

УДК 579.262:579.253.4:581.138.1

АКТИВНІСТЬ КАТАЛАЗИ У КОРЕНЯХ І БУЛЬБОЧКАХ СОЇ, ІНОКУЛЬОВАНОЇ TN5-МУТАНТАМИ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*

Н.М. МАНДРОВСЬКА, О.Д. КРУГОВА, В.М. ВАСИЛЮК, С.Я. КОЦЬ

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України,
Україна, 03022, Київ, вул. Васильківська, 31/17,
e-mail: vasyliuk@mail.ru

*Протягом вегетації досліджували показники ефективності симбіозу (нагромадження вегетативної маси, кількість і масу бульбочок, їхню азотфіксувальну активність) рослин сої за інокуляції вихідним і Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* 646. Встановлено, що Tn5-мутанти розрізнялися як за вірулентністю, так і за активністю симбіозу. Показано, що активність антиоксидантного ферменту каталази у коренях сої, інокульованої різними за активністю Tn5-мутантами, змінювалась протягом вегетації і досягала максимуму у фазу цвітіння рослин. Встановлено, що каталазна активність бульбочок пов'язана з активністю мікросимбіонта: рівень її при інокуляції активними Tn5-мутантами був у 1,6–2 рази вищим, ніж у бульбочках при формуванні малоефективного симбіозу.*

Ключові слова: симбіоз, соя, Tn5-мутанти ризобій, каталаза.

Вступ. Каталаза – антиоксидантний фермент, що захищає аеробну клітину від токсичної дії пероксиду водню. Останній утворюється під час перебігу біохімічних реакцій із активних форм кисню у реакції дисмутації і продукту одноелектронного відновлення супероксидного радикал-аніона O_2^- [1].

У літературі є дані про участь активних форм кисню і антиоксидантних ферментів у регуляції інфекційного і нодуляційного процесів у взаємодії макро- та мікросимбіонтів [2]. Існує припущення, що активні форми кисню, можливо, виконують подвійну роль як прямих бактеріальних інгібіторів, так і сигнальних молекул, які включають захисні системи рослин. Роль активних форм кисню та антиоксидантних ферментів вивчені як на ранніх етапах формування бобово-ризобіального симбіозу, так і на більш пізніх стадіях функціонування [3–5].

Каталаза компартована у спеціальних мікротільцях – пероксиосомах [6]. Синтез ферменту індукується субстратом, тому для прояву

© Н.М. МАНДРОВСЬКА, О.Д. КРУГОВА, В.М. ВАСИЛЮК, С.Я. КОЦЬ, 2008

його каталітичної функції потрібна досить висока кількість пероксиду водню [7]. Існує припущення, що збільшення розміру інфікованої зони макросимбіонта суттєво підвищує активність окисно-відновних процесів, які супроводжуються утворенням активних форм кисню, у тому числі і пероксиду водню. Каталаза ж, як антиоксидантний фермент, бере участь у його детоксикації.

За даними Жизневської зі співавт. [4], активність каталази пов'язана із активністю симбіотичної азотфіксації у кореневих бульбочках бобових. Автори вивчали динаміку каталазної активності бульбочок у зв'язку з інокуляцією рослин ефективними або неефективними штамми бульбочкових бактерій кормових бобів. Встановлено, що активність цього ферменту підвищена у кореневих бульбочках при ефективному симбіозі. За висновками авторів, висока активність одного із антиоксидантних ферментів – каталази є необхідною умовою активного функціонування симбіотичних систем бобової рослини – бульбочкової бактерії.

Наведені літературні дані активності ферменту каталази стосуються, в основному, симбіозу, утвореного виробничими штамми бульбочкових бактерій. Дані щодо активності цього ферменту у симбіозі із мутантами ризобій малочисленні.

Метою нашої роботи було дослідити участь каталази у функціонуванні симбіотичних систем, утворених різними за азотфіксувальною активністю транспозоновими мутантами бульбочкових бактерій сої.

