

УДК 581.138.1

ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА НА ЭТАПЕ ПРЕИНФЕКЦИИ

© 2012 г. Л. Е. Макарова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Сибирский институт физиологии и биохимии растений

Сибирского отделения Российской академии наук

(Иркутск, Россия)

В обзоре приведены данные, характеризующие влияние на *Rhizobium* фенольных соединений, оказывающихся в ризосфере растения-хозяина в составе его экссудатов в период преинфекции. Показано, что в указанный период основные аспекты влияния фенольных соединений, а именно, участие в активизации геномной системы ризобий для синтеза ими сигнальных молекул – Nod-факторов и в контроле концентрации этих бактерий в ризосфере растения-хозяина, зависят от количественных и качественных модификаций в их комплексах, возникающих в разные периоды после инокуляции, в процессе онтогенеза и в зависимости от условий внешней среды. Приводятся данные, указывающие на функции фенольных соединений в ризосфере при контактировании бобовых растений с другими видами полезных или патогенных для них микроорганизмов, распространенных в почве.

Ключевые слова: фенольные соединения, бобово-ризобиальный симбиоз, преинфекция

Фенольные соединения отнесены к числу «непрерывных компонентов растительного мира» (Запрометов, 1993). Вследствие структурного разнообразия число известных соединений этой обширной группы в настоящее время достигает почти 8000 (Бахтенко, Куратов, 2008). Существуют различия по составу фенольных компонентов у растений в связи с видовой принадлежностью (Харборн, Симмондс, 1968; Wollenweber, Dietz, 1981; Запрометов, 1993). Результатами многочисленных исследований, особенно активно начавшихся с 40-60-х годов XX столетия, доказана значительная роль фенольных соединений в жизнедеятельности растений. Установлено, что фенольные соединения участвуют в процессах дыхания, фотосинтеза, трансдукции энергии света, укрепления клеточных стенок, в регуляции процессов роста. Существенна роль фенольных соединений в процессах адаптации

растений к действию неблагоприятных факторов среды, как активных компонентов защитных метаболических систем. При этом фенольные соединения могут действовать как сигнальные молекулы, запускающие защитные реакции (Bellès et al., 1999; Cunha et al., 2001), в качестве про- или антиоксидантов могут влиять на уровень свободных радикалов (Рогинский, 1988), который, как известно, возрастает в клетках растений при стрессах (Тарчевский, 2002). Полимеризация фенольных соединений в клеточных стенках с образованием лигнина и лигниноподобных соединений способствует формированию физического барьера для проникновения в ткани растения микроорганизмов и при поранении (Buffard et al., 1996; Dixon et al., 2002). Ряд синтезируемых растениями фенольных соединений являются фитоалексинами, подавляющими патогенную микрофлору (VanEtten et al., 1994; Mert-Tit, 2002).

После открытия участия фенольных соединений в активизации микроорганизмов (Stachel et al., 1985) и выявления их в экссудатах растений (d'Arcy-Lameta, 1986) результатами последовавших затем широкомасштабных

Адрес для корреспонденции: Макарова Людмила Евгеньевна, Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, ул. Лермонтова, 132, а/я 317, Иркутск, 664033 Россия;
e-mail: makarova@sifibr.irk.ru

ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

работ доказана важная роль фенольных веществ во взаимодействии разных видов микроорганизмов с растениями (D'Arcy-Lameta, 1987; Phillips, Tsai, 1992; Joubert et al., 2002). В 80-90-е годы прошлого столетия была доказана ведущая роль фенольных соединений в инициации взаимодействия и в определении специфичности симбиоза между конкретными видами *Rhizobium* и бобовых культур (Long, 1989, 2001; Rao, 1990; Кравченко и др., 1998; Hirsh et al., 2001). В то же время механизмы, обуславливающие специфичность реакции на определенные фенольные соединения, синтезируемые их растениями-хозяевами, у различных микроорганизмов, включая фитопатогены и микросимбионты, пока недостаточно изучены.

Процесс формирования симбиотических взаимоотношений бобовых растений с *Rhizobium* подразделяют на три основных этапа (Борисов и др., 1998): преинфекция; инфицирование растений и формирование клубеньков; функционирование клубеньков. Общий ход формирования бобово-ризобияльного симбиоза в основном установлен. Формирование симбиоза – это цепь морфо-физиологических процессов у обоих симбионтов и во многом зависит от успешности прохождения его этапов.

Становление и функционирование бобово-ризобияльного симбиоза – это результат комплементации генотипов партнеров. В научной литературе накопилось достаточно аргументов, свидетельствующих, что все этапы формирования симбиоза, а также его эффективность и азотфиксирующая активность контролируются генами обоих партнеров. Симбиотическая ассоциация основана на молекулярном взаимодействии партнеров, взаимной активации посредством сигнальных молекул программ развития специфических генных систем (Long, 1989, 2001; Geurts, Franssen, 1996; Vladergroen, Spaink, 1998; Доуни, 2002; Шламан и др., 2002; Giles, Downie, 2008). Все это позволяет рассматривать совокупность генов партнеров, вступивших в симбиоз, как единую генетическую систему, деятельность которой запускается специфическими сигнальными молекулами.

По мнению А. Хёш и ее коллег (Hirsh et al., 2001), бобово-ризобияльный симбиоз предопределен особым составом фенольных соединений у бобовых растений. При этом существует пока никем не опровергнутая точка зрения о неспособности вступающих с ними в симбиоз клубеньковых бактерий самостоятельно синте-

зировать фенольные соединения (Шламан и др., 2002). Тем не менее, ризобии способны катаболизировать многие фенольные соединения, из числа синтезируемых в тканях бобовых культур, и использовать их дериваты в качестве трофического материала (Runne et al., 1994; Cooper, Rao, 1995; Cooper et al., 1995).

Участие фенольных соединений при формировании бобово-ризобияльного симбиоза наиболее исследовано на этапе преинфекции, когда важны фенольные соединения, присутствующие в ризосфере растения. В период преинфекции фенольные соединения выполняют функцию хемоаттрактантов и запускают цепь метаболических процессов у бактерий, направленных на синтез Nod-факторов – сигнальных молекул со стороны микросимбионта, участвуют в регуляции концентрации микросимбионта в ризосфере.

С синтезом сигнальных молекул у бактерий появляется возможность к адгезии на поверхности корней (стеблей) и проникновению в ткани корня внутриинфекционных нитей.

В регуляции колонизации ризобиями корневых клеток могут иметь значение эндогенные фенольные соединения. Роль эндогенных фенольных соединений на этапе инфицирования и формирования клубеньков изучена слабо. В этот период, начинающийся, по видимому, после прикрепления бактерий к поверхности корневых клеток, путь их дальнейшего продвижения к сайту инфекции осуществляется благодаря инфекционным нитям и проходит через клетки эпидермы и экзодермы (Schultze, Kondorosi, 1998; Хадри и др., 2002), содержащих большое количество фенольных соединений (Scott, Peterson, 1979; Макарова, 1994). Инфекционные нити осуществляют протекторную функцию в отношении бактерий, изолируя их от агрессивных компонентов растительных клеток, позволяют проникать во внутренние слои растительного органа к месту их дальнейшего поселения.

В местах образования примордий клубеньков биосинтез фенольных соединений, по всей вероятности, снижается (Buffard et al., 1996), однако присутствие фенольных соединений наблюдали и здесь (Matheus et al., 1998). Заметное увеличение содержания фенольных соединений отмечали в сформированных клубеньках (Желюк, Лобова, 1973), которое может быть обусловлено наличием клеток, не входящих в область бактериоид-содержащих тканей (Vasse et al., 1993). Эти факты могут указывать

на причастность эндогенных фенольных веществ к контролированию корневыми клетками нодуляции.

Пока не совсем ясны механизмы, посредством которых эндогенные фенольные соединения способствуют проникновению ризобий и образованию клубеньков в определенных участках корней, участвуют в контроле числа клубеньков, формирующихся на корнях растения. Возможно, отчасти их участие в этих процессах связано с локальными проявлениями в тканях корней защитных реакций, направленных на противодействие прямому инфицированию их клеток (Vasse et al., 1993). При инокуляции ризобиями характер и степень проявления защитных реакций в участках корня с неодинаковой восприимчивостью к данным бактериям, скорее всего, определяют особенности фенольного метаболизма, характерные для клеток этих участков (Макарова, 2010).

Регуляторные функции эндогенных фенольных соединений в процессах формирования и функционирования симбиосом не изучены.

При формировании бобово-ризобиального симбиоза под контролем растения-хозяина находится морфология и число клубеньков на корнях, что особенно значимо при неблагоприятных для симбиоза условиях. Поэтому важно изучение участия фенольных соединений в процессах ауторегуляции нодуляции при условиях среды, затормаживающих темпы формирования симбиоза.

В настоящем обзоре приводятся сведения, которые характеризуют функции фенольных соединений растения-хозяина в процессах взаимодействия его с ризобиями на этапе преинфекции, а также показывают зависимость их осуществления от условий среды.

