

У.Я. Стамбульська, В.І. Лушак

Кафедра біохімії, Прикарпатський національний університет
ім. В. Стефаника, вул. Шевченка, 57, Івано-Франківськ, 76025, Україна

ХЕМОТАКСИС *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* BV. *VICIAE* ДО ОРГАНІЧНИХ РЕЧОВИН

*Досліджено вплив різних органічних речовин на хемотаксисну активність бульбочкових бактерій гороху *Rhizobium leguminosarum* bv. *vicia* RRL1, RRL3, RRL6 і RRL7, виділених на території Івано-Франківської області. Серед вуглеводів та органічних кислот найактивнішими атрактантами для даних штамів бактерій були сахароза, піруват і винна кислота. Найбільш виражену хемотаксисну реакцію на дію амінокислот штами *Rh. leguminosarum* bv. *vicia* проявляли до серину, аланіну, гліцину, ти-*
© У.Я. Стамбульська, В.І. Лушак, 2009

розину та цистеїну. Показано, що хемотаксисна активність бульбочкових бактерій гороху залежить від часу їх росту і концентрації аттрактантів у середовищі. Існує певна специфічність щодо дії органічних речовин для різних штамів бульбочкових бактерій гороху.

Ключові слова: *Rhizobium leguminosarum* bv. *vicia*, хемотаксис, органічні речовини.

Утворення та функціонування бобово-ризобіального симбіозу відбувається через ряд координуваних етапів, регуляція яких здійснюється як бульбочковими бактеріями, так і рослиною-господарем [5, 6, 13]. Початковим його етапом є спрямований рух (хемотаксис) бактерій до насіння і коріння, а також наступна адгезія на них [11, 16, 17].

Результати проведених за останні роки досліджень свідчать, що ціла низка сполук, які продукуються обома партнерами симбіозу, діють як специфічні ефектори, визначаючи особливості формування та функціонування апарату фіксування азоту [10]. Вважають, що хемотаксисна реакція при розпізнаванні бактеріями рослини-господаря буває двох типів: неспецифічна та специфічна. Результатом першої є рух бактерій до простих молекул (вуглеводів, органічних кислот, амінокислот), результатом другої – рух до великих молекул (гормонів, лектинів, ферментів) [6, 22]. Таким чином, хемотаксис бульбочкових бактерій до виділень насіння або коренів рослин є важливим фактором доконтактної взаємодії мікро- і макросимбіонтів у процесі інфікування коренів бобової рослини клітинами бактерій роду *Rhizobium* [7, 11, 17].

Мета нашої роботи полягала у дослідженні хемотаксису бульбочкових бактерій гороху, виділених на території Івано-Франківської області, і стандартного штаму *Rhizobium leguminosarum* bv. *vicia* 245a до різних органічних речовин, ідентифікованих у кореневих виділеннях *Pisum sativum* L.

Матеріали і методи. Об'єктами дослідження були швидкорослі бульбочкові бактерії *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* штами RRL1, RRL3, RRL6 і RRL7, ізольовані та ідентифіковані на кафедрі біохімії Прикарпатського національного університету ім. В. Стефаника та стандартний штам *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* 245a, одержаний із колекції Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного.

У роботі використовували реактиви виробництва “Reanal” (Угорщина), “Реакім” (Росія), “Sigma Chemical Co” (США). Решта реактивів – вітчизняного виробництва класу не нижче ч.д.а.

Бактерії вирощували в рідкому живильному середовищі наступного складу, г/л: маніт – 10,0; K_2HPO_4 – 0,5; $MgSO_4$ – 0,2; NaCl – 0,1; глюконат кальцію – 2,0; дріжджова вода (рН 6,7) – 100 мл. Досліджувані штами культивували на шейкері (120 коливань за хвилину) протягом 98 годин при температурі 27 °С. Для досліджень використовували бактеріальну суспензію з концентрацією приблизно 10^8 кл./мл.

Для дослідження хемотаксису бульбочкових бактерій гороху посівного були використані органічні речовини, перелік яких наведено у табл. 1. Розчини даних речовин перед використанням стерилізували на водяній бані (100 °С) протягом 45 хв.

