

УДК 581.1633.358577.13

НОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ФАКТОРОВ ВИРУЛЕНТНОСТИ *Pectobacterium atrosepticum*

© 2025 г. Л. А. Ломоватская^{1,*}, А. М. Гончарова¹

¹Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения
Российской академии наук (СИФИБР СО РАН), Иркутск, 664033 Россия

*e-mail: LidaL@sifibr.irk.ru

Поступила в редакцию 08.07.2024 г.

После доработки 08.08.2024 г.

Принята к публикации 05.09.2024 г.

В работе проведен анализ девяти штаммов *Pectobacterium atrosepticum* (*Pca*), получены новые сведения о свойствах патогена и регуляции его основных факторов вирулентности. В экзополисахаридах (ЭПС) *Pca* были выявлены анионные группы (PO_4^{3-}), количество которых различалось у разных штаммов и, возможно, способствовало образованию более плотных биопленок. Большинство штаммов *Pca* в различной степени ингибировали рост растений картофеля *in vitro*, однако один из штаммов (426) существенно активировал рост растений устойчивого сорта картофеля Луговской. На основании совокупности симптомов заболевания (хлороз, некроз, вилт, торможение скорости роста) все штаммы *P. atrosepticum* были разделены по степени вирулентности. Кроме того, было показано, что инкубация бактерий с гомогенатом из растений картофеля *in vitro* модулировала активность пектиназы у *Pca*: гомогенат из растений устойчивого сорта картофеля Луговской ингибировал активность экзопектиназы, а из восприимчивого сорта Лукьяновский — ее активировал. При этом в наибольшей степени ингибировалась активность экзопектиназы авирулентного штамма 426. Предполагается, что это явилось причиной стимуляции роста растений устойчивого сорта картофеля *in vitro*.

Ключевые слова: растения картофеля *in vitro*, *Pectobacterium atrosepticum*, факторы вирулентности

DOI: 10.31857/S0555109925010107 EDN: DAITMM

Pectobacterium atrosepticum (*Pca*) является представителем бактериального семейства *Enterobacteriaceae* и вызывает мягкую гниль у нескольких видов растений [1]. Это серьезно угрожает продовольственной безопасности, но радикальных эффективных методов борьбы с этим патогеном пока не создано. По этой причине на исследование факторов вирулентности патогена направлено особое внимание [2]. Наиболее очевидными факторами вирулентности *Pca* признаются ферменты, гидролизующие клеточную стенку растений. К ним относятся пектиназы и целлюлазы [3]. Кроме того, свой вклад в разрушение барьеров растительных клеток вносят протеазы и различные липазы [4]. На ранних стадиях патогенеза основная роль отводится эффекторным белкам, а затем и токсинам *Pca* [5]. Однако, несмотря на накопленный мас-

сив знаний, механизмы вирулентности данных патогенов по-прежнему остаются не до конца изученными. Например, есть сведения о том, что у *Pectobacterium* найдены штаммы, вызывающие нетипичные защитные реакции у растений [2, 6]. Очевидно, что это связано с особенностями факторов вирулентности таких штаммов *Pca*. В частности, к ним можно отнести и экзополисахариды (ЭПС), представляющие собой линейные или разветвленные полимеры. По данным литературы у некоторых видов бактерий такие ЭПС содержат различные анионные группы, такие как сульфатные, фосфатные, сукцинильные, ацетильные и т.д [7]. Они выполняют разные роли, связанные с прикреплением бактерий к субстрату, стабилизацией биопленок и связыванием молекул тяжелых металлов, например, свинца, как у некоторых видов морских бактерий [8].

В связи с этим выявление и оценка факторов вирулентности новых, не охарактеризованных ранее штаммов *Pca*, выделенных на территориях сельхозугодий России, представляется весьма актуальной.

МЕТОДИКА

Объектами исследования служили 9 штаммов *P. atrosepticum*, полученных из Государственной коллекции фитопатогенных микроорганизмов и сортов растений-идентификаторов патогенных штаммов микроорганизмов Всероссийского научно-исследовательского института фитопатологии (Россия).

