

# Молекулярно-генетичні аспекти зовнішньої та внутрішньої колонізації рослин корисними бактеріями

Н. О. Козировська

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України  
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна

---

*Колонізація рослин корисними бактеріями є необхідною умовою успішного використання мікробіологічних біопрепаратів, тому механізми взаємодії бактерій з рослинами (колонізація) вивчаються на всіх рівнях, у тому числі молекулярному. Характеристики бактерій, які визначають їхню ризосферну компетентність (рухливість, швидкість росту, самозабезпечуваність амінокислотами, вітамінами, органічними кислотами та іншими чинниками живлення), надають їм перевагу в конкурентній боротьбі за виживання в ризосфері. Певну роль у процесі взаємодії бактерій з рослиною відіграють екзополісахариди та ліпополісахариди. В огляді наведено інформацію щодо стану вивчення генетичної детермінації та регуляції чинників, які беруть участь у ризосферній та ендоефітній колонізації перспективними для практики бактеріями.*

---

Вступ. Колонізація, або заселення рослин бактеріями, є системою доставки мікробних чинників позитивного впливу на рослину. На сьогодні мікроорганізми можуть бути застосовані у таких сферах сільського господарства та охорони навколишнього природного середовища: 1) захист рослин від захворювань, спричинених патогенними мікроскопічними грибами та бактеріями, а також комахами та нематодами; 2) постачання рослин поживними речовинами (біологічний азот, мінеральні солі тощо); 3) стимуляція росту рослин фітогормонами та іншими фізіологічно активними чинниками; 4) захист рослин від накопичення ними катіонів важких металів та радіонуклідів; 5) деградація разом з рослинами небезпечних для здоров'я органічних речовин у процесі, що зветься фіто- або ризоремедіація.

Біологічні технології, які створюються для захисту та підвищення врожайності культур, а також для відновлення забруднених природних угідь, є ресурсо- та енергозберігаючими, безпечними і тому мають перспективи для використання. Нові знання про взаємини рослин з бактеріями необхідні для

удосконалення існуючих та створення нових технологій.

Основні події, які характеризують взаємодію бактерій та рослин, відбуваються у ризосфері — зоні ґрунту, яка знаходиться під впливом кореневої системи [1]. На відміну від будь-якого субстрату, заселеного мікроорганізмами, ґрунт ризосфери забезпечує екологічні ніші для різноманітних мікроскопічних організмів завдяки рослинним ексудатам, які їх приваблюють, та для найбільш конкурентних з них сприяють формуванню ризосферних змішаних популяцій. Поверхня коріння рослин щільно заселена ендемними бактеріями ( $10^8$ — $10^9$  колонієутворюючих одиниць (КУО) на 1 см), тому лише активні колонізатори, що спроможні знайти свою нішу, можуть стати основою біопрепаратів [2]. На колонізацію рослин ризосферними бактеріями мають вплив абіотичні фактори, такі як посуха, заморозки, повені, зміна рН ґрунту тощо. Тому препарати, створені на основі ризосферних бактерій, необхідно використовувати в потрібний час та в потрібному місці.

Інша справа з ендоефітними бактеріями, здатними формувати, окрім ризосферної популяції, ще й таку, що міститься всередині рослини, тобто у її внутрішніх тканинах. Через це ендоефіти мають

низку переваг перед ризосферними бактеріями. Принаймні безперечним є те, що такі бактерії здатні відновлювати ризосферні популяції після несприятливих погодних умов за рахунок клітин бактерій, депонованих всередині рослини. Більше того, ендofітна популяція імунізує рослину та захищає її від вторинної інфекції з ґрунту, оскільки через тісний контакт з рослиною ендofіти є потенційними векторами доставки біологічно активних речовин у внутрішні тканини рослини.

Незважаючи на важливість процесу цілеспрямованого заселення рослин корисними мікроорганізмами, наявних відомостей щодо властивостей бактерій, необхідних для виживання у ризосфері рослин, недостатньо для розуміння та керування цим процесом. Метою огляду є систематизація доступної інформації стосовно молекулярно-генетичного підґрунтя процесу заселення рослин бактеріями.

**Ризосферна колонізація рослин бактеріями. Модельні системи для вивчення процесу колонізації рослин бактеріями.** Модельними об'єктами, природно, стали бактерії, перспективні для практичного використання: *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Agrobacterium*, відомі як продуценти протигрибних метаболітів (ПГМ) та супресори захворювань рослин, іншими словами — агенти біологічного контролю захворювань рослин; *Azospirillum*, *Klebsiella* — фітостимулятори та агенти, що покращує живлення рослин. На практиці мікробні препарати використовують для обробки насіння або розсади рослин клітинами бактерій. Те ж саме застосовується при моделюванні взаємодії бактерій з рослинами у лабораторних умовах. Отже, формування ризосферної популяції бактерій на рослині — це перший етап взаємин, які виникають при їхньому контакті. Науковці логічно припустили, що такі характеристики бактерій, як рухливість, швидкість росту, самозабезпечуваність амінокислотами, вітамінами, органічними кислотами та іншими чинниками живлення, дають їм перевагу у конкурентній боротьбі за виживання в ризосфері. Певну роль у процесі взаємодії бактерій з рослиною відіграють екзополісахариди (ЕПС) та ліпополісахариди (ЛПС). Таким чином, для експериментального доведення припущень було отримано низку мутантних бактерій, дефектних за наведеними ознаками. Мутанти випробовували у ґнотобіотичних модельних системах, розроблених для томатів, картоплі, редису та пшениці. Рослини пророщували протягом 2—3 діб з простерилізованих із поверхні насіння на агаровому середовищі, інокулювали суспензією бактерій і вміщували на стерильний кварцовий пісок або інший субстрат, зволожений поживним міне-

ральним середовищем [3]. Отримані таким чином тисячі асоціацій бактерій з рослиною культивували протягом 7—14 діб, а потім аналізували на присутність бактерій у кореневій системі. Для цього коріння рослини відмивали якийсь час від бактерій у присутності стерильного піску, і рідину висівали на поживне середовище, де можна розрізнити мутант та дикий тип, для підрахунку колоній, наприклад, за кольором колоній, обумовленим експресією *lacZ*-гена.