Регуляторная роль фенольных соединений, синтезируемых бобовыми растениями, в инициации симбиоза с *Rhizobium*

Этап преинфекции включает процессы взаимного узнавания партнеров, аттракции бактерий (хемотаксис) в корневую зону растения, размножение их в ризосфере и подготовку к формированию симбиотических взаимодействий, обусловленных активацией ризобиальных генов (*nod*-генов), имеющих отношение к процессам, обеспечивающим проникновение ризобий в растение и образование примордий клубеньков.

Триггерами симбиотических взаимодействий на этапе преинфекции являются синтезируемые бобовым растением фенольные соединения (Long, 1989, 2001; Schultze, Kondorosi, 1998; Хадри, Бисселинг, 2002; Шламан и др., 2002). Попадая в ризосферу растения-хозяина в составе его экссудатов из корней и набухающих семян, фенольные соединения вызывают у микросимбионта хемотаксис, ускоряют их размножение и на симбиотических плазидах ризобий стимулируют транскрипцию *nod*-генов, ответственных за синтез ризобиальных Nod-факторов (Firmin et al., 1986; Peters et al., 1986; Redmond et al., 1986; Djorjevic et al., 1987; Maxwell et al., 1989; Hartwig et al., 1990, 1991; Phillips, Tsai, 1992; Mergaert et al., 2006).

Хемотаксисная реакция ризобий вызывается неспецифическими и специфическими хемоаттрактантами, поступающими в ризосферу из клеток растения в составе растительных экссудатов. Углеводы, аминокислоты, органические кислоты, служащие для ризобий основным трофическим материалом, относят к первой группе хемоаттрактантов (Gaworzewska, Carlile, 1982; Dacora, 2003). Специфическими хемоаттрактантами являются некоторые фенольные соединения (Aguilar et al., 1988; Armitage et al., 1988; Caetano-Annoles et al., 1988; Graham, 1991; Kape et al., 1991; Dharmatilake, Bauer, 1992). Г. Каэтано-Анолес с соавт. (Caetano-Annoles et al., 1988) выявили прямую корреляцию между способностью флавоноидов индуцировать *nod*-гены *Sinorhizobium meliloti* и вызывать у них хемотаксис. Хемотаксисная реакция *S. meliloti* очень сильно зависела от наличия неповрежденных *nod*-генов. Для *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* эта корреляция между активацией интактных *nod*-генов и хемотаксисом была гораздо менее выражена (Armitage et al., 1988). Агилар с соавторами (Aguilar et al., 1988) не засвидетельствовали существование связи между *nod*-гениндицирующей способностью флавоноидов и их активированием хемотаксиса у *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*.

Ризобиальные сигнальные молекулы – Nod-факторы – требуются для того, чтобы вызвать у растения-хозяина предшествующие нодуляции морфо-физиологические процессы: искривление корневых волосков и образование в них необходимых для проникновения бактерий в ткани корня инфекционных нитей (Smit et al., 2007), инициируют образование примордий клубенька (Long, 1989; Cullimore et al., 2001; Hirsch et al., 2001).

ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Установлено, что синтез основной части бактериальных Nod-факторов – липохитоолигосахаридных молекул – контролируют гены *nodA*, *nodB*, *nodC* (общие *nod*-гены), для которых регуляторными являются *nodD*-гены (Hirsch et al., 2001; Шламан и др., 2002). С *nodD*-генами связывают узнавание бактериями растительных сигнальных молекул – флавоноидов, являющихся коиндукторами белков NodD (Firmin et al., 1986; Redmond et al., 1986; Zaat et al., 1987; Peters, Long, 1988; Maxwell et al., 1989; Cho, Harper, 1991; Кравченко и др., 1998; Шламан и др., 2002).

По-видимому, фенольные индукторы ризобиальных *nod*-генов в основном появляются в ризосфере бобового растения в присутствии ризобий (Dakora et al., 1993; León-Barrios et al., 1993; Puerpke et al., 1998). Из числа фенольных соединений, присутствующих в экссудатах семян и корней бобовых культур, только некоторые способны вызывать экспрессию ризобиальных *nod*-генов, то есть, инициировать бобово-ризобиальный симбиоз (Firmin et al., 1986; Peters et al., 1986; Maxwell et al., 1989; Hartwig et al., 1990; 1991; Dharmatilake, Bauer, 1992; Phillips, Tsai, 1992).

В обзоре Х. Шламана с соавторами (Шламан и др., 2002) приводится описание механизма активации общих *nod*-генов, в котором задействовано три основных компонента: флавоноидный индуктор, транс-активирующий белок NodD и консервативный цис-элемент промотора – последовательность *nod*-box. Отмечено, что связывание NodD с *nod*-box происходит независимо от присутствия флавоноидов, но последние необходимы для индукции транскрипции. Число генов *nodD* неодинаково у разных видов бактерий. Так, у *R. leguminosarum* bv. *viceae* выявлен один ген, у *S. meliloti* обнаружено несколько аллелей этого гена, участвующих в активации *nod*-генов, ответственных непосредственно за синтез липохитоолигосахаридного Nod-фактора. Авторами высказано предположение о взаимодействии белков NodD с флавоноидами на внутренней стороне мембраны бактериальной клетки. Оно основано на данных, указывающих на накопление флавоноидов у бактерий на внутренней стороне мембран (Recourt et al., 1989) и на полную или частичную локализацию белка NodD также на внутренней стороне этих мембран (Kondorosi et al., 1989; Schlaman et al., 1989).

В числе фенольных соединений, влияющих на экспрессию общих *nod*-генов у ризобий,

обнаружены представители разных структурных групп: халконы, флаваноны, флавоны, флавонолы, изофлавоноиды, куместаны и антоцианидины (Шламан и др., 2002; Makoi, Ndakidemi, 2007). Отмечалось, что фенольные индукторы действуют на ризобиальные *nod*-гены в низких концентрациях – от 100 нМ до 10 мкМ (Rao, 1990). Высокие концентрации фенольных индукторов могут ингибировать экспрессию этих генов у ризобий (Scheidemann, Wetzel, 1997).

В корневых экссудатах преобладают агликоны фенольных соединений, в тканях корней их содержание низкое и подавляющая масса фенольных соединений представлена в виде конъюгатов – преимущественно, гликозидных (D'Arcy-Lameta, 1986, 1987; Scheidemann, Wetzel, 1997; Bendarek et al., 2003). По степени влияния на ризобии агликоны флавоноидов более эффективны, чем их гликозиды (Peters, Long, 1988; Hartwig et al., 1990; Dakora, 2003). Появление агликонов фенольных соединений в ризосфере бобового растения возможно и благодаря способности ризобий подвергать гидролитическому распаду их гликозиды (Hartwig, Phillips, 1991).

Как отмечено выше, фенольные соединения, синтезируемые в клетках растения-хозяина, неоднозначно влияют на индукцию *nod*-генов, поэтому структура фенольных соединений является определяющей в специфичности симбиотических взаимодействий между конкретными видами бобовых культур и ризобий. В экссудатах растений может присутствовать несколько индукторов *nod*-генов (Zaat et al., 1989; Makoi, Ndakidemi, 2007). Совокупный эффект нескольких индукторов может быть выше, чем отдельно взятых (Begum et al., 2001).

Р.М. Косслак с соавторами (Kosslak et al., 1987), установив, что соединения, относящиеся к индукторам *nodABC*-генов *Sinorhizobium fredii*, не эффективны для тех же генов *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*, тем самым показали, что для каждого вида ризобий характерен определенный набор фенольных индукторов. Это подтверждено результатами исследований многих авторов. Так, для вступления в симбиотические отношения пары люцерны – *Sinorhizobium meliloti* наиболее активно действующими индукторами ризобиальных *nod*-генов оказались лютеолин (Peters et al., 1986), 4,4'-дигидроксиалкон и ликвиритигенин (Maxwell et al., 1989). У этих же бактерий на активацию белков NodD1 и NodD2 положи-

тельно влиял формонетин-7-О-гликозид из ризосферы люцерны (Leun-Bartios et al., 1993). Индукторами *nod*-генов *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* оказались лютеолин и выделенный из клевера 4',7-дигидроксифлавонон (Peters et al., 1986; Radmond et al., 1986; Peters, Long, 1988). Наилучшими индукторами для *nod*-генов *R. leguminosarum* bv. *viceae* были апигенин, гесперитин, нарингенин, эриодиктиол и апигенин-7-О-гликозид (Firmin et al., 1986; Zaat et al., 1987; Peters, Long, 1988; Begum et al., 2001). К основным индукторам *nod*-генов *Bradyrhizobium japonicum* и *Sinorhizobium fredii* – микросимбионтов сои (*Glycine max*) – отнесены изофлавоны (Kosslak et al., 1987; Cho, Harper, 1991; Rao, Cooper, 1995; Dakora, 2003). На экспрессию *nod*-генов у *Bradyrhizobium japonicum*, по-видимому, могут влиять продукты метаболизма в этих бактериях изофлавонов – умбеллиферон и фенилуксусная кислота (Rao, Cooper, 1995).