Следует отметить, что в Государственной коллекции отсутствует какая-либо информация о свойствах этих штаммов, за исключением места их обнаружения.

Культивирование бактерий. Бактерии культивировали в термостате при температуре 27°C в конических колбах объемом 100 мл на жидкой среде LB, pH 7.0, в стационарных условиях. Титр планктонной культуры бактерий определяли на планшетном спектрофотометре “АИФР-01 Униплан” (“ЗАО Пикон”, Россия) при длине волны 655 нм.

Мукоидность штаммов определяли визуально по состоянию колоний на твердой среде того же состава. Колонии мукоидных штаммов отличались более расплывчатыми формами с гладкой, глянцевой поверхностью, немуконидные штаммы — сухие и не блестящие.

Выявление во внеклеточном матриксе *Pca* фосфатных (PO₄) и сульфатных (SO₄) групп [9]. Суспензионную культуру *Pca* после 5 сут выращивания с титром 2×10^8 кл./мл осаждали центрифугированием (3000 g). К осадку бактерий добавляли 1 мл 1%-ного альцианового голубого в 3%-ной уксусной кислоте, pH 2.5 (для выявления фосфатных групп), или 1 мл 1%-ного альцианового голубого в 0.1 N HCl, pH 1.0 (для выявления сульфатных групп). Смесь инкубировали 30 мин при комнатной температуре, затем бактерии осаждали центрифугированием и 3 раза отмывали 2 M NaCl. К осадку добавляли 1 мл дистиллированной воды, образцы помещали в лунки планшета и измеряли на планшетном спектрофотометре “АИФР-01 Униплан” при длине волны 760 нм против суспензии неокрашенных бактерий с тем же титром. Результаты выражали в условных единицах.

Определение плотности биопленок. Биопленки готовили в чашках Петри с полиэтиленовыми дисками [10]. В чашки Петри вносили по 8 мл планктонной культуры бактерий с титром 0.3×10^8 кл./мл и культивировали на среде LB в течение 3 сут при 27°C. Затем среду удаляли, добавляли 8 мл чистой среды и продолжали культивирование в тех же условиях еще в течение 3 сут. Для определения

плотности биопленки среду удаляли, полиэтиленовые диски фиксировали 96%-ным этанолом и окрашивали 0.1%-ным кристаллическим фиолетовым в течение 15 мин. Затем диски трижды промывали дистиллированной водой, добавляли 2 мл дистиллированной воды, инкубировали в течение 2 мин и измеряли интенсивность окраски полученного раствора на спектрофотометре при 495 нм. Плотность биопленки выражали в единицах оптической плотности.

Культивирование растений картофеля *in vitro*, инфицирование *Pca*. Растения картофеля *in vitro* выращивали на агаризованной среде Мурасиге—Скуга с добавлением 15 г/л сахарозы, витаминов и гормонов [11]. 3-4-недельные растения инфицировали путем впрыскивания 100 мкл суспензии *Pca* в нижнюю часть стебля растения. Титр бактерий составлял 2×10^8 . Контролем служили растения, которым впрыскивали чистую среду для культивирования бактерий. В течение 12 сут, через каждые двое суток, измеряли длину стебля растений и отмечали симптомы заболевания. Исходя из данных о длине растений, рассчитывали их скорость роста и выражали ее в % к контролю. Скорость роста растений рассчитывали по формуле: $V = L_2 - L_1 / \text{количество дней}$, где V — скорость роста растений картофеля, см/сут, L_2 — длина растения в день измерения, L_1 — длина растения в день предыдущего измерения,

Для оценки симптомов лист условно делили на 4 части, считая каждую из них как 25% от общей площади листа. В дальнейшем суммировали каждый вид симптомов на всех листьях и представляли в % от площади всех листьев. Как правило, на каждом растении учитывалось 8–10 листьев.

