

УДК 58.036:577/.112/.152.1./19:582.542.11

АЦИЛГОМОСЕРИНЛАКТОНИ БАКТЕРІАЛЬНОГО ПОХОДЖЕННЯ У БІОТЕХНОЛОГІЇ ПРАЙМУВАННЯ РОСЛИН: ДОСЯГНЕННЯ І ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ В АГРАРНОМУ ВИРОБНИЦТВІ

Л.М. БАБЕНКО¹, О.В. МОШИНЕЦЬ², М.М. ЩЕРБАТЮК¹, І.В. КОСАКІВСЬКА¹

¹Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного Національної академії наук України
01601 Київ, вул. Терещенківська, 2

²Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України
03680 Київ, вул. Академіка Заболотного, 150

e-mail: lilia.babenko@gmail.com

Проаналізовано та узагальнено літературні відомості про ацилгомосеринлактони (АГЛ) — новий клас молекул-медіаторів бактеріального походження, задіяних у дистанційній трансдукції сигналів. Обговорено їх участь в ауторецепції кількісних параметрів бактеріальної популяції, що отримала назву «quorum sensing» (QS). Наголошено, що явище QS і задіяні в ньому компоненти причетні до регуляції фізіологічних процесів у рослин і бактерій, серед яких формування біоплівки, синтез фітогормонів, плазмідний трансфер, продукція факторів вірулентності тощо. Особливу увагу приділено участі АГЛ у регуляції росту й розвитку рослин, перспективам їх використання у біотехнології праймування аграрних культур, моделюванню захисних реакцій та індукції генетичної стійкості у нестійких видів.

Ключові слова: ацилгомосеринлактони, біоплівка, аутоіндуктори, біотехнологія праймування рослин.

Рослини і бактерії співіснують упродовж мільйонів років. Комплексна взаємодія рослин із мікробною популяцією у власній фітосфері (сукупності ризо-, енто- та філосфер) є критично важливою [6, 7]. Асиміляція поживних речовин рослинами, їх розвиток і стійкість залежать від цієї взаємодії [38, 55, 56]. Ефективне співіснування опосередковане, зокрема, спеціальними комунікативними системами — сигнальними шляхами рослин і мікроорганізмів, які реалізуються послідовно на індивідуальному внутрішньоклітинному і позаклітинному рівнях. Наразі відомо кілька видів молекул-медіаторів дистанційної трансдукції сигналів. Найглибше досліджено сигнальну систему за участю молекул групи ацилгомосеринлактонів, менш дослідженими є азотовмісні гетероциклічні сполуки, α -гідроксикетони, системи пептидної природи [8, 43]. Отже, одним із медіаторів сигнальної системи фітосферна бактеріальна спільнота—рослина є ацилгомосеринлактони. Цілком вірогідно, що саме АГЛ-медіатори утворюють найчисленнішу групу речовин, які беруть участь у передачі сигналів від мікро- до макроорганізму [46].

Постійне зростання впливу негативних антропогенних чинників на навколишнє середовище ставить перед науковцями та аграріями завдання скоротити або зовсім відмовитись від використання синтетичних пе-

стицидів. Проте проблема ефективного захисту аграрних культур від хвороб і шкідників залишається при цьому відкритою. Отже, для забезпечення дедалі зростаючих потреб у продуктах харчування слід розробити сучасні біотехнології захисту рослин, які б дали змогу біологічно безпечним шляхом підвищити кількість отримуваних продуктів та їх якісні показники.

У зв'язку з цим метою огляду були аналіз та узагальнення літературних відомостей про ацилгомосеринлактони — важливий клас молекул-медіаторів бактеріального походження, задіяних у дистанційній трансдукції сигналів, їх роль у регуляції фізіологічних процесів рослинних організмів, перспективи використання у біотехнологічних розробках, спрямованих на підвищення стресостійкості і врожайності аграрних культур.

Міжклітинна комунікація мікроорганізмів. Упродовж тривалого часу бактерії розглядали і досліджували виключно як індивідуальні одноклітинні організми, в яких відсутня надклітинна організація. На сьогодні загально визнано, що основною формою існування бактерій у природних умовах є популяційне надклітинне угруповання, часто асоційоване з поверхнею субстрату [8, 26]. Такі угруповання отримали назву біоплівки, є високовпорядкованими бактеріальними утвореннями, екологічно нішею, штучно створеною бактеріями, де вони підтримують стабільні умови існування, формують складні трофічні потоки [3, 5]. У біоплівках бактерії координують і синхронізують роботу індивідуальних геномів, що, відповідно, дає популяції можливість функціонувати подібно багатоклітинному організму [8]. Традиційно біоплівкою вважають структури, прикріплені до абіотичних і біотичних поверхонь та занурені в рідину [3]. Проте багато біоплівки, зокрема утворювані фітобактерією *Pseudomonas fluorescens* SBW25, є такими, що формуються на поверхні рідкого субстрату [7]. Уперше біоплівки було виявлено в природних екосистемах, але наразі беззаперечним є факт їхнього існування в усіх еконішах, зокрема й у антропофері [3]. Біоплівки утворюються в кілька етапів, а саме: адгезія клітин на поверхні; формування так званих мікроколоній — первинних клітинних угруповань; перерозподіл клітинної маси; активний поділ клітин для створення клітинних кластерів; формування екзополімерного слизового матриксу, вивільнення бактерій з угруповання, перехід від прикріпленої до вільної (планктонної) форми існування, подальша колонізація нових еконіш (рис. 1) [5].