В ризосфере бобового растения одновременно присутствуют фенольные индукторы и суппрессоры ризобиальных *nod*-генов (Firmin et al., 1986; Zaat et al., 1987; 1989; Peters, Long, 1988; Maxwell et al., 1989). Например, в корневых экссудатах белого клевера антагонистами даидзеина, вызывающего экспрессию *nod*-генов *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*, оказались убеллиферон и формонетин (Djordjevic et al., 1987). Для *nod*-генов *R. leguminosarum* bv. *viceae* к суппрессорам отнесены представители изофлавонов (Firmin et al., 1986; Djordjevic et al., 1987; Zaat et al., 1987; Peters, Long, 1988; Begum et al., 2001), однако это не относится к такому производному изофлавонов, как пизатин – фитоалексину, который синтезируют клетки растения гороха. К. Новак с соавторами заметили небольшое усиление секреции пизатина из корней гороха при инокуляции *R. leguminosarum* bv. *viceae* (Novak et al., 1989), а позднее (Novak et al., 1995) они констатировали индифферентность к данному веществу *nod*-генов этого же вида бактерий, объяснив отсутствие реакции на действие указанного выше вещества неузнаванием его рецептором NodD.

Приведенные выше сведения затрагивают лишь некоторые стороны регуляции экспрессии ризобиальных *nod*-генов при участии фенольных соединений. Ряд важных проблем, имеющих отношение к регуляторной функции фенольных соединений при формировании бобово-ризобиального симбиоза и требующих более глубоких исследований, не обсуждались в настоящем разделе, но они затронуты в обзоре

Л.В. Кравченко с соавт. (1998). Это касается выявления связи между количеством и качественным составом фенольных соединений в корневых и семенных экссудатах, с количеством формирующихся на корнях клубеньков, особенностей состава фенольных индукторов *nod*-генов у бобовых растений, входящих в группу перекрестной инокуляции. В числе новых и важных проблем, где роль фенольных соединений не изучена и на которые обратили внимание авторы, это создание гибридного гена *nodD*, с которым, в свою очередь, может быть связано создание ризобиальных штаммов с широким диапазоном хозяйской специфичности.

Итак, основной целью настоящего раздела было показать, что присутствующие в ризосфере растения-хозяина фенольные вещества различаются по характеру действия на индукцию транскрипции бактериальных *nod*-генов. Состав фенольных соединений в экссудатах бобовых растений определяют специфичность их взаимодействия с конкретными видами *Rhizobium*. Количественные и качественные изменения в их составе, вероятно, будут определять ход симбиотических взаимодействий и являются частью процессов ауторегуляции нодуляции.

Влияние фенольных соединений на размножение бактерий в ризосфере бобового растения

При формировании бобово-ризобиального симбиоза для успешного осуществления инфицирования и нодуляции бобового растения концентрация ризобий в почве должна быть оптимальной (Мишустин, Шильникова, 1973). Поддержание растением-хозяином необходимой численности бактерий в его ризосфере в период преинфекции, очевидно, осуществляется посредством веществ, секретируемых растением во внешнюю среду. Первые доказательства участия фенольных соединений в контроле размножения ризобий представлены в работе (D'Arcy-Lameta, 1987). К сожалению, в дальнейшем изучению этой проблемы были посвящены единичные исследования, которые будут упомянуты ниже.

Пока не совсем ясны механизмы влияния фенольных соединений на размножение ризобий. В литературе имеются свидетельства, что к контролю процесса размножения ризобий имеет отношение группа *fts*-генов (Margolin, Long, 1994), которая изучена слабо. Из них наиболее исследован *ftsZ*-ген, продуктом которого является белок, участвующий в

ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

делении клетки. Он входит в состав контрактильной структуры. Показано, что у *R. meliloti* данный ген локализован в основной хромосоме. Выявлена еще целая группа генов *fts: ftsA, Q, L*, роль которых не изучена. Однако в настоящее время не получено конкретных фактических доказательств влияния фенольных соединений корневых экссудатов на экспрессию ризобияльных *fts*-генов.

Для процесса размножения ризобий могут иметь значение фенольные соединения, которые эти бактерии способны метаболизировать до соединений, служащих для них трофическим материалом в качестве источника углеводов (Hussien et al., 1974; Muthukumar et al., 1982; Rynne et al., 1994; Rao, 1990; Cooper et al., 1995; Rao, Cooper, 1995). Структура фенольных соединений, которые подвергаются катаболизму, и пути их метаболизации до более простых фенолов имеют свои особенности у разных видов *Rhizobium* (Muthukumar et al., 1982; Rynne et al., 1994; Cooper, Rao, 1995).

Как следует из результатов работы (Hartwig et al., 1991), влияние на размножение ризобий выделяемых во внешнюю среду фенольных соединений зависит от их структуры. Более эффективными для размножения ризобий оказались фенольные соединения экссудатов набухших семян. У люцерны (*Medicago sativa* L.), использованной в качестве объекта авторами выше указанной работы, в составе семенных экссудатов доминировали 3',4',5,7-замещенные флавоноиды, которые оказались эффективными стимуляторами размножения ее микросимбионта – *Sinorhizobium meliloti*. Однако эти соединения не показали себя активными индукторами *nod*-генов указанных бактерий. В экссудатах же корней доминирующими оказались 5-дезоксифлавоноиды, которые положительно влияли на индукцию *nod*-генов *S. meliloti*, но не на их рост. Примечательно, что 5,7,3',4'-флавоин (лютеолин), присутствующий в экссудатах семян и корней как в свободном виде, так и в составе конъюгата, слабо стимулировал размножение ризобий (Hartwig et al., 1991), но был отнесен к числу сильных индукторов их *nod*-генов (Hartwig, Phillips, 1991). Это свидетельствует о различных механизмах влияния лютеолина на рост ризобий и экспрессию у них *nod*-генов.

Среди многообразия фенольных соединений, представленных в экссудатах бобового растения (D'Arcy-Lameta, 1986; Макарова, Рудиковская, 2003; Макарова и др., 2007), присут-

ствуют не только стимулирующие, но и подавляющие рост и развитие микрофлоры, а также некоторых высших растений. У бобовых растений веществами такого негативного действия являются фитоалексины изофлавоноидного происхождения (Kato-Naguchi, 2003; Makoi, Ndakidemi, 2007).

Фитоалексины растения-хозяина, по-видимому, не влияют на рост совместимого ему вида *Rhizobium* (Pankhurst, Biggs, 1980; Novak et al., 1989), однако эти бактерии чувствительны к фитоалексинам тех видов бобовых растений, с которыми они не способны вступать в симбиоз. Исходя из этого, можно допустить такую функцию фитоалексинов, непохожих по структуре и выделенных из разных видов бобовых растений, как предопределение совместимости микросимбионта к растению-хозяину (Makoi, Ndakidemi, 2007).

Наряду с изофлавоноидными фитоалексинами в составе экссудатов присутствуют и ароматические соединения аллелопатического действия, относящиеся к другим классам фенольных соединений. Так, из корневых экссудатов гороха, а затем и экссудатов сои (*Glycine max* L. Merr.) и бобов (*Vicia faba* L. var. *major* Hartz) изолировали N-фенил-2-нафтиламин (Макарова и др., 2009, 2012), известное как негативное аллелопатическое вещество (Wu et al., 2007). Это соединение показало себя ингибитором размножения *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* в минимальной жидкой среде (Макарова и др., 2009). Аналогичный эффект вызывали также найденные в составе корневых экссудатов гороха сложнэфирные соединения о-фталевой кислоты и соединения, предварительно отнесенное к стильбенам (Макарова и др., 2007, 2012). Что касается стильбенов, они известны как вещества, подавляющие микрофлору (Blotgett, Stanosz, 1997; Bois, Lieutier, 1997), и как эндогенные компоненты клеток, которые у высших растений могут накапливаться при неблагоприятных условиях среды и участвовать в ингибировании их роста (Софронова, Петров, 2002).

Негативный эффект аллелопатических соединений на размножение ризобий, по-видимому, может возрасть благодаря их усиленной экскреции в некоторые периоды после инокуляции и в неблагоприятных для симбиоза условиях (Макарова и др., 2012). В экссудатах гороха присутствуют и соединения ростстимулирующего действия в отношении ризобий. По нашим данным, в ризосфере этого вида рас-

тений положительный эффект на размножение его микросимбионта – *R. leguminosarum* bv. *viceae* – могут оказывать изофлавоны и их конъюгаты (Макарова и др., 2007).

Можно высказать предположение, что все возникающие изменения в соотношении ингибиторов и стимуляторов размножения ризобий в составе комплексов фенольных соединений корневых экссудатов имеют отношение к механизмам ауторегуляции нодуляции. Перспективными могут быть исследования рострегулирующей функции фенольных соединений в отношении ризобий в связи с участием в регуляции периодичности инфицирования корней и образования на них клубеньков по мере развития корневой системы (образование боковых корней) растения-хозяина, а также в связи с лимитированием числа клубеньков на его корнях в неблагоприятных условиях.

