

Литература

1. Asakura N., Nakamura C., Ohtsuka I. 2000. Homoeoallelic gene *Ncc-tmp* of *Triticum timopheevii* conferring compatibility with the cytoplasm of *Aegilops squarrosa* in the tetraploid wheat nuclear background. *Genome* 43: 503–511.
2. Atienza S.G., Martin A.C. et al. 2007. Effects of hordeum chilense cytoplasm on agronomic traits in common wheat. *Plant Breeding* 126: 5–8.
3. Baack, E.J., and L.H. Rieseberg. 2007. A genomic view of introgression and hybrid speciation.: *Current Opinion in genetics and Development* 17: 513–518.
3. Kitagawa K., Takumi S., Nakamura C. 2003. Selective transcriptional processing of the heteroplasmic mitochondrial *orf156* copies in the nucleus-cytoplasmic hybrids of wheat. *Plant Mol Biol* 53: 609–619.
4. Hedtke B., Borner T., Weihe A. 2000. One RNA polymerase serving two genomes. *EMBO Rep.* 1: 435–440.
5. Laser B., Mohr S. et al. 1997. Paternal and novel copies of the mitochondrial *orf25* gene in the hybrid crop-plant triticale: predominant transcriptional expression of the maternal gene copy. *Curr Genet* 29: 337–347.
6. Soltis P. S., Soltis D.E. 2000. The role of genetic and genomic attributes in the success of polyploids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 7051–7057.
7. Першина Л.А., Трубочеева Н.В., Раковцева Т.С., Белова Л.И., Девяткина Э.П., Кравцова Л.А. Особенности формирования самофертильных эуплоидных линий (2n=42) в результате самоопыления 46-хромосомных растений ВС1-поколения ячменно-пшеничных гибридов *Hordeum marinum* subsp. *gussoneanum* Hudson (*H. geniculatum* All.) (2n=28) x *Triticum aestivum* L. (2n=42). *Генетика*. 2006. 42: 1683–1690.

Резюме

Проведено сравнительное изучение ядерных и митохондриальных геномов аллоплазматических линий, полученных при беккроссировании и самоопылении ячменно-пшеничных гибридов *H. marinum* subsp. *gussoneanum* x *T. aestivum*. Определен их хромосомный состав и выявлена взаимосвязь между организацией ядерных геномов, родительским типом 18S/5S повтора и проявлением фертильности растений.

The comparative study of nuclear and mitochondrial genomes of alloplasmic lines produced using backcrossing and self-pollination of barley-wheat hybrids *H. marinum* subsp. *gussoneanum* x *T. aestivum* have been performed. Chromosome composition of these lines and the correlation between nuclear genome organization, parental type of the 18S/5S mitochondrial repeat and fertility of plants were established.

**ШИЛИНА Ю.В.¹, ГУЩА Н.И.¹, ДЯЧЕНКО А.И.¹, МОЛОЖАВАЯ О.С.²,
МОРОЗ Ю.И.²**

¹Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Украина, 003680, Киев-143, ул. Заболотного, 148, e-mail: j.shilina@gmail.com

²Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко, Украина, 003022, Киев, пр. Глушкова, 2

ЭКСПРЕССИЯ ФАКТОРОВ ПАТОГЕННОСТИ ФИТОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ КАК НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ АДАПТИВНАЯ РЕАКЦИЯ

Известно, что бактерии и микромицеты, вызывающие заболевания у растений, в большинстве случаев способны выживать во внешней среде, а также достаточно долго сосуществовать с организмами-хозяевами, не

вызывая видимых симптомов заболеваний, пока изменения в окружающей среде не вызовут их пролиферацию и экспрессию факторов патогенности, что приводит к быстрому развитию болезни. У патогенов, при попадающих в организм хозяина или во внешнюю среду, при воздействии различных факторов, развиваются адаптивные реакции. В частности, вирулентность микроорганизмов рассматривается как функция их способности адаптироваться к организму хозяина [1]. Изменения свойств микроорганизмов при смене экологической ниши носят системный характер и связаны со значительными перестройками метаболизма, клеточной оболочки, изменением устойчивости к различным факторам, экспрессии факторов патогенности. Приспособление бактерий связано с изменениями в экспрессии генов и генных комплексов. Можно предположить, что в зависимости от условий среды в клетках микроорганизмов активируются разные эпигенетические программы. Переключение таких генных комплексов осуществляется при участии ряда регуляторных систем.

