

УДК 579.262:576.385

СПЕЦИФИЧЕСКИЕ СТРАТЕГИИ КЛУБЕНЬКОВЫХ И ФИТОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ РАСТЕНИЙ

Е.Д. КРУГОВА

*Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины
03022 Киев, ул. Васильковская, 31/17*

Обобщены результаты исследований отечественных и зарубежных авторов о ранних реакциях растений на инфицирование клубеньковыми и фитопатогенными бактериями. Показано, что азотфиксирующие бактериальные симбионты бобовых и фитопатогенные бактерии для колонизации, вторжения и установления стабильного инфицирования в растении-хозяине адаптированы к сходным стратегиям.

Ключевые слова: симбиоз, клеточные взаимодействия, клубеньковые бактерии, фитопатогенные бактерии.

Растения могут создавать с микроорганизмами либо мутуалистические, либо патогенные ассоциации [15]. Хотя результаты этого взаимодействия существенно различаются, предполагается наличие общих молекулярных механизмов, которые его сопровождают. Азотфиксирующие бактериальные симбионты бобовых растений (ризобии) и фитопатогенные бактерии адаптированы к сходным стратегиям для колонизации, вторжения и установления стабильного инфицирования в растении-хозяине. Данными бактериями для координации действий при колонизации хозяина и его инфицировании используются чувствительные сигналы и идентичные двухкомпонентные регуляторные системы. Успех инфицирования и выживания в клетках хозяина требует, чтобы ризобии и патогены подавляли или преодолевали защитные реакции растений, которые включаются ими после узнавания микроорганизмов. В этом процессе участвуют антиоксидантные системы растений, поверхностные полисахариды, ингибиторы биосинтеза этилена и гены вирулентности бактерий [66, 67].

Исследования по идентификации компонентов потенциальной системы ограничения роста и деления бактерий в инфекционной нити свидетельствуют о том, что еще мало известно об особенностях ризобий, позволяющих им проникать в растительные клетки, не вызывая сильных защитных реакций растений [18, 22]. Локальные защитные реакции часто наблюдаются при взаимодействии растений с некомплементарными видами ризобий. Даже при колонизации корневых волосков люцерны совместимыми штаммами развитие инфекционных нитей блокируется вследствие протекания локальных защитных реакций [79].

Патогенные микроорганизмы являются вирулентными, если они вызывают симптомы заболевания у восприимчивых растений, или ави-

рулентными, если провоцируют защитную реакцию со стороны растения, вследствие чего патологический процесс блокируется [4, 5].

Под вирулентностью клубеньковых бактерий подразумевается их способность проникать в ткань корня, размножаться там и вызывать образование клубеньков. Первой стадией проявления вирулентности является свойство бактерий образовывать только опухоли (но не клубеньки). Это так называемая туморогенная активность. Истинно вирулентные культуры клубеньковых бактерий, кроме того, обязательно обладают нодулирующей активностью, т.е. способностью формировать настоящие клубеньки [15].

Почвенные бактерии, принадлежащие к семейству Rhizobiaceae, инфицируют корни бобовых растений в условиях низкой обеспеченности минеральным азотом [9, 12]. Это приводит к образованию специализированного органа — корневого клубенька. Клубеньки обычно индуцируются на корнях, хотя у некоторых водных бобовых они могут формироваться и на стеблях [15, 18]. Образование корневого клубенька — сложный процесс, требующий длительного и адекватного высокоспецифичного обмена сигналами между растением и бактериями, знания о котором фрагментарны [17, 18, 22, 67]. Наружная поверхность бактерий содержит комплекс различных молекул, включающий: липополисахариды, капсулярные полисахариды, циклические глюканы, внеклеточные полисахариды, порины, фимбрии, флагеллы [40]. Клубеньковые бактерии аттрагируются корневыми экссудатами растений и колонизируют их поверхность. Представленные в экссудатах растений флавоноиды, активируют экспрессию бактериальных генов (*nod*), включенных в синтез, и секрецию *Nod*-факторов (*NF*) — липохитоолигосахаридов, узнаваемых растением. *NF* вместе с дополнительными сигналами (полисахариды и секретированные белки) дают бактериям возможность атаковать корневые волоски для проникновения в корень через тубулярную структуру, названную инфекционной нитью. Она растет по направлению к кортексу корня, где развиваются примордии клубенька. Когда нить достигает примордия, бактерии выходят в цитоплазму клеток растения, где дифференцируются в эндоплазматическую форму — бактериоиды. Именно бактериоиды способны восстанавливать молекулярный азот в аммониевый, используемый растениями. В свою очередь, бактериоиды обеспечиваются углеводами вследствие протекания процессов фотосинтеза [18, 60].

Патогенные бактерии, устанавливающие компетентность с растениями, также получают питательные вещества от хозяина, начиная с момента колонизации. Этот процесс, протекающий с участием гидролитических ферментов и токсинов, вызывает повреждения растений, их болезни или даже гибель [4, 5].

Несмотря на различные конечные результаты взаимодействия бактерий и растений, литературные данные свидетельствуют, что ризобии и растительные патогены используют сходные «стратегии» для вторжения в клетку растения-хозяина [19, 42, 69, 76]. Во взаимодействии ризобии — бобовые растения и патогены — растения участвуют химические сигналы, регуляторные системы и гены вирулентности. Опишем общие стратегии, используемые клубеньковыми и фитопатогенными бактериями для подавления или преодоления защитных реакций растений, что необходимо им для инфицирования определенного хозяина.

Многие бактерии способны регулировать экспрессию генов в ответ на изменения численности популяции — процесс, названный коммуникативными сигналами бактерий (QS). Последние представляют собой небольшие сигнальные молекулы (аутоиндукторы), которые аккумулируются с ростом численности (плотности) бактериальной популяции [30, 58, 62]. Наиболее важными QS-сигналами являются N-ацилгомосеринлактоны (AHLs), содержащие гомосериновое кольцо, к которому присоединен остаток жирной кислоты (ацильная группа). Данные индукторы выявлены в цитоплазме через LuxR-типичные транскрипционные активаторы. Некоторые из этих AHLs-сигналов идентифицированы как у ризобий, так и у патогенных бактерий [34, 42, 43, 81, 88].