Таблиця 1

Досліджувані речовини-хемоефектори для бульбочкових бактерій гороху посівного

Вуглеводи	Органічні кислоти	Амінокислоти	
Глюкоза	Аскорбат	Аланін	Лейцин
Маніт	Винна кислота	Аспарагінова кислота	Лізин
Сахароза	Малат	Аргінін	Метіонін
	Піруват	Валін	Серин
	Сукцинат	Гістидин	Тирозин
	Цитрат	Гліцин	Фенілаланін
		Глутамінова кислота	Цистеїн

Здатність бульбочкових бактерій гороху посівного до хемотаксису визначали на чашках із напіврідким середовищем [3, 7] наступного складу, г/л: K_2HPO_4 – 0,5; $MgSO_4$ – 0,2; NaCl – 0,1; глюконат кальцію – 2,0; агар – 5,0; рН 6,7. Середовище автоклаували при

температурі 120 °С і тиску 1 атм. протягом 45 хв. У чашку Петрі заливали 9 мл середовища, в яке додавали 1 мл 10 мМ розчину досліджуваної органічної речовини. В центр чашки після застигання агару вносили 20 мкл бактеріальної суспензії [7]. Як контроль використовували чашки без органічних речовин. Хемотаксисну реакцію визначали за міграцією клітин до периферії чашки у вигляді кільця при використанні субстрату бактеріальною культурою. Ефективність хемотаксису оцінювали за діаметром утвореної хемотаксисної зони (d), який виражали в мм [3].

Залежність хемотаксису від часу вивчали використовуючи 98-годинну суспензію бактерій, яку наносили на поверхню напіврідкого середовища. Через певні проміжки часу оцінювали зону розповсюдження бактерій.

Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою комп'ютерної програми MYNOVA [18], використовуючи критерій Стюдента. Дані подані як середнє \pm похибка середнього ($M \pm m$).

Результати та їх обговорення. Рослини виділяють у навколишнє середовище продукти життєдіяльності, які впливають на ґрунтову екосистему і створюють у прикореневій зоні певний алелопатичний фон, характерний для даної рослини [6, 8, 14]. Симбіотичні взаємодії бобових рослин із бульбочковими бактеріями є складним багатостадійним процесом, який завершується формуванням бобово-ризобіального симбіозу [4, 5]. Важливу роль у цьому відіграє хемотаксис бактерій до корневих виділень рослин. Бактерії реагують на виділення кореневої системи і скупчуються в ризосферній зоні товщиною близько 100 мкм [3, 4, 7]. До складу корневих виділень бобових рослин входять вуглеводи, амінокислоти, органічні кислоти і їх солі, спирти, ферменти, алкалоїди, флавоноїди та лектини [6, 8–10, 12, 14, 19–21]. Багато корневих виділень виступають хемоатрактантами для бульбочкових бактерій [23]. У процесі розвитку і функціонування симбіотичних взаємовідносин рослини-господаря і мікосимбіонта важлива роль належить фітогормонам (цитокініни, індоліл-3-оцтова кислота) [1] і вітамінам (біотин, тіамін) [15].

Бактерії роду *Rhizobium* виявляють позитивний хемотаксис до виділень кореня рослин і просуваються в певні місця локалізації на корінні бобових [21, 23]. Найбільш рухомими фракціями корневих виділень у ґрунті є амінокислоти, вуглеводи, органічні кислоти і їх солі. Дані сполуки є речовинами-хемоефекторами для мікроорганізмів.

Результати наших експериментів показали, що штами бактерій RRL1, RRL3, RRL6, RRL7 та *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* 245a позитивно реагують на дію більшості досліджуваних органічних речовин. Бактерії проявляли позитивний хемотаксис до глюкози, сахарози та маніту (табл. 2). Найбільш активним атрактантом серед цих вуглеводів для штамів RRL1, RRL3, RRL7 та 245a була сахароза. Діаметр хемотаксисної зони, утвореної бактеріями цих штамів при дії сахарози, був у 1,8–2,0 рази більший, порівняно з контролем. Активним атрактантом для бактерій штаму 245a була також глюкоза, в той час як інші штами проявляли до цієї речовини помірну хемотаксисну реакцію. Для бактерій штаму RRL6 найбільш ефективним хемоатрактантом виявився маніт, діаметр зони дифузії бактерій перевищував контроль у 1,3 рази.