Экссудация фенольных соединений из корневых клеток и ее роль в определении области инфицирования и нодуляции при формировании бобово-ризобиального симбиоза

Наряду с существующим мнением, что фенольные соединения из растительных клеток поступают в ризосферу вследствие экзосмоса, в литературе имеются доказательства другого механизма выведения фенольных соединений из клеток растения в ризосферу. Обнаружено, что в растительных клетках при выведении во внешнюю среду флавоноидных соединений участвуют АТФ-связывающие транспортерные белки кассетного типа (Badri et al., 2007; Sugiyama et al., 2007). Существование такого механизма, по-видимому, может служить объяснением избирательной секреции во внешнюю среду фенольных соединений определенных структур (Sugiyama et al., 2007).

Роль фенольных соединений в определении границы области инфицирования корня пока не изучена. Вследствие размножения ризобии покрывают поверхность корня, но при этом только небольшого участка, в основном приходящегося на зону начинающих рост корневых волосков и прилегающей к нему зоны с незакончившими рост корневые волосками (Макарова, Нурминский, 2005). Причиной тому могут быть соединения, секретлируемые клетками разных участков корней. По-видимому, выделяющиеся в определенных областях корня соединения, которые подавляют размножение ризобий, ограничивают площадь корневой поверхности, подвергающейся колонизации этими бактериями. Об этом свидетельствуют дан-

ные работы (Zhu et al., 1997), в которой показано, что в поверхностных клетках кончиков корневой гороха в условиях низких температур усиливается синтез химически активных соединений (неизвестной пока природы), негативно влияющих на размножении *R. leguminosarum*, но при этом стимулирующих экспрессию *nod*-генов у этих бактерий.

Установлено, что целый ряд веществ секретрируется и периферическими клетками корневого чехлика (“root cap border cells”), слущивающимися с его поверхности по мере роста корня и под влиянием условий среды (Zhu et al., 1997; Hawes et al., 1998; Hamamoto et al., 2006). Характерным для бобовых культур является вхождение их в группу растений, у которых периферические клетки корневого апекса могут сохранять способность к размножению после слущивания с поверхности корня и участвуют в формировании бобово-ризобиального симбиоза. Выделяемые этими клетками во внешнюю среду вещества воздействуют на почвенную микрофлору как хемоаттрактанты и влияют на их рост. Показано, что секретлируемые ими вещества оказывают зависящее от температуры влияние на экспрессию ризобиальных *nod*-генов и на рост ризобий (Zhu et al., 1997; Hawes et al., 1998). Авторы вышеупомянутых публикаций связывают данные эффекты секретлируемых веществ на ризобиальные клетки с наличием в их составе фенольных соединений. Однако они не приводят конкретных доказательств секреции фенольных соединений обсуждаемыми корневыми клетками, а ограничиваются лишь фактами, указывающими на наличие в этих клетках антоцианинов и экспрессии ферментов, участвующих в синтезе фенольных соединений – фенилаланинаммонийлиазы, изофлавоноредуктазы (Nicoll et al., 1995; Brigham et al., 1995; Hawes et al., 1998).

Экссудация фенольных индукторов *nod*-генов выявлена в области корня, расположенной ближе к его кончику, она наиболее активно осуществляется в участке с молодыми развивающимися корневыми волосками и практически отсутствует в зоне дифференцированных корневых волосков (Redmond et al., 1986; Peters, Long, 1988). Результаты ряда работ (Redmond et al., 1986; Djorjevic et al., 1987; Peters, Long, 1988) указывают на различные состав и характер воздействия на экспрессию ризобиальных *nod*-генов фенольных соединений, секретлируемых в зоне взаимодействия корневых клеток с этими бактериями. Замечено, что

области корня, ответственные за секрецию воздействующих на ризобии фенольных соединений включают зоны преимущественного выделения фенольных индукторов или ингибиторов экспрессии ризобияльных *nod*-генов (Djorjevic et al., 1987).

Исходя из представленных выше сведений, можно предположить, что определяющими для ограничения зон инфицирования ризобиями и нодуляции являются два фактора. Это разная способность периферических клеток корня секретировать фенольные соединения и особенности состава этих соединений в областях корня, ответственных за экссудацию. Различия в составе фенольных соединений в разных областях, ответственных за экссудацию, имеют значение для размножения ризобий вблизи поверхности корневых клеток и активации у них синтеза Nod-факторов.

Факторы, определяющие эффективность фенольных соединений в ризосфере на этапе преинфекции

Накопленные к настоящему времени экспериментальные данные свидетельствуют, что любое новое событие в жизни растения связано с модификациями биосинтеза и метаболизма фенольных соединений в его тканях. Изменения в обмене эндогенных фенольных соединений, возникающие в онтогенезе растений по мере развития симбиотических отношений и под влиянием внешних воздействий, по-видимому, сказываются на количестве и качественном составе фенольных соединений, секретлируемых растениями во внешнюю среду, определяя их общий эффект влияния на процессы отношений с другими организмами (Richardson et al., 1988; Dacora et al., 1993; Novak et al., 1994; Макарова, Рудиковская, 2003; Макарова и др., 2007).

Процесс экссудации фенольных соединений в связи с онтогенезом бобовых растений не изучался. В настоящее время можно привести лишь небольшое число работ (Maxwell et al., 1989; Novak et al., 1994; Макарова, Рудиковская, 2003; Макарова и др., 2007), где прослеживали за изменениями количества секретлируемых корнями фенольных соединений, их *nod*-гениндуцирующей и ростстимулирующей активностей в отношении ризобий, но только на первых этапах развития растения. Результаты посуточных наблюдений за *nod*-гениндуцирующей активностью экссудатов прорастающих семян люцерны (Maxwell et al., 1989) и экссудатов проростков гороха (Novak et

al., 1994) указывают на колебательный характер изменения полученных показателей активности во времени. Подобным образом изменяются показатели количества секретлируемых корнями фенольных соединений и их ростстимулирующей активности в отношении ризобий у растений гороха в течение периода их развития от этиолированных проростков, имеющих эпикотиль, до растения в фазе 3-4 листьев с начинающимся ветвлением корневой системы (Макарова, Рудиковская, 2003; Макарова и др., 2007). Следует отметить, что в ответ на инокуляцию проростков гороха ризобиями секреция фенольных соединений усиливалась в течение только первых суток, в последующие периоды выход этих соединений в ризосферу, оставался на одном уровне с одновозрастными неинокулированными растениями (контроль) или снижался. Инокуляция способствовала снижению ростстимулирующей активности фенольных комплексов, содержащихся в корневых экссудатах гороха.

Известно, что становление симбиоза и формирование азотфиксирующих клубеньков зависит от многих факторов среды: температуры, влажности, кислотности почв и др. (Мишустин, Шильникова, 1968; 1973; Воробьев, 1998; Садовски, Грэм, 2002). В условиях стресса из корневых клеток секретировются дополнительные фенольные соединения (Maxwell, Philips, 1990), появление которых может повлиять на ситуацию для прохождения первых этапов взаимодействия симбионтов. Можно привести данные, указывающие на зависимость *nod*-гениндуцирующего действия фенольных соединений, содержащихся в корневых экссудатах, от света (Graham, 1991;), от возраста растений (Maxwell et al., 1989; Hartwig et al., 1990; Maxwell, Phillips, 1990; Novak et al., 1994), температуры среды (Begum et al., 2001).

Менее изучено участие фенольных соединений в регуляции размножения ризобий в неблагоприятных для симбиоза условиях. Известно, что низкие температуры почвы могут отрицательно сказываться на размножении бактерий и инфицировании ризобиями бобовых растений (Садовски, Грэм, 2002).

Было установлено (Макарова, Рудиковская, 2003), что у растений гороха в условиях пониженной температуры замедление начальных этапов формирования симбиоза сопряжено не только с уменьшением экссудации корнями фенольных соединений, но и с понижением ростовой активности этих веществ в отношении

ризобий. То же самое наблюдали и в отсутствие света (Макарова и др., 2007). Кроме того, при стрессе в ризосфере корня возможно накопление фенольных ингибиторов, подавляющих рост микрофлоры, в том числе ризобий. Примером таких веществ в экссудатах бобовых являются N-фенил-2-нафтиламин, вещество стильбеновой природы и сложные эфиры о-фталевой кислоты (Макарова и др., 2012).

Минеральный азот, особенно в высоких дозах, негативно влияет на активность образования клубеньков на корнях бобового растения, причем считается, что аммонийный азот в меньшей степени ингибирует нодуляцию (Gulden, Vessey, 1997). Механизм негативного влияния азота в зависимости от его дозы и формы полностью не изучен. Показано, что минеральный азот может влиять на экссудацию фенольных соединений, вызывающих экспрессию ризобияльных *nod*-генов (Cho, Harper, 1991).

Таким образом, все возникающие изменения в комплексах фенольных соединений корневых экссудатов, по-видимому, имеют отношение к механизмам, контролирующим периодичность инфицирования корней и образования на них клубеньков в ходе развития корневой системы растения-хозяина и лимитирующим число клубеньков на его корнях при неблагоприятных условиях. Изменчивость *nod*-гениндуцирующего и ростостимулирующего действия фенольных соединений в отношении ризобий во времени и под влиянием внешних воздействий имеет определенный биологический смысл, как один из механизмов ауторегуляции нодуляции.