Установлено, что для *Bradyrhizobium japonicum* этот сигнал — брадиоксетин [53], у *Pseudomonas aeruginosa* — квиноловый сигнал (PQS) [68], у *Ralstonia solanacearum* — метиловый эфир 3-гидроксипальмитиновой кислоты (3-OH-PAME) [39], у *Xanthomonas campestris* — диффузионный сигнальный фактор (DSF) [82]. Низкий уровень QS-сигналов ведет к уменьшению или потере вирулентности фитопатогенными бактериями или к изменению нодуляции и снижению эффективности фиксации азота у ризобий [43, 54, 81]. Итак, QS-регуляция важна для установления компетентного взаимодействия микроорганизмов с растениями [83].

Коммуникация клетка — клетка в пределах бактериальной популяции.

Наличие коммуникативных сигналов дает бактериям возможность в пределах популяции координировать экспрессию генов, важных для колонизации и инфицирования ими растений-хозяев [44].

Переход от сапрофитного существования к взаимодействию с растениями сопровождается изменением некоторых физиологических свойств и биохимических функций у микроорганизмов [31].

У фитопатогенных бактерий, таких как *Ralstonia solanacearum* и *Ps. syringae*, а также у симбиотических бактерий (*Sinorhizobium meliloti*) QS-сигнализация контролирует изменение свойств, присущих свободноживущим формам (таких, как мобильность), и приобретение свойств, необходимых для колонизации растений-хозяев и их инфицирования (образование внеклеточных полисахаридов (EPS), а также биопленок) [29, 48, 69, 86].

Исследования последних десятилетий показали, что большинство бактерий существует в природных экосистемах не в виде свободноживущих клеток, а в виде специфически организованных и прикрепленных к субстратам биопленок. Развитие биопленочных сообществ — одна из основных стратегий выживания бактерий не только в окружающей внешней среде, но и в организмах-хозяевах. Биопленки представляют собой высокоорганизованные сообщества, создаваемые бактериями одного или нескольких видов и состоящие из активно функционирующих клеток и покоящихся форм. В составе биопленок бактерии значительно более устойчивы к действию антибактериальных препаратов, включая антибиотики, к факторам иммунной защиты организма, а также к неблагоприятным воздействиям, таким как изменения температуры, pH среды, осмотического давления [58].

Развитие биопленок на поверхности растений — важный процесс, который в ассоциациях растение—микроорганизмы находится под контролем регуляторных систем активности генов, что показано в частности для таких патогенов, как *Pantoea stewartii* и *X. campestris* [36, 51], а также для клубеньковых бактерий [41, 58].

Экспрессия факторов, вовлеченных в инфицирование растений. У некоторых фитопатогенов важные детерминанты, сходные с экзополисахаридами, гидролитические коэнзимы, контролируются с помощью плотности клеточной популяции [81]. У ризобий QS-регуляция контролирует экспрессию *nod*- и *ghi*-генов, определяющих нодуляцию соответственно у *B. japonicum* и *R. leguminosarum* bv. *viciae* [28, 54], а также образование EPS, участвующих в инвазии. Кроме того, предполагается, что QS-регуляция сдерживает «раннюю» экспрессию вирулентных симбиотических сигналов, которые могут быть вредными для бактерий, если защитные реакции растения следуют до того, как популяция бактерий достигнет определенной численности, гарантирующей продуктивное инфицирование.

Матесиус и др. [61] в модельных опытах показали, что *Medicago truncatula* может отвечать на AHLs-сигналы как от мутуалистических, так и патогенных бактерий. Хотя многие из реакций растений на различные сигналы бактерий еще только исследуются, общим для симбиотических и патогенных бактерий является наличие выявленных специфических изменений в зависимости от концентрации и структуры самого сигнала, что свидетельствует о способности растений различать сигналы от разных бактерий. Кроме изменения уровня белка в корнях экспозиция корней растений с бактериальными AHLs-индукторами вызывает также изменения в секреции соединений неизвестной химической природы, сходные с QS-сигналами.

В связи с этим представляет интерес изучение, как растения реагируют не только на AHLs, но и на другие бактериальные сигналы, с целью идентификации различных QS-подобных сигналов растений в ответ на действие определенных видов бактерий.

Идентичные двухкомпонентные регуляторные системы, обнаруженные у ризобий и фитопатогенных бактерий. Данные системы состоят из сенсорной протеинкиназы и определенного регулятора, что облегчает бактериям контроль над экспрессией генов в ответ на изменение условий окружающей среды, благодаря чему обеспечивается их быстрая адаптация к ним. Идентичные двухкомпонентные регуляторные системы (2-CR), важные для успешного взаимодействия с растениями, обнаружены у растительных патогенов и клубеньковых бактерий. У *Agrobacterium tumefaciens* — это система генов *chvG/chvI* [13], у *Sinorhizobium meliloti* — *ExoS/ChvI* [28]. Мутации в генах *chvI* или *chvG* у *Agrobacterium tumefaciens* угнетали способность бактерий к образованию опухолей и сопровождалась изменением поверхностных свойств микроорганизма. Показано, что *exoS*-мутант *S. meliloti*, отличающийся гиперпродукцией EPSI (гликана), терял способность к образованию флагелл (жгутиков), что значительно ослабляло колонизацию закрученных корневых волосков люцерны [28, 86].

На основании полученных результатов сделано заключение, что координация регуляции синтеза флагелл и инвазионных факторов посредством QS- и (или) 2-CR-системы имеет важное значение в установлении эффективного симбиоза.

Второй интересный пример касается 2-CR-системы *VirA/VirG*-белков, содержащихся в клубеньковых бактериях и растительных патогенах. У *Agrobacterium tumefaciens* она вовлекается в контроль экспрессии генов вирулентности, необходимых для переноса тДНК к растениям [84] в ответ на продуцирование фенольных соединений, высвобождаемых растениями при повреждении их микроорганизмами.