Таблиця 2

Хемотаксис *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* до вуглеводів

Речовина	Діаметр хемотаксисних кілець (мм), утворених штамом				
	RRL1	RRL3	RRL6	RRL7	245a
Контроль	18,8 \pm 1,4	18,0 \pm 1,5	20,0 \pm 1,6	20,3 \pm 0,3	14,3 \pm 0,5
Глюкоза	26,0 \pm 3,1 ³	23,8 \pm 0,4 ³	23,1 \pm 0,4	25,4 \pm 2,9 ¹	24,8 \pm 1,3 ⁵
Маніт	22,2 \pm 2,1	24,6 \pm 1,7 ³	26,9 \pm 1,4 ²	30,0 \pm 2,7 ⁴	16,9 \pm 2,8
Сахароза	37,0 \pm 3,0 ⁵	31,8 \pm 2,7 ⁴	23,2 \pm 0,9	35,8 \pm 5,2 ⁴	25,2 \pm 2,8 ⁴

Примітка: ¹ значення достовірно відмінне від контролю з $P < 0,05$; ² $P < 0,01$; ³ $P < 0,025$; ⁴ $P < 0,005$; ⁵ $P < 0,001$, $n = 3-6$.

Серед органічних кислот активними атрактантами для всіх досліджуваних штамів бульбочкових бактерій були піруват та винна кислота (табл. 3). Діаметр хемотаксисної зони, утвореної бактеріями у присутності цих речовин, перевищував контрольне зна-

чення для штаму RRL1 у 1,5 і 1,6 рази, для RRL3 у 1,5 і 1,4 рази, для RRL6 у 1,6 і 1,5 рази, для RRL7 у 1,3 і 1,2 рази та для 245а у 1,5 і 1,9 рази відповідно. Для азотфікуючих бактерій штаму RRL1, RRL3 та 245а активним атрактантом був також аскорбат. Діаметр зони розповсюдження бактерій при дії аскорбату був у 1,7–2,0 рази більший, порівняно з контролем. Штами RRL6 і RRL7 до даної речовини хемотаксисної активності не проявляли. Для бактерій штамів RRL3, RRL6 і RRL7 не спостерігали хемотаксисної реакції до цитрату, тоді як штами RRL1 та 245а проявляли позитивну хемотаксисну реакцію до даної речовини. Діаметр хемотаксисної зони перевищував контроль у 1,2 і 1,3 рази відповідно. Активним атрактантом для штамів RRL1, RRL3, RRL7 та 245а був малат, в той час як бактерії штаму RRL6 до даної речовини хемотаксисної активності не виявляли. Бактерії штамів RRL1, RRL7 і 245а характеризувались сильнішою хемотаксисною активністю до сукцинату. У штамів RRL3 та RRL6 до даної речовини хемотаксисної реакції не спостерігали.

Таблиця 3

Хемотаксис *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* до органічних кислот

Речовина	Діаметр хемотаксисних кілець (мм), утворених штамом				
	RRL1	RRL3	RRL6	RRL7	245а
Контроль	18,8 ± 1,4	18,0 ± 1,5	20,0 ± 1,6	20,3 ± 0,3	14,3 ± 0,5
Аскорбат	37,1 ± 2,8 ⁵	33,2 ± 4,2 ⁴	16,6 ± 3,0	22,7 ± 2,4	24,5 ± 0,6 ⁵
Винна кислота	30,5 ± 0,8 ⁵	25,2 ± 3,5 ¹	29,3 ± 2,5 ²	25,0 ± 2,0 ³	26,9 ± 0,8 ⁵
Малат	23,3 ± 0,2 ³	24,3 ± 2,7 ¹	22,9 ± 2,2	27,0 ± 1,0 ⁵	24,3 ± 1,5 ⁵
Піруват	27,8 ± 1,9 ⁴	26,3 ± 0,9 ⁴	32,3 ± 3,0 ⁴	26,3 ± 0,9 ⁵	21,5 ± 1,5 ⁵
Сукцинат	27,9 ± 1,1 ⁴	19,2 ± 1,1	22,7 ± 1,9	24,6 ± 2,0 ³	20,6 ± 0,4 ⁵
Цитрат	23,4 ± 1,2 ¹	19,3 ± 2,1	22,7 ± 2,0	21,8 ± 2,9	18,9 ± 1,3 ⁴

Примітка: ¹ значення достовірно відмінне від контролю з $P < 0,05$; ² $P < 0,025$; ³ $P < 0,025$; ⁴ $P < 0,005$; ⁵ $P < 0,001$, $n = 3-6$.