**Властивості бактерій, які визначають їхню ризосферну компетентність.** Переважна більшість мутантів, дефектних у колонізації коріння, втратили здатність формувати джгутики. Про роль джгутиків відмічається у колонізації бобових бульбочковими бактеріями [4] та пшениці бактерією *Azospirillum* [5]. Одні автори припускають, що рухливість має відігравати певну роль у колонізації рослин [3, 6], інші справедливо зауважують, що ця ознака не має вирішального значення в експериментах, виконаних в інших лабораторіях на пшениці [7] та сої [8]. Слід додати, що є бактерії, які природно не мають джгутиків, наприклад, *Klebsiella oxytoca*, однак добре колонізують рослину та виживають протягом вегетаційного періоду на її коренях [9].

Групою нідерландських авторів визначено, що здатність синтезувати амінокислоти та вітамін В<sub>1</sub> є необхідною умовою колонізації коріння модельних рослин бактерією *P. fluorescens* [10]. Мутанти бактерії, що спроможні рости у присутності деяких вуглеводнів, які виділяються кореневою системою рослини, не відрізняються за рівнем колонізації від дикого типу на відміну від мутантів з порушеним засвоєнням органічних кислот, що виділяються рослинами [3]. Отже, утилізація органічних кислот-ексудатів рослин є важливою ознакою для колонізації кореневої системи цієї рослини. Мутанти *P. fluorescens*, які втратили частину структури О-антигена, але зберегли при цьому нормальні характеристики росту, теж вирізнялися втратою компетентності у ризосфері [11].

На ранніх стадіях становлення взаємозв'язку між бактеріями та рослинами утворюється фізичний контакт за допомогою фімбрій, аглютининів, білків зовнішньої мембрани бактерій та інших утворів. У літературі є інформація, яка свідчить і за, і проти критичної ролі наведених чинників у колонізації рослини бактеріями. Так, нідерландські вчені, які систематично досліджували чинники колонізації рослин декількома видами псевдомонад, ніколи не відмічали суттєвої ролі прикріплення в процесі колонізації [12], у той час, як більш ранні дослідження інших авторів визначають стадію

прикріплення важливою для *P. fluorescens* та *P. putida* [13]. Ця стадія є важливим фактором колонізації рослин *A. tumefaciens* [14]. Окрім того, для цієї бактерії важливою ознакою у колонізації рослин є здатність до синтезу целюлози.

Наведені дані, отримані в дуже спрощених гнотобіотичних модельних експериментах, свідчать про те, що процес колонізації кореневої системи рослин у природних умовах має бути складним, і вивчення його не є простим як з точки зору техніки, так і ідеології. Що стосується техніки проведення дослідів, то вона не дозволяє імітувати природні умови, оскільки в гнотобіотичних модельних системах відсутні біотичні та деякі абіотичні фактори. До того ж рослини, які слугують моделями, варіюють генотипово, хоча й належать до одного сорту. Остання обставина теж ускладнює отримання правдивих результатів. Щодо ідеології, то пошук ознаки, яка відповідає за колонізацію рослини, може бути прикладом дуже спрощеного сприйняття взаємовідносин рослин і бактерій. Різноманітні типи взаємин відкриваються завдяки вивченню їхньої молекулярно-генетичної бази.

*Молекулярні основи колонізації коріння рослини ризосферними бактеріями.* Майже вичерпавши можливості фенотипового скринінгу мутантів бактерій за ознаками, які прогностично могли б брати участь у колонізації рослини, дослідники обрали нову стратегію вивчення чинників колонізації. Цьому в значній мірі сприяв прогрес у розвитку техніки молекулярної біології і генетики, а також народження нової галузі науки — біоінформатики. Отже, нова стратегія полягала у визначенні та аналізі нуклеотидної послідовності локусів ДНК мутантів (у даному випадку — транспозантів), сусідніх з генетичним мобільним елементом — транспозоном, за допомогою якого отримували дефектні у взаєминах з рослиною мутанти, а також амінокислотної послідовності білків, які кодуються цими генами. Іншими словами, ідентифікували гени, які «виключалися» транспозонним мутагенезом, порівнюючи послідовність ДНК та амінокислотну послідовність білка, що кодується цією ДНК, з уже відомими, депонованими у банках генів.

Свого часу для посилення захисту рослин від захворювань було сконструйовано транспозант *E. cloacae*, який, однак, разом з набутим покращеним синтезом ПГМ втратив здатність засвоювати деякі вуглеводні у спермосфері огірків та редису, тобто генетично модифікований штам був дефектним у колонізації насіння таких рослин, які виділяють мало ексудатів у вигляді вуглеводнів, і не виглядав пошкодженим при колонізації гороху, сої та соняшнику, які екскретують більше вуглеводнів

[15]. При додаванні фруктози в кількості, яку виділяють горох або соя, до насіння огірків або редису популяція транспозанту була такою ж, як і батьківська. Молекулярний аналіз транспозанта *E. cloacae*, дефектного у взаєминах з рослинами огірків та редису, визначив, що транспозоном  $\pi$ -Tn5 пошкоджено ген *pfkA*, відповідальний за синтез фосфофруктокінази — ключового ферменту в процесі глікозування, який перетворює фруктозо-6-фосфат у фруктозо-1,6-дифосфат [16]. Результати експерименту продемонстрували, що кількість відновлених джерел вуглецю, які виділяються насінням, а також здатність бактерій використовувати їх, відіграють певну роль у колонізації рослини.

Асоціативні бактерії, які еволюційно пристосовані до конкретної рослини-господаря, зокрема *A. tumefaciens*, що зустрічається у ризосфері люцерни, розпізнають і метаболізують конкретний метаболіт рослини. Ця властивість дає перевагу коменсалам рослин у боротьбі за виживання та має значення для колонізації господаря. Так, штам *A. tumefaciens* ID1609 є здатним зменшувати концентрацію флавоноїдів люцерни, що потрапляють у бактеріальні клітини [17], а мутант, у якого пошкоджено *ife*-гени, відповідальні за цю ознаку, програє йому у конкуренції за заселення коріння люцерни.

Цікаво, що гіпотезу про здатність бактерій катаболізувати окремі рослинні ексудати як селективну перевагу перед конкурентами у колонізації рослин було перевірено в модельній системі трансгенна рослина—генетично модифікована бактерія [18]. Було створено таку трансгенну рослину, яка продукувала нову речовину на відміну від дикого типу. Коли ця рослина інокулювалася незалежно або бактерією, дефектною за здатністю використовувати новий субстрат, або ізогенною бактерією, що використовує його, то різниці в рівні колонізації рослини бактеріями майже не було. При спільному інокулюванні обома бактеріями коріння рослини, що продукує субстрат, колонізувалося переважно тією бактерією, що розпізнавала нову речовину. Нормальні (немодифіковані) рослини колонізувалися однаково обома бактеріями. Таким чином, селективну перевагу в ризосфері рослин мають ті бактерії, які розпізнають та використовують вигідні для своїх клітин рослинні ексудати.