Реакция на повреждение — одна из самых распространенных защитных реакций растений. Зона повреждения является местом активных процессов биосинтеза. Устойчивость растительных тканей к поражению теми или иными микроорганизмами часто коррелирует с высоким содержанием в их тканях фенольных соединений в местах, прилегающих к поврежденной поверхности. Одной из важнейших функций фенольных соединений является участие в окислительно-восстановительных процессах с привлечением ферментов оксидаз, определяющих способность тканей сохраняться и функционировать в условиях изменчивой внешней среды. Фенольные соединения регулируют процесс образования клубеньков, вызывают хемотаксис и экспрессию генов нодуляции у ризобий на стадии преинфекции. Считается, что фенольные соединения выступают в роли сигнальных веществ в момент взаимодействия микро- и макросимбионтов. При изучении сигнальных веществ или индукторов *nod*-генов, выделяемых корнями растения-хозяина, установлена их флавоноидная природа [45]. Окисление флавоноидов *in planta* катализируется в основном полифенолоксидазами (катехолоксидазами, лакказами) и пероксидазами. Активность данных ферментов индуцируется как в течение вегетации растений, так и под действием стрессов, в частности инфицирования микроорганизмами в момент так называемых патогенных атак. Результаты исследования уровня активности окислительно-восстановительных ферментов растений сои, инокулированных Tn5-мутантами клубеньковых бактерий *Bradyrhizobium japonicum*, позволяют полагать наличие зависимости пероксидазной активности корней и клубеньков от азотфиксирующей активности микросимбионта, тогда как полифенолоксидазная активность корневых клубеньков связана с вирулентностью ризобий [9]. Состав фенольных соединений и их количество в растении от момента инфицирования бобовых, образования клубеньков и до их старения существенно изменяются [16].

Очень похожее взаимодействие выявлено в симбиотической системе растений лядвенца *Lotus—Mesorhizobium loti* R7A [49], связанное с *virB*-опероном, кодирующим IV тип секреторной системы (T4SS). Сигналы, улавливаемые белками *VirA/VirG* у *M. loti*, неизвестны, однако в опытах с мутантами ризобий показано, что это могут быть вещества растительного происхождения. Мутанты *M. loti* по *virA* и *virG* генам имеют симбиотические фенотипы, идентичные с мутантами по *virB* гену: у них наблюдался низкий уровень азотфиксирующей активности образованных клубеньков или же уменьшалось их количество. Последнее подтверждает важную роль *VirA/VirG*-белков в симбиозе в связи с их участием в регуляции экспрессии T4SS-системы, что отражается на результате взаимодействия ризобий с растением-хозяином.

Контроль защитных реакций растений. Обмен сигналами между бобовыми растениями и ризобиями осуществляется по крайней мере тремя, а иногда и дополнительными сериями сигналов [24, 66]. В ответ на действие микробных агентов растения могут усиливать комплекс защитных реакций посредством сигнальных молекул, таких как салициловая кислота, реактивные формы кислорода (ROS), оксид азота(II), жасмоновая кислота, этилен [6, 17, 34, 35, 45]. Данные молекулы выявлены у бобовых в ответ на инокуляцию ризобиями [38]. Для стабильного инфицирования растений ризобии и патогены должны быть способными контролировать или преодолевать защитные механизмы растения-хозяина. Попытки выявить компоненты потенциальной системы ограниче-

ния роста и деления бактерий в инфекционной нити подтверждают предположение о ряде особенностей ризобий, позволяющих им проникать в растительные клетки, не вызывая сильных защитных реакций. Некоторые бактериальные компоненты, контролирующие функции защитных реакций растений, идентифицированы [47]. Так, ризобиальные Nod-факторы способны угнетать накопление салициловой кислоты, а также образование ROS в момент узнавания растением микроорганизма [25, 59, 74]. Отдельные штаммы *Pseudomonas syringae* образуют фитотоксический коронатин, который также подавляет защитные реакции растений, связанные с синтезом салициловой кислоты [19]. Кроме описанной специфической стратегии ризобии и растительные патогены используют и другие подобные факторы для преодоления или активного угнетения защитных реакций растений, такие как синтез поверхностных полисахаридов, антиоксидантную систему, ингибирование синтеза этилена, специфические вирулентные факторы.

Поверхностные полисахариды. Эти вещества, синтезируемые ризобиями (EPS), важны для многих процессов, связанных с адаптацией бактерий, включая защиту клеток микроорганизмов, прикрепление их к поверхности корня и поглощение питательных веществ. Свойства и локализация EPS, формирующих наружные слои клеточной поверхности ризобий, обеспечивают защиту клеток от воздействия среды, поглощение ими питательных веществ, а также антигенные свойства бактерий. Более того, структурное разнообразие EPS способствует их функционированию как сигнальных молекул в клеточных взаимодействиях. Они играют важную роль в становлении симбиоза ризобий и бобовых, особенно на стадии инвазии и образования клубеньков [7, 14].

Установлено, что ризобиальные мутанты, дефектные по синтезу EPS, липополисахаридам (LPS) или циклическому β -глюкану, неспособны успешно инфицировать растение-хозяина и (или) образовывать азотфиксирующие клубеньки. Изолированные низкомолекулярные EPS1, LPS или липид А из *S. meliloti*, а также циклический β -глюкан из *B. japonicum* способны подавлять типичные элиситориндуцированные защитные реакции в растении-хозяине [40, 73]. При этом все или некоторые из EPS защищают бактерии от ранних ответных реакций растений. Так, мутанты ризобий сои, дефектные по циклическим глюканам, оказались более чувствительными к окислительному «взрыву» и фитоалексинам [64], тогда как EPS из *Azorhizobium caulinodance* препятствовал действию токсического пероксида водорода (H_2O_2) на ранних стадиях инвазии [33]. Фитопатогенные бактерии, дефектные по EPS, в основном изменяются по вирулентности. Хотя для патогенных бактерий этот аспект менее изучен, чем для ризобий, в некоторых работах показано, что повышенное количество EPS коррелирует с устойчивостью патогенов к стрессам и токсичностью их молекул. Это может свидетельствовать о том, что поверхностные полисахариды патогенов способны защищать такие микроорганизмы от ответных реакций растений [50, 87].