Определение активности пектиназы *Pca*. Активность фермента определяли в 5-суточной суспензионной культуре *Pca* с титром 2×10^8 . Анализ проводили как в клетках бактерий, так и в культуральной жидкости. Суспензионную культуру клеток бактерий центрифугировали (3000 об./мин 5 мин), к осадку добавляли среду для гомогенизации в соотношении 1 : 3, содержащую: 50 mM *tris*-HCl, pH 7.2, 0.5 mM фенолметилсульфонилфторид, 0.05 mM парахлормеркурибензоат, 1 mM дитиотреитол, и разрушали клетки бактерий на ультразвуковом соникаторе “Branson Ultrasonic” (США) в 2 циклах по 1 мин. Активность пектиназы определяли по образованию редуцирующих сахаров [12] из 1%-ного полипектата натрия. Активность пектиназы выражали в мг/л образующихся сахаров. В отдельных экспериментах к гомогенату бактерий и к культуральной жидкости добавляли гомогенат, полученный из растений картофеля каждого сорта, культивируемых *in vitro*. Для приготовления гомогената 2 г растений картофеля длиной 6–8 см растирали в 2 мл питательной среды для бактерий, добавляли к бактериям или к культуральной

жидкости и инкубировали 3 ч при 27°C. Результат выражали в мг/мл редуцирующих сахаров.

Статистическая обработка данных. Эксперименты проводили в трех независимых биологических повторностях; каждая включала 10–12 растений. При определении титра бактерий и плотности биопленок использовали восемь аналитический повторностей. Для статистической обработки результатов использовали программу Sigma-Plot, с помощью которой вычисляли среднее арифметическое значение и среднее квадратическое отклонение. Достоверность различий между значениями вычисляли по t-критерию Стьюдента при $P \leq 0.05$. На графиках приведены средние значения и среднеквадратическое отклонение. Достоверно различающиеся значения на графиках отмечены звездочками.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выявление анионных групп (SO_4 , PO_4) во внеклеточном матриксе *Pca*. Инфекционный процесс, как правило, начинается с адгезии бактерий и формирования биопленок [13]. Для успешной реализации этого процесса требуется внеклеточный матрикс, основным компонентом которого служат ЭПС, представляющие собой линейные или разветвленные полимеры, имеющие различные группы, такие как сульфатные, фосфатные, сукцинильные, ацетильные и др. [7].

У всех исследованных штаммов *Pca* во внеклеточном матриксе (оболочке бактерий) были выявлены сульфатные (SO_4) и фосфатные группы (PO_4) (табл. 1). При этом штаммы не различались по содержанию сульфатных групп, тогда как наиболее высокий уровень PO_4 был обнаружен у штамма *Pca* 420 (табл. 1).

Кроме того, визуальная оценка бактериальных штаммов, культивируемых на твердой агаровой

и жидкой средах, также позволила разделить их по мукоидности. Колонии мукоидных штаммов отличались более расплывчатыми формами с гладкой, глянцевой поверхностью, немучкоидные штаммы — сухие и матовые. (табл. 1).

Плотность биопленок различных штаммов *Pca*. Все исследованные штаммы *Pca* образовывали биопленки, почти одинаковые по плотности, за исключением штамма 420 (табл. 1), отличающегося более высокой плотностью биопленки.

Оценка вирулентности различных штаммов *Pca*. Для более полной оценки вирулентности исследуемых штаммов *Pca* был проведен модельный эксперимент на растениях картофеля *in vitro* двух сортов, Луговской и Лукьяновский. Первые симптомы заболевания у растений появлялись на 3–4 день после инфицирования. К 12 дню коинкубации с *Pca* были хорошо заметны различия в реакции растений обоих сортов на заражение (табл. 2). Прежде всего, это касалось изменения скорости роста: у растений сорта Лукьяновский скорость роста снижалась на 60–90% под воздействием различных штаммов *Pca*, в то же время у сорта Луговской торможение роста колебалось от 30 до 50% от контроля в зависимости от штамма, кроме штамма 426, который вызывал стимуляцию роста растений (рис. 2). Наряду с этим у растений, преимущественно сорта Лукьяновский, наблюдались хлорозы, а также частичные некрозы и вилт листьев (табл. 2).