Одну з інсерцій транспозона у ДНК *P. fluorescens*, що впливала на колонізацію томатів, редису та пшениці у гнотобіотичних умовах та в ґрунті, знайдено всередині *puo-4* гена, який є частиною *puo*-оперона [11]. Згаданий оперон утворюють 14 генів, які кодують субодиниці NADH:убіхіноноксидоредуктази. Цей білок є частиною респіраторного

ланцюга, і *nuo*-оперон відповідає за генерацію протонів, які є джерелом енергії, що може бути використана, наприклад, для синтезу АТР, активного транспорту речовин та АТР-залежного руху джгутиків [19]. Конструювання делеційного мутанту іншого штаму *P. fluorescens nuo-4* підтвердило важливість цього генетичного локуса для колонізації ризосфери рослини.

Визначення нуклеотидної послідовності ДНК *P. fluorescens* навколо *Tn5lacZ* та аналіз амінокислотної послідовності виявили два гени оперону двокомпонентної регуляторної системи: *colR*, який має гомологію з регуляторами підкласу *OmpR-PhoB*, та *colS* — ген, продукт якого подібний до сенсоркінази [20]. Двокомпонентна регуляторна система здатна реагувати на чинники довкілля, такі як зміни в осморегуляції, концентрації фосфору та ін. [21, 22]. Амінотермінальна частина *ColS* білка має виступаючий через мембрану домен, здатний реагувати на чинники довкілля та передавати сигнал на С-кінець, де відбуваються автофосфорилування та взаємодія з чутливим регулятором (*ColR*). За припущенням авторів дослідження, один з рослинних ексудатів взаємодіє з промотором *colR/colS* оперону, і, таким чином, двокомпонентна система активує невизначений чинник, важливий для колонізації [20]. У *A. brasilense* на колонізацію пшениці впливає ген — регулятор транскрипції — *flcA*, що належить до родини регуляторів *LuxR-UhpA*, більшість з яких є членами двокомпонентної системи, подібної до описаної вище [23]. На відміну від інших відомих регуляторів цієї системи, *flcA* індукуюється не сенсоркіназою, а самостійно. Окрім колонізації, цей ген контролює синтез ЕПС та диференціацію клітин (перетворення вегетативних клітин у цисти).

Таким чином, бактерії через двокомпонентну регуляторну систему сприймають сигнали від рослини та активізують необхідні гени адекватно обставинам у ризосфері.

Аналіз нуклеотидної послідовності іншого локуса ДНК транспозанта *P. fluorescens*, дефектного за ознакою колонізації рослин, виявив інсерцію у мультицистронному опероні, продукт одного з генів (*sss*) має високу гомологію з білками родини  $\lambda$  інтеграз. Останні є сайт-специфічними рекомбіназами — ферментами, які виконують реципрокну рекомбінацію між двома невеликими за розмірами (приблизно 15 п. н.) гомологічними послідовностями ДНК, що призводить до інверсії або ексцизії, в залежності від орієнтації послідовностей [24], тобто рекомбінази спричиняють перебудови ДНК, які відбуваються без синтезу ДНК. Такого типу перебудови, або перерозподілення, ДНК відбуваю-

ться в процесі регуляції експресії генів, відповідальних за утворення фімбрій, джгутиків, ЛПС та інших молекул поверхні клітини. Таким чином, попередні результати авторів щодо ролі молекул та утворів на поверхні клітин у процесі колонізації знайшли обґрунтування на молекулярному рівні та пролили світло на деякі протилежні висновки, зроблені на основі вивчення фенотипових ознак бактерій.

**Ендофітна колонізація рослин бактеріями.** В останні 10 років ендофітні бактерії привертають увагу дослідників у зв'язку з їхньою здатністю проникати в тканини різноманітних рослин та поширюватися у рослинному організмі, не спричиняючи йому шкоди та надаючи певної користі. В порівнянні з вільноіснуючими бактеріями ендофіти утворюють стабільніші асоціації з рослиною і на відміну від них виживають у рослинному депо протягом вегетації рослини. Ендофіти можуть бути засобом цільової доставки певних речовин у рослину, і за рахунок таких бактерій (у тому числі генетично модифікованих) можна буде змінювати властивості рослин без втручання в геном останніх.

Ендофіти (див. огляд [25]) умовно поділяють на дві категорії: одні утворюють стабільні асоціації з рослинами, мають вузьке коло господарів і їхньою загальною рисою є те, що вони не здатні вижити в ґрунті, а мають екологічну нішу всередині рослинних тканин. Таких ендофітів відомо мало: *Azoarcus sp.*, *Acetobacter denitrificans*, *Alcaligenes faecalis* (нова назва *P. stutzeri* [26]), *Herbaspirillum seropedice*, і вони є вузькоспецифічними щодо рослини-господаря [27—31]. Інша категорія ендофітів характеризується тим, що має ширше коло господарів, тобто вони менш специфічні у стосунках з рослинами. Представниками останніх є бактерії роду *Azospirillum*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Bacillus*, які відрізняються від інших ендофітів цієї категорії низкою корисних для рослин властивостей (засвоєння атмосферного азоту, продукція біостимуляторів, поліпшення мінерального живлення рослин тощо) [32—36]. Деякі види бактерій зазначених родів є кандидатами для створення ефективних біопрепаратів для поліпшення продуктивності рослин.

Для детекції ендофітів всередині рослин та визначення їхньої локалізації в геномі бактерій вводять репортерні гени. Продукти таких генів постійно синтезуються в бактеріальній клітині та надають інформацію про місце їхнього знаходження. У такому разі використовується ген  $\beta$ -глюкокурнідази — ферменту, який окислює безколірний субстрат 5-бром-4-хлор-3-індолил- $\beta$ -D-глюкокурнід до продукту блакитного кольору (індиго) [37],

*lacZY* (утилізація лактози за допомогою  $\beta$ -галактозидази) [38] або інший репортерний ген, який кодує так званий зелений флюоресцентний протеїн (GFP) [39]. Злиття такого репортерного гена з геном, який цікавить дослідника, дає інформацію не лише про локалізацію бактерій, але й стосовно функціонування позначеного гена в умовах розвитку бактерій *in planta* [40]. Однак для кількісного визначення бактерій всередині рослинного депо застосовується класична техніка виділення бактерій, яка передбачає стерилізацію поверхні того рослинного органа, з якого планується виділення ендofітів. Природа стериланта та час експозиції рослинного матеріалу в його розчині залежать від різновиду об'єкта. Метод стерилізації поверхні рослинного матеріалу розробляється експериментально для конкретних рослин або їхніх органів із застосуванням різнобічних перевірок. Ендofітні бактерії випробовуються у гнотобіотичних модельних системах, аналогічних тим, що описані вище для ризосферних бактерій.