Антиоксидантные системы. Взаимодействие растений с микроорганизмами сопровождается генерацией активных форм кислорода, образующихся в ходе защитных реакций растений-хозяев при действии биотических и абиотических факторов, а также инфицирования микроорганизмами [72]. Механизмы ликвидации активных форм кислорода являются общими для патогенных и клубеньковых бактерий. Фермен-

ты каталаза и супероксиддисмутаза (СОД) кодируются в геномах взаимодействующих с растениями микроорганизмов [60, 78]. СОД и каталаза — ферменты, ответственные за инактивацию соответственно $O_2^{\cdot-}$ и H_2O_2 — являются для некоторых фитопатогенов факторами вирулентности [71, 85]. Считается, что пероксидазы, связанные с клеточной стенкой растения-хозяина, принимают участие не только в нормальном росте и формировании клеточной стенки, но также в защите растений от патогена [26]. Антиоксидантные защитные системы растений важны для установления и поддержания симбиоза [2, 3, 21, 80].

Василюк и соавт. [1], изучая уровень активности антиоксидантных ферментов в разных по эффективности симбиотических системах, образованных с участием растений сои и Tn5-мутантов *Bradyrhizobium japonicum* 646, показали, что пероксидазная и каталазная активности корневых клубеньков сои зависят от азотфиксирующей активности штамма-инокулянта. На изменение активности этих ферментов в клубеньках, образованных ризобиями гороха и сои, могут влиять различные факторы, в том числе гликополимеры неризобияльного происхождения. В частности, полисахарид МОД-19, синтезированный по типу бактериальных глюканов, при его экзогенном действии на семена гороха и сои вызывал повышение уровня активности указанных выше ферментов в корнях и клубеньках [10]. В этом случае, очевидно, важным является состояние гомеостатического равновесия между экспрессией генов симбиоза и генов защиты макросимбионта. Такое равновесие нарушается при действии неблагоприятных факторов — усиливается функционирование защитных систем растения-хозяина [29]. У мутантных бактерий *Sinorhizobium meliloti*, дефектных по антиоксидантным ферментам, нарушены нодуляция (клубенькообразование) и азотфиксация [46]. Кроме того, неспособность синтезировать антиоксидант глутатион (γ -глутамил-1-цистеинилглицин) приводит к существенным симбиотическим дефектам у *S. meliloti* и *Rhizobium tropici* [45, 70].

Ингибиторы этилена. Некоторые растения в ответ на инфицирование клубеньковыми бактериями и фитопатогенами снижают синтез этилена [35]. Так, *Bradyrhizobium elkanii* и растительный патоген *Burkholderia andryopogonis* синтезируют ризобитоксин [2-амино-4-(2-амино-3-гидропропокси)] — ингибитор синтеза этилена [55, 63]. Некоторые ризобии продуцируют фермент 1-аминоциклопропан-1-карбоксилатдеаминазу, который нарушает синтез этилена [32, 55].

Гены вирулентности, содержащиеся в ризобиях. Перенос сигналов у бактерий часто опосредован двухкомпонентными системами, состоящими из сенсорного и регуляторного белков. Анализ известных ризобияльных геномов свидетельствует о наличии сотни генов, гомологичных факторам вирулентности патогенов [78]. Функциональная характеристика некоторых из них, в частности кодирующих тип III и тип IV системы секреции (соответственно T3SS- и T4SS-системы транспорта белков), свидетельствует об их сходной роли в мутуалистических и патогенных взаимоотношениях.

T3SS-секреторная система доставляет белки (названные эффекторами) в эукариотические клетки. Ее также можно назвать контактзависимой, поскольку для активации белкового транспорта необходим контакт с эукариотической клеткой.

Экспортируемый субстрат, например токсин, может попадать в клетку-мишень посредством внеклеточных образований, внедряющихся в нее, или при тесном контакте мембраны реципиента с донорной клеткой путем их сокращения. В восприимчивом хозяине эффекторы патогена подавляют защиту растения и изменяют физиологию последнего для поддержания роста патогена, в то время как у устойчивых растений с авирулентной активностью включается растительная иммунная система. Некоторые эффекторы обладают ферментативной активностью и способностью к взаимодействию на уровне регуляции растительных протеаз и фосфатаз хозяина [65].

Гены T3SS-системы идентифицированы у некоторых видов клубеньковых бактерий. Обычно они связаны с симбиотическими генами и локализованы на больших плаزمиде или в хромосомах [20, 56, 57]. Они не идентифицированы у двух видов: *S. meliloti*, *R. leguminosarum* bv. *viciae* и некоторых штаммов *M. loti*. Как и у растительных патогенов, экспрессия T3SS-генов у ризобий индуцируется растительными сигналами, подобными контролирующим экспрессию *nod*-генов. Ризобияльные белки, известные как Nops (нодуляционные внешние белки), могут быть специфичными и для ризобий, и для бактериальных патогенов [57, 75]. Некоторые из этих белков есть у всех ризобий, в то время как другие могут быть специфичными для отдельных видов или штаммов. Не установлено, как Nops-белки влияют на образование клубеньков. Два из них — NopL и NopP возможно являются эффекторами [21]. Ризобии, имеющие систему секреции типа III, очевидно продуцируют смесь Nops-белков. У некоторых бобовых эффекторная смесь Nops-белков отдельных бактерий может узнаваться растениями как авирулентные факторы и усиливать защитную реакцию растений.