За хемотаксисом до амінокислот бульбочкові бактерії досліджуваних нами штамів також відрізнялися (табл. 4). Так, для штаму RRL1 найбільш вираженою хемотаксисна реакція була на гліцин, серин, тирозин і цистеїн. Діаметр хемотаксисної зони, утвореної бактеріями у 2,3, 2,6, 2,2 та 2,0 рази відповідно перевищував контроль. Для штаму RRL3, подібно до штаму RRL1, активним атрактантом виступав серин, цистеїн і лізин, діаметр зони дифузії був у 1,9–2,3 рази більший, порівняно з контролем. Штам RRL7 найбільшу хемотаксисну активність проявляв до аланіну і цистеїну. Бактерії штаму RRL6 та 245а проявляли помірну хемотаксисну реакцію на дію всіх амінокислот. Сильнішими атрактантами для бактерій штаму RRL6, були аланін, лізин, серин, тирозин і цистеїн, а для штаму 245а – валін, гістидин та серин. Подібною у всіх штамів бактерій була і хемотаксисна відповідь на дію аспарагінової і глютамінової кислот. Діаметр хемотаксисної зони для цих речовин перевищував контроль у 1,4–2,0 рази. Неактивною речовиною для штамів RRL1, RRL3 виявився феніланін, а для штамів RRL7 та 245а – аргінін та метіонін відповідно. Проте, для бактерій штаму RRL6 дані речовини виступали атрактантами, діаметр утвореної зони дифузії бактерій перевищував контроль в 1,8, 1,7 і 1,3 рази відповідно. Подібною у всіх досліджуваних штамів бактерій була хемотаксисна реакція на лейцин, де діаметр хемотаксисної зони у 1,4–1,8 рази перевищував контроль.

Подані вище дані збігаються з даними, одержаними Кириченко О.В. Так, було показано, що для бактерій люпину атрактантами є винна кислота, аланін і тирозин [7]. Для всіх штамів бульбочкових бактерій гороху, досліджуваних нами, винна кислота також була активним атрактантом. Проте до дії тирозину більшу хемотаксисну активність проявляли бактерії штаму RRL1, до аланіну – RRL7, у той час як RRL6 до – обох речовин одночасно.

Хемотаксис *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* до амінокислот

Речовина	Діаметр хемотаксисних кілець (мм), утворених штамом				
	RRL1	RRL3	RRL6	RRL7	245a
Контроль	18,8 ± 1,4	18,0 ± 1,5	20,0 ± 1,6	20,3 ± 0,3	14,3 ± 0,5
Аланін	26,8 ± 1,4 ⁴	27,1 ± 1,2 ⁴	35,2 ± 2,0 ⁵	46,3 ± 6,0 ⁵	23,8 ± 2,6 ⁵
Аспарагінова кислота	33,7 ± 1,5 ⁵	32,6 ± 1,2 ⁵	29,8 ± 2,2 ⁴	30,1 ± 2,1 ⁵	28,3 ± 3,1 ⁵
Аргінін	33,7 ± 0,7 ⁵	25,2 ± 1,4 ²	34,1 ± 3,7 ⁴	21,8 ± 3,4	25,5 ± 1,8 ⁵
Валін	33,2 ± 1,7 ⁵	31,2 ± 0,6 ⁵	25,7 ± 2,8 ¹	35,3 ± 0,4 ⁵	29,4 ± 2,0 ⁵
Гістидин	30,0 ± 0,3 ⁵	26,8 ± 0,4 ⁴	30,5 ± 1,7 ⁵	29,2 ± 1,5 ⁵	26,8 ± 2,1 ⁵
Гліцин	42,3 ± 4,8 ⁵	32,2 ± 1,5 ⁵	33,7 ± 3,4 ⁴	26,9 ± 1,8 ⁴	27,2 ± 1,1 ⁵
Глутамінова кислота	27,9 ± 0,6 ⁴	29,2 ± 3,1 ⁴	28,1 ± 2,5 ³	35,0 ± 4,3 ⁴	25,0 ± 3,5 ⁴
Лейцин	27,7 ± 2,0 ⁴	26,3 ± 2,7 ³	27,0 ± 0,9 ²	28,2 ± 4,2 ³	25,9 ± 2,9 ⁴
Лізін	31,3 ± 1,9 ⁵	35,1 ± 3,4 ⁵	32,3 ± 4,7 ³	26,3 ± 2,4 ³	27,4 ± 2,0 ⁵
Метіонін	31,9 ± 1,3 ⁵	28,3 ± 1,7 ⁴	26,4 ± 1,4 ³	30,7 ± 4,1 ²	16,5 ± 1,32
Серин	49,0 ± 3,2 ⁵	41,6 ± 7,2 ⁴	33,3 ± 4,0 ⁴	35,1 ± 3,2 ⁵	30,3 ± 0,9 ⁵
Тирозин	41,2 ± 0,9 ⁵	27,4 ± 2,94 ²	38,3 ± 1,40 ⁵	27,8 ± 3,1 ³	24,6 ± 1,5 ⁵
Фенілаланін	20,3 ± 1,2	21,2 ± 1,36	34,9 ± 3,8 ⁴	23,4 ± 2,0 ¹	28,0 ± 1,5 ⁵
Цистеїн	38,4 ± 2,3 ⁵	34,2 ± 2,32 ⁵	31,8 ± 2,5 ⁴	40,1 ± 2,3 ⁵	23,0 ± 0,6 ⁵