Активность пектиназ различных штаммов *Pca*. Количественный тест на активность пектиназы практически не выявил различий между штаммами *Pca*. Однако добавление к инкубационной среде кроме субстрата (пектин) гомогената из стеблей растений картофеля оказывало различное влияние на активность внеклеточной пектиназы *Pca*. В дальнейшем для более подробного анализа

Таблица 1. Мукоидность, содержание SO_4 и PO_4 групп, а также плотность биопленок различных штаммов *P. atrosepticum*

Свойство штамма	Штаммы <i>P. atrosepticum</i> *								
	22	444	420	426	21	486	484	474	492
Мукоидность	Нм	М	М	Нм	Нм	Нм	Нм	М	М
Содержание SO_4^{2-} групп, усл. ед.	0.07 ± ± 0.005	0.05 ± ± 0.004	0.05 ± ± 0.004	0.07 ± ± 0.005	0.06 ± ± 0.004	0.06 ± ± 0.004	0.07 ± ± 0.005	0.06 ± ± 0.004	0.07 ± ± 0.005
Содержание PO_4^{3-} групп, усл. ед.	0.93 ± ± 0.06	0.72 ± ± 0.08	1.6 ± ± 0.12	0.73 ± ± 0.05	0.95 ± ± 0.08	0.72 ± ± 0.08	0.6 ± ± 0.08	0.7 ± ± 0.08	0.6 ± ± 0.08
Плотность биопленок, усл. ед.	0.18 ± ± 0.01	0.14 ± ± 0.01	0.27 ± ± 0.02	0.2 ± ± 0.01	0.2 ± ± 0.01	0.19 ± ± 0.01	0.2 ± ± 0.01	0.17 ± ± 0.01	0.18 ± ± 0.01

* М — мукоидный штамм; Нм — немучкоидный штамм.

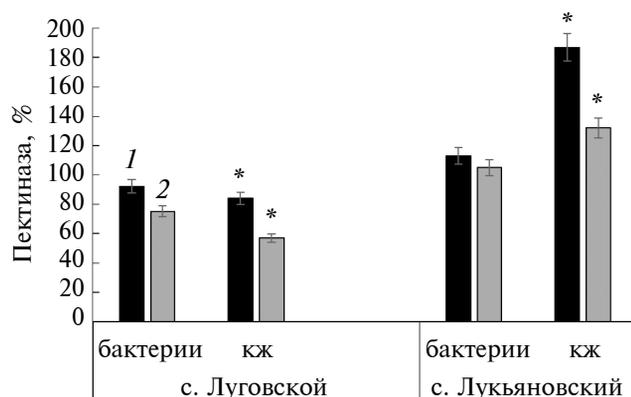


Рис. 1. Влияние гомогената из растений картофеля *in vitro* на активность пектиназы (% к контролю) *P. atrosepticum* штаммов 22 (I) и 426 (II).

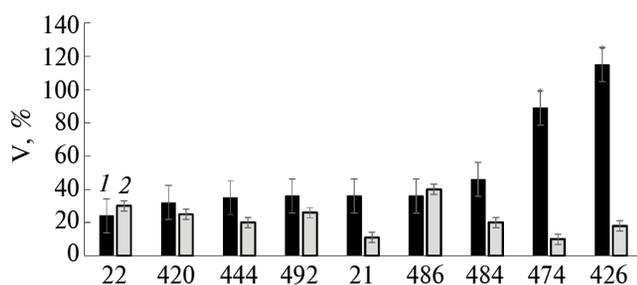


Рис. 2. Влияние инокуляции различными штаммами *P. atrosepticum* на среднюю скорость роста (V, % к контролю) растений картофеля сортов Луговской (I) и Лукьяновский (II) *in vitro*.

были выбраны штамм 22, по совокупности свойств признанный наиболее вирулентным и штамм 426, стимулирующий рост растений картофеля *in vitro* сорта Луговской (табл. 2). Исследования показали, что инкубация с гомогенатом из растений сорта Луговской снижала активность пектиназы, особенно в культуральной жидкости бактерий, но не в клетках бактерий, в то время как гомогенат из растений сорта Лукьяновский стимулировал активность пектиназы обоих штаммов, и в большей степени также в культуральной жидкости. Во

всех случаях более высокую активность проявлял штамм 22 (рис. 1).