Заключение

Изложенный в обзоре материал свидетельствует об активной роли фенольных соединений в ризосфере бобового растения как веществ, участвующих в инициации его симбиоза с *Rhizobium*. Два аспекта их влияния на данный процесс являются основными. Первым из них является активизация бактерий, то есть, индукция у них экспрессии *nod*-генов (*nodABCD*), ответственных за синтез сигнальных молекул – Nod-факторов. Nod-факторы запускают у растения-хозяина морфологические и биохимические процессы, способствующие нодуляции (Хадри, Бисселинг, 2002). Второй аспект влияния фенольных соединений, не менее важный для формирования симбиоза – участие в регуляции численности ризобий в ризосфере бобового растения. Путем изменения количества и

компонентного состава фенольных соединений, выделяемых в составе семенных и корневых экссудатов, растение может контролировать размножение ризобий в его ризосфере в разные периоды после инокуляции и в изменяющихся условиях среды. Оно может лимитировать активность размножения микросимбионта либо путем уменьшения количества выделяемых корнями фенольных соединений в ризосферу, либо путем снижения общей (результатирующей) биологической активности присутствующих в экссудатах фенольных соединений.

Почва является средой обитания многих видов организмов, вступающих друг с другом в сложные межорганизменные взаимоотношения, которые могут отражаться и на взаимодействиях симбионтов, поэтому изучение роли фенольных соединений как посредников при взаимодействии бобового растения с неризобияльными микроорганизмами является очень перспективным.

Бобовое растение при помощи фенольных соединений его экссудатов может вступать в тройственные симбиотические отношения с представителями двух типов эндомикросимбионтов – *Rhizobium* и арбускулярно-микоризальными грибами, представителями типа *Glomeromycota* (Harrison, 1999; Makoi, Ndakidemi, 2007; Massoumou et al., 2007; Fokom et al., 2010). Присутствие в ризосфере бобового растения арбускулярно-микоризальных грибов может усиливать экссудацию фенольных индукторов, положительно влияющих на экспрессию ризобияльных *nod*-генов. Аналогично этому и присутствие ризобий способствует усилению колонизации корней арбускулярно-микоризальными грибами, при этом даже у небобовых растений.

Известно, что симбиоз с арбускулярно-микоризальными грибами характерен для широкого ряда покрытосемянных и голосемянных растений. В обзоре (Gough, Cullimore, 2011) приводятся доказательства, что у данных микроорганизмов синтезируются сигнальные молекулы (Myc-LCO), содержащие в их структуре липохитоолигосахаридные фрагменты, аналогичные тем, которые составляют основу Nod-факторов, синтезируемых ризобиями. Отмечено, что наряду со структурной схожестью Nod-факторов (LCO) и Myc-LCO, одинаковыми являются механизмы рецепции этих молекул и пути их сигналинга, обуславливающие формирование симбиоза и проявления защитных реакций.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Х. Вольпин с соавт. (Volpin et al., 1996) отмечали положительный эффект на экссудацию бобовым растением веществ-индукторов ризобияльных *nod*-генов в присутствии свободноживущих азотфиксирующих бактерий *Azospirillum brasilense*. Наряду с этим авторы привели доказательства модификаций в составе эндогенных и секретируемых корневыми клетками фенольных соединений, возникших под влиянием присутствовавших в ризосфере бобового растения азоспирилл.

Достаточно фактов, свидетельствующих, что среди выделяющихся в почву из тканей бобовых растений фенольных соединений имеется целый ряд компонентов, которые могут действовать как фитоалексины, фитоантисипины и нематодциды против почвенных микроскопических фитопатогенов и фитофаговых насекомых (Makoi, Ndakidemi, 2007). Немногочисленные данные, указывают и на возможность активизации фенольными соединениями бобовых растений их фитопатогенов. В качестве примера служат результаты исследования П. Морриса с соавторами (Morris et al., 1998), обнаруживших положительное влияние изофлавонов на хемотропическую реакцию гифов фитотрофы сои (*Phytophthora sojae* Kauf. & Gerd). Однако указанные вещества даже в концентрации 20 мкМ не влияли на скорость роста гифов.

Таким образом, приведенные в обзоре данные являются свидетельством универсального значения секретируемых бобовым растением в ризосферу фенольных соединений для поддержания взаимоотношений с целой группой полезных для него микроорганизмов. Не совсем ясна их роль во взаимоотношении с фитопатогенами. В настоящее время доминирующей является концепция о защитной роли фенольных соединений от патогенных микроорганизмов.

ЛИТЕРАТУРА

- Бахтенко Е.Ю., Курапов П.Б. Многообразие вторичных метаболитов высших растений. – Вологда: ГОУ ВПО Вологодский гос. пед. ун-т, 2008. – 266 с.
- Борисов А.Ю., Проворов Н.А., Тихонович И.А., Цыганов В.Е. Генетический контроль взаимодействия бобовых растений с клубеньковыми бактериями // Генетика симбиотической азотфиксации с основами селекции / Под ред. И.А. Тихоновича, Н.А. Проворова. – СПб., 1998. – С. 8-62.
- Воробьев В.А. Симбиотическая азотфиксация и температура. – Новосибирск: Наука, 1998. – 126 с.
- Доуни Дж. А. Функции ризобияльных генов клубенькообразования // Rhizobiaceae. Молекулярная биология бактерий, взаимодействующих с растениями / Под ред. Г. Спайнка, А. Кондороси, П. Хукаса. – СПб., 2002. – С. 417-434.
- Желюк В.М., Лобова М.А. Динамика фенольных соединений в онтогенезе люпина в связи с инокуляцией клубеньковыми бактериями // Физиология и биохимия культ. растений. – 1973. – Т. 5, № 5. – С. 516-521.
- Запрометов М.Н. Фенольные соединения. Распространение, метаболизм и функции в растениях. – М.: Наука, 1993. – 272 с.
- Кравченко Л.В., Мень А.Е., Тихонович И.А., Федорова М.Ю., Четкова С.А. Молекулярно-генетические и физиологические механизмы формирования эффективного симбиоза // Генетика симбиотической азотфиксации с основами селекции / Под ред. И.А. Тихоновича, Н.А. Проворова. – СПб., 1998. – С. 63-123.
- Макарова Л.Е. Локализация фенольных соединений в тканях корня кукурузы в условиях низкой положительной температуры // Физиология и биохимия культ. растений. – 1994. – Т. 26, № 1. – С. 45-50.
- Макарова Л.Е. Физиологическое значение фенольных соединений при формировании бобово-ризобияльного симбиоза в неблагоприятных условиях: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. – Иркутск, 2010 – 38 с.
- Макарова Л.Е., Нурминский В.Н. Влияние температуры на локализацию «свободных» фенольных соединений в тканях корней и деформацию корневых волосков у инокулированных *Rhizobium* проростков гороха // Цитология. – 2005. – Т. 47, № 6. – С. 519-525.
- Макарова Л.Е., Латышева С.Е., Путилина Т.Е. Влияние фенольных соединений, выделяемых корнями растений гороха (*Pisum sativum* L.) в условиях выращивания без освещения, на размножение *Rhizobium* // Прикл. биохимия и микробиология. – 2007. – Т. 43, № 4. – С. 429-434.
- Макарова Л.Е., Рудиковская Е.Г. Роль фенольных соединений из корневых экссудатов в размножении *Rhizobium leguminosarum* в ризосфере гороха при разных температурах // Агробиохимия. – 2003. – № 8. – С. 61-65.
- Макарова Л.Е., Смирнов В.И., Клыба Л.В., Назарова А.В., Путилина Т.Е. Изоляция и идентификация аллелопатического соединения N-фенил-2-нафтиламина из *Pisum sativum* // Устойчивость организмов к неблагоприятным факторам внешней среды. Мат-лы Всероссийской конференции. – Иркутск, 2009. – С. 287-290.