Клетки микроорганизмов могут специфически узнавать различные метаболиты хозяина, что является сигналом для активации их генов вирулентности. Распознавание химических сигналов происходит благодаря наличию у бактерий специфических рецепторов, связанных с системами трансдукции сигналов для активации транскрипции генов. Считается, что физические факторы действуют на бактерии также через соответствующие рецепторы непосредственно или путем изменения химического состава среды [1]. При достижении стрессовыми факторами определенного дозового порога они могут оказывать неспецифическое повреждающее воздействие на клетки, в частности, на их ДНК. При этом разные факторы могут вызывать сходные нарушения. Клетки способны реагировать на повреждения ДНК и запускать системы их репарации. В то же время может происходить изменение их патогенных свойств.

Целью данной работы было рассмотрение реакций фитопатогенных бактерий на повреждающие воздействия как неспецифических сигналов для экспрессии их факторов патогенности.

SOS-система репарации. Установлено, что SOS-системе репарации принадлежит важная роль в проявлении патогенности у микроорганизмов. Показана связь патогенности с функционированием локуса *recA* у *Vibrio cholerae* (биотипы *classical* и *El Tor*), энтерогеморагенных *E. coli* O157:H7, *Salmonella*, *Porphyromonas gingivalis* [2–5]. Вирулентность фитопатогенных бактерий *X. campestris* pv. *campestris* штаммов NRRL и B1459 по отношению к растениям капусты значительно снижалась у *recA*-мутантов, у которых также ослаблялась способность к гомологичной рекомбинации и репарации ДНК, повышалась чувствительность к действию метилметансульфоната и УФ [6]. У фитопатогенных бактерий мутагенная репарация имеет существенное экологическое значение, на что указывает, например, широкое распространение оперона *gul* AB (гомогичного хромосомному оперону *umu* DC и плазмидному *mus* AB) среди природных штаммов фитопатогенных бактерий

P. syringae, повышающее их выживаемость в условиях облучения солнечной радиацией и в фазе становления инфекции [7].

Данные ряда исследований свидетельствуют о возможности RecA-опосредованной регуляции при действии ДНК-повреждающих агентов экспрессии таких факторов патогенности, как пектинлиаза, липополисахарид и пиоцианин.

Пектинлиаза является единственным ферментом, способным гидролизовать без предварительного воздействия других ферментов высокоэтерифицированные растительные пектины [8]. Пектинлиазу считают главным ферментом, ответственным за мацерацию тканей картофеля [9]. Патогенность дефицитных по синтезу пектинлиазы мутантов *Ervinia carotovora subsp. Carotovora 71* была сниженной [10]. Нами показана возможность стимуляции пектинолитической активности разных штаммов *Ervinia carotovora* при действии ионизирующего излучения и УФ-В [11, 12]. Эти факторы одновременно являются индукторами SOS-ответа. Пектинолитические ферменты являются токсичными для растительных клеток и прямо или опосредованно вызывают их гибель [13]. Таким образом, интенсивное образование пектинолитических ферментов вызывает быструю гибель растительных клеток и препятствует развитию защитных реакций у растений.

На возможность участия SOS-системы в регуляции структуры и функции липополисахарида (ЛПС) указывают также данные о влиянии ее индуктора — налидиксовой кислоты на транскрипцию генов, связанных с регуляцией длины цепей ЛПС у *Salmonella enterica typhimurium ATCC14028* [14]. Как известно, ЛПС относится к основным компонентам внешней мембраны клеток грамотрицательных бактерий и является одним из факторов их вирулентности с выраженной плейотропностью действия на организм хозяина.

Об участии SOS-системы в регуляции экспрессии пиоцианина свидетельствуют данные о возможности индукции его синтеза налидиксовой кислотой [15]. Пиоцианин (1-гидрокси-5-метилфеназин) является пигментом из группы феназинов, синтезируемых бактериями *Pseudomonas aeruginosa* и другими флуоресцирующими видами *Pseudomonas*. Его относят к факторам вирулентности *P. aeruginosa*. Пиоцианин вызывает разные патологические эффекты у про- и эукариотических организмов, что указывает на существование эволюционно консервативных физиологических мишеней его действия [16]. Синтез пиоцианина и других феназинов *P. aeruginosa* необходим для развития симптомов заболевания у растений и гибели нематоды *Caenorhabditis elegans* [17]. Его цитотоксическое действие обусловлено образованием активных форм кислорода (O_2^- , H_2O_2).

Таким образом, функционирование глобальной регуляторной системы SOS-ответа обуславливает сопряженность экспрессии компонентов систем защиты (в частности, репарации ДНК) и факторов патогенности. Аналогичные функции свойственны также другой регуляторной системе — системе альтернативной σ -субединица РНК-полимеразы (RpoS), которая активируется в условиях стресса и определяет синтез белков, участвующих в процессах адаптации, специфически взаимодействуя с промоторами их генов.

