

## ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ НАРИНГЕНИНА НА РОСТ, СИГНАЛИНГ И АКТИВНОСТЬ ФАКТОРОВ ВИРУЛЕНТНОСТИ У *RHIZOBIUM LEGUMINASARUM* BV. *VICEAE* И *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *PISI*

А.М. Гончарова, Л.А. Ломоватская

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, [alvlad87@mail.ru](mailto:alvlad87@mail.ru)

**Аннотация.** Изучено влияние различных концентраций нарингенина (Nar) на титр, аденилатциклазную сигнальную систему и факторы вирулентности у *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* (*Rhl*) и *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (*Psp*). Установлено, что на рост планктонной культуры *Rhl* оказывал активирующее влияние 1 мкМ Nar. Однако, на титр *Psp* стимулирующим действием на первые сутки роста обладал 100 нМ Nar, в то время как 500 пМ Nar, напротив, приводил к ингибированию роста *Psp*.

**Ключевые слова:** нарингенин, аденилатциклазная сигнальная система, цАМФ, *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*, *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-233-235

Известно, что нарингенин (Nar) из корневых экссудатов гороха активирует у *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* (*Rhl*) *nod*-гены, необходимые для процесса образования клубеньков [Recourt et al., 1989; Tsvetkova et al., 2006]. цАМФ, вторичный мессенджер аденилатциклазной сигнальной системы (АСС), является регулятором факторов транскрипции для многих генов бактерий, тем самым индуцируя множественные механизмы, направленные как на изменение роста бактерий, так и на синтез белков *de novo* [Smith et al., 2004; Kereszt et al., 2011; Jimenez et al., 2012].

Целью нашего исследования было изучить влияние различных концентраций Nar на активность компонентов АСС (аденилатциклазы (АЦ), фосфодиэстеразы (ФДЭ), цАМФ) в планктонной культуре мутуалиста гороха *Rhl* и патогена *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (*Psp*).

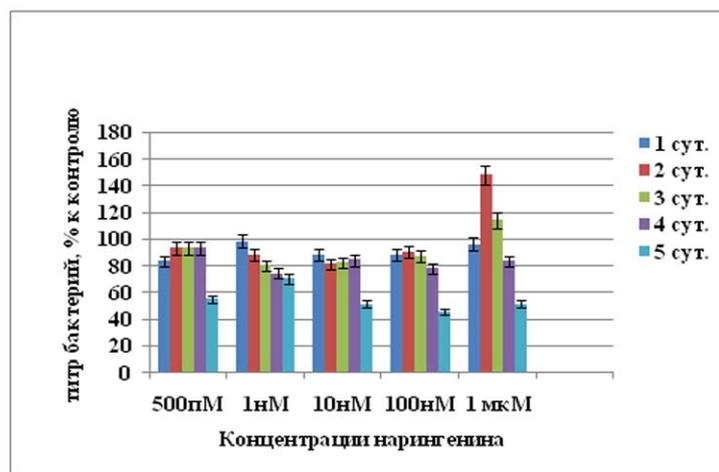
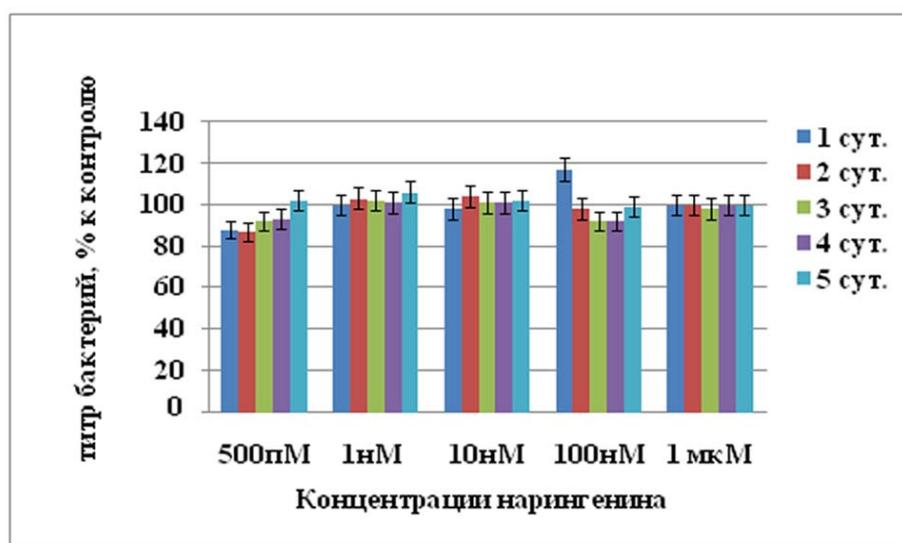


Рис. 1. Влияние различных концентраций нарингенина на рост планктонной культуры *Pseudomonas syringae* pv. *Pisi*.

Результаты показали, что Nar в концентрациях 500 пМ, 1 нМ, 10 нМ и 100 нМ практически не влиял на рост планктонной культуры *Rhl*. В то же время, 1 мкМ Nar

приводил к значительному возрастанию титра (148%) этих бактерий уже на 2 сутки роста (рис. 1).