- Макарова Л.Е., Смирнов В. И., Клыба Л.В., Петрова И.Г., Дударева Л.В. Роль аллелопатических соединений в регуляции и формировании бобово-ризобияльного симбиоза // Прикл. биохимия и микробиология. – 2012. – Т. 48, № 4. – С. 394-402.
- Мищустин Е.Н., Шильникова В.К. Биологическая фиксация атмосферного азота. – М.: Наука, 1968. – 531 с.
- Мищустин Е.Н., Шильникова В.К. Клубеньковые бактерии и инокуляционный процесс. – М.: Наука, 1973. – 288 с.
- Рогинский В.А. Фенольные антиоксиданты: реакционная способность и эффективность. – М.: Наука, 1988. – 247 с.
- Садовски М., Грэм П. Почвенная биология Rhizobiaceae // Rhizobiaceae. Молекулярная биология бактерий, взаимодействующих с растениями / Под ред. Г. Спайнка, А. Кондороши, П. Хукаса. – СПб., 2002. – С. 179-198.
- Софронова В.Е., Петров К.А. Новый фенольный ингибитор роста из почек *Duschekia fruticosa* (Purp.) Rouzgar // Растительные ресурсы. – 2002. – Т. 38, Вып. 1. – С. 91-97.
- Тарчевский И.А. Сигнальные системы клеток. – М.: Наука, 2002. – 294 с.
- Хадри А.-Е., Бисселинг Т. Реакция растений на Nod-факторы // Rhizobiaceae. Молекулярная биология бактерий, взаимодействующих с растениями / Под ред. Г. Спайнка, А. Кондороши, П. Хукаса. – СПб., 2002. – С. 435-450.
- Харборн Дж.Б., Симмондс Н.У. Распространение фенольных агликонов в природе // Биохимия фенольных соединений. – М.: Мир, 1968. – С. 70-108.
- Шламан Х., Филипс Д., Кондороши Е. Генетическая организация и транскрипционная регуляция генов ризобий, контролирующего образование клубеньков // Rhizobiaceae. Молекулярная биология бактерий, взаимодействующих с растениями / Под ред. Г. Спайнка, А. Кондороши, П. Хукаса. – СПб., 2002. – С. 389-415.
- Aguilar J.M.M., Ashby A.M., Richards A.J.M., Loake G.J., Watson M.D., Shaw C.H. Chemotaxis of *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* towards flavonoid inducers of the symbiotic nodulation genes. – J. Gen. Microbiol. – 1988. – V. 134, № 8. – P. 2741-2746.
- Antunes P.M., Rajcan I., Goss M.J. Specific flavonoids as interconnecting signals in the tripartite symbiosis formed by arbuscular mycorrhizal fungi, *Bradyrhizobium japonicum* (Kirchner) Jordan and soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) // Soil Biol. Biochem. – 2006. – V. 38, № 3 – P. 533-543.
- Armitage J.P., Gallagher A., Johnston A.W.B. Comparison of the chemotactic behavior of *Rhizobium leguminosarum* with and without the nodulation plasmid // Mol. Microbiol. – 1988. – V. 2, № 6. – P. 743-748.
- Badri D.V., Loyola-Vargas V.M., Broeckling C.D., Dela-Pen C., Jasinski M., Santelia D., Martinoia E., Sumner L.W., Banta L.M., Stermitz F., Vivanco J.M. Altered profile of secondary metabolites in the root exudates of Arabidopsis ATP-binding cassette transporter mutants // Plant Physiol. – 2007. – V. 146. – P. 762-771.
- Bednarek P., Kerhoas L., Einhorn J., Fracski R., Wojtaszek P., Rybus-Zajac M., Stobiecki M. Profiling of flavonoid conjugates in *Lupinus albus* and *Lupinus angustifolius* responding to biotic and abiotic stimuli // J. Chem. Ecol. – 2003. – V. 29, № 5. – P. 1127-1142.
- Begum A.A., Leibovich S., Migner P., Zhang F. Specific flavonoids induced *nod* gene expression and preactivated *nod* genes of *Rhizobium leguminosarum* increased pea (*Pisum sativum* L.) and lentil (*Lens culinaris* L.) nodulation in controlled growth chamber environments // J. Exp. Bot. – 2001. – V. 52 – P. 1537-1543.
- Bellés J.M., Garro R., Fayos J., Navarro P., Primo J., Conejero V. Gentisic acid as a pathogen-inducible signal, Additional to Salicylic Acid for Activation of Plant Defenses in Tomato // Mol. Plant-Microbe Interact. – 1999. – V. 12 – P. 227-235.
- Bladergroen M.R., Spaink H.P. Genes and signal molecules involved in the rhizobia-Leguminosae symbiosis // Curr. Opin. Plant Biol. – 1998. – V. 1, № 4. – P. 353-359.
- Blodgett J.T., Stanosz G.R. Differential inhibition of *Sphaeropsis sapinea* morphotypes by a phenolic compound and several monoterpenes of red pine // Phytopatology. – 1997. – V. 87, № 6. – P. 606-609.
- Bois E., Lieutier F. Phenolic response of Scots pine clones to inoculation with *Leptographium wingfieldii*, a fungus associated with *Tomicus pinipedra* // Plant Physiol. Biochem. (Paris). – 1997. – V. 35, № 11. – P. 819-825.
- Brigham L.A., Woo H.-H., Nicoll S.M., Hawes M.C. Differential expression of proteins and mRNAs from border cells and root tips of Pea // Plant Physiol. – 1995. – V. 109. – P. 457-463.
- Brockwell J., Bottomley P.J., Thies J.E. manipulation of rhizobia microflora for improving legume productivity and soil fertility: A critical assessment // Plant Soil. – 1995. – V. 174, № 1-2. – P. 143-180.
- Buffard D., Esnault R., Kondorosi A. Role of plant defence in alfalfa during symbiosis // World J. Microbiol. Biotechnol. – 1996. – V. 12, № 2. – P. 175-188.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

- Caetano-Anollés G., Christ-Estes D.K., Baurer W.D.* Chemotaxis of *Rhizobium meliloti* to the plant flavonoluteolin requires functional nodulation genes // *J. Bacteriol.* – 1988. – V. 170, № 7. – P. 3164-3169.
- Carlson R.E., Dolphin D.H.* Chromatographic analysis of isoflavonoid accumulation in stressed *Pisum sativum* // *Phytochemistry.* – 1981. – V. 20. – P. 2281-2284.
- Carlson R.E., Dolphin D.H.* *Pisum sativum* stress metabolites: two cinnamylphenols and 2'-methoxychalcone // *Phytochemistry.* – 1982. – V. 21, № 7. – P. 1733-1736.
- Cho M.-J., Harper J.E.* Effect of Inoculation and nitrogen on isoflavonoid concentration in wild-type and nodulation-mutant soybean roots // *Plant Physiol.* – 1991. – V. 95. – P. 435-442.
- Cooper J.E., Rao J.R.* Localized changes in flavonoid biosynthesis in roots of *Lotus pedunculatus* after infection by *Rhizobium loti* // *Plant Physiol.* – 1992. – V. 100. – P. 444-450.
- Cooper J.E., Rao J.R.* Flavonoid metabolism by *Rhizobium* and products // *Symbiosis.* – 1995. – V. 19, № 2-3. – P. 91-98.
- Cooper J.E., Rao J.R., Everaert E., De Cooman L.* Flavonoid metabolism by *Rhizobium* // *Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications* // Proc. 10-th International Congress on Nitrogen Fixation. – St. Petersburg, 1995. – P. 277-292.
- Coronado C., Zuanazzi J.A.S., Sallaud C., Quirion J.-C., Esnault R., Husson H.-P., Kondorosi A., Ralet P.* Alfalfa root flavonoid production is nitrogen regulated // *Plant Physiol.* – 1995. – V. 108. – P. 533-542.
- Cullimore J.V., Ranjeva R., Bono J.-J.* Perception of lipo-chitoooligosaccharidic Nod factors in legumes // *Trend Plant Sci.* – 2001. – V. 6, № 1. – P. 24-30.
- Cunha J.F., Campestrini F.D., Calixto J.B., Scremin A., Paulino N.* The mechanism of gentisic acid-induced relaxation of the guinea pig isolated trachea: the role of potassium channels and vasoactive intestinal peptide receptors // *Braz. J. Medical Biological Res.* – 2001. – V. 34, № 3. – P. 381-388.
- Dacora F.D.* Defining new roles for plant and rhizobial molecules in sole and mixed plant cultures involving symbiotic legumes // *New Phytol.* – 2003. – V. 18. – P. 39-49.
- Dacora F.D., Joseph C.M., Phillips D.A.* Alfalfa (*Medicago sativa* L.) root exudates contain isoflavonoids in the presence of *Rhizobium meliloti* // *Plant Physiol.* – 1993. – V. 101. – P. 819-824.
- D'Arcy-Lameta A.* Study of soybean and lentil root exudates. II. Identification of some polyphenolic compounds, relation with plantlet physiology // *Plant Soil.* – 1986. – V. 92. – P. 113-123.
- D'Arcy-Lameta A.* Study of soybean and lentil root exudates. III. Influence of soybean isoflavonoids on the growth of rhizobia and some rhizospheric microorganisms // *Plant Soil.* – 1987. – V. 101. – P. 267-272.
- Dixon R.A., Achmint L., Kota P., Liu C.-J., Reddy M.S.S., Wang L.* The phenylpropanoid pathway and defence - a genomics perspective // *Mol. Plant Pathology.* – 2002. – V. 3, № 5. – P. 371-390.
- Dharmatilake A.J., Bauer W.D.* Chemotaxis of *Rhizobium meliloti* towards nodulation gene-inducing compounds from alfalfa roots. // *Appl. Environ Microbiol.* – 1992. – V. 58, № 4. – P. 1153-1158.
- Djorjevic M.A., Redmond J.W., Batley M., Rolfe B.G.* Clovers secrete specific phenolic compounds which either stimulate or repress nod gene expression in *Rhizobium trifolii* // *EMBO J.* – 1987. – V. 6, № 5. – P. 1173-1179.
- Firmin J.L., Wilson K.E., Rossen L., Jonston A.W.B.* Flavonoid activation of nodulation genes in *Rhizobium* reversed by other compounds present in plants // *Nature.* – 1986. – V. 324, № 6092. – P. 90-92.
- Fokom R., Nana Wakam L., Tchameni S., Nwaga D.* Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) Colonisation and *Rhizobium* nodulation of cowpea as affected by flavonoid application // *Res. J. Agricult. Biol. Sci.* – 2010. – V. 6. – P. 1015-1021.
- Gaworzewska E.T., Carlile M.J.* Positive chemotaxis of *Rhizobium leguminosarum* and other bacteria towards root exudates from Legumes and other plants // *J. Gen. Micr.* – 1982. – V. 128, № 6. – P. 1179-1188.
- Geurts R., Franssen H.* Signal transduction in *Rhizobium*-induced nodule formation // *Plant Physiol.* – 1996. – V. 112. – P. 447-453.
- Giles E.D.O., Downie J.A.* Coordinating nodule morphogenesis with rhizobial infection in Legumes // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2008. – V. 59. – P. 519-546.
- Gough C., Cullimore J.* Lipochitoooligosaccharide signaling in endosymbiotic plant-microbe interactions // *Mol. Plant-Microbe Interact.* – 2011. – V. 24, № 8. – P. 867-878.
- Graham T.L.* Flavonoid and Isoflavonoid Distribution in Developing Soybean Seedling Tissues and in Seed and Root Exudates // *Plant Physiol.* – 1991. – V. 95. – P. 594-603.
- Gulden R.H., Vessey J.K.* The stimulating effect of ammonium on nodulation in *Pisum sativum* L. is not long lived once ammonium supply is discontinued // *Plant Soil.* – 1997. – V. 195, № 2. – P. 195-205.
- Hamamoto L., Hawes M.C., Rost T.L.* The production and release of living root cap border cells is a func-