Дальнейшие исследования следует направить на выяснение специфической роли различных эффекторных белков в нодуляции, а также в процессах взаимодействия растительных и бактериальных программ [77]. T4SS-секреторная система эволюционировала в направлении использования нуклеопротеинового комплекса в качестве экспортного субстрата так, чтобы нуклеиновая кислота могла переноситься в другую клетку. Конъюгативный путь переноса ДНК был назван системой секреции белков IV типа. Некоторые патогены используют эту систему для переноса эффекторных молекул к эукариотическим клеткам. Транспортируемый субстрат может подавлять защитные реакции растения, облегчать рост микроорганизма-патогена и даже индуцировать синтез питательных веществ для бактериальной колонизации [21]. Прототипом такой системы переноса макромолекул в эукариотические клетки является оперон *VirB/D4* из *Agrobacterium tumefaciens*, который принимает участие в переносе онкогенной тДНК в растительные клетки [52]. Перенос тДНК можно рассматривать как транспорт нуклеопротеинов, а значит, он родственен другим механизмам белкового транспорта. Противоположным является мнение о том, что система транспорта ДНК применяется только для экспорта патогенных макромолекул [13]. Анализ данных о разнообразных системах транспорта ДНК, известных в природе, показал, что в большинстве случаев они используют однонитевые молекулы нуклеиновых кислот, устойчиво связанные со специфическими белками. Хотя данных о функционировании T4SS-систем *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* и *Burkholderia cenocepacia* недостаточно [23, 37], показана их важная роль в процессах вирулентности.

Среди ризобий сходные по структуре системы IV идентифицированы в геномах *S. meliloti*, *R. etli* и *M. loti* штамма RFA [49]. С помощью мутантов *M. loti*, имеющих одинаковый симбиотический фенотип, показано, что типы III и IV системы секреции могут быть функционально взаимозаменяемыми. Два гена *msi 059* и *msi 061* идентифицированы как T4-эффекторы. В *S. meliloti* и *R. etli* гены, кодирующие систему IV, локализованы на соответствующих симбиотических плаزمиде и подобны конъюгационной системе AvLB криптической плазмиды pAtC58 *A. tumefaciens* [27].

Таким образом, обобщив литературные данные, можно заключить, что патогенным и мутуалистическим бактериям для установления соответствующих ассоциаций с растениями-хозяевами присущи сходные эффективные стратегии. Наличие связи клетки с клеткой в пределах бактериальной популяции и способности отвечать на изменение условий окружающей среды наблюдается у микроорганизмов в течение инфекционного процесса и является важным условием успешного инфицирования растений. Не менее важно и наличие специфической связи между бактериями и растениями посредством химических сигналов и комплексных белков, чтобы подавить защитные реакции растений. Полученная информация позволит в будущем разработать подходы для создания растений, устойчивых к растительным патогенам и штаммы клубеньковых бактерий с улучшенными симбиотическими свойствами.

1. Василюк В.М., Кругова О.Д., Мандровська Н.М., Коць С.Я. Активність пероксидази і каталази у сої, інюкульованої транспозантами *Bradyrhizobium japonicum* // Физиология и биохимия культ. растений. — 2007. — 39, № 4. — С. 334—342.
2. Васильева Г.Г., Глянько А.К., Миронова Н.В. Содержание пероксида водорода и активность каталазы при инокуляции клубеньковыми бактериями проростков гороха с разной способностью к нодуляции // Прикл. биохимия и микробиология. — 2005. — 41, № 6. — С. 621—625.
3. Глянько А.К., Васильева Г.Г. Особенности действия активных форм кислорода и азота при бобово-ризобальном симбиозе // Вісн. Харків. аграр. ун-ту. Сер. Біологія. — 2007. — 3. — С. 27—41.
4. Дьяков Ю.Т. На пути к общей теории иммунитета // Журн. общей биологии. — 2005. — 66, № 6. — С. 431—438.
5. Козировська Н.О. Механізм природної імунності рослини // Біополімери і клітина. — 2006. — 22, № 2. — С. 91—101.
6. Колупаев Ю.Е. Кальций и стрессовые реакции растений // Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. Сер. Біологія. — 2007. — 1. — С. 24—41.
7. Косенко Л.В., Михалкив Л.М., Кругова Е.Д. и др. Биологическая активность глюкана *Sinorhizobium meliloti* CXM1188 // Микробиология. — 2003. — 72, № 5. — С. 633—638.
8. Коць С.Я., Маліченко С.М., Кругова О.Д. та ін. Фізіолого-біохімічні особливості живлення рослин біологічним азотом. — К.: Логос, 2001. — 271 с.
9. Кругова Е.Д., Коць С.Я., Мандровская Н.М., Василюк В.Н. Пероксидазная и полифенолоксидазная активности в клубеньках и корнях сои, инокулированной Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* // Вісн. Харків. аграр. ун-ту. Сер. Біологія. — 2008. — 1. — С. 1—14.
10. Кругова О.Д., Мандровська Н.М., Кириченко О.В. Вплив екзогенного лектину на активність антиоксидантних ферментів, ендогенного лектину і вміст флавоноїдів у пшениці // Укр. біохім. журн. — 2006. — 78, № 2. — С. 106—112.
11. Кругова О.Д., Мандровська Н.М., Коць С.Я. Вплив синтетичного полісахариду на ефективність симбіозу та активність пероксидази і каталази у рослин гороху і сої // С.-г. мікробіологія. Міжвід. темат. наук. зб. — 2006. — 4. — С. 62—72.
12. Кругова О.Д., Мандровська Н.М., Охріменко С.М. Вплив бактеріального екзополісахариду на ефективність симбіотичної азотфіксації рослин гороху і сої // Физиология и биохимия культ. растений. — 2002. — 34, № 3. — С. 239—244.
13. Круз Ф., Ланка Э. Функции Vir-белков Ti-плазмид: формирование T-комплекса и перенос в растительную клетку // Rhizobiaceae. Молекулярная биология бактерий, взаи-