Колонізацію рослин ендofітними бактеріями добре вивчено, оскільки вони вважаються перспективними для виробничої практики. Відомо, наприклад, що бактерії *Azoarcus sp.* дуже щільно заселяють пакистанські рослини (*Kallar grass*) зсередини ( $10^8$  КУО/г сухої маси). Сучасними методами простежено, що проникнення бактерій всередину рослин відбувається через корінь у зоні елонгації (тобто в зоні активного росту), і бактерії просуваються далі через міжклітинники до ксилемних судин [41].

Ендofітну природу *A. diazotrophicus* підтверджено багатьма роботами, в яких ідеться про локалізацію бактерій всередині коренів, стебел, листя на різних стадіях росту рослини-господаря в кількості  $10^3$ — $10^6$  КУО/г сухої маси, а також у ксилемній рідині, що свідчить про переміщення бактерій по рослині вертикально [42]. Однак інформації щодо властивостей бактерій, які відіграють значну роль у формуванні ендofітної популяції, недостатньо для визначення механізмів їхньої взаємодії з рослинами.

Про роль целюлолітичних ферментів у процесі внутрішньої колонізації рослини-господаря ендofітними бактеріями відомо для бактерій *Azoarcus*, *E. asburie*, *P. fluorescens* та *Cellvibrio mixtus* [43—46]. Активність двох ферментів — екзоглюканази та ендоглюканази було визначено у бактерії азоркус, і гени, що їх кодують, клоновано та охарактеризовано їхні послідовності. Індукція ендоглюканази, експресію гена якої (*egl*) виявляли цитохімічно, відбувається у кореневих волосках рослини, інфікованої бактеріями. Мутації в структурному гені

або в регуляторному локусі, які призводять до *Egl* фенотипу, значно знижують проникнення бактерій всередину тканин рослини-господаря.

Інші ферменти деструкції клітинної стінки рослин — пектолітичні — відіграють певну роль в інфекційному процесі патогенних бактерій [47]. Ці ферменти розкладають пектин (компонент середньої пластинки клітинної стінки рослин) до олігосахаридів, які, в свою чергу, засвоюються бактеріями за допомогою інших ферментів. Багато з описаних ендofітів теж мають пектолітичну активність, але рівень її низький [48—51]. Нами досліджується роль пектинази у внутрішній колонізації рослини ендofітами. В попередніх дослідженнях виявлено високу конкурентність бактерії *K. oxytoca* VN13 у ризосфері рослин, яка пов'язується з її здатністю локалізуватися всередині тканини коріння деяких рослин [9]. Однак рівень внутрішньої колонізації бактерії не є високим ( $10^3$  КУО/г маси рослини). Досі невідомо, чи має вплив ендofітна популяція бактерій на долю рослини, чи бактерії використовують тканини рослини як депо для подальшої колонізації рослини ззовні, і останнє, таким чином, надає їм перевагу в конкуренції за виживання перед іншими бактеріями в мікробному ценозі. Можна прогнозувати, що вплив ендofітів на рослину залежить від рівня щільності заселення ними внутрішності тканин, однак невідомо, які механізми керують популяцією бактерій всередині рослини та підтримують оптимальну для обох партнерів кількість бактерій в залежності від зовнішніх умов.

Аналізуючи скупчення бактерій *K. oxytoca* VN13 всередині клітинної стінки рису та пшениці, ми дійшли висновку, що порожнини, які спостерігалися навколо бактерій, утворюють ферменти декомпозиції компонентів рослинної клітинної стінки. Пектолітичну активність бактерій *K. oxytoca* виявлено раніше авторами роботи [48], а в дослідженні [52] показано наявність у неї двох пектиназ — полігалактуранази (ПГ, ЕС 3.2.1.15) та пектатліази (ПЛ, ЕС 4.2.2.2). ПГ є ферментом, що розщеплює полігалактуранову кислоту — складову пектину — гідролітичним шляхом, утворюючи насичені залишки галактуранової кислоти, в той час як ПЛ каталізує негідролітичне розщеплення деметильованого пектину через утворення ненасичених залишків галактуранату [53].

Обидві пектиназні активності, виявлені в роботі [52], тестували в представника виду *K. oxytoca* VN13, здатного деградувати напіврідкий пектатний агар. Тестування бактерій на здатність синтезувати і виділяти ПЛ у присутності різних джерел вуглецю показало, що в їхній популяції присутня деяка

кількість бактерій ( $10^5$ — $10^6$ ), які або конститутивно синтезують ПЛ (*Pel*<sup>r</sup>), або здатні до переключення на засвоєння субстрату ПЛ — полігалактуронату — скоріше за решту клітин [54]. Загальна ПЛ-активність не є високою і це можна пояснити малою кількістю *Pel*<sup>r</sup>-форм бактерій у популяції. При культивуванні бактерій протягом декількох пасажів у селективному середовищі, яке містить ПГ, кількість *Pel*<sup>r</sup>-бактерій зростає і відповідно ПЛ-активність збільшується у 10 разів. При поверненні ПЛ-активних бактерій (*Pel*<sup>r</sup>) у середовище з іншим, ніж ПГ, джерелом вуглецю ПЛ-активність повертається до рівня, що спостерігається у дикого штаму.

*Pel*<sup>r</sup>-клони *K. oxytoca* VN13 перевірено на здатність проникнення всередину коренів пшениці. Зазначено, що в порівнянні з вихідним типом *Pel*<sup>r</sup>-клони *K. oxytoca* VN13 проникають у тканини пшениці у 10 разів краще, ніж дикий тип ( $6,0 \cdot 10^4$  та  $5,8 \cdot 10^3$  КВО/г відповідно) [54, 55]. Показано, що бактерії, які локалізуються всередині тканин кореня пшениці, перебувають у стані дерепресії щодо синтезу ПЛ незалежно від того, в якому стані (*Pel*<sup>r</sup> чи *Pel*<sup>s</sup>) вони були використані для інокуляції. Цікавим є той факт, що *Pel*<sup>r</sup>-форма бактерії *K. oxytoca* VN13 суттєвіше впливала на накопичення біомаси рослиною, ніж вихідний штам.