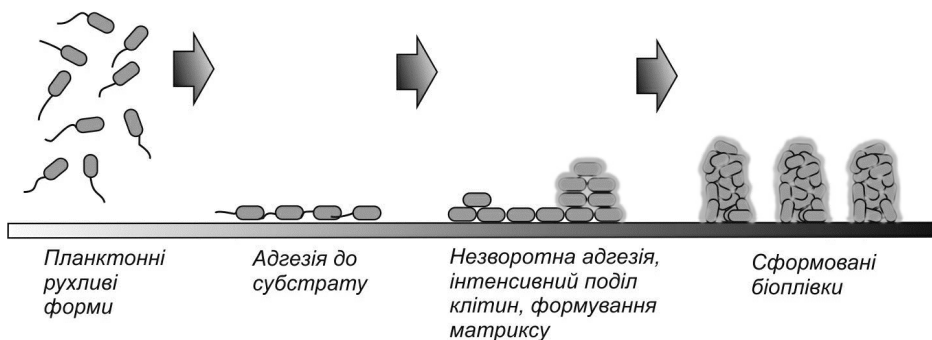


Рис. 1. Послідовність етапів формування бактеріальної біоплівки [5]

За допомогою конфокальної та електронної мікроскопії встановлено, що біоплівки мають складну тривимірну структурну організацію [31]. Після незворотної адгезії популяція бактерій починає інтенсивно ділитись з утворенням багатоклітинних шарів і активно синтезувати компоненти екзополімерного матриксу, що є одним із ключових моментів утворення біоплівок. Клітини у слизовому матриксі розміщуються не хаотично, а впорядковано, відповідно до певних структурних принципів. Матрикс розділений каналами, наповненими водними розчинами. Через ці канали транспортуються поживні речовини і проходить кисень від зовнішніх до внутрішніх шарів біоплівки, а також виводяться метаболіти [31]. В останні роки зібрано чимало даних, які підтверджують здатність бактерій — членів популяції біоплівки — виявляти координовану активність, що, як вважали раніше, є прерогативою багатоклітинних організмів [8]. Взаємодія окремих клітин у бактеріальній популяції необхідна для її виживання в мінливих екологічних умовах і встановлення симбіотичних або паразитарних взаємовідносин із багатоклітинними організмами [59].

Загальнобіологічна роль біоплівок полягає у виживанні й адаптації в мінливому навколишньому середовищі, зокрема у процесі колонізації, захисті від токсинів та організмів, що використовують бактерії як харчовий субстрат, а також у патогенезі. Координована діяльність бактеріальних клітин у біоплівці здійснюється за допомогою спеціалізованих хімічних молекул — комунікативних медіаторів, або аутоіндукторів (АІ), названих так через здатність стимулювати власний біосинтез [3, 8, 18]. Сигнальні молекули-аутоіндуктори фактично є регуляторами генної експресії. Вони вільно дифундують крізь клітинні мембрани, створюють умови, за яких бактеріальна клітина набуває здатності реагувати на будь-які зміни їх внутрішньоклітинної концентрації, що відповідає концентрації АІ у водній фазі біоплівки, і таким чином реагують на зміну розмірів популяції. Таку своєрідну сенсорну міжклітинну взаємодію, яка забезпечує ауторегуляцію кількісних параметрів популяції, в англійській науковій літературі називають «quorum sensing» (QS) — «відчуження» кворуму* [5, 10]. На сьогодні QS-регуляцію виявлено більш як у 500 видів бактерій [5]. QS-система об'єднує механізми трансляції, рецепції та координації медіаторами QS-сигналів активності генів, серед яких такі, що забезпечують індивідуальні переваги окремим членам популяції за умови досягнення необхідного кількісного рівня бактеріальної взаємодії. Бактерійні QS-системи з певними припущеннями можна вважати найдревнішим прототипом складних регуляторних систем вищих організмів (гормональної та імунної), що використовують медіатори для координації функцій різноманітних типів клітин із метою досягнення адекватної адаптаційної реакції на рівні тканин, органів та організму в цілому [5].

Одним із перших об'єктів, на яких дослідили явище QS, була бактерія *Vibrio fischeri*, що живе у фотофорах — органах тихоокеанського кальмара, які продукують світло. Взаємодія цих організмів — приклад взаємовигідного співіснування видів, які належать до різних царств. Активний уночі молюск отримує перевагу, оскільки світіння, спричи-

*Примітка: певні складнощі перекладу пов'язані з тим, що в українській (як і в російській) мові використання віддієслівних іменників у назві системи не є природним, тому в подальшому вважаємо за доцільне використовувати загальноприйнятну аббревіатуру QS у тих комбінаціях, в яких вона трапляється в англійській літературі, зокрема QS-система, QS-регуляція тощо.

нюване бактеріями, робить його непомітним у воді, маскує у місячно-му світлі від хижаків. У свою чергу, бактерії отримують від молюска живлення й укриття [8, 29]. З'ясувалось, що здатність колонізувати фотофори кальмарів визначає бактеріальний ген *rscS*, який кодує білок-рецептор, розміщений на клітинній мембрані, реагує на зовнішні сигнали, передаючи їх всередину клітини, та активує інший регуляторний білок — транскрипційний фактор *SypG*. У свою чергу, *SypG* активує групи генів, які кодують білки, необхідні для синтезу полісахаридів, що виводяться з бактеріальної клітини [18]. Ці полісахариди сприяють поділу бактерій у слизовому середовищі фотофору. Якщо *V. fischeri* існує у вигляді планктонних форм, речовина-аутоіндуктор знаходиться у низькій концентрації і люмінесценція відсутня. Зростання ж кількості клітин до 10^{11} шт/мл викликає біоломінесценцію у світному органі кальмара. Подібно до *V. fischeri* відбувається QS у бактерій роду *Erwinia* (*E. carotovora* та *E. chrysanthemi*), які спричиняють м'яку гниль картоплі і хризантем, гідролізуючи клітинні стінки рослин пектиназою і целюлазою. Утворення цих ферментів є важливим чинником вірулентності *Erwinia* і залежить від кількості клітин у популяції [44, 45]. Тому за досить високої щільності популяції бактерій ферменти синтезуються настільки інтенсивно, що клітини рослин руйнуються раніше, ніж імунна система встигає відреагувати на проникнення патогену. Отже, QS базується на складній ієрархічній регуляції цільових локусів геному бактеріальної клітини, яка здійснюється на транскрипційному, трансляційному і пост-трансляційному рівнях [32]. Система QS регулює утворення біоплівки, перенесення плазмід, синтез антибіотиків, споруляцію у бактерій [32, 43]. QS можна порівняти з гормональною регуляцією функціональної активності різних органів і тканин у багатоклітинному організмі. Загальна кількість генів, контрольованих системою QS, у різноманітних бактеріальних видів становить від 5 до 25 % [32, 43].