- модельствующих с растениями / Под ред. Г. Спайнка, А. Кондорози, П. Хукаса; Рус. перевод под ред. А.И. Тихоновича. — СПб., 2002. — С. 305—324.
14. Крылова В.В., Дуброво П.А., Измайлов С.Ф. Транспорт метаболитов через бактериоидную мембрану в онтогенезе бобов // Физиология растений. — 2007. — **54**, № 2. — С. 209—216.
 15. Мишустин Е.Н., Шильникова В.К. Клубеньковые бактерии и инокуляционный процесс. — М.: Наука, 1968. — 240 с.
 16. Новикова Т.И., Сидорова К.К. Исследование фенольного состава сортов и мутантных линий гороха, различающихся по симбиотической активности // Сибир. экол. журн. — 2003. — № 1. — С. 101—106.
 17. Тарчевский И.А. Элиситор-индуцируемые сигнальные системы и их взаимодействие // Физиология растений. — 2000. — **47**, № 2. — С. 321—331.
 18. Хадри А.Е., Спайнк Г., Бисселлинг Т., Бревин Н. Разнообразие процессов образования корневых клубеньков и их инфицирование ризобиями // Rhizobiaceae. Молекулярная биология бактерий, взаимодействующих с растениями / Под ред. Г. Спайнка, А. Кондорози, П. Хукаса; Рус. перевод под ред. А.И. Тихоновича. — СПб., 2002. — С. 373—386.
 19. Abramovitch R.B., Martin G.B. Strategies used by bacterial pathogens to uppress plant defenses // Curr. Opin. Plant Biol. — 2004. — **7**. — P. 356—364.
 20. Bailey J., Mittler R. The role of reactive oxygen species in plant cell // Ibid. — 2006. — **141**, N 2. — P. 311—312.
 21. Bartsev A., Deakin W.J., Boukli N.M. et al. NopL an effector protein of *Rhizobium* sp. NGR 234 thwarts activation of plant defence reactions // Plant Physiol. — 2004. — **134**. — P. 871—879.
 22. Bartsev A., Kobayashi H., Broughton W.J. A. Rhizobial signals convert pathogens to symbionts at the legume interface // Plant Microbiology / Ed. M. Gilling, A. Holmes. — Abingdon: Garland Sci.; BIOS Sci. Publ., 2004. — P. 19—31.
 23. Bell K.S., Sebaihia M., Pritchard L. et al. Genome sequence of the enterobacterial phytopathogen *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* and characterization of virulence factors // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 2004. — **101**. — P. 11105—11110.
 24. Broughton W.J., Zhang Teng, Perret X., Staehelis G. Signals exchanged between legumes and *Rhizobium*: Agricultural uses and perspectives // Plant Soil. — 2003. — **252**, N 1. — P. 129—137.
 25. Bueno P., Soto M.J., Rodriguez-Rosales M.P. et al. Time course of lipoxygenase antioxidant enzyme activities and H₂O₂ accumulation during the early stages of *Rhizobium* — legume symbiosis // New Phytol. — 2001. — **152**. — P. 91—96.
 26. Campa A. Peroxidases in chemistry and biology / Eds. J. Everse, K.E. Everse, M.B. Grisham. — Boca Raton: CRC Press., 1991. — **2**. — P. 25—50.
 27. Chen L., Chen Y., Wood D.W., Nester E.W. A new type IV secretion system promotes conjugal transfer in *Agrobacterium tumefaciens* // J. Bacteriol. — 2002. — **184**. — P. 4838—4845.
 28. Cheng H., Walker G.C. Succinoglycol production by *Rhizobium meliloti* is regulated through the ExoS/ChvI two-component regulatory system // Ibid. — 1998. — **180**. — P. 20—26.
 29. Clough S.J., Flavier A.B., Schell M.A., Denny Y.P. Differential expression of virulence genes and motility in *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* during exponential growth // Appl. Environ. Microbiol. — 1997. — **63**. — P. 844—850.
 30. Cubo M.T., Economou A., Murphy G. et al. Molecular characterization and regulation of the rhizosphere expressed genes rhi ABCR that can influence nodulation by *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* // J. Bacteriol. — 1992. — **174**. — P. 4026—4035.
 31. Daniels R., de Vos D.E., Desair J. et al. The cin quorum sensing locus of *Rhizobium etli* CNPAF 512 affects growth and symbiotic nitrogen fixation // J. Biol. Chem. — 2002. — **277**. — P. 462—468.
 32. D'Haese W., De Rycke R., Mathis R. et al. Reactive oxygen species and ethylene play a positive role in lateral root base nodulation of a semiaquatic legume // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 2003. — **100**, N 20. — P. 11789—11794.
 33. D'Haese W., Glushka L., De Rycke R. et al. Structural characterization of extracellular polysaccharides of *Azorhizobium caulinodans* and importance for nodule initiation on *Sesbania rostrata* // Mol. Microbiol. — 2004. — **52**. — P. 485—500.
 34. Dmitriev A.P. Induction of systemic resistance in plants // Цитология и генетика. — 2004. — **38**, № 5. — С. 72—81.
 35. Dong X. SA, JA, ethylene and disease resistance in plants // Curr. Opin. Plant Biol. — 1998. — **1**. — P. 316—323.
 36. Dow J.M., Crossman L., Findlay K. et al. Biofilm dispersal in *Xanthomonas campestris* is controlled by cell-cell signaling and is required for full virulence to plants // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 2003. — **100**. — P. 10995—11000.