В тоже время, рост *Psp* ингибировался при 500 пМ Nar уже с первых суток. При этом в дальнейшем наблюдалось постепенное восстановление этого показателя с достижением уровня контроля на 4-5 сутки (рис. 2). Напротив, 100 нМ Nar приводил к стимулированию роста *Psp* в первые сутки роста, но титр постепенно незначительно снижался в последующие сутки (рис. 2). Концентрации Nar 1нМ, 10 нМ и 1 мкМ не оказывали значительного влияния на рост *Psp* (рис. 2).



**Рис. 2.** Влияние различных концентраций нарингенина на рост планктонной культуры *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*.

В роли факторов вирулентности патогенных и мутуалистических бактерий могут выступать пектиназы и целлюлазы, разрушающие клеточные стенки растений. В клетках *Rhl* при действии 10 нМ и 1 мкМ Nar наблюдалось увеличение активности целлюлазы на 38%, однако не изменялась в культуральной жидкости (КЖ). Активность пектиназы под действием обеих испытуемых концентраций Nar практически не поменялась ни в клетках бактерий, ни в КЖ.

В то же время, 500 пМ и 100 нМ Nar ингибировали активность целлюлазы в клетках *Psp* на 30% и 55% соответственно, но не затрагивали работу данного фермента в КЖ. При этом активность пектиназы у *Psp* не изменялась ни в присутствии 500 пМ, ни 100 нМ Nar, как в клетках данных бактерий, так и в их КЖ.

Вероятно, различное влияние определенных концентраций Nar на *Rhl* и *Psp* связано как со специализацией бактерий, так и со способом и местом инфицирования растения.

Как известно, рост бактерий и активность факторов вирулентности зависит, в частности, от концентрации цАМФ в клетках. Поэтому изучали влияние 10 нМ и 1 мкМ Nar на концентрацию цАМФ в клетках *Rhl* и в их культуральной жидкости. Эксперименты показали, что 10 нМ Nar повышали уровень цАМФ на 54% в бактериях и на 30% в КЖ; 1 мкМ Nar увеличивал этот показатель на 70% в бактериях, и на 76% в КЖ. Поскольку концентрация цАМФ бактерий зависит от активности АЦ (трансмембранная (тАЦ) и растворимая (рАЦ)), а также от ФДЭ (аналогичные формы – тФДЭ и рФДЭ)), исследовали активность этих ферментов.

Под влиянием 10 нМ Nar активность тАЦ в бактериях *Rhl* повышалась на 50%, а в варианте с 1 мкМ Nar – на 73%. При этом, активность тФДЭ практически не изменялась, а в присутствии 1 мкМ Nar наблюдалась ее активация только на 40%. Активность рАЦ в бактериях *Rhl* при 10 нМ Nar увеличивалась на 56,5%, а в КЖ – на 92%. В то же время, 1 мкМ Nar приводил к увеличению активности рАЦ на 80% в бактериях и их КЖ. Однако 10 нМ Nar ингибировали рФДЭ на 78% в бактериях и на 43% – в КЖ. В то время как 1 мкМ Nar ингибировал рФДЭ на 80% и в бактериях, и в КЖ.

Проведенные исследования позволили сделать вывод о том, что экзогенный Nar приводит к большей активации тАЦ и рАЦ, по сравнению с аналогичными формами ФДЭ. В результате этого происходило значительное возрастание концентрации цАМФ, контролирующего важные физиологические процессы у бактерий, включая рост и активность факторов вирулентности.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-34-00295-мол\_a.*

#### Литература

Recourt K. 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 // Journal of bacteriology. – 1989. – V. 171, No. 8. – P. 4370–4377.

Tsvetkova G. Effect of naringenin and quercetin on activity of nodABC genes of strain D293 and following nodulation and nitrogen fixation response of inoculated pea plants (*Pisum sativum* L.) // Gen. Appl. Plant Physiol. special issue. – 2006. – P. 67–71.

Jimenez P.N. The multiple signaling systems regulating virulence in *Pseudomonas aeruginosa* // MMBR. – 2012. – V. 76, No. 1. – P. 46–65.

Smith R.S. An adenylate cyclase-controlled signaling network regulates *Pseudomonas aeruginosa* virulence in a mouse model of acute pneumonia // Infect. Immun. – 2004. – V. 72, No. 3. – P. 1677–1684.

Kereszt A. Innate immunity effectors and virulence factors in symbiosis // Current opinion in microbiology. – 2011. – V. 14, No. 1. – P. 76–81.

### **INFLUENCE OF DIFFERENT CONCENTRATIONS OF NARINGENIN ON THE GROWTH, SIGNALLING AND ACTIVITY OF VIRULENCE FACTORS IN *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* BV. *VICEAE* AND *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *PISI***

A.M. Goncharova, L.A. Lomovatskaya

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, [alvlad87@mail.ru](mailto:alvlad87@mail.ru)

**Abstract.** The influence of different concentrations of naringenin (Nar) on the titer, adenylate cyclase signal system and virulence factors in *Rh. leguminosarum* bv. *viciae* (*Rhl*) and *P. syringae* pv. *pisi* (*Psp*) has been studied. It was established that 1 μM Nar had the activating influence on the growth of planktonic culture *Rhl*. However, on the *Psp* titer the stimulating effect on the first day of growth was 100 нМ Nar, while 500 нМ Nar, on the contrary, led to the inhibition of *Psp* growth.

**Keywords:** naringenin, adenylate cyclase signal system, cAMP, *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*, *Pseudomonas syringae* pv. *Pisi*