Молекули-аутоіндуктори. Доведено, що синхронізація поведінки бактерій у біоплівці реалізується через використання медіаторів QS, або аутоіндукторів [18]. Найбільш дослідженими АІ прокариотів є лактони — низькомолекулярні хімічні сполуки класу ацильних похідних лактону *L*-гомосерину, або ацилгомосеринлактони. Ці сигнальні молекули містять п'ятичленне гомосеринлактонове кільце й приєднаний до нього через амідний зв'язок варіабельний ацильний бічний ланцюг (рис. 2). Субстратами для синтезу АГЛ є *S*-аденозилметіонін та продукти метаболізму ліпідів. В ацильному ланцюзі може налічуватись від 3 до 18 атомів вуглецю із замісниками (або без них) у третьому положенні [37, 41].

АГЛ в основному синтезуються грамнегативними бактеріями, проте з'являлись повідомлення про їх виявлення й у грампозитивних бактерій [22, 23]. Молекули АГЛ,

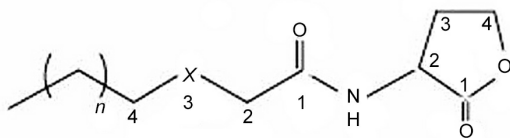


Рис. 2. Загальна структура молекули ацилгомосеринлактону:

X — можливі заміни (H, OH, O) біля третього атома вуглецю в бічному ланцюзі; n — кількість атомів вуглецю в бічному ланцюзі [41]

синтезовані бактеріями різних видів, відрізняються за довжиною ланцюга і наявністю або відсутністю радикалів у бічному ланцюзі біля третього вуглецевого атома. Відмінності в будові молекул забезпечують розпізнавання бак-

теріями власних АГЛ і відокремлення чужорідних [35]. Показано, що бактерії синтезують як коротколанцюгові АГЛ (3—6 атомів вуглецю в ацильній групі), які вільно дифундують крізь клітинну мембрану, так і довголанцюгові АГЛ (10—18 вуглецевих атомів), що вбудовуються в мембрану клітини [43, 46]. Крім участі у функціонуванні системи QS АГЛ можуть безпосередньо впливати і на клітини еукаріотичних організмів, зокрема рослин. Встановлено, що АГЛ регулюють інтенсивність утворення цитокінінів та ауксинів і тим самим модулюють фізіологічні процеси [46].

«Quorum sensing» мікроорганізмів фітосфери впродовж росту і розвитку рослин. Процеси росту і розвитку рослини відбуваються за умов тісної координації поділу клітин, росту розтягуванням і диференціації. У синхронізації цих процесів задіяний обмін сигнальними молекулами між коренем і пагоном, на який можуть впливати як біотичні, так і абіотичні чинники. Окремого значення в такій регуляції набуває взаємодія між рослинами та асоційованими з ними мікроорганізмами. Рослини продукують цілу низку органічних сполук, включаючи цукри, органічні кислоти, вітаміни і фітогормони, які популяції мікробів використовують як поживні та регуляторні речовини. Водночас мікроорганізми виділяють сполуки, які можуть прямо чи опосередковано активувати імунітет рослини, регулювати її ріст і морфогенез.

У наших попередніх роботах ми розглядали феномен взаємодії рослини з мікроорганізмами у структурно-функціональному і топографічному аспекті [6, 7]. Фізичні, біологічні та екологічні характеристики ризосфери визначаються унікальним балансом сполук, які виділяють усі учасники фітосфери — сукупності ризо-, енто- і філосфер. Найбільш динамічною з погляду взаємодії та асоційованої з нею мікрофлори є ризосфера. Регулювання функцій ризосфери набуває особливого значення при розробці нових біотехнологічних підходів, спрямованих на підвищення врожайності і стресостійкості за умов мінімального використання води, добрив, агрохімікатів. Бактерії, що колонізують поверхню коренів і ризосферу в цілому й мають корисні для рослин властивості, визначають як групу PGPR (від англ. plant growth promoting rhizobacteria), тобто ризобактерії, що стимулюють ріст рослин [55, 56]. Представників групи PGPR вважають потенційними ендofітами, здатними подолати ендодермальний бар'єр. Вони потрапляють у рослину переважно через кортекс кореня, інфікують судинну систему й утворюють ендofітні популяції в коренях, стеблах, листках та інших органах [38]. До цієї групи належать бактерії роду *Pseudomonas*. Це типові колонізатори зони ризосфери. Окремі штами псевдомонад розглядають як перспективні фітопротектори [56]. Нещодавно з'ясовано, що АГЛ відіграють ключову роль у кооперативній діяльності бактеріальних популяцій, у тому числі в процесі колонізації ними нових екологічних ніш. Зафіксовано чимало свідчень впливу молекул-медіаторів QS на фізіологічний стан рослин. Так, коротколанцюгові АГЛ індукують посилення росту рослин, позитивно впливають на біосинтез ауксинів [28]. Перші дослідження впливу АГЛ на метаболізм рослинних гормонів проведено на *Medicago truncatula* Gaertn. праймувальною сумішшю АГЛ, продукуваних симбіотичною азотфіксувальною бактерією *Sinorhizobium meliloti*. У результаті ідентифіковано 150 рослинних білків, синтезованих внаслідок дії АГЛ, серед яких пептиди і ферменти, задіяні в метаболізмі ауксину, а також білки, що беруть участь у формуванні захисних, стресових ре-