Несмотря на то, что жизненный цикл и патогенез пектобактерий изучается давно [13, 14], остается много “белых пятен”, касающихся их факторов вирулентности и патогенности. Так, в имеющихся немногочисленных работах сделан анализ только углеводного состава экзополисахаридов *Pca* [7, 15]. Поэтому наши дальнейшие исследования были направлены на выявление в составе экзометаболических *Pca* модифицирующих анионных групп — сульфатов и фосфатов. Было показано, что исследуемые штаммы *Pca* содержали очень незначительное количество сульфатных групп и в большем количестве фосфатные группы, по содержанию которых штаммы заметно различались. Такие анионные группы, обладая отрицательным зарядом, способствуют прикреплению бактерий к различным растительным структурам, а также образованию более плотных биопленок [16]. Подтверждением этому может служить штамм 420, который содержал наибольшее количество фосфатных групп и образовывал наиболее плотную биопленку. Как известно, биопленки являются предпочтительной формой жизни патогенных бактерий [17]. Такой способ существования обеспечивает бактериям повышенную защиту от неблагоприятных условий внешней среды и позволяет максимально проявлять активность факторов вирулентности [17]. Кроме того, возможно, что фосфатные группы в составе ЭПС *Pca* необходимы для стабилизации структуры эмбол, образуемых бактериями и состоящих из рамногалактуронана клеток ксилемы растений и ЭПС пектобактерий [16]. До настоящего времени группы SO_4^- и PO_4^- в составе ЭПС были выявлены только у морских бактерий [8], но не у фитопатогенов. При этом в работе не обнаружена взаимосвязь между степенью мукоидности и плотностью образуемых данными штаммами биопленок.

Для *Pca* картофель является растением-хозяином, поэтому для исследования их факторов вирулентности, как правило, используются растения

Таблица 2. Симптомы заболевания у растений картофеля *in vitro*, индуцированные различными штаммами *Pca*

Показатель	Штамм <i>Pca</i>								
	22	444	420	492	21	486	474	486	426
Сорт картофеля	Луговской/Лукьяновский								
Хлороз, %	-/100	-/70	-/25	-/25	10/70	-/25	-/5	-/25	5/25
Некроз, %	-/-	-/30	-/5	-/10	-/25	-/-	-/5	-/-	-/-
Вилт листьев, %	-/100	-/70	-/50	-/100	-/100	-/10	-/10	-/10	-/30
Балл вирулентности*	1	2	3	4	5	6	7	8	9

* Баллы присваивались по совокупности симптомов с учетом скорости роста растений картофеля (рис. 1).