Примітка: ¹значення достовірно відмінне від контролю з $P < 0,05$; ² $P < 0,01$, ³ $P < 0,025$, ⁴ $P < 0,005$, ⁵ $P < 0,001$, $n = 3-6$.

Амінокислоти – найбільш вивчені хемоефектори для більшості мікроорганізмів. Для кожного виду характерний певний набір атрактантів і репелентів із числа амінокислот. Так, для бактерій *Azospirillum brasilense*, які створюють асоціації зі злаками, показано, що всі амінокислоти, які входять до складу корневих виділень пшениці, є активними атрактантами для цих бактерій. *Bacillus subtilis* і *Rhizobium meliloti* виявляли позитивний хемотаксис до всіх L-амінокислот [3, 7]. Відомо, що проростки гороху виділяють 23 амінокислоти [2, 6]. При цьому показана суттєва роль аспарагінової і глутамінової кислот як атрактантів для бульбочкових бактерій гороху [6]. В проведених нами дослідженнях штамми бульбочкових бактерій гороху проявляли позитивний хемотаксис до більшості використаних амінокислот, в тому числі до аспарагінової і глутамінової кислот. Проте найсильнішими атрактантами для всіх досліджуваних штамів виявилися серин та цистеїн. Водночас, хемотаксисна активність бактерій до деяких амінокислот була селективною, зокрема до аргініну, метіоніну і фенілаланіну. В дослідженнях Кириченко О.В. [7] також була показана специфічність дії органічних речовин відносно певних штамів бактерій люпину.

Для вивчення залежності хемотаксису від концентрації речовин використовували бактерії штаму RRL1 і речовини, які були найсильнішими атрактантами для них (аскорбат, серин і сахарозу). Для позитивного хемотаксису даних бактерій оптимальними були концентрації серину 0,5, 1,0, 2,5 і 5,0 мМ (рис. 1). Діаметр зони поширення бактерій складав при цьому 34, 49, 54 і 35 % від контролю. Зі збільшенням концентрації серину діаметр зони розповсюдження бактерій поступово знижувався. Так, при концентрації 25,0 мМ і 50,0 мМ серину діаметр хемотаксисної зони був нижчий відносно контрольних значень на 52 і 21 % відповідно. Як видно з рис. 2, при концентраціях аскорбату 0,5, 1,0 і 2,5 мМ також відбувалося збільшення діаметру зони дифузії бактерій. Концентрації 10,0, 25,0 і 50,0 мМ пригнічували хемотаксисну активність бактерій. Показано, що сахароза у концентраціях 1,0 і 2,5 мМ суттєво не впливала на хемотаксисну активність бактерій (рис. 3). Діаметр зони дифузії при 0,5, 5,0 і 10,0 мМ сахарози в середовищі перевищував такий у контролі на 40, 57 і 46 % відповідно. Високі концентрації сахарози, подібно

до серину та аскорбату, також пригнічували хемотаксисну активність бактерій. Таким чином, хемотаксисна активність бактерій залежить від концентрації атрактантів у середовищі.