акцій, енергетичних і метаболічних процесах, регуляції активності цитоскелета. Активування гена β -глюкуронідази під контролем промотору GH3, що реагує на ауксин, вказує на участь фітогормону в реакції на обробку ВГЛ [34]. Транскрипційним аналізом виявлено також участь ауксину в реакції на екзогенну обробку молекулами АГЛ. Ауксинасоційовані гени активувались після попередньої обробки коротколанцюговим гексаноїлгомосеринлактоном, що містив 6 атомів вуглецю (C_6 -ГСЛ), та довголанцюговим оксотетрадеканоїлгомосеринлактоном із 14 атомами вуглецю (оксо- C_{14} -ГСЛ) [47, 58]. Показано, що гени, залучені до метаболізму цитокініну — антагоніста ауксину, при цьому пригнічувались [58]. Внесення АГЛ зумовлювало зміну співвідношення між вільними ауксином і цитокінінами у тканинах коренів і пагонів, що супроводжувалось посиленням росту. Встановлено, що участь ауксину в АГЛ-індукованому рості є результатом утворення H_2O_2 і NO, яке залежало від циклічної передачі цГМФ-сигналів. У модельному досліді молекула системи QS оксо- C_{10} -ГСЛ індукувала посилений базипетальний транспорт ауксину, після чого накопичувались H_2O_2 , NO і стимулювався ріст додаткових коренів [9].

Існує і протилежний погляд на участь ауксину в індукції ростових процесів під впливом АГЛ. Незважаючи на значний вплив оксо- C_{10} -ГСЛ на ріст первинного кореня, формування додаткових коренів і розвиток кореневих волосків не залежали від наявності ауксину, на що вказує аналіз експресії GUS-репортера генів під контролем ауксинрегульованого промотора DR5 [39]. Нещодавно з'явилися публікації, автори яких стверджують, що рістстимульовальна дія АГЛ зумовлена дериватом АГЛ *L*-гомосерином, який утворюється в результаті амідолізу АГЛ під дією амідгідролази жирних кислот. Припускають, що підвищена транспірація під впливом *L*-гомосерину посилює потік води і мінеральних солей, що позитивно позначається на рості рослин [40]. Окрім регуляції ростових процесів довголанцюгові АГЛ впливають на формування механізмів захисту рослин [47].

На відміну від тварин, рослини не мають спеціальних клітин для імунних реакцій. Для вироблення захисних реакцій уражені рослинні клітини потребують докорінної перебудови своїх функцій. У рослинах функціонують спеціальні механізми локального захисту і специфічні реакції, які координуються сигнальними системами [1, 4, 51]. Головну роль у координації відіграє взаємодія сигнальних шляхів, до якої залучені фітогормони [27]. Так, захисна реакція на вплив некротрофних патогенів формується за участю жасмонової кислоти (ЖК) й етилену, тоді як на вплив біотрофних патогенів — головним чином за участю саліцилової кислоти (СК) [19]. Антагоністичний характер взаємодії СК і ЖК досліджено детально, проте в окремих публікаціях вказується і синергічна взаємодія цих сполук [12, 57].

Доведення ролі гормонів в АГЛ-індукованій стійкості стало можливим, коли дослідники виявили, що після інокуляції ризобактерією *Serratia liquefaciens*, яка продукує АГЛ, підвищувались системний захист і накопичення СК у рослин томатів [49]. Аналогічні результати отримано після обробки томатів чистими C_6 - і C_4 -ГСЛ. Так, після обробки цими речовинами, СК- й етилензалежні гени PR1, що пов'язані з патогенезом, виявили високий ступінь експресії [49]. Підвищена експресія цих генів у листках томатів, зафіксована після обробки C_6 -ГСЛ і C_4 -ГСЛ коренів рослин, дає підставу припустити, що функції системних захисних

реакцій діють через СК-залежний шлях [49]. Внесення довголанцюгових оксо-С₁₄-ГСЛ у ризосферу арабідопсису індувало системні реакції у стеблах рослин [48]. Отже, АГЛ-індукований шлях захисту, вірогідно, залежить від СК і 12-оксофітодієнової кислоти (ОФДК) — попередника ЖК, на що вказує накопичення цих двох фізіологічно активних речовин, а також результати дослідження мутантів і аналіз транскрипції [47]. Взаємодія рослин і бактерій, наслідком якої є індукція системної резистентності — цілком природний механізм рослинної адаптації до біотичних чинників навколишнього середовища.

Праймування насіння як спосіб сенсibiliзації подальших захисних реакцій у рослин. Передпосівну обробку насіння (праймування) вважають ефективним біотехнологічним підходом, що підвищує життєздатність і стійкість самого насіння, а в подальшому — проростків і дорослих рослин. Висока якість посівного матеріалу, його відповідність стандартам Міжнародної асоціації тестування насіння є важливою передумовою отримання стабільного врожаю. Проте високоякісне насіння може відрізнятися за ступенем зрілості, що призводить до асинхронності проростання й неоднорідності розвитку проростків. Праймування ж насіння індукує репараційні процеси в клітинах зародків, після завершення яких запускається клітинний цикл. Аналізом вмісту ДНК в ядрах клітин зародків цукрового й кормового буряку та цибулі виявлено значні відмінності в кількості клітин, які досягли фази G₂ клітинного циклу після праймування поліетиленгліколем, що призводило до істотного варіювання життєздатності праймованого насіння при зберіганні [2]. Крім підвищення життєздатності праймування зазвичай розглядають як складову частину індукованої стійкості [16]. Окремі індуктори стійкості вивчені досить детально. Такими є β-аміномасляна кислота (БАК) та СК у низьких концентраціях. Обробка БАК активує СК- й АБК-залежні сигнальні шляхи, індукує відкладання калози у клітинних оболонках та солестійкість [53]. БАК-індукована стійкість пригнічує токсин коронатин, що продукується бактерією *P. syringae* [54]. Іншим індуктором стійкості є азелаїнова кислота, що забезпечує системний захист за посередництва СК [25].