Система глобального регулятора RpoS участвует в обеспечении защиты бактерий при их выживании на поверхности листьев растений [18, 19]. При мутациях RpoS наблюдали увеличение чувствительности фитопатогенных бактерий *P. syringae* к УФ-А [18]. Мутанты RpoS *E. coli* характеризовались повышенной чувствительностью к H₂O₂ и высокой концентрации солей [19]. Стартовый сайт гена *ogt*, который у *Salmonella* кодирует O₆-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазу, принимающую участие в репарации алкильных повреждений в ДНК, был идентифицирован как Rpo-регулируемый промотор [20].

Под контролем RpoS находится около 50 генов (белки контроля клеточного цикла, синтеза и расхода запасных питательных веществ, защиты от стрессов — теплового, осмотического, окислительного, некоторые белки переключения метаболизма на анаэробный путь и др.), а также экспрессия ряда генов вирулентности [21, 22]. Сам RpoS рассматривают в качестве фактора вирулентности у ряда патогенов [23]. Система RpoS участвует в регуляции экспрессии факторов патогенности *Erwinia* (экстрацеллюлярных ферментов — изоформ пектацелиязы, полигалактоураназы, целлюлазы), гена элиситора харпина *hrpN* и глобального регуляторного негативного гена *rsmA* *R. solanacearum* [24, 25]. У мутанта RpoS *R. solanacearum* изменялось образование нескольких факторов вирулентности и при заражении ним растений медленнее развивались симптомы заболевания [25]. Мутанты *groN* (сигма-фактор γ^{54}) *P. syringae* pv. *maculicola* ES4326 и *P. syringae* pv. *glycinea* PG4180 были непатогенны для растений арабидопсиса и сои и утрачивали способность индуцировать реакцию сверхчувствительности у табака [26]. Альтернативный σ -фактор HrpL (σ^L) контролирует активацию транскрипции генов регулона *hrp/hrc* (в частности, авт-генов), которые детерминируют круг хозяев и устойчивость фитопатогенных бактерий к факторам среды. В частности, продукт гена *hrpL* участвует в регуляции образования токсина коронтина у *P. syringae* pv. *tomato* DC300 [26].

Существует также связь между синтезом стрессор-индуцибельных белков и фенотипическим выражением вирулентности. Например, инактивация регуляторного гена теплового шока *htrA* у *S. typhimurium* приводит к образованию авирулентных мутантов [27].

Регуляторная роль изменения конформации ДНК. Полагают, что эффекты экзогенных и эндогенных воздействий могут восприниматься непосредственно на уровне торзионного давления (конформации) клеточной ДНК [28]. Функции регуляторов транскрипции, направленные на стимуляцию открытия промоторов генов-мишеней, во многом определяются топологическим состоянием ДНК, которое, с одной стороны, является индикатором условий внешней среды, а с другой, само по себе регулирует активность промоторов. Было высказано предположение о существовании потенциально активных последовательностей генов (эпигенетических программ), специфичных к данным условиям (конформационное состояние ДНК, интервал концентрации противоионов) [29].

Экспрессия генов, связанных с вирулентностью, также зависит от суперспирализации ДНК. Мутации в генах бактериальных топоизомераз, контролирующих суперспирализацию ДНК, в некоторых случаях приводят к изменению экспрессии факторов вирулентности [30]. Изменения конформационной структуре хроматина, с одной стороны, способствует переключению режима функционирования клеток в новый режим функционирования, в частности, активация SOS-системы репарации и системы глобального регулятора *RpoS*, а с другой, сами контролируются генами SOS- и *RpoS*-регулонов.

Выводы. Накопленные к настоящему времени результаты исследований свидетельствуют, что у ряда бактерий возможна стимуляция экспрессии факторов патогенности в ответ на повреждающее действие различных стрессоров. Для факторов вирулентности, регулируемых таким способом, характерны неспецифическая токсичность и супрессивное действие на защитные системы хозяина, независимо от его таксономического положения. Ввиду этого существует потенциальная опасность преодоления такими патогенами существующих видовых барьеров и появления новых заболеваний, что особенно вероятно при действии различных стрессовых факторов в экологически неблагоприятных условиях.