Матеріали і методи

Рослини сої сорту Мар'яна вирощували у посудинах Вагнера об'ємом 13 кг на піщаному субстраті на фоні 0,25 н. азоту (у формі $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 7\text{H}_2\text{O}$)

за Гельригелем. Насіння перед посівом стерилізували 70% етиловим спиртом, промивали стерильною водою, потім інокулювали суспензіями Tn5-мутантів *Bradyrhizobium japonicum* 646, отриманих в Інституті фізіології рослин і генетики НАН України [8] методом транспозонового мутагенезу із використанням плазміди pSUP2021 [9]. Контролем були рослини, інокульовані активним вихідним штамом 646. У досліді використані активні Tn5-мутанти 21-2, 9-1, 17-2 і малоактивні 35-2, 107, 113, 118-8. Титр суспензій $10^7 - 10^8$ кл./мл. Відбір рослин проводили тричі за вегетацію, а саме у фазах 3-х справжніх листків, бутонізації та цвітіння. Повторність дослідів 8-разова. Обліковували кількість та масу утворених бульбочок. Азотфіксувальну активність визначали ацетиленовим методом [10] на газовому хроматографі Chrom-504 (Польща).

Для визначення активності каталази використовували методику Френсіса і Александера [11]. Каталазну активність у динаміці визначали при співвідношенні наважка рослинного матеріалу – об'єм буфера як 1:10 – для коріння та 1:25 – для бульбочок. Реакцію розкладення H_2O_2 каталазою проводили протягом 5 хв і припиняли додаванням водного розчину H_2SO_4 в об'ємному співвідношенні 1:9 [3]. Активність ферменту виражали у мікромолях H_2O_2 , розкладеного за 1 хв з розрахунку на 1 г сирової маси. Результати обраховували статистично за Доспеховим [12].

Результати та обговорення

Досліджувані транспозонові мутанти бульбочкових бактерій сої по-різному впливали на накопичення зеленої маси у рослин. Встановлено, що у фазу 3-х справжніх листків у сої надземна

Таблиця 1. Вплив Tn5-мутантів *Bradyrhizobium japonicum* 646 на наростання надземної маси

Варіант	Фаза розвитку					
	3 справжніх листки		Бутонізація		Цвітіння	
	надземна маса	% до контролю	надземна маса	% до контролю	надземна маса	% до контролю
Штам 646 (контроль)	6,33 ± 0,35	100	11,52 ± 0,27	100	15,39 ± 0,89	100
Tn5-мутант						
21-2	7,07 ± 0,22	112	13,26 ± 0,27	115	17,38 ± 0,46	113
9-1	7,06 ± 0,30	112	12,08 ± 0,48	105	16,31 ± 1,39	106
17-2	7,28 ± 0,37	115	13,33 ± 0,53	116	16,19 ± 1,28	105
35-2	5,25 ± 0,40	83	8,75 ± 0,65	76	13,41 ± 0,86	87
107	5,56 ± 0,20	88	9,23 ± 0,59	80	9,46 ± 0,72	61
113	5,33 ± 0,29	84	8,24 ± 0,23	72	9,16 ± 0,56	60
118-8	5,11 ± 0,32	81	7,29 ± 0,29	63	8,98 ± 0,77	58

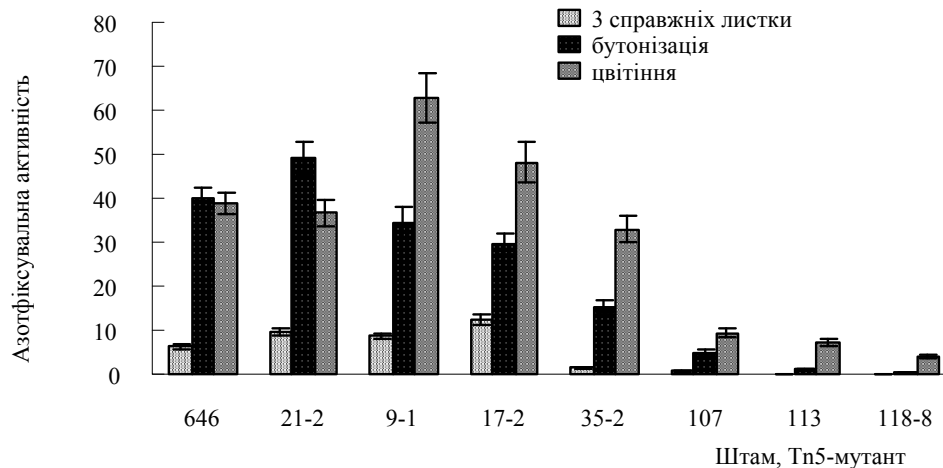


Рис. 1. Динаміка загальної азотфіксувальної активності (µмоль C₂H₄/(рослину × год)) корених бульбочок сої, інокульованої Tn5-мутантами *B. japonicum* 646