Проте праць, присвячених дослідженню молекулярних механізмів праймування і вивченню сенсibiliзації у рослин, на сьогодні замало. Зокрема повідомлялось про накопичення неактивної форми мітогенактивованої протеїнкінази (МАП), що активувалась після патогенного ураження [11], та модифікацій хроматину на ділянках промоторів захисних генів. Встановлено, що у праймованих АГЛ рослинах гістони на ділянці промоторів асоційованих із захистом транскрипційних факторів WRKY6, WRKY26 і WRKY53 метилюються (H3Kme3, H3K4me2) й ацетилюються (H3K9, H4K5, H4K12), що пришвидшує активування і подальшу стресову реакцію, результатом якої є відкладання калози і синтез феноловмісних сполук (рис. 3) [24]. Цікавим і важливим для майбутніх досліджень є той факт, що ефект праймування може передаватися наступним поколінням на епігенетичному рівні. Так, стійкість рослин *A. thaliana* до *P. syringae* успадковується за механізмом метилювання гістонів відповідних генів, що запускають саліцилатзалежний шлях захисту [30]. Закріплені зміни спостерігались у потомства рослин, оброблених БАК та уражених комахами [42, 50]. Однак, якщо при праймуванні БАК стійкість до токсину *P. syringae* передається наступним поколінням через СК і саліцилатзалежний шлях, то зміни, індуковані при ураженні

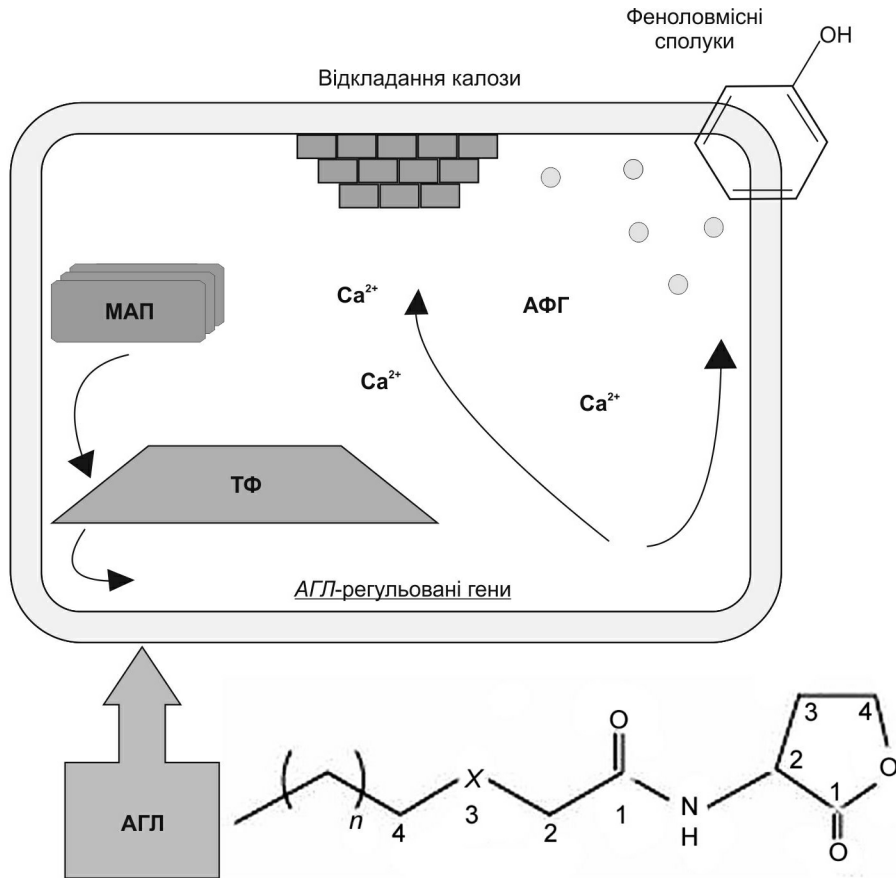


Рис. 3. Гіпотетична схема молекулярного механізму АГЛ-праймування в рослинній клітині: МАП — мітогенактивовані протеїнкінази; ТФ — транскрипційні фактори; Ca^{2+} -сигналінг; АФГ — ацилмуляція фітогормонів у результаті патогеніндукованого окиснювального стресу [24]

комахами, визначаються ЖК і передаються через жасмонатзалежний шлях передачі сигналу.

Перспективи використання в аграрних технологіях праймування АГЛ.

Актуальним завданням аграрного виробництва є зменшення обсягів використання синтетичних пестицидів і заміна їх на екологічно безпечні препарати, які ефективно, без руйнівних впливів на довкілля захищатимуть культурні рослини від хвороб і шкідників. Тому отримання нових речовин, які б задовольнили ці вимоги, є першочерговим завданням. Бактеріальні інокуляти, отримані з ґрунтових мікроорганізмів PGPR-групи, вже сьогодні використовують як складову в комплексних заходах екологічно безпечного землеробства [14]. Обговорюються перспективи використання ризосферних й асоційованих із кореневою системою бактерій родів *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia* для виробництва нових природних засобів захисту рослин [13, 14, 36]. Проте недоліками таких біопрепаратів є складність застосування, сезонна залежність і висока вартість.

