* Flavonoids – a new direction the treatment of fluid retention // *Phytother. Res.* – 2001. – **15**, N 6. – P. 467–475.
20. *Long S.R.* Genes and signals in the *Rhizobium*-legume symbiosis // *Plant Physiol.* – 2001. – **125**, N 1. – P. 69–72.
21. *Методические рекомендации по определению фитогормонов.* – Киев: Ин-т ботаники АН УССР, 1988. – 78 с.
22. *Савинский С.В., Кофман И.Ш., Кофанов В.И., Стасевская И.Л.* Методические подходы к определению фитогормонов с помощью спектроденситометрической тонкослойной хроматографии // *Физиол. и биохим. культ. раст.* – 1987. – **19**, № 2. – С. 210–215.
23. *Metabolism and molecular activities of cytokinins* / Eds. J. Guern, C. Peaud-Lenoel. – Springer Science & Business Media. – 2012. – 354 p.

Отримано 15.03.2015