картофеля *in vitro*. Ранее было показано, что сорта картофеля Луговской и Лукьяновский отличаются по устойчивости к грамположительному биотрофному патогену, возбудителю кольцевой гнили картофеля, *Clavibacter michiganensis* sp. *sepedonicus* [18]. Инфицирование растений тех же сортов различными штаммами пектобактерий показало, что по совокупности симптомов сорт Луговской является устойчивым к пектобактериям, а Лукьяновский восприимчивым. На это, в том числе, указывают некрозы, появившиеся на листьях растений этого сорта, несмотря на то, что инокулюм вносили в нижнюю часть стебля. С одной стороны, это свидетельствует о развитии системного защитного ответа в рамках эффектор-индуцируемого иммунитета (effector-triggered immunity, ETI) и реакции сверхчувствительности (СВЧ) [5]. Однако есть мнение, что СВЧ, вызываемая некротрофами, не следует рассматривать как защиту, поскольку эти патогены извлекают пользу из некротизированных тканей растений [5]. Считается, что в ходе СВЧ у растений происходит сильная окислительная вспышка, которая способствует уничтожению патогена. Однако многие патогены, в том числе, *Pca*, обладают своей антиоксидантной ферментной системой и успешно противостоят такой защите растений [19]. Считается, что эффекторный белок, субстраты III системы секреции, провоцирующие образование некрозов, у некротрофных бактерий не играют значительной роли в патогенезе [5]. Подтверждением этому может служить штамм 22, который не индуцировал у растений картофеля некрозы, но по совокупности других симптомов был признан самым вирулентным (табл. 1). Инфицирование приводило к существенному изменению скорости роста растений картофеля (рис. 2). Большинство штаммов *Pca* в различной степени угнетали рост растений картофеля обоих сортов, и в большей степени растений сорта Лукьяновский. Только штамм 426 стимулировал рост растений устойчивого сорта Луговской, что было неожиданным. Известно, что заболевание “черная ножка” влияет, в том числе, на гормональный статус растений, вызывая репрессию гормональных систем, ответственных за рост и развитие растений [20]. Одной из причин этого может быть коронафациевая кислота, являющаяся функциональным аналогом жасмоновой кислоты и синтезируемая пектобактериями. Такая перестройка гормонального статуса приводит к искажению фитоиммунных ответов и подавлению салицилат-опосредуемых ответных реакций, ответственных за развитие устойчивости. Стимулирующий рост эффект при инфицировании одним из штаммов *Pca* представляется весьма необычным. Объяснить это отсутствием у растений рецепторов к метилжасмонату, вероятно, не получится, поскольку другие штаммы такого эффекта не вызывали. Одной из возможных причин этого явления может быть изменение активности гидро-

литических ферментов пектобактерий под воздействием растительных гомогенатов.

Гидролитические ферменты пектобактерий считаются наиболее очевидными факторами вирулентности и изучены весьма подробно [20]. Однако регуляция активности этих ферментов на стадии активного патогенеза до сих пор остается не до конца понятой. В литературе есть сведения о том, что растительные экстракты повышают активность секретируемых в среду роста экзопектиназ пектобактерий [21]. Наиболее изученными растительными индукторами являются производные пектина. Один из промежуточных продуктов таких производных — 2-кето-3-дезоксиглюконат (КДГ) — проявляет сродство к белку KdgR, репрессору транскрипции многих генов, включая те, которые кодируют пектиназы и ферменты метаболизма производных пектина. Взаимодействие КДГ и KdgR снимает репрессию с генов-мишеней и приводит к усилению их экспрессии [22]. Наряду с этим, как предполагается, существуют и другие растительные молекулы-активаторы экзопектиназ, поскольку экстракты растений активируют ферменты и в среде для роста, то есть на пост-транскрипционном уровне [21]. Пока поиски таких молекул не увенчались успехом, хотя есть сведения, что они могут принадлежать к различным классам фенольных соединений и представлять собой небольшие термостабильные молекулы весом менее 1 кДа [21]. В тоже время есть сведения о том, что метаболиты дикого картофеля *Solanum chacoense* ингибируют активность пектиназ и протеаз *Pectobacterium brasiliense* через подавление кворум-сенсинга [23, 24], то есть можно говорить об ингибировании на уровне генов. Это вполне возможно, поскольку дикий картофель *a priori* обладает наиболее высокой степенью устойчивости, которая обеспечивается, в том числе и разнообразными метаболитами [24]. Настоящие исследования показали, что активация экзопектиназы *Pca* происходит только под влиянием гомогената из растений восприимчивого сорта, тогда как аналогичный препарат из растений устойчивого сорта ингибирует ее активность. Ранее в литературе такой феномен не описывался; его обнаружение в дальнейшем, возможно, поможет в расшифровке механизма модуляции активности гидролитических ферментов пектобактерий. Кроме того, выявленная закономерность в регуляции экзопектиназ приводит к пониманию того, как пектобактерии могут влиять на удлинение стебля инфицированных растений. Высвобождение олигогалактуронидов, компонентов клеточной стенки растений, может иметь значение не только для элиситации защитных ответов растений, но эти метаболиты способны также ингибировать ауксин-индуцированное удлинение стебля [25], которое осуществляется за счет блокирования промоторов генов, регулируемых ауксином [25]. Возможно, этим