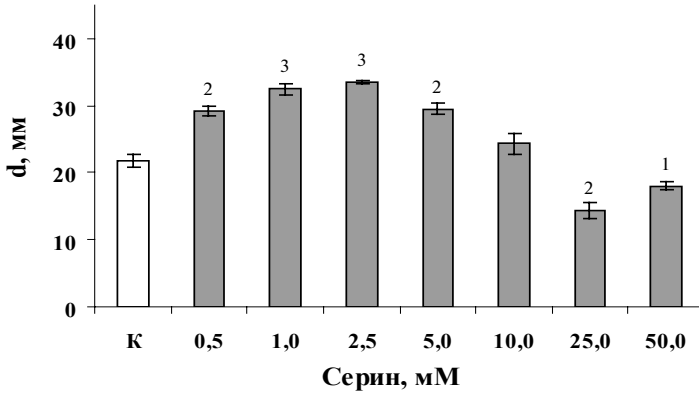


Рис. 1. Залежність хемотаксису *Rhizobium leguminosarum* bv. *vicia* RRL1 від концентрації серину. Значення діаметру зон поширення бактерій (d, мм) достовірно відмінне від контролю з ¹ P<0,025; ² P<0,005; ³ P<0,001; n=3

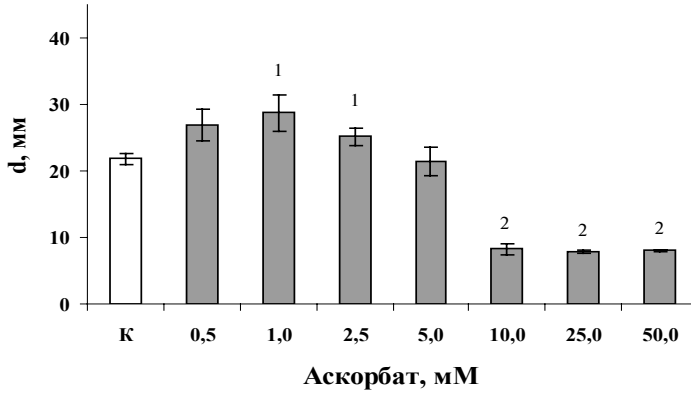


Рис. 2. Залежність хемотаксису *Rhizobium leguminosarum* bv. *vicia* RRL1 від концентрації аскорбату. Значення діаметру зон поширення бактерій (d, мм) достовірно відмінне від контролю з ¹ P<0,05; ² P<0,01; n=3

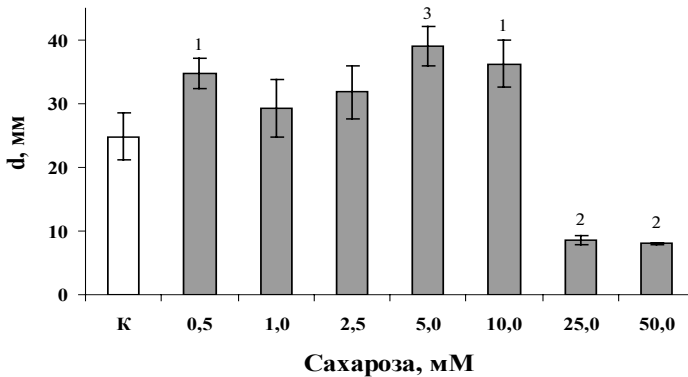


Рис. 3. Залежність хемотаксису *Rhizobium leguminosarum* bv. *vicia* RRL1 від концентрації сахарози. Значення діаметру зон поширення бактерій (d, мм) достовірно відмінне від контролю з ¹ P<0,05; ² P<0,01 ³ P<0,025; n=3

Дослідження залежності хемотаксису бактерій штаму RRL1 від часу росту на середовищі з хемоатрактантом показало, що діаметр хемотаксисної зони бактерій зростає до сьомої доби культивування бактерій, після чого він практично не змінювався (рис. 4).

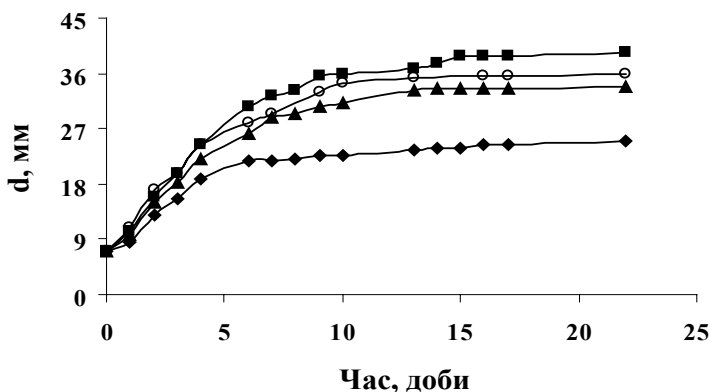


Рис. 4. Залежність хемотаксису *Rhizobium leguminosarum* *bv. vicia* RRL1 від часу інкубації. Діаметр хемотаксисних зон (d, мм): ◆ – контроль, ■ – серин, ▲ – аскорбат, ○ – сахароза. n=3–4

Отже, хемотаксисна активність бульбочкових бактерій гороху залежить від часу їх росту і концентрації атрактантів у середовищі. Бульбочкові бактерії *Rh. leguminosarum* *bv. vicia* RRL1, RRL3, RRL6 і RRL7 відрізняються за хемотаксисною активністю щодо вуглеводів, органічних кислот та амінокислот, що свідчить про штамову специфічність і може впливати на активність утворення бобово-ризобіального симбіозу.