- tion of root apical meristem type in dicotyledonous angiosperm plants // *Ann. Bot.* – 2006. – V. 97, № 5. – P. 917-923.
- Harrison M. Molecular and cellular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1999. – V. 50. – P. 361-389.
- Hawes M.C., Brigham L.A., Wen F., Woo H.H., Zhu Y. Function of root border cells in plant health: Pioneers in the rhizosphere // *Annu. Rev. Phytopathol.* – 1998. – V. 36. – P. 311-327.
- Hartwig U.A., Joseph C.M., Phillips D.A. Flavonoid released naturally from Alfalfa Seeds Enhance Growth rate of *Rhizobium meliloti* // *Plant Physiol.* – 1991. – V. 95. – P. 797-803.
- Hartwig U.A., Maxwell C.A., Joseph C.M., Phillips D.A. Chrysoeriol and luteolin released from alfalfa seeds induce *nod*-genes in *Rhizobium meliloti* // *Plant Physiol.* – 1990. – V. 92. – P. 116-122.
- Hartwig U.A., Phillips D.A. Release and Modification of *nod*-Gene-Inducing Flavonoids from Alfalfa Seeds // *Plant Physiol.* – 1991. – V. 95. – P. 804-807.
- Hawes M.C., Brigham L.A., Wen F., Woo H.H., Zhu Y. Function of root border cells in plant health: Pioneers in the rhizosphere // *Annu. Rev. Phytopathol.* – 1998. – V. 36. – P. 311-327.
- Hirsch A.M., Lum M.R., Downie J.A. What makes the Rhizobia-Legume symbiosis so special? // *Plant Physiol.* – 2001. – V. 127. – P. 1484-1492.
- Hussien Y.A., Tewfik M.S., Hamdi Y.A. Degradation of certain aromatic compounds by rhizobia // *Soil Biol. Biochem.* – 1974. – V. 6, № 6. – P. 377-381.
- Joubert P., Beaupure D., Leliuvre P., Wadouachi A., Sangwan R.S., Sangwan-Norreel B.S. Effects of phenolic compounds on *Agrobacterium vir* genes and gene transfer induction—a plausible molecular mechanism of phenol binding protein activation // *Plant Sci.* – 2002. – V. 162. – P. 733-743.
- Kape R., Parniske M., Werner D. Chemotaxis and *nod* gene activity of *Bradyrhizobium japonicum* in response to hydroxycinnamic acids and isoflavonoids // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1991. – V. 57, № 1. – P. 316-319.
- Kato-Naguchi H. Isolation and identification of allelopathic substance in *Pisum sativum* // *Phytochemistry.* – 2003. – V. 62. – P. 1141-1144.
- Kondorosi E., Gyuris J., Schmidt J., John M., Duda E., Hoffmann B., Schell J., Kondorosi A. Positive and negative control of *nod* gene expression in *Rhizobium meliloti* is required for optimal nodulation // *EMBO J.* – 1989. – V. 8, №5. – P. 1331-1340.
- Kosslak R.M., Bookland R., Barkei J., Paaren H.E., Appelbaum E.R. Induction of *Bradyrhizobium japonicum* common *nod* genes by isoflavones isolated from *Glycine max* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1987. – V. 84, № 21. – P. 7428-7432.
- Leyn-Barrios M., Dakora F.D., Josef C.M., Phillips D.A. Isolation of *Rhizobium meliloti nod*-gene inducers from alfalfa rhizosphere soil // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1993. – V. 59, № 2. – P. 636-639.
- Long S.R. Rhizobium-Legume nodulation: life together in the underground // *Cell.* – 1989. – V. 56. – P. 203-214.
- Long S.R. Genes and Signals in the *Rhizobium* – Legume Symbiosis // *Plant Physiol.* – 2001. – V. 125. – P. 69-72.
- Makoi J.H.J.R., Ndakidemi P.A. Biological, ecological and agronomic significance of plant phenolic compounds in rhizosphere of the symbiotic legumes // *Afr. J. Biotechnol.* – 2007. – V. 6. – P. 1358-1368.
- Margolin W., Long S.R. *Rhizobium meliloti* contains a novel second homolog of cell division gene *ftsZ* // *J. Bacteriol.* – 1994. – V. 176, № 7. – P. 2033-2043.
- Massoumou M., van Tainen D., Chatagnier O., Arnould C., Brechenmacher L., Sanchez L., Selim S., Gianinazzi-Pearson V. *Medicago truncatula* gene responses specific to arbuscular mycorrhiza interactions with different species and genera of Glomeromycota // *Mycorrhiza.* – 2007. – V. 17, № 3. – P. 223-234.
- Matheus U., Bayliss C., Weinman J.J., Schlamman H.R.M., Spaink H.P., Rolfe B.G., McCully M.E., Djordjevic M.A. Flavonoids synthesized in cortical cells during nodule initiation are early developmental markers in white clover // *Mol. Plant-Microbe Interact.* – 1998. – V. 11, № 12. – P. 1223-1232.
- Maxwell C.A., Hartwig U.A., Joseph C.M., Phillips D.A. A Chalcone and two related flavonoids released from alfalfa roots induce *nod*-genes of *Rhizobium meliloti* // *Plant Physiol.* – 1989. – V. 91. – P. 842-847.
- Maxwell C.A., Phillips D.A. Concurrent synthesis and release of *nod*-gene-inducing flavonoids from alfalfa roots // *Plant Physiol.* – 1990. – V. 93, № 4. – P. 1552-1558.
- Mergaert P., Uchiumi T., Alunni B., Evanno G., Cheron A., Catrice O., Mausset A.E., Barloy-Hubler F., Galibert F., Kondorosi A., Kondorosi E. Eukaryotic control on bacterial cell cycle and differentiation in the *Rhizobium*-legume symbiosis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2006. – V. 103, № 13. – P. 5230-5235.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