можно объяснить нетипичное удлинение стеблей растений картофеля *in vitro* устойчивого сорта Луговской при культивировании с авирулентным штаммом 426. Поскольку экзопектиназы этого штамма ингибировались в наибольшей степени метаболитами растений устойчивого сорта, можно предположить, что образование олигогалактуронидов низкой молекулярной массы было снижено и ингибирование ауксинзависимого роста растений снималось. Следует отметить, что частичное ингибирование активности экзопектиназ самого вирулентного штамма 22 не приводило к активации роста растений. Такое явление не типично для патогенеза “черной ножки” и ранее в литературе не описывалось. Можно полагать, что между активностью экзопектиназ *Pca* и эффектом ауксин-индуцированного роста растений картофеля существует обратная связь, которая, зависит как от степени вирулентности штамма, так и от устойчивости сорта картофеля.

Проведенный анализ девяти штаммов *P. atrosepticum* позволил получить новую информацию об их свойствах и регуляции факторов вирулентности. В ЭПС *Pca* выявлены анионные группы (PO_4^{3-}), различающиеся по количеству у разных штаммов и, возможно, способствующие образованию более плотных биопленок. Наряду с тем, что большинство штаммов *Pca* ингибировали рост растений картофеля *in vitro*, один из них (426) существенно активировал этот показатель у растений устойчивого сорта. Этот феномен, скорее всего, связан с ингибированием активности экзопектиназ *Pca* метаболитами растений устойчивого сорта картофеля и степени вирулентности штамма.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена по проекту Госзадания №0277-2025-0002; Рег.№ НИОКТР – 125021902466-4. Проведение работы не поддерживалось внешними источниками финансирования и грантами.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Arif M., Czajkowski R., Chapman T.A. // Front. Plant Sci. 2022. V. 13. P. 1–4.
2. Sledz M., Pomagruk A.M., Zukowska D., Wensierska W.B., Zoledowska S., Sledz E.L. // Eur. J. Plant Pathol 2023. V. 167. P. 99–121. <https://doi.org/10.1007/s10658-023-02687-y>

3. Murata H., Chatterjef A., Liu Y., Chatterjef A.K. // Appl. Environ. Microbiol 1994. V. 60. № 9. P. 3150–3159.
4. Николайчик Е.А., Лагоненко А.Л., Валентович Л.Н., Лешкович И.И., Овчинникова Т.В., Присяжненко О.К. и др. // Вестник БГУ. 2006. Сер. 2. № 3. С. 32–37.
5. Николайчик Е.А. // Труды БГУ. 2012. Т. 7. С. 43–55.
6. Дюбо Ю.В., Николайчик Е.А. // Молекулярная и прикладная генетика. 2018. Т. 24. С. 37–43.
7. Gorshkov V., Islamov B., Mikshina P., Petrova O., Burygin G., Sigida E. et al. // Glycobiology. 2017. V. 27. № 11. P. 1016–1026. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwx069>
8. Zheng C., Wu W., Wu G., Wang P. // Marine Drugs. 2022. V. 20. P. 512. <https://doi.org/10.3390/md20080512>.
9. Лунна Х. Основы гистохимии. М.: Мир, 1980. 343 с.
10. Ломоватская Л.А., Макарова Л.Е., Кузакова О.В., Романенко А.С., Гончарова А.М. // Прикл. биохимия и микробиология. 2016. Т. 52. № 3. С. 306–311. <https://doi.org/10.7868/s0555109916030107>
11. Murashige T., Skoog F. // Physiol. Plant. 1962. V. 15. P. 473–497.
12. Вешняков В.А., Хабаров Ю.Г., Камакина Н.Д. // Химия растительного сырья. 2008. № 4. С. 47–50.
13. Серегина Н.В., Честнова Т.В., Жеребцова В.А., Хромушин В.А. // Вестник новых медицинских технологий. 2008. Т. 15. № 3. С. 175–177.
14. Николайчик Е.А., Овчинникова Т.В., Валентович Л.Н., Губич О.И., Шолух М.В., Евтушенко А.Н. // Доклады Национальной академии наук Беларуси. 2005. Т. 45. № 5. С. 81–85.
15. Tsers I., Parfirova O., Moruzhenkova V., Petrova O., Gogoleva N., Vorob'ev V. et al. // Int. J. Mol. Sci. 2023. V. 24. P. 1–18. <https://doi.org/10.3390/ijms241713283>
16. Islamov B., Petrova O., Mikshina P., Kadyirov A., Vorob'ev V., Gogolev Y., Gorshkov V. // Int. J. Mol. Sci. 2021. V. 22. P. 1–16. <https://doi.org/10.3390/ijms222312781>
17. Karatan E., Watnick P. // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2009. V. 73. № 2. P. 310–347. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00041-0810.1128/MMBR.00041-08>
18. Ломоватская Л.А., Романенко А.С., Криволапова Н.В., Копытчук В.Н., Салаяев Р.К. // Доклады Академии Наук. 2007. Т. 413. №. 3. С. 420–423.
19. Indrayati A., Yurina V., Pitaya L.A., Retnoningrum D.S. // MicrobiologyIndonesia. 2011. V. 5. № 2. P. 88–93. <https://doi.org/10.5454/mi.5.2.6>
20. Gorshkov V.Y., Daminova A.G., Mikshina P.V., Petrova O.E., Ageeva M.V., Salnikov V.V. et al. // Plant Biol. 2016. V. 4. P. 609–617. <https://doi.org/10.1111/plb.12448>
21. Mallick T., Mishra R., Mohanty S., Joshi R.K. // Plant Pathol. J. 2022. V. 38. № 2. P. 102–114. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.12.2021.0190>