Литература

1. *Домарадский И.В.* Вирулентность бактерий как функция адаптации // Журн. микробиол.— 1997.— №4.— С. 16–20.
2. *Kumar K.K., Srivastava R., Sinha V.B., Michalski J., Kaper J.B., Srivastava B.S.* RecA mutations reduce adherence and colonization by classical and El Tor strains of *Vibrio cholerae* // Microbiol.— 1994.— 140, 5.— P. 1217–1222.
3. *Fuchs S., Muhldorfer I., Donohue-Rolfe A., Kerenyi M., Emody L., Alexiev R., Nenkov P., Hacker J.* Influence of RecA on in vivo virulence and Shiga toxin 2 production in *Escherichia coli* pathogens // Microb. Pathog.— 1999.— 27, 1.— P. 13–23.
4. *Buchmeier N.A., Libby S.J., Xu Y., Loewen P.C., Switala J., Guiney D.G., Fang F.C.* DNA repair is more important than catalase for *Salmonella* virulence in mice // J. Clin. Invest.— 1995.— 95, 3.— P. 1047–1053.
5. *Liu Y., Fletcher H.M.* The *recA* gene in *Porphyromonas gingivalis* is expressed during infection of the murine host // Oral Microbiol. Immunol.— 2001.— 16, 4.— P. 218–223.
6. *Martinez S., Martinez-Salazar J., Camas A.* Evaluation of the role of *recA* protein in plant virulence with *recA* mutants of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* // Mol. Plant-Microbe Interact.— 1997.— 10, 7.— P. 911–916.
7. *Kim J.J., Sundin G.W.* Regulation of the *ruLAB* mutagenic DNA repair operon of *Pseudomonas syringae* by UV-B (290 to 320 nanometers) radiation and analysis of *ruLAB*-mediated mutability in vitro and in planta // J. Bacteriol.— 2000.— 182, 21.— P. 6137–6144.
8. *Alana A., Alkorta I., Dominguez J.B., Llama M.J., Serra J.L.* Pectin lyase activity in a *Penicillium italicum* strain // Appl. Environ. Microbiol.— 1990.— 56.— P. 3755–3759.
9. *Van den Broek L.A.M., den Aantrekker E.D., Voragen A.G.J., Beldman G., Vincken J.P.* Pectin lyase is a key enzyme in the maceration of potato tuber // J. Sci. Food Agric.— 1997.— 75.— P. 167–172.

10. Liu Y., Cui Y., Mukherjee A., Chatterjee A.K. Activation of the *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* pectin lyase structural gene *pnlA*: a role for *rdgB* // *Microbiology*.— 1997.— 143.— P. 705–712.
11. Шилина Ю.В., Гуца Н.И., Дяченко А.И., Ромашко В.М. Радиационный метод оценки адаптивного потенциала фитопатогенных бактерий с разной специализацией // Материалы Международной конференции “Радиопротекторы, эффективные при действии хронического облучения в малых дозах” (16–20 июня 2008 г., г.Николаев, Украина).— Николаев, 2008.— С. 63–64.
12. Шилина Ю.В., Гуца Н.И., Дяченко А.И., Ромашко В.М. Модификация взаимоотношений в системе патоген-растение, обусловленная влиянием УФ-В на фитопатогенные бактерии *Erwinia* // Материалы V з'їзду радіобіологічного товариства України (15–18 вересня 2009 р., м.Ужгород).— Ужгород, 2009.— С. 173.
13. Basham H.G., Bateman D.F. Killing of plant cells by pectic enzymes: the lack of direct injurious interaction between pectic enzymes or their soluble reaction products and plant cells // *Phytopathology*.— 1975.— 65.— P. 141–153.
14. Dowd S.E., Killinger-Mann K., Blanton J., San Francisco M., Brashears M. Positive adaptive state: microarray evaluation of gene expression in *Salmonella enterica* typhimurium exposed to nalidixic acid // *Foodborne Pathogens and Disease*.— 2007.— 4, 2.— P. 187–200.
15. <http://fr.wikipedia.org>.
16. Ran H., Hassett D.J., Lau G.W. Human targets of *Pseudomonas aeruginosa* pyocyanin // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*.— 2003.— 100, 24.— P. 14315–14320.
17. Mavrodi, D.V., Bonsall R.F., Delaney S.M., Soule M. J., Phillips G., Thomashow L.S. Functional analysis of genes for biosynthesis of pyocyanin and phenazine-1-carboxamide from *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 // *J. Bacteriol.*— 2001.— 183.— P. 6454–6465.
18. Miller C.D., Mortensen W.S., Braga G.U., Anderson A.J. The *rpoS* gene in *Pseudomonas syringae* is important in surviving exposure to the near-UV in sunlight // *Curr. Microbiol.*— 2001.— 43, 5.— P. 374–377.
19. Sarniguet A., Kraus J., Henkels M.D., Muehlchen A.M., Loper J.E. The sigma factors affects antibiotic production and biological control activity of *Pseudomonas fluorescens* Pf-5 // *Proc. Nat. Acad. Sci.*— 1995.— 92.— P. 12255–12259.
20. Ibanez-Ruiz M., Robbe-Saule V., Hermant D., Labrude S., Norel F. Identification of *RpoS* (S)-regulated genes in *Salmonella enterica* serovar typhimurium // *J. Bact.*— 2000.— 182, 20.— P. 5749–5756.
21. Головлев Е.Л., Головлева Л.А. Физиология микробной клетки и метаболическая инженерия // *Микробиология*.— 2000.— 69, 2.— С. 149–162.
22. Nickerson C.A., Curtiss R. Role of sigma factor *RpoS* in initial stages of *Salmonella typhimurium* infection // *Infect. Immun.*— 1997.— 65, 5.— P. 1814–1823.
23. Cunning C., Brown L., Elliott T. Promoter substitution and deletion analysis of upstream region required for *rpoS* translational regulation // *J. Bact.*— 1998.— 180, 17.— P. 4564–4570.
24. Mukherjee A., Cui Y., Ma W., Liu Y., Ishihama A., Eisenstark A., Chatterjee A.K. *RpoS* (sigma-S) controls expression of *rsmA*, a global regulator of secondary metabolites, harpin, and extracellular proteins in *Erwinia carotovora* // *J. Bact.*— 1998.— 180, 14.— P. 3629–3634.
25. Flavier A.B., Schell M.A., Denny T.P. An *RpoS* (sigmaS) homologue regulates acylhomoserine lactone-dependent autoinduction in *Ralstonia solanacearum* // *Mol. Microbiol.*— 1998.— 28, 3.— P. 475–486.