- Mert-Tit F. Phytoalexins: Defences or just a response to stress? // *J. Cell Mol. Biol.* – 2002. – V. 1, № 1. – P. 1-6.
- Morris P.F., Bone E., Tyler B.M. Chemotropic and contact responses of *Phytophthora sojae* hyphae to soybean isoflavonoids and artificial substrates // *Plant Physiol.* – 1998. – V. 117. – P. 1171-1178.
- Muthukumar G., Arunakumari A., Mahadevan A. Degradation of aromatic compounds by *Rhizobium* spp. // *Plant Soil.* – 1982. – V. 69, № 2. – P. 163-169.
- Nicoll S.M., Brigham L.A., Wen F., Hawes M.C. Expression of transferred genes during hairy root development in pea // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* – 1995. – V. 42, № 1. – P. 57-66.
- Novak K. Production of phytoalexin in pea roots // *Interrelationships between microorganisms and plants in soil (Czechoslovakia, 1987)* / Eds. V. Vanbura, F. Kunc. – Prague: Academia, 1989. – P. 63-66.
- Novak K., Kropáková M., Havlíček V., Jbrkrdleta V. Isoflavonoid phytoalexin pisatin is not recognized by the flavonoid receptor NodD of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* // *Folia Microbiol.* – 1995. – V. 40, № 5. – P. 535-540.
- Novak K., Skrdleta V., Nemcova M., Lisa L. Optimization of rhizobial *nod*-gene-inducing activity assay in pea root exudate // *Folia Microbiologica.* – 1994. – V. 39, № 3. – P. 208-214.
- Pankhurst C.E., Biggs D.R. Sensitivity of *Rhizobium* to selected isoflavonoids // *Can. J. Microbiol.* – 1980. – V. 26, № 4. – P. 542-545.
- Peters N.K., Frost J.W., Long S.R. A Plant flavone luteolin, induces expression of *Rhizobium meliloti* nodulation genes // *Science.* – 1986. – V. 233, № 4767. – P. 977-986.
- Peters N., Long S.R. Alfalfa root exudates and compounds which promote or inhibit induction of *Rhizobium meliloti* nodulation genes // *Plant Physiol.* – 1988. – V. 88. – P. 396-400.
- Phillips D.A., Tsai S.M. Flavonoid as plant signals to rhizosphere microbes // *Mycorrhiza.* – 1992. – V. 1, № 2. – P. 55-58.
- Pueppke S.G., Bolacos-Vesquez M.C., Werner D., Bectfertě M.-P., Promě J.-C., Krishnan H.B. Release of flavonoids by the soybean cultivars mccall and peking and their perception as signals by the nitrogen-fixing symbiont *Sinorhizobium fredii* // *Plant Physiol.* – 1998. – V. 117. – P. 593-608.
- Rao A.S. Root Flavonoids // *Bot. Rev.* – 1990. – V. 56. – P. 1-84.
- Rao J.R., Cooper J.E. Soybean nodulating rhizobia modify *nod*-gene inducers daidzein and genestein to yield aromatic products that can influence gene-inducing activity // *Mol. Plant-Microbe Interact.* – 1995. – V. 8, № 6. – P. 855-862.
- Redmond J.W., Batley M., Djordjevic M.A., Innes R.W., Kuempel P.L., Rolfe B.G. Flavones induce expression of nodulation genes in *Rhizobium* // *Nature.* – 1986. – V. 323, № 6089. – P. 632-635.
- Recourt K., Schripsema J., Kijne J.W., van Brusel A.A.N., Lugtenberg B.J.J. Accumulation of a *nod*-gene inducer, the flavonoid naringenin, in the cytoplasmic membrane of *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* is caused by the pH-dependent hydrophobicity of naringenin // *J. Bacteriol.* – 1989. – V. 171, № 8. – P. 4370-4377.
- Richardson A.E., Djordjevic M.A., Rolfe B.G., Simpson R.J. Expression of nodulation genes in *Rhizobium* and acid sensitivity of nodule formation // *Aust. J. Plant. Physiol.* – 1989. – V. 16, № 1. – P. 117-119.
- Rynne F.G., Glenn A.R., Dilworth M.J. Effect of mutations in aromatic catabolism on the persistence and competitiveness of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* // *Soil Biol. Biochem.* – 1994. – V. 26, № 6. – P. 703-710.
- Scheidemann P., Wetzel A. Identification and characterization of flavonoids in the root exudates of *Robinia pseudoacacia* // *Trees.* – 1997. – V. 11, № 5 – P. 316-321.
- Schlaman H.R.M., Spaink H.P., Okker R.J.H., Lugtenberg B.J.J. Subcellular localization of the *nodD* gene product in *Rhizobium leguminosarum* // *J. Bacteriol.* – 1989. – V. 171, № 9. – P. 4686-4693.
- Scott M.G., Peterson R.L. The root endodermis in *Ranunculus acris*. II. Histochemistry of the endodermis and the synthesis of phenolic compounds in roots // *Can. J. Bot.* – 1979. – V. 57, № 9. – P. 1063-1077.
- Schultze M., Kondorosi A. Regulation of symbiotic root nodule development // *Annu. Rev. Genet.* – 1998. – V. 32. – P. 33-57.
- Smit P., Limpens E., Geurts R., Fedorova E., Dolgikh E., Gough C., Bisseling T. Medicago LYK3, an entry receptor in rhizobial nodulation factor signaling // *Plant. Physiol.* – 2007. – V. 145. – P. 183-191.
- Sugiyama A., Shitan N., Yazaki K. Involvement of a soybean ATP-binding cassette-type transporter in the secretion of genestein, a signal flavonoid in Legume-Rhizobium symbiosis // *Plant Physiol.* – 2007. – V. 144. – P. 2000-2008.
- VanEtten H.D., Masfield J.W., Bailey J.A., Farmer E.E. Two classes of plant antibiotics: phytoalexins versus “Phytoanticipins” // *Plant Cell.* – 1994. – V. 6. – P. 1191-1192.
- Vasse J., Billi F., Truchet G. Abortion of infection during the *Rhizobium meliloti*-alfalfa symbiotic interac-

МАКАРОВА

- tion is accompanied by a hypersensitive reaction // *Plant J.* – 1993. – V. 4, № 3. – P. 555-566.
- Volpin H., Burdham S., Castro-Sowinski S., Kapulnik Y., Okon Y.* Inoculation with *Azospirillum* increased exudation of rhizobial *nod*-gene inducers by alfalfa roots // *Mol. Plant-Microbe Interact.* – 1996. – V. 9, № 5. – P. 388-394.
- Wollenweber E., Dietz V.H.* Occurrence and distribution of free flavonoid aglycones in plants // *Phytochemistry.* – 1981. – V. 20. – P. 869-932.
- Wu Z.B., Zhang S.H., Wu X.H., Cheng S.P., He F.* Allelopathic interactions between *Potamogeton maackia* *Microcystis aeruginosa* // *Allelopathy J.* – 2007. – V. 20. – P. 327-338.
- Zaat S.A.J., Wijffelman C.A., Spaink H.P., van Brussel A.A.N., Okker R.J.H., Lugtenberg B.J.J.* Induction of the *nodA* promoter of *Rhizobium leguminosarum sym* plasmid pRL1JI by plant flavanones and flavones // *J. Bacteriol.* – 1987. – V. 169, № 1. – P. 198-204.
- Zaat S.A.J., Wijffelman C.A., Spaink H.P., van Brussel A.A.N., Okker R.J.H., Lugtenberg B.J.J.* Analysis of the major inducer of the *Rhizobium nodA* promoter from *Vicia sativa* root exudates and their activity with different *nod* genes // *Plant Mol. Biol.* – 1989. – V. 13, № 2. – P. 175-188.
- Zhu Y., Pierson L.S., Hawes M.* Induction of microbial genes for pathogenesis and symbiosis by chemicals from root border cells // *Plant Physiol.* – 1997. – V. 115. – P. 236-271.

Поступила в редакцию
20.04.2012 г.

PHYSIOLOGICAL ROLE OF PHENOLIC COMPOUNDS IN THE FORMATION OF LEGUME-RHIZOBIUM SYMBIOSIS AT PRE-INFECTION STAGE

L. Ye. Makarova

*State Federal Budget Institution of Science
Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry
Siberian Division of the Russian Academy Sciences
(Irkutsk, Russia)*

The review presents the data on the phenolic compounds impact on *Rhizobium*, the former located in the host-plant rhizosphere within its exudates at pre-infection stage. The study demonstrated that during this period key aspects of phenolic compounds impact, specifically participation in activation of rhizobium genome system for synthesis of Nod-factors signal molecules and control over these bacteria concentration in host-plant rhizosphere, depend on quantitative and qualitative modifications in their complexes emerging at different times after inoculation, in the course of ontogenesis and subject to environmental conditions. The data characterizing phenolic compounds functions in rhizosphere during legumes contact with other species of useful or pathogenic soil microorganisms.

Key words: *phenolic compounds, legume-rhizobium, pre-infection*

ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

**ФІЗІОЛОГІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК
ПРИ ФОРМУВАННІ БОБОВО-РИЗОБІАЛЬНОГО СИМБІОЗУ
НА ЕТАПІ ПЕРЕДІНФЕКЦІЇ**

Л. Є. Макарова

*Федеральна державна бюджетна установа науки
Сибірський інститут фізіології і біохімії рослин
Сибірського відділення Російської академії наук
(Іркутськ, Росія)*

В огляді наведено дані, що характеризують вплив на *Rhizobium* фенольних сполук, які опиняються у ризосфері рослини-хазяїна у складі його ексудатів в період передінфекції. Показано, що у вказаний період основні аспекти впливу фенольних сполук, а саме, участь в активації геномної системи ризобій для синтезу ними сигнальних молекул – Nod-чинників і в контролі концентрації цих бактерій у ризосфері рослини-хазяїна, залежать від кількісних і якісних модифікацій в їх комплексах, що виникають в різні періоди після інокуляції, в процесі онтогенезу і залежно від умов зовнішнього середовища. Наводяться дані, що вказують на функції фенольних сполук у ризосфері при контакті бобових рослин з іншими видами корисних або патогенних для них мікроорганізмів, поширених в ґрунті.

Ключові слова: фенольні сполуки, бобово-ризобіальний симбіоз, передінфекція