Для вивчення молекулярних механізмів проникнення бактерії *K. oxytoca* всередину рослини-господаря та використання цих знань на практиці було клоновано в *E. coli* *peh*-ген бактерії, який кодує фермент ПГ, та *pel*-ген, що відповідає за синтез ПЛ [54, 56]. Визначено нуклеотидну послідовність промоторної області та 1450 п. н. структурної частини *peh*-гена *K. oxytoca* VN13 [56]. Амінокислотна послідовність має високий рівень гомології з послідовностями широкого спектра мікроорганізмів. Найвищий рівень гомології спостерігається в порівнянні з екзополігалактуроазами таких мікроорганізмів, як *Yersinia enterocolitica*, *Erwinia chrysanthemi* та *Ralstonia solanacearum*; їхні амінокислотні послідовності мають гомологію з поліпептидом клонованого гена майже по всій довжині.

Наявність клонованого *peh*-гена дозволяє створювати мутантні форми бактерії з різним рівнем синтезу ПГ та досліджувати їхні стосунки з рослиною, тобто роль ПГ у проникненні бактерій всередину рослин та наслідки від змінення кількості бактерій у тканинах на їхній розвиток. Методом реципрокної рекомбінації *in vivo*, шляхом заміщення нативного гена мутантним, отримано мутанти бактерії *K. oxytoca* VN13, дефектні за *peh*-геном, які планують вивчити в стосунках з рослиною.

Подібні мутанти буде отримано і за ознакою синтезу ПЛ та визначено роль ПЛ у проникненні бактерій всередину рослин.

*Перспективи пізнання процесів колонізації рослин бактеріями.* Останніми роками помітний прогрес спостерігається у вивченні регуляції експресії генів бактерій під впливом індукторів, які синтезуються в залежності від чисельності клітин у популяції (quorum sensing, кворум-чутливість) [57]. Недавні дослідження свідчать про те, що кворумні регуляторні та інші системи глобальної регуляції відіграють ключову роль у пристосуванні бактеріальних видів до факторів навколишнього середовища, у взаємодіях між клітинами одного або різних видів бактерій, а також у стосунках з еукаріотичними організмами.

Найпростішу систему кворум-залежної регуляції — *LuxI/LuxR* — описано для грамнегативних бактерій [58]. У процесі розмноження культура бактерій продукує аутоіндуктор — ацилгомосеринлактон (аГСЛ) — сигнальну молекулу, яка синтезується аГСЛ-синтазою — *LuxI*. Коли концентрація аутоіндуктора стає пороговою, він упізнається іншою молекулою — активатором транскрипції *LuxR*, і утворений комплекс аГСЛ/*LuxR* активує транскрипцію відповідних генів, у даному випадку генів біоломінесценції [59]. Подібним чином регулюються такі процеси, як біоломінесценція, синтез ферментів деструкції біополімерів, кон'югація тощо [57]. У межах схеми регуляції *LuxI/LuxR* існують варіації, зокрема, у *P. aeruginosa* експресія факторів вірулентності координується тандемом *LasI/R*, *RhlI/R* [60].

У грампозитивних бактерій деякі функції також залежать від густини популяції (стан компетентності клітин, спорювання, кон'югація), однак роль аутоіндуктора виконує не аГСЛ, а білкова молекула, що зветься феромоном. Остання впізнається двокомпонентною системою регуляції, яка в залежності від стану фосфорилування—дефосфорилування або активує, або репресує експресію необхідних генів [61].

У бактерій існує також «гібридна» система впізнавання кворуму клітин у популяції конкретного виду бактерій, коли останні «відчувають», в якому стані вони перебувають: чистої чи змішаної культури [62]. В залежності від стану і контролюється експресія генів, яка дає можливість виду пристосуватися до умов довкілля і зберегти популяцію. Аутоіндукторами в цій системі є аГСЛ (AI-1), відмінний від *LuxI*, та AI-2 поки що невизначеної природи, але не аГСЛ. Детекторами AI-1 та AI-2 є відповідно *LuxN* та *LuxQ*, які комбінують в одному властивості двох молекул — сенсоркінази

та фосфатази [62—65]. За умов малої кількості бактерій в популяції при відсутності аутоіндуктора гібридні сенсори функціонують як кінази, а при високій густині клітин у популяції — як фосфатази. Такі активності *LuxN* та *LuxQ* дозволяють їм модулювати відповідний рівень фосфорилування білка *LuxO* — регулятора транскрипції генів і таким чином реагувати на зміни у популяції. Ще один білок, *LuxU*, бере участь у передачі сигналу від детекторів до *LuxO*, який в кінцевому процесі активує транскрипцію генів, у даному випадку тих, що кодують люциферазу. Ген *luxS*, який кодує AI-2, є дуже консервативним і зустрічається у великій кількості видів бактерій [66]. Це означає, що білок AI-2 може бути спільним засобом комунікації серед різних видів бактерій у складному консорціумі. Здатність реагувати на AI-2 дає можливість конкретному виду бактерій диференційовано контролювати експресію генів у залежності від того, є в його оточенні клітини стороннього виду чи ні. Прикладом може бути кворум-залежний контроль продукції антибіотиків бактерією *P. aureofaciens*, вірогідно, для зменшення конкуруючої за чинники живлення та енергії мікрофлори у ризосфері рослини [67].

Кворум-залежна регуляція експресії генів в асоційованих з рослинами бактерій, напевне, відіграє значну роль у взаєминах з еукаріотичним господарем. Вражаючим прикладом є захист морською рослиною *Delisea pulchra* від патогенної бактерії *Serratia liquefaciens* завдяки продукції антиколонізаційних факторів, анти-ГСЛ, які інактивують *LuxR* [68]. Наведений приклад демонструє інтерактивне спілкування бактерій з рослиною за участю сигнальних молекул. Глибоке пізнання кворумзалежної регуляції експресії генів в асоційованих з рослинами бактерій дасть змогу більше зрозуміти колонізацію рослин та навчитися керувати цим процесом. Перші спроби тут уже зроблено. Так, ген аГСЛ-синтази *Y. enterocolitica* (*yenI*), який введено у тютюн, був активним, і аГСЛ синтезувався в рослині в кількості, достатній для відновлення функцій у бактерій, дефектних за синтезом цих молекул [69].