маса у варіантах при інокуляції мутантами 212, 9-1 і 17-2 перевищувала контрольний варіант на 11–15 % (табл. 1). У цю фазу розвитку рослин найвищі показники вегетативної маси зафіксовані у варіанті з інокуляцією мутантом 17-2. Необхідно зазначити, що азотфіксувальна активність бульбочок у цьому варіанті досліджу була також найвищою (рис. 1). Порівняно із контрольним варіантом інокуляція насіння Tn5-мутантами 107, 113, 35-2 і 118-8

призвела до зниження вегетативної маси рослин сої у фазу 3-х справжніх листків, як видно із даних, наведених у табл. 1. Таке співвідношення за масою між контрольним і дослідним варіантами зберігалось до кінця спостережень. У фазу цвітіння значне відставання у розвитку рослин спостерігали у варіантах із обробкою мутантами 107, 113 і, особливо, 118-8.

Чисельність і маса утворених на коренях бульбочок також є важливими

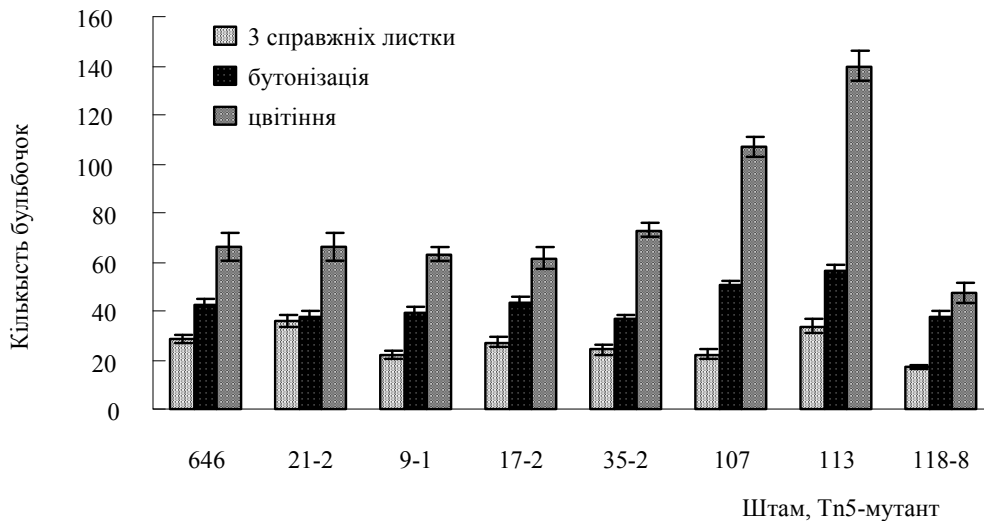


Рис. 2. Кількість бульбочок (шт./рослину) на коренях сої під впливом інокуляції Tn5-мутантами *B. japonicum* 646

показниками ефективності симбіозу. За результатами наших досліджень кількість бульбочок у рослин сої усіх варіантів зростала в онтогенезі (рис. 2). Так, у фазу 3-х справжніх листків найвірулентнішими серед досліджуваних транспозонових мутантів були 113 і 21-2, при інокуляції якими бульбочкоутворення підвищувалось на 17–25 % порівняно із бактеризацією вихідним штамом *B. japonicum* 646. Усі інші досліджувані Tn5-мутанти у цю фазу характеризувалися нижчою нодуляційною активністю, ніж вихідний штам.

Проте результати досліджень свідчать, що за масою сформованих бульбочок у фазу 3-х справжніх листків мутанти 21-2, 9-1, 17-2 значно перевищували контрольний варіант (рис. 3). Бульбочки, індуковані цими мутантами, були розташовані, в основному, у базальній частині кореня, мали більші розміри порівняно із бульбочками, утвореними іншими мутантами.