У.Я. Стамбульська, В.І. Луцук

Кафедра біохімії, Прикарпатський національний університет ім. В. Стефаника, ул. Шевченка, 57, Івано-Франківськ, 76025, Україна

ХЕМОТАКСИС *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* *BV. VICIAE* К ОРГАНИЧЕСКИМ ВЕЩЕСТВАМ

Резюме

В данной работе изучали хемотаксис клубеньковых бактерий гороха *Rhizobium leguminosarum* *bv. vicia* RRL1, RRL3, RRL6 і RRL7, выделенных на территории Ивано-Франковской области, на действие различных органических веществ. Среди углеводов и органических кислот активными аттрактантами для всех исследуемых штаммов клубеньковых бактерий были сахароза, пируват и винная кислота. Относительно аминокислот, то наиболее выраженной хемотаксисная реакция была к серину, аланину, глицину, тирозину и цистеину. Обнаружено, что хемотаксисная активность клубеньковых бактерий гороха зависит от времени их роста и концентрации аттрактантов в среде. Для различных изолятов клубеньковых бактерий *Rhizobium leguminosarum* *bv. vicia* существует определенная специфичность по отношению к действию органических веществ.

Ключевые слова: *Rhizobium leguminosarum* *bv. vicia*, хемотаксис, органические вещества.

U. Ya. Stambulska, V. I. Lushchak

Department of Biochemistry, Vassyl Stefanyk Precarpathian National University, Ivano-Frankivsk

CHEMOTAXIS OF *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* *BV. VICIAE* TO ORGANIC SUBSTANCES

Summary

The chemotaxis of nodule bacteria cultures of pea *Rhizobium leguminosarum* *bv. vicia* RRL1, RRL3, RRL6 і RRL7 isolated from the plants of Ivano-Frankivsk district to different organic substances was investigated. Saccharose, pyruvate and tartaric acid were the most active attractants among carbohydrates and organic acids studied for all used nodule bacteria strains. Serine, alanine, glycine, tyrosine and cysteine were the most active attractants of amino acids. Dependence of pea nodule bacteria chemotactic activity on time of growth and attractant concentrations was revealed. The isolate specificity towards organic substances for different strains of *Rhizobium leguminosarum* *bv. vicia* was found.

The paper is presented in Ukrainian.

Key words: *Rhizobium leguminosarum* bv. *vicia*, chemotaxis, organic substances.

The author's address: V.I. Lushchak, Department of Biochemistry, Vassyl Stefanyk Precarpathian National University; 57 Shevchenko St., Ivano-Frankivsk, 76025, Ukraine.