37. Engledow A.S., Meldrano E.G., Mahenthiralingam E. et al. Involvement of plasmid-encoded type IV secretion system in the plant tissue water-soaking phenotype of *Burkholderia cenocepacia* // J. Bacteriol. — 2004. — **186**. — P. 6015–6024.
38. Ferguson B.J., Mathesius U. Signaling interactions during nodule development // J. Plant Growth Regul. — 2003. — **22**. — P. 47–72.
39. Flavier A.B., Clough S.J., Schell M.A. et al. Identification of 3-hydroxypalmitic acid methyl ester as a novel autoregulator controlling virulence in *Ralstonia solanacearum* // Mol. Microbiol. — 1997. — **26**. — P. 251–259.
40. Fraysse N., Courdec F., Poinso V. Surface polysaccharide involvement in establishing the *Rhizobium*-legume symbiosis // Eur. J. Biochem. — 2003. — **270**. — P. 1365–1380.
41. Gao M., Chen H., Eberhard A. et al. SinI- and expR-dependent quorum sensing in *Sinorhizobium meliloti* // J. Bacteriol. — 2005. — **187**. — P. 7931–7944.
42. Geigero J., Martinez-Mosales F., Sohlenkamp C., Lopez-Lara I.M. Role of bacterial phosphatidylcholine in symbiotic and pathogenic interactions // Biology of Plant-Microbe Interactions / Proc. of the 11 Intern. Congr. on Mol. Plant Microbe Interact.; St. Petersburg, July 18–26, 2003. — St. Petersburg, 2004. — Vol. 4. — P. 423–426.
43. Gonzalez J.E., Marketon M.M. Quorum sensing in nitrogen-fixing bacteria // Microbiol. Mol. Biol. Rev. — 2003. — **67**. — P. 574–592.
44. Hammerschmidt R. Myriad molecular resistance signals: conditional endogenous and inorganic // Physiol. and Mol. Plant Pathol. — 2004. — **64**, N 4. — P. 165–167.
45. Harrison J., Jamet A., Muglia C.I. et al. Glutathione plays a fundamental role in growth and symbiotic capacity of *Sinorhizobium meliloti* // J. Bacteriol. — 2005. — **187**. — P. 168–174.
46. Herouart D., Baudouin E., Frendo P. et al. Reactive oxygen species, nitric oxide and glutathione: a key role in the establishment of the legume-*Rhizobium* symbiosis // Plant Physiol. Biochem. — 2002. — **40**. — P. 619–624.
47. Hirsch A.M. Hormonal regulation in plant-microbe symbiosis // Biology of Plant-Microbe Interactions / Proc. of the 11 Intern. Congr. on Mol. Plant Microbe Interact.; St. Petersburg, July 18–26, 2003. — St. Petersburg, 2004. — Vol. 4. — P. 389–390.
48. Hoang H.H., Becker A., Gonzales J.E. The LuxR homolog ExpR in combination with the Sin quorum sensing system plays a central role in *Sinorhizobium meliloti* gene expression // J. Bacteriol. — 2004. — **186**. — P. 5460–5472.
49. Hubber A., Vergunst A.C., Sullivan J.T. et al. Symbiotic phenotypes and translocated effector proteins of the *Mesorhizobium loti* strain R7A VirB/D4 type 4 secretion system // Mol. Microbiol. — 2004. — **54**. — P. 561–574.
50. Keith L.M.W., Bender C.L. AlgT (σ^{22}) controls alginate production and tolerance to environmental stress in *Pseudomonas syringae* // J. Bacteriol. — 1999. — **181**. — P. 7176–7184.
51. Koutsoudis M.D., Tsaltas D., Minogue T.D., von Bodman S.B. Quorum-sensing regulation governs bacterial adhesion biofilm development, and host colonization in *Pantoea stewartii* subspecies *stewartii* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 2006. — **103**. — P. 5983–5988.
52. Li L., Jia Y., Hou Q. et al. A global pH sensor: *Agrobacterium* sensor protein ChvG regulates acid-inducible genes on its two chromosomes and Ti plasmid // Ibid. — 2002. — **99**. — P. 12369–12374.
53. Loh J., Carison R.W., York W.S., Stacey G. Bradyoxetin a unique chemical signal involved in symbiotic gene regulation // Ibid. — P. 14446–14451.
54. Loh J., Pierson E.A., Pierson L.S. et al. Quorum sensing in plant-associated bacteria // Curr. Opin. Plant Biol. — 2002. — **5**. — P. 1–6.
55. Ma W., Penrose D.M., Glick B.R. Strategies used by rhizobia to lower plant ethylene levels and increase nodulation // Can. J. Microbiol. — 2002. — **48**. — P. 947–954.
56. Marie C., Deakin W.J., Ojanen-Reuhs T. et al. TtsI a key regulator of rhizobium species NGR 234 is required for type III dependent protein secretion and synthesis of rhamnose-rich polysaccharides // Mol. Plant Microbe Interact. — 2004. — **17**. — P. 958–966.
57. Marie C., Deakin W.J., Viprey V. et al. Characterisation of Nops nodulation outer proteins secreted via the type III secretion system of NGR 234 // Ibid. — 2003. — **16**. — P. 743–751.
58. Marketon M.M., Glenn S.A., Eberhard A., Gonzalez J.E. Quorum sensing controls exopolysaccharides production in *Sinorhizobium meliloti* // J. Bacteriol. — 2003. — **185**. — P. 325–331.
59. Martinez-Abarca F., Herrera-Cervera J.A., Bueno P. et al. Involvement of salicylic acid in the establishment of the *Rhizobium meliloti* — alfalfa symbiosis // Mol. Plant Microbe Interact. — 1998. — **11**. — P. 153–155.
60. Matamoros M.A., Dalton D.A., Ramos J. et al. Biochemistry and molecular biology of antioxidants in the rhizobia-legume symbiosis // Plant Physiol. — 2003. — **133**, N 2. — P. 499–509.
61. Mathesius U., Mulders S., Gao M. et al. Extensive and specific responses of eukaryote to bacterial quorum sensing signals // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 2003. — **100**. — P. 1444–1449.
62. Miller M.B., Bassier B.L. Quorum sensing in bacteria // Annu. Rev. Microbiol. — 2001. — **55**. — P. 165–195.