Втім доведено, що продукування АГЛ бактеріями PGPR-групи в середньому вище, ніж ґрунтовими бактеріями аналогічних родів і видів. Зокрема показано, що насіння гороху при проростанні виділяє в ґрунт речовини, які імітують дію АГЛ. Вірогідно, вони поліпшують умови проростання насіння, підвищують стійкість проростків, моделюють рослинно-бактеріальну взаємодію у фітосфері [52]. Саме тому бактеріальні ме-

таболіти — регулятори росту і розвитку рослин — також розглядають як потенційно перспективні [15]. Окремі бактерії, здатні до активного утворення АГЛ, і самі ці сполуки в очищеному стані або синтезовані є новими у біотехнологічних розробках. Отже, ацилгомосеринактони можна вважати перспективними для аграрного виробництва речовинами [21, 60]. Сполуки системи QS здатні підвищити ефективність фіксації азоту бактеріями роду *Rhizobia*, оскільки утворення азотфіксувальних бульбочок у бобових рослин, розвиток симбіотичних відносин, синтез екзополісахаридів й адаптація до дії стресорів регулюються за участю речовин системи QS [20, 33]. Інтенсифікація процесу утворення АГЛ у *Rhizobia* sp. й використання бактеріальних інокулятив активує процеси росту і розвитку, азотфіксацію, підвищує стресостійкість, дає змогу скоротити обсяги застосування хімічних добрив і засобів захисту рослин. У перспективі можливе створення біоінженерним шляхом рослин із бактеріальними генами синтезу АГЛ. Такі трансгенні рослини відразу матимуть потенціал стійкості до абіотичних і біотичних стресорів. Проте ризики й переваги використання рослин, які самі продукують АГЛ, потребують додаткового вивчення та оцінки.

Таким чином, ацилгомосеринактони належать до нового класу молекул-медіаторів бактеріального походження, задіяних у дистанційній трансдукції сигналів у системах фітосферна бактеріальна спільнота—рослина. Серед молекул АГЛ, синтезованих бактеріями різних видів, виділяють молекули різної довжини та з різними бічними ланцюгами. Відмінності в будові молекул забезпечують розпізнавання бактеріями власних АГЛ і відокремлення чужорідних. АГЛ індують посилення росту, зумовлюють зміни у співвідношенні між ауксинами й цитокінінами у тканинах коренів і пагонів, впливають на формування механізмів захисту рослин. АГЛ відіграють ключову роль у кооперативній діяльності бактеріальних популяцій, колонізації ними нових екологічних ніш. Регулювання функцій ризосфери — найбільш динамічної зони взаємодії рослини й асоційованої з нею мікрофлори — за участю АГЛ набуває особливого значення при розробці нових біотехнологічних підходів праймування рослин, спрямованих на підвищення врожайності та стресостійкості аграрних культур.

Робота виконана за фінансової підтримки Національної академії наук України за цільовою комплексною міждисциплінарною програмою наукових досліджень «Молекулярні та клітинні біотехнології для потреб медицини, промисловості та сільського господарства».

1. Бабенко Л.М., Косаківська І.В., Скатерна Т.Д., Харченко О.В. Ліпоксигеназа рослин в адаптації до дії абіотичних стресових чинників // Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. Сер. Біологія. — 2013. — Вип. 2 (29). — С. 47–57.
2. Бубряк О.А., Акімкіна Т.В., Дмитрієв О.П. та ін. Пошук молекулярних маркерів для оптимізації передпосівної обробки (праймування) насіння // Там само. — С. 6–19.
3. Гостев В.В., Сидоренко С.В. Бактериальные биопленки и инфекции // Журн. инфектологии. — 2010. — 2, № 3. — С. 4–15.
4. Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессов. — К.: Основа, 2010. — 352 с.
5. Крестецька С.Л., Нестеренко А.М. Аутоіндукція та сигнальна трансдукція: комунікаторні системи в мікробних популяціях // Annals of Mechnicov Institute. — 2007. — № 1. — С. 4–9.

6. Мошинець О.В., Косаківська І.В. Екологія фітосфери: рослинно-мікробні взаємовідносини. 1. Структурно-функціональна характеристика ризо-, ендо- та фітосфери // Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. Сер. Біологія. — 2010. — Вип. 2 (20). — С. 19–35.
7. Мошинець О.В., Шпильова С.П., Спайрс Е.Д., Косаківська І.В. Фітосфера *Brassica napus* L. як екологічна ніша для *Pseudomonas fluorescens* SBW25 // Доп. НАН України. — 2010. — № 12. — С. 150–153.
8. Олексин А., Ботвинко И., Цевкелова У. Колониальная организация и межклеточная коммуникация у микроорганизмов // Микробиология. — 2000. — 69, № 3. — С. 309–327.
9. Bai X., Todd C.D., Desikan R., Yang Y. N-3-oxo-decanoyl-L-homoserinelactone activates auxin-induced adventitious root formation via hydrogen peroxide- and nitric oxide-dependent cyclic GMP signaling in mung bean // Plant Physiol. — 2012. — 158. — P. 725–736.
10. Bassler B. Small talk. Cell-to-cell communication in bacteria // Cell. — 2002. — 109, N 4. — P. 421–424.
11. Beckers G.J., Jaskiewicz M., Liu Y. et al. Mitogen-activated protein kinases 3 and 6 are required for full priming of stress responses in *Arabidopsis thaliana* // Plant Cell. — 2009. — 21. — P. 944–953.
12. Beckers G.J., Spoel S.H. Fine-tuning plant defense signaling: salicylate versus jasmonate // Plant Biol. (Stuttg.). — 2006. — 8. — P. 1–10.
13. Beneduzi A., Ambrosini A., Passaglia L.M. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents // Genetics and Mol. Biol. — 2012. — 35. — P. 1044–1051.
14. Berg G. Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture // Appl. Microbiol. Biotechnol. — 2009. — 84. — P. 11–18.
15. Brader G., Compant S., Mitter B. et al. Metabolic potential of endophytic bacteria // Curr. Opin. Biotechnol. — 2014. — 27. — P. 30–37.
16. Conrath U., Pieterse C., Mauch-Mani B. Priming in plant-pathogen interactions // Trends Plant Sci. — 2002. — 7. — P. 210–216.
17. Farah C., Vera M., Morin D. et al. Evidence for a functional quorum-sensing type AI-1 system in the extremophilic bacterium *Acidithiobacillus ferrooxidans* // AEM. — 2005. — 7, N 11. — P. 7033–7040.
18. Fukua W., Winans S., Greenberg E. Quorum sensing in bacteria: the LuxR/LuxI family of cell density responsive transcriptional regulators // J. Bacteriol. — 1994. — 176. — P. 269–275.
19. Glazebrook J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens // Annu. Rev. Phytopathol. — 2005. — 43. — P. 205–227.
20. Gonzalez J.E., Marketon M.M. Quorum sensing in nitrogen-fixing rhizobia // Microbiol. Mol. Biol. Rev. — 2003. — 67. — P. 574–592.
21. Hernandez-Reyes C., Schenk S.T., Neumann C. et al. N-acyl-homoserine lactone-producing bacteria protect plants against plant and human pathogens // Microbiol. Biotechnol. — 2014. — 7. — P. 580–588.
22. Iida A., Ohnishi Y., Horinouchi S. Control of acetic acid fermentation by quorum sensing via N-acylhomoserine lactones in *Gluconacetobacter intermedius* // J. Bacteriol. — 2008. — 190, N 7. — P. 2546–2555.
23. Iida A., Ohnishi Y., Horinouchi S. Identification and characterization of target genes of the GinI/GinR quorum-sensing system in *Gluconacetobacter intermedius* // Microbiology. — 2009. — 155. — P. 3021–3032.
24. Jaskiewicz M., Conrath U., Peterhansel C. Chromatin modification acts as a memory for systemic acquired resistance in the plant stress response // EMBO Rep. — 2011. — 12. — P. 50–55.
25. Jung H.W., Tschaplinski T.J., Wang L. et al. Priming in systemic plant immunity // Science. — 2009. — 324. — P. 89–91.
26. Kievit T., Iglewsky B. Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships // Infect. Immun. — 2000. — 68, N 9. — P. 4839–4849.
27. Koornneef A., Pieterse C.M. Cross talk in defense signaling // Plant Physiol. — 2008. — 146. — P. 839–844.
28. Liu F., Bian Z., Jia Z. et al. The GCR1 and GPA1 participate in promotion of *Arabidopsis* primary root elongation induced by N-acylhomoserine lactones, the bacterial quorum-sensing signals // Mol. Plant-Microbe. Interact. — 2012. — 25. — P. 677–683.
29. Losick R., Kaiser D. Why and how bacteria communicate // Sci. Amer. — 1997. — February. — P. 68–73.
30. Luna E., Bruce T.J., Roberts M.R. et al. Next-generation systemic acquired resistance // Plant Physiol. — 2012. — 158. — P. 844–853.