22. Davidsson P.R., Kariola T., Niemi O., Palva E.T. // Front. Plant Sci. 2013. V. 4. Article 191. P. 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00191>
23. Agyemang P.A., Kabir Md.N., Kersey C.M., Dumenyo C.K. // Horticulturae. 2020. V. 6. P. 13. <https://doi.org/10.3390/horticulturae6010013>
24. Joshi J.R., Paudel D., Eddy E., Charkowski A.O., Heuberger A.L. // Front. Plant Sci. 2024. V. 15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1336513>
25. Joshi J.R., Yao I., Charkowski A.O., Heuberger A.L. // Mol. Plant-Microbe Interactions. 2021. V. 34. № 1. P. 100–109. <https://doi.org/10.1094/MPMI-08-20-0224-R>

New Features of *Pectobacterium atrosepticum* Virulence Factors

L. A. Lomovatskaya^{a,*} and A. M. Goncharova^a

^aSiberian Institute of Plant Physiology, Biochemistry Siberian Branch of the Russian Academy of Science, Irkutsk, 664033 Russia

*e-mail: LidaL@sifibr.irk.ru

The work analyzed nine strains of *Pectobacterium atrosepticum* (*Pca*) and obtained new information about the properties of the pathogen and the regulation of its main virulence factors. Anionic groups (PO_3^-) were identified in exopolysaccharides (EPS) of *Pca*, which differ in quantity among different strains and may contribute to the formation of denser biofilms. Most *Pca* strains inhibited the growth of potato plants *in vitro* to varying degrees, but one of them (strain 426) significantly activated this indicator in plants of the resistant potato variety Lugovskoy. Based on the totality of symptoms of the disease (chlorosis, necrosis, wilt, inhibition of growth rate), all strains of *P. atrosepticum* were divided according to the degree of virulence. In addition, it was shown that incubation of bacteria with a homogenate from potato plants *in vitro* modulated the activity of pectinase *Pca*: a homogenate from plants of the resistant potato variety Lugovskoy inhibited the activity of exopectinase, and from the susceptible variety Lugovskoy activated it. At the same time, the exopectinase activity of the avirulent strain 426 was inhibited to the greatest extent. It is assumed that this was the reason for stimulating the growth of potato plants *in vitro* of a resistant variety.

Keywords: potato plants *in vitro*, *Pectobacterium atrosepticum*, virulence factors, exopectinase