*N. O. Kozzyrovska*

Molecular and genetic aspects of external and internal colonization plants by beneficial bacteria

Summary

Colonization of plants with the beneficial bacteria is critical for successful application of inoculants, and study of molecular mechanisms of plant bacteria interactions is in progress. The characters of bacteria, concerning their rhizosphere competence (motility, growth rate, selfsupply with amino acids, vitamins, organic acids, etc) do

their advantage in competition for survival in the rhizosphere. Exopolysaccharides and lipopolysaccharides also play role during plant-bacteria interaction. Information, concerning current state of knowledge of genetic determination and regulation of factors that specify the rhizosphere and endophytic colonization of plants with bacteria promising for practice, presented in review.

*N. A. Kozzyrovskaya*

Молекулярно-генетические аспекты внешней и внутренней колонизации растений полезными бактериями

Резюме

Колонизация растений полезными бактериями является необходимым условием для успешного применения микробиологических препаратов, поэтому механизмы взаимодействия бактерий с растениями изучаются на всех уровнях, в том числе молекулярном. Характеристики бактерий, определяющие их ризосферную компетентность (подвижность, скорость роста, самообеспечение аминокислотами, витаминами, органическими кислотами и другими факторами питания), дают им преимущество в конкурентной борьбе за выживание в ризосфере. Определенную роль в процессе взаимодействия бактерий с растением играют экзополисахариды и липополисахариды. В обзоре приведена информация, касающаяся состояния изучения генетической детерминации и регуляции факторов, причастных к ризосферной и эндофитной колонизации перспективными для практики бактериями.

#### ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Davidson J. Plant beneficial bacteria // Bio/Technology.—1988.—6.—P. 282—286.
2. Lugtenberg B. J. J., de Weger L. A., Bennett J. W. Microbial stimulation of plant growth and protection from disease // Curr. Opin. Biotechnol.—1991.—2.—P. 457—464.
3. Simons M., Van der Bij A. J., Brand J., de Weger L. A., Wijffelman C. A., Lugtenberg B. J. J. Gnotobiotic system for studying rhizosphere colonization by plant growth-promoting *Pseudomonas* bacteria // Mol. Plant Microbe Interact.—1996.—9, N 7.—P. 600—607.
4. Hunter W. J., Fahring C. J. Movement by *Rhizobium* and nodulation of nodules // Soil Biol. Biochem.—1980.—12.—P. 538—543.
5. Broek V., Lambrecht M., Vanderleiden J. Bacterial chemotactic motility is important for the initiation of wheat root colonization by *Azospirillum brasilense* // Microbiology.—1998.—144.—P. 2599—2606.
6. de Weger L. A., van der Vlugt C. J. M., Wijffes A. H. M., Bakker P. A. H. M., Shippers B., Lugtenberg B. J. J. Flagella of plant growth stimulating *Pseudomonas fluorescens* strain are required for colonization of potato roots // J. Bacteriol.—1987.—169.—P. 2769—2773.
7. Howie W. J., Cook R. J., Weller D. M. Effects of soil matrix potential and cell motility on wheat colonization by fluorescent *Pseudomonas* suppressive to take-all // Phytopathology.—1987.—77.—P. 286—292.
8. Scher F. M., Klopper J. W., Singleton C., Zaleska I., Laliberte M. Colonization of soybean roots by *Pseudomonas* and *Serratia* species: relationship to bacterial motility, chemotaxis, and generation time // Phytopathology.—1988.—78.—P. 1055—1059.
9. Kozzyrovska N., Alexeyev M., Kovtunovych G., Gun'kovska N., Kordyum V. Survival of *Klebsiella oxytoca* VN13 engineered to bioluminescence on barley roots during plant vegetation // Microb. Releases.—1994.—2.—P. 261—265.