31. *Manos J.* Transcriptome analyses and biofilm-forming characteristics of a clonal *Pseudomonas aeruginosa* from the cystic fibrosis lung // *J. Med. Microbiol.* — 2008. — **57**. — P. 1454—1465.
32. *Mark J., Mandel Michael S., Wollenberg Eric V. et al.* A single regulatory gene is sufficient to alter bacterial host range // *Nature.* — 2003. — **458**. — P. 215—218.
33. *Marketon M.M., Glenn S.A., Eberhard A., Gonzalez J.E.* Quorum sensing controls exopolysaccharide production in *Sinorhizobium meliloti* // *J. Bacteriol.* — 2003. — **185**. — P. 325—331.
34. *Mathesius U., Mulders S., Gao M. et al.* Extensive and specific responses of a eukaryote to bacterial quorum-sensing signals // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2003. — **100**. — P. 1444—1449.
35. *McLean R.J., Pierson L.S., Fuqua C.* A simple screening protocol for the identification of quorum signal antagonists // *J. Microbiol. Methods.* — 2004. — **58**. — P. 351—360.
36. *Nadeem S.M., Ahmad M., Zahir Z.A. et al.* The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments // *Biotechnol. Adv.* — 2013. — **32**. — P. 429—448.
37. *Natelson S., Natelson E.A.* Preparation of D-, DL- and L-homoserine lactone from methionine // *Microchem. J.* — 1989. — **40**. — P. 226—232.
38. *Normander B., Prosser J.L.* Bacterial origin and community composition in the barley phytosphere as a function of habitat and presowing conditions // *Appl. Environ. Microbiol.* — 2000. — **66**. — P. 4372—4377.
39. *Ortiz-Castro R., Martinez-Trujillo M., Lopez-Bucio J.* N-acyl-L-homoserine lactones: a class of bacterial quorum-sensing signals alter post-embryonic root development in *Arabidopsis thaliana* // *Plant Cell Environ.* — 2008. — **31**. — P. 1497—1509.
40. *Palmer A.G., Senechal A.C., Mukherjee A. et al.* Plant responses to bacterial N-acyl-L-homoserine lactones are dependent on enzymatic degradation to L-homoserine // *ACS Chem. Biol.* — 2014. — **9**. — P. 1834—1845.
41. *Parsek M., Val D., Hanzelka B.* Acyl homoserine lactone quorum-sensing signal generation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1999. — **96**. — P. 4360—4365.
42. *Rasmann S., De Vos M., Casteel C.L. et al.* Herbivory in the previous generation primes plants for enhanced insect resistance // *Plant Physiol.* — 2012. — **158**. — P. 854—863.
43. *Rendi O.-C., Hexcon A., Lourdes M.-R.* The role of microbial signals in plant growth and development // *Plant Signal. Behav.* — 2009. — **4**, N 8. — P. 701—712.
44. *Revenchon S., Bouillant M.L., Salmond G., Nasser W.* Integration of the quorum-sensing system in the regulatory networks controlling virulence factor synthesis in *Erwinia chrysanthemii* // *Mol. Microbiol.* — 1998. — **29**, N. — P. 1407—1418.
45. *Salmond G.P.C., Bycroft B.W., Stewart C.S.A.B., Williams P.* The bacterial «enigma»: cracking the code of cell-cell communication // *Ibid.* — 1995. — **16**, N 4. — P. 615—624.
46. *Schenk S., Schikora A.* AHL-priming function via oxylipin and salicylic acid // *Front. Plant Sci.* — 2015. — **5**. — P. 784—794.
47. *Schenk S.T., Hernandez-Reyes C., Samans B. et al.* N-Acyl-homoserine lactone primes plants for cell wall reinforcement and induces resistance to bacterial pathogens via the salicylic acid/oxylipin pathway // *Plant Cell.* — 2014. — **26**. — P. 2708—2723.
48. *Schikora A., Schenk S.T., Stein E. et al.* N-Acyl-homoserine lactone confers resistance towards biotrophic and hemibiotrophic pathogens via altered activation of AtMPK // *Plant Physiol.* — 2011. — **57**. — P. 1407—1418.
49. *Schuhegger R., Ihring A., Gantner S. et al.* Induction of systemic resistance in tomato by N-acyl-L-homoserine lactone-producing rhizosphere bacteria // *Plant Cell Environ.* — 2006. — **29**. — P. 909—918.
50. *Slaughter A., Daniel X., Flors V. et al.* Descendants of primed *Arabidopsis* plants exhibit resistance to biotic stress // *Plant Physiol.* — 2012. — **158**. — P. 835—843.
51. *Spoel S.H., Dong X.* Making sense of hormone crosstalk during plant immune responses // *Cell Host Microbe.* — 2008. — **3**. — P. 348—351.
52. *Teplitski M., Robinson J.B., Bauer W.D.* Plants secrete substances that mimic bacterial N-acyl homoserine lactone signal activities and affect population density-dependent behaviors in associated bacteria // *Mol. Plant-Microbe Interact.* — 2000. — **13**. — P. 637—648.
53. *Ton J., Jakab G., Toquin V. et al.* Dissecting the β -aminobutyric acid-induced priming phenomenon in *Arabidopsis* // *Plant Cell.* — 2005. — **17**. — P. 987—999.
54. *Tsai C.H., Singh P., Chen C.W. et al.* Priming for enhanced defense responses by specific inhibition of the *Arabidopsis* response to coronatine // *Plant J.* — 2011. — **65**. — P. 469—479.
55. *Van Elsas J.D., Tumer S., Bailey M.J.* Horizontal gene transfer in the phytosphere // *New Phytol.* — 2003. — **157**. — P. 525—537.
56. *Van Peer P., Punte H.L.M., De Weger L.A., Schippers B.* Characterization of root surface and endorhizosphere *Pseudomonas* in relation to their colonization of roots // *Appl. Environ. Microbiol.* — 1990. — **56**. — P. 2462—2470.