63. Mitchell R.E., Frey E.J., Benn M.K. Rhizobitoxine and 1-threohydroxythreonine production by the plant pathogen *Pseudomonas andropogonis* // Phytochemistry. — 1986. — **25**. — P. 2711—2715.
64. Mithofer A., Bahgwat A.A., Keister D.L., Ebel J. *Bradyrhizobium japonicum* mutants defective in cyclic α -glucanes synthesis show enhanced sensitivity to plant defense responses // Z. Naturforsch. — 2001. — **56**. — P. 581—584.
65. Mudgett M.B. New insights to the function of phytopathogenic bacterial type III effectors in plants // Annu. Rev. Plant Biol. — 2005. — **56**. — P. 509—531.
66. Mulder Z., Hogg B., Bersonlt A., Cullimore J.V. Interaction of signalling pathways in the establishment of the legume-rhizobial symbiosis // Physiol. Plant. — 2005. — **123**, N 2. — P. 207—218.
67. Perret X., Staehelin C., Broughton W.J. Molecular basis of symbiotic promiscuity // Microbiol. Mol. Biol. Rev. — 2000. — **64**. — P. 180—201.
68. Pesci E.C., Millbank J.B., Pearson J.P. et al. Quinolone signalling in the cell-to-cell communication system of *Pseudomonas aeruginosa* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1999. — **96**. — P. 11229—11234.
69. Quinones B., Dulla G., Lindow S.E. Quorum sensing regulates exopolysaccharide production motility and virulence in *Pseudomonas syringae* // Mol. Plant Microbe Interact. — 2005. — **18**. — P. 681—693.
70. Ricillo P.M., Muglia C.I., de Bruijn F.J. et al. Glutathione is involved in environmental stress response in *Rhizobium tropici*, including acid tolerance // J. Bacteriol. — 2000. — **182**. — P. 1748—1753.
71. Santos R., Franza T., Laporte M.L. Essential role of superoxide dismutase on the pathogenicity of *Erwinia chrysanthemi* strain 3937 // Mol. Plant Microbe Interact. — 2001. — **14**. — P. 738—767.
72. Santos R., Herouart D., Sigaud S. et al. Oxidative burst in alfalfa — *Sinorhizobium meliloti* symbiotic interaction // Ibid. — P. 86—89.
73. Scheidle H., Gross A., Niehaus K. The lipid A substructure of the *Sinorhizobium meliloti* lipopolysaccharides is sufficient to suppress the oxidative burst in host plants // New Phytol. — 2005. — **165**. — P. 559—566.
74. Shaw S.L., Long S.R. Nod factor inhibition of reactive oxygen efflux in host legume // Plant Physiol. — 2003. — **132**. — P. 2196—2204.
75. Skorpil P., Saad M.M., Boukli N.M. et al. NopP, a phosphorylated effector of *Rhizobium* sp. strain NGR 234 is a major determinant of nodulation of the tropical legumes *Flemingia congesta* and *Tephrosia vogelii* // Mol. Microbiol. — 2005. — **57**. — P. 1304—1317.
76. Soto M.J., Sanjuan J., Olivares J. Rhizobia and plant pathogenic bacteria common infection weapons // Microbiology. — 2006. — **152**. — P. 3167—3174.
77. Tikhonovich I.A., Lugtenberg B.J.J., Provorov N.A. Molecular plant-microbe interactions: New bridges between past and future (editorial remarks) // Biology of Plant-Microbe Interactions / Proc. of the 11 Intern. Congr. on Mol. Plant Microbe Interact.; St., Petersburg, July 18—26, 2003. — St. Petersburg, 2004. — Vol. 4. — P. 17—18.
78. Van Sluys M.A., Monteiro-Vitorello C.B., Camargo L.E. et al. Comparative genomic analysis of plant-associated bacteria // Annu. Rev. Phytopathol. — 2002. — **40**. — P. 169—189.
79. Vasse J. de Billy F., Truchet G. Abortion of infection during the *Rhizobium meliloti* — alfalfa symbiotic interaction is accompanied by a hypersensitive reaction // Plant J. — 1993. — **4**, N 3. — P. 555—566.
80. Vegetti G., Conti G.G., Pesci P. Changes in phenylalanine-ammonia-lyase peroxidase during the development of local necrotic lesions in pinto de in leaves infected with alfalfa mosaic virus // Phytopathol. Ztschr. — 1975. — **84**, N 2. — P. 153—171.
81. Von Bodman S.B., Bauer W.D., Coplin D.L. Quorum sensing in plant — pathogenic bacteria // Annu. Rev. Phytopathol. — 2003. — **41**. — P. 455—482.
82. Wang L.H., He Y., Gao Y. et al. A bacterial cell-cell communication signal with cross-kingdom structural analogues // Mol. Microbiol. — 2004. — **51**. — P. 903—912.
83. Wang H., Zhong Z., Cai T. et al. Heterologous overexpression of quorum-sensing regulators to study cell-density-dependent phenotypes in a symbiotic plant bacterium // Arch. Microbiol. — 2004. — **182**. — P. 520—525.
84. Winans S.C. Two-way chemical signaling in *Agrobacterium*-plant interactions // Microbiol. Rev. — 1992. — **56**. — P. 12—31.
85. Xu X.Q., Pan S. An *Agrobacterium* catalase is a virulence factor involved in tumorigenesis // Mol. Microbiol. — 2000. — **35**. — P. 407—414.
86. Yao S.Y., Luo L., Har K.J. et al. *Sinorhizobium meliloti* ExoR and ExoS proteins regulate both succinoglycan and flagellum production // J. Bacteriol. — 2004. — **186**. — P. 6042—6049.
87. Yu J., Penaloza-Vazquez A., Chakrabarty A.M., Bender C.L. Involvement of the exopolysaccharide alginate in the virulence and epiphytic fitness of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* // Mol. Microbiol. — 1999. — **33**. — P. 712—720.

88. Zheng H., Zhong Z., Lai X. et al. LuxR/LuxI-type quorum-sensing in plant bacterium *Mesorhizobium tianshanense* controls symbiotic nodulation // J. Bacteriol. — 2006. — **188**. — P. 1943—1949.

Получено 21.07.2008

СПЕЦИФІЧНІ СТРАТЕГІЇ БУЛЬБОЧКОВИХ І ФІТОПАТОГЕННИХ БАКТЕРІЙ ПРИ ІНФІКУВАННІ РОСЛИН

О.Д. Кругова

Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України, Київ

Узагальнено результати досліджень вітчизняних і закордонних авторів про ранні реакції рослин на інфікування бульбочковими і фітопатогенними бактеріями. Показано, що азотфіксувальні бактеріальні симбіонти бобових і фітопатогенні бактерії для колонізації, вторгнення і встановлення стабільного інфікування в рослині-хазяїні адаптовані до подібних стратегій.

SPECIFIC STRATEGIES OF NODULE AND PHYTOPATHOGENIC BACTERIA AT INFECTION OF PLANTS

E.D. Krugova

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylykivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

The paper summarizes research results of national and foreign authors regarding initial plant responses on infection with nodule and phytopathogenic bacteria. It is shown that nitrogen fixing bacterial symbionts of legumes and phytopathogenic bacteria are adopted to the similar strategies for colonization, intrusion and establishing of stable infection in host plants.

Key words: symbiosis, cell interactions, nodule bacteria, phytopathogenic bacteria.