10. Simons M., Permentier H. P., de Weger L. A., Wijffelman C. A., Lugtenberg B. J. J. Aminoacid synthesis is necessary for tomato root colonization by *Pseudomonas fluorescens* strain WCS365 // Mol. Plant Microbe Interact.—1997.—10, N 1.—P. 102—106.
11. Dekkers L. C., Van der Bij A. J., Mulders J. H. M., Phoelich C. C., Wentwoord R. A. R., Glandorf D. C. M., Wijffelman C. A., Lugtenberg B. J. J. Role of the O-antigen of lipopolysaccharide, and possible roles of growth rate and of NADH:ubiquinone oxidoreductase (*nuo*) in competitive tomato root-tip colonization by *Pseudomonas fluorescens* WCS365 // Mol. Plant Microbe Interact.—1998.—11, N 8.—P. 763—771.
12. Okon Y., Bloemberg G. V., Lugtenberg B. J. J. Biotechnology of biofertilization and phytostimulation // Agricult. biotechnol. / Ed. A. Altman.—New York, Basel, Hong Kong: Marcel Dekker Inc., 1998.—P. 327—349.
13. Anderson A. J., Habibzadegah-Tari P., Tepper C. S. Molecular studies on the role of a root surface agglutinin in adherence and colonization by *Pseudomonas putida* // Appl. Environ. Microbiol.—1988.—54.—P. 375—380.
14. Matthyse A. G., McMahan S. Root colonization by *Agrobacterium tumefaciens* is reduced in *cel*, *attB*, *attD*, and *attR* mutants // Appl. Environ. Microbiol.—1998.—64, N 7.—P. 2341—2345.
15. Roberts D. P., Marty A. M., Dery P. D., Hartung J. S. Isolation and modulation of growth of a colonization-impaired strain of *Enterobacter cloacae* in cucumber spermosphere // Can. J. Microbiol.—1996.—42, N 2.—P. 196—201.
16. Roberts D. P., Dery P. D., Yucel I., Buyer J., Holtman M. A., Kobayashi D. Y. Role of *pfkA* and general carbohydrate catabolism in seed colonization by *Enterobacter cloacae* // Appl. Environ. Microbiol.—1999.—65, N 6.—P. 2513—2519.
17. Palumbo J. D., Kado C. I., Philips D. A. An isoflavonoid-inducible efflux pump in *Agrobacterium tumefaciens* is involved in competitive colonization of roots // J. Bacteriol.—1998.—180, N 12.—P. 3107—3113.
18. Savka M. A., Farrand S. K. Modification of rhizobacterial populations by engineering bacterium utilization of a novel plant-produced resource // Nat. Biotechnol.—1997.—15, N 4.—P. 363—368.
19. Anraku Y., Gennis R. The aerobic respiratory chain of *Escherichia coli* // TIBS.—1987.—12.—P. 262—266.
20. Dekkers L. C., Bloemendaal C. J. P., de Weger L. A., Wijffelman C. A., Spaink H. P., Lugtenberg B. J. J. A two-component system plays an important role in the root-colonizing ability of *Pseudomonas fluorescens* strain WCS365 // Mol. Plant Microbe Interact.—1998.—11, N 1.—P. 177—187.
21. Comeau D. E., Ikenaka K., Tsung K., Inouye M. Primary characterization of the protein products of the *Escherichia coli* *ompB* locus: structure and regulation of synthesis of the OmpR and EnvZ proteins // J. Bacteriol.—1985.—164.—P. 578—584.
22. Makino K., Shinagawa H., Amemura M., Nakata A. Nucleotide sequence of the *phoB* gene, the positive regulatory gene for the phosphate regulon of *Escherichia coli* // J. Mol. Biol.—1986.—190.—P. 37—44.
23. Perer-Gerk L., Paquellin A., Gounon P., Kennedy I. R., Elmerich C. A transcriptional regulator of the LuxR-UhpA family, FlcA, controls flocculation and wheat root surface colonization by *Azospirillum brasilense* Sp7 // Mol. Plant Microbe Interact.—1998.—11, N 3.—P. 45—56.
24. Dekkers L. C., Phoelich C. C., Van der Fits L., Lugtenberg B. J. J. A site-specific recombinase is required for competitive root colonization by *Pseudomonas fluorescens* WCS365 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.—1998.—95, N 12.—P. 7051—7056.
25. Козировська Н. О. Взаємодія ендоефітних бактерій з рослиною на клітинному та молекулярному рівнях // Біополімери і клітина.—1998.—14, № 6.—С. 488—499.
26. Vermeiren H., Willems A., Shoofs G., Keijers V., Hai W., Vanderleiden J. The rice inoculant strain *Alcaligenes faecalis* A15 is a nitrogen-fixing *Pseudomonas stutzeri* // System. Appl. Microbiol.—1999.—22.—P. 215—224.
27. Reinhold B., Hurek T., Fendrik I. Cross-reaction of predominant nitrogen-fixing bacteria with enveloped, round bodies in the root interior of kallar grass // Appl. Environ. Microbiol.—1987.—53.—P. 889—891.
28. Dobreiner J., Reis V. M., Paula M. A., Olivares F. Endophytic diazotrophs in sugar cane, cereals and tuber plants // New horizons in nitrogen fixation: Proc. 9th Int. Congr. Nitrogen Fixation (6—12 December 1992, Cancun, Mexico) / Eds R. Palacios, J. Mora, W. E. Newton.—Dordrecht: Kluwer, 1993.—P. 671—675.
29. James E. K., Reis V. M., Olivares F. L., Baldani J. I., Dobreiner J. Infection of sugar cane by the nitrogen-fixing bacterium *Acetobacter diazotrophicus* // J. Exp. Bot.—1994.—45.—P. 757—766.
30. Pimentel J. P., Olivares F. L., Pitard R. M., Urquiaga S., Akiba F., Dobreiner J. Dinitrogen fixation and infection of grass leaves by *Pseudomonas rubrisubalbicans* and *Herbaspirillum seropedicae* // Plant Soil.—1991.—137.—P. 61—65.
31. You C., Zou F. Non-nodular endorhizosphere nitrogen fixation in wetland rice // Can. J. Microbiol.—1989.—35.—P. 403—408.
32. Patriquin D. G., Dobreiner J. Light microscopy observations of tetrazolium-reducing bacteria in the endorhizosphere of maize and other grasses in Brazil // Can. J. Microbiol.—1978.—24.—P. 734—742.
33. Нгуен Т. Х., Тон Т. Б., Тарасенко В. А., Козыровская Н. А. Азотфиксирующая энтеробактерия колонизует ткани корня риса // Молекуляр. и генет. механизмы взаимодействия микроорганизмов и растений.—Пушино, 1989.—С. 209—214.
34. Gardner J. M., Feldman A. W., Zablutowicz R. M. Identity and behavior of xylem-residing bacteria in rough lemon roots of Florida citrus trees // Appl. Environ. Microbiol.—1982.—43.—P. 1335—1342.
35. Lamb T. G., Tonkyn D. W., Kluepfel D. A. Movement of *Pseudomonas aureofaciens* from the rhizosphere to aerial plant tissue // Can. J. Microbiol.—1996.—42.—P. 1112—1120.
36. Hinton D. M., Bacon C. W. *Enterobacter cloacae* is an endophytic symbiont of corn // Mycopathologia.—1995.—129.—P. 117—125.
37. Jefferson R. A. The GUS reporter gene system // Nature.—1989.—342, N 6252.—P. 835—837.
38. O'Callaghan K., Webster G., Batchelor C., Davey M., Denarie J., Cooking E. Infection of *Sesbania rostrata* by *Azorhizobium caulinodans* ORS571 with a *lacZ* reporter gene // Biol. Fixation of Nitrogen for Ecology and Sustainable Agriculture: Abstrs book.—Poznan, 1996.—P. 89.
39. Chalfie M., Tu Y., Euckirchen G., Ward W. W., Prasher D. C. Green fluorescent protein as a marker of gene expression // Science.—1994.—263.—P. 802—805.
40. Wilson K., Jefferson R.  $\beta$ -Glucuronidase (GUS) as a marker to study plant-microbe interactions // 2nd Int. Workshop on PGPR (October 14—19, Switzerland).—Interlaken, 1990.—P. 69.
41. Reinhold-Hurek M., Hurek T. Capacities of *Azoarcus* sp., a new genus of grass-associated diazotrophs // New horizons in nitrogen fixation: Proc. 9th Int. Congr. Nitrogen Fixation (6—12 December 1992, Cancun, Mexico) / Eds R. Palacios,