1. Акимова Г.П., Соколова М.Г., Нечаева Л.В., Лузова Г.Б., Сидорова К.К. Роль ИУК и пероксидазы в инфицировании ризобиями растений гороха с разной степенью нодуляции // Физиология и биохимия культ. растений. – 2005. – 37, № 1. – С. 58–65.
2. Берестецкий О.А., Кравченко Л.В. Выделения свободных аминокислот прорастающими семенами пшеницы и гороха // Физиология растений. – 1980. – 27, № 2. – С. 419–422.
3. Жулин И.Б., Игнатов В.В. Хемотаксис у *Azospirillum brasilense* по отношению к аминокислотам // Микробиология. – 1986. – 55, № 2. – С. 340–342.
4. Завальский Л.Ю. Хемотаксис бактерий // Соросовский образовательный журнал. – 2001. – 7, № 9. – С. 23–29.
5. Кириченко Е.В. Механизмы ингибирующего влияния минерального азота на процесс формирования бобово-ризобияльной системы // Физиология и биохимия культ. растений. – 2001. – 33, № 2. – С. 95–104.
6. Кириченко Е.В. Взаимоотношения бобовых растений и клубеньковых бактерий на уровне доконтактных взаимодействий при формировании азотфиксирующих систем // Физиология и биохимия культ. растений. – 2002. – 34, № 2. – С. 95–102.
7. Кириченко Е.В. Изучения хемотаксиса клубеньковых бактерий люпина к органическим веществам // Микробиол. журн. – 2005. – 67, № 3. С. 19–26.
8. Кириченко Е.В., Титова Л. В. Влияние экзогенного лектина сои на развитие и азотфиксирующую активность корневых клубеньков и диазотрофных микроорганизмов в ризосферной зоне растений // Физиология и биохимия культ. растений. – 2005. – 37, № 2. – С. 139–146.
9. Кириченко Е.В., Титова Л.В., Жемойда А.В., Омельчук С.В. Влияние лектинов бобовых растений разной специфичности на развитие проростков сельскохозяйственных культур // Физиология и биохимия культ. растений. – 2004. – 36, № 5. – С. 391–397.
10. Коць С.Я., Михалків Л.М., Мандровська Н.М., Косенко Л.В., Затовська Т.В. Вплив глюкану *Sinorhizobium meliloti* на утворення та функціонування азотфіксуючих симбіотичних систем люцерни за різного водозабезпечення // Физиология и биохимия культ. растений. – 2002. – 34, № 5. – С. 413–418.
11. Курдиш И.К., Антонюк Т.С., Чуйко Н.В. Влияние некоторых факторов внешней среды на хемотаксис *Bradyrhizobium japonicum* // Микробиология. – 2001. – 70, № 1. – С. 106–110.
12. Макарова Л.Е., Акимова Г.П., Соколова М.Г., Рудиковская Е.Г., Лузова Г.Б. Эндогенные фенольные соединения как регуляторы проникновения и размножения *Rhizobium* при инфицировании корней гороха // Физиология и биохимия культ. растений. – 2003. – 35, № 3. – С. 234–240.
13. Маліченко С.М., Маменко П.М., Коць С.Я. Вплив різних за активністю штамів роду *Bradyrhizobium* на динаміку лектинової активності корневих бульбочок і функціонування азотфіксувального апарату люпину // Физиология и биохимия культ. растений. – 2002. – 34, № 6. – С. 511–516.
14. Пуда С.В., Машковська С.П. Кореневі виділення: хімічний склад, значення в алелопатії та перспективи використання // Агроекологічний журнал. – 2003. – № 3. – С. 47–51.
15. Пузік В.К. Видова та сортова специфічність корневих виділень хлібних злаків за вмістом вітамінів групи В та інозиту // Физиология и биохимия культ. растений. – 2002. – 34, № 4. – С. 333–335.
16. Тихонович И.А., Прохорова Н.А. *Rhizobiaceae*, молекулярная биология бактерий взаимодействующих с растениями. – Санкт-Петербург, 2002. – 567 с.
17. Чуйко Н.В., Антонюк Т.С., Курдиш И.К. Влияние экстрактивных веществ семян сои на хемотаксис *Bradyrhizobium japonicum* // Бюл. ИСГМ, Чернівці. – 2000. – № 6. – С. 48–49.
18. Brooks S.P.J. A simple computer program with statistical test for the analysis of enzyme kinetics // BioTechniques. – 1992. – 13. – P. 909–911.
19. Dakora F.D., Joseph C.M., Philips D.A. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) root exudates contain isoflavonoids in the presence of *Rhizobium meliloti* // Plant Physiol. – 1993 – 101. – P. 819–824.
20. Parke D., Revelli M., Ornston L.N. Chemotaxis to aromatic and hydroaromatic acids: comparison of *Bradyrhizobium trifolii* // Journal of Bacteriology. – 1985 – 163, N 2. – P. 417–422.
21. Rhijn P, Vanderleyden J. The *Rhizobium*-Plant Symbiosis // Microb. Rev. – 1995 – 59, N 1. – P. 124–142.
22. Walker T.S., Bais H.P., Grotewold E., Vivanco J.M. Root exudation and rhizosphere biology // Plant Physiol. – 2003 – 132. – P. 44–51.
23. Yost Ch.K., Clark K.T., Del Bel K.L., Hynes M.F. Characterization of the nodulation plasmid encoded chemoreceptor gene *mcpG* from *Rhizobium leguminosarum* // BMC Microbiology. – 2003 – 3, N 1. – P. 1471–1480.

Отримано 05.02.2008