У фази бутонізації і цвітіння за ознакою вірулентності найактивнішими

були Tn5-мутанти 107 і 113 (рис. 2). Так, у фазу цвітіння при їхньому використанні для інокуляції кількість дрібних бульбочок на коренях сої була у 1,6–2,1 раза вищою за контрольний варіант, але за масою бульбочок (рис. 3) вони значно відставали від вихідного штаму та інших досліджуваних мутантів. Транспозоновий мутант 118-8 упродовж усього періоду досліджень спричиняв утворення бульбочок значно меншої маси порівняно з іншими варіантами (рис. 3).

Із літератури відомо, що лише деякі гени вірулентності є спільними для всіх видів ризобій, тоді як більшість із них – видо- або штамоспецифічні, вони контролюють структурні модифікації Nod-факторів, що визначають специфічність їхньої морфогенетичної дії на рослину. Тобто зміни нодуляційної активності бульбочкових бактерій щодо рослини-господаря можуть бути спричинені мутаціями генів вірулентності ризобій [13].

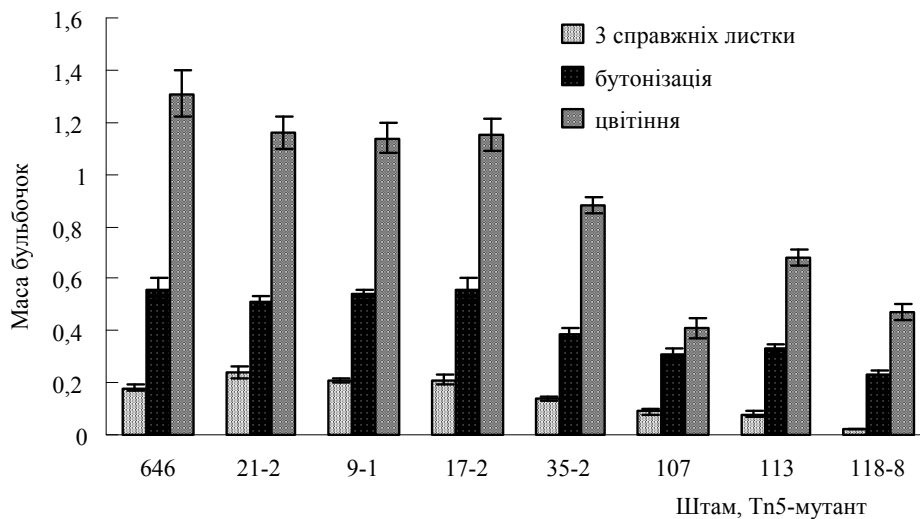


Рис. 3. Маса бульбочок (г/рослину) на коренях сої під впливом інокуляції різними Tn5-мутантами *V. japonicum* 646

Для оцінки ефективності функціонування симбіотичних систем важливим показником є азотфіксувальна активність корневих бульбочок. Встановлено, що протягом вегетації бульбочки, утворені Tn5-мутантами 21-2, 9-1 і 17-2, характеризувалися підвищеними показниками загальної азотфіксувальної активності. Встановлено, що у мутантів 9-1 і 17-2 так само, як і у вихідного штаму *V. japonicum* 646 пік азотфіксувальної активності припадає на фазу цвітіння, тоді як у мутанта 21-1 – на фазу бутонізації (рис. 1).

Інокуляція іншими мутантами (35-2, 107, 113, 118-8) призвела до значного зниження нітрогеназної активності бульбочок протягом усього досліджуваного періоду. Відомо, що між нодуляційною здатністю бульбочкових бактерій та їхньою азотфіксувальною активністю не завжди існує прямий зв'язок. Підтвердженням цього є дані, отримані нами при інокуляції рослин сої високовірулентними Tn5-мутантами 107 і 113, які характеризувалися низь-

кою ацетиленовідновлювальною активністю протягом усього періоду досліджень. Встановлено збільшення азотфіксувальної активності бульбочок у фазу бутонізації у рослин, інокульованих Tn5-мутантом 21-2 (рис. 2).

Таким чином, досліджувані мутанти розрізнялися як за вірулентністю, так і за ознакою азотфіксувальної активності, тобто утворювали симбіотичні системи різної ефективності.