57. Van Wees S.C., De Swart E.A., Van Pelt J.A. et al. Enhancement of induced disease resistance by simultaneous activation of salicylate- and jasmonate-dependent defense pathways in *Arabidopsis thaliana* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2000. — **97**. — P. 8711–8716.
58. Von Rad U., Klein I., Dobrev P.I. et al. Response of *Arabidopsis thaliana* to N-hexanoyl-DL-homoserine lactone, a bacterial quorum sensing molecule produced in the rhizosphere // Planta. — 2009. — **229**. — P. 73–85.
59. Whitehead N., Barnard A., Slater H. Quorum sensing in Gram-negative bacteria // FEMS Microbiol. Rev. — 2001. — **25**. — P. 365–404.
60. Zarkani A.A., Stein E., Rohrich C.R. et al. Homoserine lactones influence the reaction of plants to rhizobia // Int. J. Mol. Sci. — 2013. — **4**. — P. 17122–17146.

Отримано 16.05.2016

АЦИЛГОМОСЕРИНЛАКТОНЫ БАКТЕРИАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В БИОТЕХНОЛОГИИ ПРАЙМИРОВАНИЯ РАСТЕНИЙ: ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В АГРАРНОМ ПРОИЗВОДСТВЕ

Л.М. Бабенко¹, Е.В. Мошинец², Н.Н. Щербатюк¹, И.В. Косаковская¹

¹Институт ботаники им. Н.Г. Холодного Национальной академии наук Украины, Киев

²Институт молекулярной биологии и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

Проанализированы и обобщены литературные сведения об ацилгомосеринлактонах (АГЛ) — новом классе молекул-медиаторов бактериального происхождения, задействованных в дистанционной трансдукции сигналов. Обсуждено их участие в ауторепции количественных параметров бактериальной популяции, получившей название «quorum sensing» (QS). Подчеркнуто, что явление QS и задействованные в нем компоненты причастны к регуляции физиологических процессов у растений и бактерий, среди которых формирование биопленок, синтез фитогормонов, плазмидный трансфер, продукция факторов вирулентности и т.п. Особое внимание уделено участию АГЛ в регуляции роста и развития растений, перспективам их использования в биотехнологии праймирования аграрных культур, моделированию защитных реакций и обеспечению генетической устойчивости неустойчивых видов.

BACTERIAL ACYL HOMOSERINE LACTONES IN PLANT PRIMING BIOTECHNOLOGY: ACHIEVEMENTS AND PROSPECTS OF USE IN AGRICULTURAL PRODUCTION

L.M. Babenko¹, O.V. Moshynets², M.M. Shcherbatiuk¹, I.V. Kosakivska¹

¹M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine

2 Tereschenkivska St., Kyiv, 01601, Ukraine

²Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine

150 Akademika Zabolotnogo St., Kyiv, 03680, Ukraine

Literature data on acyl homoserine lactones (AHL), a novel class of bacterial mediator molecules involved in a remote signal transduction, have been analyzed and summarized. Their involvement in auto-reception of bacterial population quantitative parameters called “quorum sensing” (QS) is discussed. The QS phenomenon and its components are related to the regulation of plant and bacteria physiological processes including bio-film formation, phytohormone synthesis, plasmid transfer, production of virulent factors, etc. A special attention is given to the AHL involvement in plant growth and development regulation, prospects of their application in crops priming biotechnology, modeling of protection responses and development of genetic resistance in nonresistant plants.

Key words: acyl homoserine lactone, biofilm, autoinductor, plant priming biotechnology.