26. Pecaloza-Vobzquez A., Fakhr M.K., Bailey A.M., Bender C.L. AlgR functions in algC expression and virulence in *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* // *Microbiology*.— 2004.— 150.— P. 2727–2737.

27. Баснакьян И.А., Бондаренко В.М., Мельникова В.А., Белявская В.А. Стрессор-индуцибельные бактериальные белки и вирулентность // *Журн. микробиол.*— 2001.— №5.— С. 101–108.

28. McClellan J.A., Boublikova P., Palecek E., Lilley D.M.J. Superhelical torsion in cellular DNA Responds directly to environmental and genetic factors // *Proc. Nat. Acad. Sci.*— 1990.— 87.— P. 8373–8377.

29. Снутковский Д. М. Концепция действия малых доз ионизирующих излучений на клетки и ее возможные приложения к трактовке медико-биологических последствий // *Радиобиология*.— 1992.— Т.32, №3.— С. 383–400.

30. Martinez J.L., Baquero F. Mutation frequencies and antibiotic resistance // *Antimicrob. Agents. Chemotherapy*.— 2000.— 44, 7.— P. 1771–1777.

Резюме

Розглянуто неспецифічні механізми регуляції експресії факторів патогенності з точки зору адаптивної відповіді бактерій. В якості прикладів показано роль SOS-системи репарації та глобального регулятора RpoS в цих процесах.

Рассмотрены неспецифические механизмы регуляции экспрессии факторов патогенности с точки зрения адаптивного ответа бактерий. В качестве примеров показана роль SOS-системы репарации и глобального регулятора RpoS в этих процессах.

The unspecific mechanisms of pathogenicity factors expression are considered from the point of view the adaptive answer of bacteria. As examples the role of SOS-repair and global regulator RpoS are examined in these processes.

ШИМКО В.Е., ГОРДЕЙ И.А.

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси

Беларусь, 220027, Минск, ул. Академическая, 27, e-mail:shymko@mail.ru

МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЦМС ФОРМ В СЕЛЕКЦИИ НА ГЕТЕРОЗИС ОЗИМОЙ РЖИ (*SECALE CEREALE* L.)

Исследования, связанные с использованием эффекта гетерозиса, проводятся практически у всех культур. С точки зрения практического использования эффекта гетерозиса, рожь занимает в настоящее время лидирующее положение среди злаков. Новым подходом в гетерозисной селекции озимой ржи является использование цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС). Современные гибриды F₁ озимой ржи с использованием ЦМС превышают по урожайности традиционные популяционные сорта на 15–20% (Geiger, 1985). Использование цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС) даёт возможность проведения контролируемых скрещиваний у ржи.