Соя належить до рослин із уреїдним типом азотного обміну, тобто симбіотично фіксований азот надходить у надземні органи у формі уреїдів – алантоїну і алантоїнової кислоти [14]. Синтез алантоїну за участю ферменту урикази супроводжується виділенням пероксиду водню, у детоксикації якого бере участь каталаза. Тому активність цього окисно-відновного ферменту у сої пов'язана з інтенсивністю азотфіксації.

Одержані нами дані свідчать про високу активність каталази у коренях та бульбочках рослин сої, інокульованих

Таблиця 2. Каталазна активність (мкмоль H_2O_2 /(г маси сирової речовини × хв)) коренів сої, інокульованої різними за активністю Тп5-мутантами *V. japonicum*

Варіант	Фаза розвитку					
	3 справжніх листки		Бутонізація		Цвітіння	
	каталазна активність	% до контролю	каталазна активність	% до контролю	каталазна активність	% до контролю
Штам 646 (контроль)	84 ± 4,1	100	130 ± 3,8	100	142 ± 3,3	100
Тп5-мутант						
21-2	132 ± 3,3	157	152 ± 3,6	117	220 ± 6,2	155
9-1	106 ± 4,2	126	142 ± 4,5	109	252 ± 7,2	177
17-2	116 ± 3,5	138	140 ± 5,2	108	180 ± 6,3	127
35-2	88 ± 2,9	105	128 ± 4,2	98	194 ± 5,8	137
107	96 ± 3,1	114	88 ± 2,7	68	184 ± 5,8	130
113	84 ± 2,6	100	110 ± 3,1	85	174 ± 3,0	122
118-8	98 ± 3,4	117	94 ± 1,9	72	107 ± 4,3	75

Таблиця 3. Каталазна активність (мкмоль H_2O_2 /(г маси сирової речовини × хв)) бульбочок сої, інокульованої Тп5-мутантами *V. japonicum*

Варіант	Фаза розвитку					
	3 справжніх листки		Бутонізація		Цвітіння	
	каталазна активність	% до контролю	каталазна активність	% до контролю	каталазна активність	% до контролю
Штам 646 (контроль)	124 ± 3,4	100	256 ± 7,3	100	128 ± 3,8	100
Тп5-мутант						
21-2	124 ± 4,1	100	232 ± 8,2	91	110 ± 4,1	86
9-1	110 ± 3,6	89	212 ± 9,1	83	110 ± 3,6	86
17-2	94 ± 3,1	76	304 ± 10,2	119	120 ± 5,2	94
35-2	76 ± 3,1	61	192 ± 7,4	75	112 ± 3,7	88
107	64 ± 2,7	52	120 ± 7,3	47	92 ± 3,1	72
113	76 ± 2,9	61	172 ± 8,6	67	66 ± 2,6	52
118-8	72 ± 3,6	58	160 ± 6,3	63	84 ± 3,9	66

вихідним штамом *V. japonicum* 646 та транспозоновими мутантами ризобій (табл. 2, 3). Посилення активності процесу фіксації атмосферного азоту в кореневій зоні рослин сої активізувало в цілому обмінні і окисно-відновні процеси, і, як наслідок, у різних органах рослини змінювався рівень антиоксидантних ферментів.

Дані про каталазну активність коренів сої при інокуляції різними за ак-

тивністю Тп5-мутантами *V. japonicum* 646 наведено у табл. 2. Встановлено, що у фазу 3-х справжніх листків у коренях рослин, інокульованих активними мутантами, активність ферменту була в межах 106–132 мкмоль H_2O_2 /г маси сирової речовини × хв, що на 26–57 % перевищувало його активність у варіанті з інокуляцією вихідним штамом 646. За даними Рейнолдса і співавт. [15], підвищення активності ка-

талази є однією з причин зниження в коренях вмісту пероксиду водню, що сприяло проникненню і розповсюдженню в них ризобій.

Найвищий рівень каталазної активності у коренях сої спостерігали у період цвітіння. Рівень активності ферменту підвищився у 1,1–2 рази порівняно з періодом вегетативного росту (фаза 3-х справжніх листків). У цю фазу розвитку рослин активність каталази у варіантах з обробкою активними Tn5-мутантами, особливо 21-2 і 9-1, становила 220–252 мкмоль H_2O_2 /г маси сирової речовини \times хв, що на 54–77 % перевищувала активність ферменту при інокуляції контрольним штамом.