- J. Mora, W. E. Newton.—Dordrecht: Kluwer, 1993.—P. 691—694.
42. James E. K., Reis V. M., Olivares F. L., Baldani J. J., Dobereiner J. Infection of sugar cane by the nitrogen-fixing bacterium *Acetobacter diazotrophicus* // J. Exp. Bot.—1994.—45.—P. 757—766.
  43. Reinhold-Hurek B., Hurek T., Claeysens M., van Montagu M. Cloning, expression in *Escherichia coli*, and characterization of cellulolytic enzymes of *Azoarcus* sp., a root-invasive diazotroph // J. Bacteriol.—1993.—175.—P. 7056—7065.
  44. Quandt-Hallmann A., Kloeppe J. W. Immunological detection and localization of the cotton endophyte *Enterobacter asburiae* JM22 in different plant species // Can. J. Microbiol.—1996.—42.—P. 1144—1154.
  45. Hazlewood G. P., Gilbert H. J. Structure and function analysis of *Pseudomonas* plant cell wall hydrolases // Progr. Nucl. Acid Res. Mol. Biol.—1998.—61.—P. 211—241.
  46. Fontes C. M., Clarke J. H., Hazlewood G. P., Fernandes T. H., Gilbert H. J., Ferreira L. M. Identification of tandemly repeated type VI cellulose-binding domains in an endoglucanase from the aerobic soil bacterium *Cellvibrio mixtus* // Appl. Microbiol. Biotechnol.—1998.—49.—P. 552—559.
  47. Starr M. P., Chatterjee A. K. The genus *Erwinia*: enterobacteria pathogenic for plants and animals // Annu. Rev. Microbiol.—1972.—26.—P. 389—426.
  48. von Reisen V. L. Pectinolytic, indole-positive strains of *Klebsiella pneumoniae* // Int. J. Syst. Bacteriol.—1976.—26.—P. 143—145.
  49. Nasser W., Awade A. C., Reverchon S., Robert-Baudouy J. Pectate lyase from *Bacillus subtilis*: molecular characterization of the gene, and properties of the cloned enzyme // FEBS.—1993.—335.—P. 319—326.
  50. Bekri M. A., Desair J., Keijers V., Proost P., Searle-van Leeuwen M., Vanderleyden J., Vande Broek A. *Azospirillum irakense* produces a novel type of pectate lyase // J. Bacteriol.—1999.—181.—P. 2440—2447.
  51. Liao C.-H. Analysis of pectate lyases produced by soft rot bacteria associated with spoilage of vegetables // Appl. Environ. Microbiol.—1989.—55.—P. 1677—1683.
  52. Starr M. P., Chatterjee A. K., Starr P. B., Buhanan G. E. Enzymatic degradation of polygalacturonic acid by *Yersinia* and *Klebsiella* species in relation to clinical laboratory procedures // J. Clin. Microbiol.—1977.—6.—P. 379—386.
  53. Walker M. J., Pemberton J. M. Construction of a transposon containing a gene for polygalacturonate trans-eliminase from *Klebsiella oxytoca* // Arch. Microbiol.—1987.—146.—P. 390—395.
  54. Kovtunovych G., Kordyum V., Kleiner D., Kozyrovska N. Enhancing the internal plant colonization rate with endophytic nitrogen-fixing bacteria // Біополімери і клітка.—1999.—15, № 4.—P. 300—306.
  55. Kovtunovych G., Lar O., Kamalova S., Kordyum V., Kleiner D., Kozyrovska N. Correlation between pectate lyase activity and ability to penetrate into plant tissues by diazotrophic *Klebsiella oxytoca* VN 13 // Plant and Soil.—1999.—260.—P. 1—6.
  56. Ковтунович Г. В., Лар О. В., Козировська Н. О. Клонування та структурний аналіз *peh* гена *Klebsiella oxytoca* VN13 // Біополімери і клітка.—2000.—16, № 5.—P. 356—362.
  57. Bassler B. L. How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing // Curr. Opin. Microbiol.—1999.—2, N 6.—P. 582—587.
  58. Engebrecht J., Silverman M. Identification of genes and gene products necessary for bacterial bioluminescence // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1984.—81.—P. 4154—4158.
  59. Fuqua W. C., Winans S. C., Greenberg E. P. Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators // J. Bacteriol.—1994.—176.—P. 269—275.
  60. Ochsner U. A., Reiser J. Autoinducer-mediated regulation of rhamnolipid biosurfactant synthesis in *Pseudomonas aeruginosa* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1995.—92.—P. 6424—6428.
  61. Kleerebezem M., Quadri L. E. N., Kuipers O. P., de Vos W. M. Quorum sensing by peptide pheromones and two-component signal-transduction systems in gram-positive bacteria // Mol. Microbiol.—1997.—24.—P. 895—904.
  62. Freeman J. A., Lilley B. N., Bassler B. L. A genetic analysis of the functions of LuxN: a two-component hybrid sensor kinase that regulates quorum sensing in *Vibrio harveyi* // Mol. Microbiol.—2000.—35, N 1.—P. 139—149.
  63. Bassler B. L. A multichannel two-component signaling relay controls quorum sensing in *Vibrio harveyi* // Cell-Cell Signaling in Bacteria / Ed. G. M. Dunny, S. C. Winans.—Washington DC: ASM press, 1999.—P. 259—273.
  64. Freeman J. A., Bassler B. L. A genetic analysis of the function of LuxO, a two-component response regulator involved in quorum sensing in *Vibrio harveyi* // Mol. Microbiol.—1999.—31.—P. 665—677.
  65. Freeman J. A., Bassler B. L. Sequence and function of LuxU: a two component phosphorelay protein that regulates quorum sensing in *Vibrio harveyi* // J. Bacteriol.—1999.—181.—P. 899—906.
  66. Surette M. G., Miller M. B., Bassler B. L. Quorum sensing in *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and *Vibrio harveyi*: a new family of genes involved in autoinducer production // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1999.—96.—P. 1639—1644.
  67. Cha C., Gao P., Chen Y.-C., Shaw P. D., Farrand S. K. Production of acylhomoserine lactone quorum-sensing signals by gram-negative plant-associated bacteria // Mol. Plant Microbe Interact.—1998.—11.—P. 1119—1129.
  68. Manefield M., de Nys R., Kumar N., Read R., Givskov M., Steinberg P., Kjelleberg S. Evidence that halogenated furanones from *Delisea pulchra* inhibit acylated homoserine lactone (AHL)-mediated gene expression by displacing the AHL signal from its receptor protein // Microbiology.—1999.—145.—P. 283—291.
  69. Fray R. G., Throup J. P., Daykin M., Wallace A., Williams P., Stewart G. S., Grierson D. Plants genetically modified to produce N-acylhomoserine lactones communicate with bacteria // Nat. Biotechnol.—1999.—17.—P. 1017—1020.

УДК 577.11.35

Надійшла до редакції 06.12.99