У варіантах досліджу з інокуляцією високовірулентними, але малоефективними Tn5-мутантами (107, 113, 35-2) активність каталази була на рівні 174–194 мкмоль H_2O_2 /г маси сирової речовини \times хв і перевищувала контрольний варіант на 22–37 %. Корені сої у варіанті з інокуляцією Tn5-мутантом 118-8 характеризувалися найнижчою каталазною активністю. Припускається, що каталаза контролює рівень H_2O_2 у клітинах коренів сої і не допускає підвищення його інгібувальних концентрацій.

Каталазна активність кореневих бульбочок сої відрізнялась залежно від активності інокулянту. Найвищий рівень каталази у кореневих бульбочках виявлено у фазу бутонізації (табл. 3). Так, при інокуляції рослин ефективними Tn5-мутантами ризобій 21-2, 9-1 і особливо 17-2 каталазна активність була на рівні 212–304 мкмоль H_2O_2 на г маси сирової речовини \times хв. Рівень активності цього ферменту у бульбочках, утворених при інокуляції активними Tn5-мутантами, був у 1,6–2 рази вищим, ніж у бульбочках, сформованих малоефективними мутантами 107 і

113. У фазу цвітіння рослин каталазна активність бульбочок знижувалась, але різниця в активності ферменту між варіантами зберігалась.

Отже, одержані нами дані свідчать про те, що активність антиоксидантного ферменту – каталази пов'язана із активністю мікросимбіонта. Це положення має підтвердження у літературі і для інших бобових культур. Величина каталазної активності у бульбочках за даними авторів [5] відображає, з одного боку, метаболічні зміни, які відбуваються у клітинах кори кореня при інфікуванні їх бульбочковими бактеріями, а з іншого – ефективність симбіозу.

Таким чином, висока активність каталази є необхідною умовою функціонування симбіотичних систем бобових, інокульованих як штамми, так і Tn5-мутантами бульбочкових бактерій сої.

Висновки

Встановлено, що досліджувані Tn5-мутанти *V. japonicum* 646, отримані з використанням плазміди pSUP2021, розрізнялися як за вірулентністю, так і за показниками азотфіксувальної активності, тобто утворювали симбіотичні системи різної ефективності.

Показано, що активність антиоксидантного ферменту каталази у коренях сої, інокульованих різними за активністю Tn5-мутантами, змінювалась протягом вегетації, а пік її активності припадав на фазу цвітіння рослин.

Виявлено, що каталазна активність кореневих бульбочок, утворених Tn5-мутантами, пов'язана з активністю мікросимбіонта. Рівень активності ферменту у бульбочках при інокуляції активними Tn5-мутантами був у 1,6 – 2,0 рази вищим, ніж у бульбочках, утворених малоактивними мутантами.

Встановлено, що висока активність антиоксидантного ферменту каталази є необхідною умовою функціонування симбіотичних систем сої, інокульованих як вихідним штамом *V.japonicum* 646, так і його Tn5-мутантами.

Перелік літератури

1. Зеньков Н.К., Меньшикова Е.В. Активированные кислородные метаболиты в биологических системах // Успехи соврем. биологии. – 1993. – Т. 113. – С. 286–296.
2. Васильева Г.Г., Глянько А.К., Миронова Н.В. Содержание пероксида водорода и активность каталазы при инокуляции клубеньковыми бактериями проростков гороха с низкой способностью к нодуляции // Прикладная биохим. и микроб. – 2005. – Т. 41, № 6. – С. 621–625.
3. 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.
4. Жизневская Г.Я., Троицкая Г.Н., Бороденко Л.И., Измайлов С.Ф. Пероксидаза и каталаза в корневых клубеньках кормовых бобов при эффективном и неэффективном симбиозе с ризобиями // Физиология и биохимия культ. растений. – 2001. – Т. 33, № 6. – С. 285–290.
5. Троицкая Г.Н., Жизневская Г.Я., Измайлов С.Ф. Каталазная активность клубеньков бобовых с уреидным и амидным типом азотного обмена // Физиология растений. – 2000. – Т. 47, № 6. – С. 821–828.
6. Huang A.H.C., Trelas R.N., Moore T.S. Plant peroxysomes. – N.-Y.: Acad. Press., 1983. – 252 с.
7. Фридович И. Радикалы кислорода, пероксид водорода и токсичность кислорода // Свободные радикалы в биологии / Под ред. Эмануеля Н.М.: Мир. – 1979. – Т.1. – С. 272–308.
8. 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.
9. Simon R., Priefer U., Puhler A. A broad host range mobilization system for in vivo genetic engineering: transposon bacteria // Biotechnology. – 1983. – Vol.1, № 11. – P. 784–791.
10. Hardy R.W.F., Holsten R.D., Burns R.C. The acetylene-ethylene assay for N-fixation: laboratory and field evaluation // Plant Physiol. – 1968. – Vol. 42, № 8. – P. 1185–1207.
11. Frensis A.Y., Alexander M. Catalase activity and nitrogen fixation in legume root nodules // Can. J. Microb. – 1972. – Vol. 18. – P. 861–868.
12. Доспехов Б.А. Методики полевого опыта. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
13. Тихонович И.А., Борисов А.Ю., Цыганов В.Е. и др. Интеграции генетических систем растений и микроорганизмов при симбиозе // Успехи соврем. биологии. – 2005. – Т. 125, № 3. – С. 227–238.
14. Schubert K.R. Products of biological nitrogen fixation in higher plants: synthesis transport and metabolism // Annu. Rev. Plant Physiol. – 1986. – Vol. 37. – P. 539–574.
15. Reynolds P.H.S., Blevins D.E., Bolan M.I. et al. Enzymes of ammonia assimilation in legume nodules: a comparison between ureide and amide transporting plants // Physiol. Plant. – 1982. – Vol. 5. – P. 255–260.

Представлено О.В. Дубровною
Надійшла 25.02.2008

АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ В КОРНЯХ
И КЛУБЕНЬКАХ СОИ,
ИНОКУЛИРОВАННОЙ TN5-МУТАНТАМИ
BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM

*Н.М. Мандровская, Е.Д. Кругова,
В.Н. Василюк, С.Я. Коць*

Институт физиологии растений и генетики
НАН Украины
Украина, 03022, Киев, ул. Васильковская,
31/17, e-mail: vasyliuk@mail.ru

В течение вегетации исследовали показатели эффективности симбиоза (нарастание вегетативной массы, количество и массу клубеньков, их азотфиксирующую активность) растений сои при инокуляции исходным и Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* 646. Показано, что активность антиоксидантного фермента каталазы в корнях сои, инокулированной различными по активности Tn5-мутантами, изменялась на протяжении вегетационного периода и достигали максимума в фазу цветения растений. Установлено, что каталазная активность клубеньков связана с активностью микросимбионта: уровень активности ее при инокуляции активными Tn5-мутантами был в 1,6–2 раза выше, чем в клубеньках при формировании малоактивного симбиоза.

Ключевые слова: симбиоз, соя, Tn5-мутанты ризобий, каталаза.

CATALASE ACTIVITY IN THE ROOTS
AND NODULES OF SOYBEAN, INOCULATED
BY TN5-MUTANTS OF *BRADYRHIZOBIUM*
JAPONICUM

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

Institute of Plant Physiology and Genetics
National Academy of Sciences of Ukraine
Ukraine, 03022, Kyiv, Vasylykivska St., 31/17,
e-mail: vasyliukv@mail.ru

The indices of efficiency of symbiosis (growth vegetative mass, quantity mass and nitrogen activity of nodules) of soybean, inoculated by wild strain and Tn5-mutants of *Bradyrhizobium japonicum* 646 were studied during vegetative period. It was established that Tn5-mutants were differed for the virulence and activity of the symbiosis. It was shown that activity of antioxidant enzymes catalase in the roots of soybean, inoculated by Tn5-mutants with different activity, was changed during vegetation with maximum in blossom. It was established that catalase activity of nodules depended on microsymbiont activity. Level of catalase activity was in 1.6–2.0 times much for inoculated by activity Tn5-mutants in comparison with nodules under low efficiency symbiosis.

Key words: symbiosis, soybean, Tn5-mutants of rhisobia, catalase.