

REVIEW

## **Cytokinin and Auxin Participation in Nodulation Process Regulation in Legumes**

A.K. Glyan'ko, A.A. Ischenko

*Federal State Budgetary Institution of Science Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, 664033, Irkutsk, Lermontov str., 132. Russia*

\*E-Mail: [akglyanko@sifibr.irk.ru](mailto:akglyanko@sifibr.irk.ru)

Received April 28, 2015

Received in revised form May 6, 2015

The article summarizes the data on physiological role of phytohormones – cytokinin and auxin - in initiation of root cortical cells division resulting in formation of root nodule primordium and its further organogenesis. High level of cytokinin and low level of auxin have been proven to be a prerequisite for this process. The mechanism providing the increase in cytokinin : auxin ratio is linked to inhibiting auxin transport from aerial organs to the root with the involvement of cytokinin signaling. Decrease in cytokinin : auxin ratio at the background of inhibiting cytokinin signaling initiates formation of lateral roots. Alternative role of rhizobial Nod-factor, cytokinin and flavonoids in root nodule organogenesis is discussed. Schemes of reactions and compounds participating in initiating of nodule primordium and lateral roots formation are presented.

*Key words: rhizobia, legume-rhizobial symbiosis, nodulation, phytohormones, auxin, cytokinin, Nod- factor, root nodule organogenesis, lateral roots, flavonoids*

Фитогормоны (ауксины, цитокинины, гиббереллины, брассиностероиды, абсцизовая кислота, этилен, жасмоновая кислота и ряд других), играют определяющую роль в процессах жизнедеятельности растений, оказывая многостороннее влияние на рост и развитие растений (Kulaeva, 1973; Kefeli, 1974; Polevoy, 1982; Gamburg et al., 1990). Из них наибольшее внимание в научном и практическом аспекте уделяется ауксином и цитокинином. Соединения, обладающие ауксиновой активностью, стимулируют растяжение клеток. Цитокинины оказывают влияние на деление клеток.

В настоящее время известно 6 групп соединений, обладающих ауксиновой активностью. Среди них наиболее изученными являются природный ауксин - индолил-3-уксусная кислота (ИУК) и синтетические ауксины – индолилмасляная, нафтилуксусная и 2,4-дихлорфеноксиксусная (2,4-Д) кислоты. Ауксины синтезируемые в тканях апекса надземных органов транспортируются по флоеме активно и полярно в апекс корня. Их действие связано с растяжением и размножением меристематических клеток, а также с явлением апикального доминирования, в результате которого верхушечная почка доминирует в росте, а рост боковых почек ингибируется.

Цитокинины обнаружены в клетках различных организмов. За способность индуцировать деление клеток растений (цитокinesis) эти природные и искусственно синтезированные соединения

получили название цитокининов. В настоящее время известно около 200 таких соединений как природного, так и синтетического происхождения. Наиболее известные из них: 6-фурфуриламинопурин (кинетин), зеатин, 6-бензиламинопурин (БАП). Цитокинины синтезируются в апексе корня и транспортируются в корне по ксилеме неполярно и пассивно снизу вверх. Они снимают ауксиновое апикальное доминирование, вызывая развитие стеблевых почек и ветвление побегов.

Цитокинины в комбинации с ауксином осуществляют переход клеточного деления к дифференцировке. Обнаружен антагонистический эффект действия ауксина и цитокинина на рост и органогенез в культуре тканей растений (Skoog, Miller, 1957). Этот антагонизм проявляется и при апикальном доминировании. В течение инициации и поддержания корневой апикальной меристемы цитокинины и ауксины функционируют как антагонисты, действуя в различных зонах меристемы (Moubayidin *et al.*, 2009). Так, ауксин накапливается в кончике корня апикальной меристемы и поддерживает деление клеток, в то время как цитокинин действует между проксимальной меристемой и зоной растяжения и связан с переходом клеток от деления к дифференцировке (Moubayidin *et al.*, 2009). Однако не исключено, что в других случаях эти гормоны могут действовать синергически, усиливая эффект каждого из них при определенной концентрации и соотношении.

Цитокинины являются сигнальными молекулами, инициирующие экспрессию соответствующих генов. У арабидопсиса цитокининовый сигналинг представлен двумя компонентами – рецептором гистидинкиназой (например, MtCRE1) и ответным генным регулятором ARR (cytokinin-responsive Arabidopsis response regulator) (Ferreira, Kieber, 2005). Цитокинины подавляют формирование латеральных корней, но индуцируют морфогенез корневого клубенька и образование галлов при действии нематод (Lohar *et al.*, 2004). Найдено, что размер корневой апикальной меристемы увеличивается у тройного мутанта арабидопсиса по ферментам синтеза цитокининов (изопентенилтрансферазы) (Ioio *et al.*, 2007). Эти растения (мутанты) показывают одновременно и уменьшение скорости дифференциации меристематических клеток, что свидетельствует о регуляции цитокинином этого процесса путем ограничения зоны корневой меристемы.

Таким образом, цитокинины регулируют рост и обеспечивают образование новых структур и их форму. Появление примордиев – зачатков органов, как и в случае морфогенеза корневого клубенька, происходит под влиянием цитокининов. Трансгенные растения с суперэкспрессией гена цитокиноксидаза/дегидрогеназа имели наименьшее содержание цитокинина и образовывали различные фенотипы: с увеличенной корневой меристемой, ростом боковых корней на границе проксимальной и апикальной меристемы, увеличенным ветвлением корней и формированием

придаточных корней (Werner *et al.*, 2003). Клеточный цикл находится под влиянием обоих гормонов и относительное значение каждого из них и степень их взаимодействия – важные вопросы для исследователей.

На основании анализа литературных данных можно заключить об участии ауксинов и цитокининов в процессах формирования бобово-ризобияльного симбиоза (БРС). Этот факт впервые был установлен в 1936 г. (Thimann, 1936). Широкие исследования в этой области были проведены в 90-годах 20-века (Hirsch, 1992; Hirsch, Fang, 1994; Hirsch *et al.*, 1997; Cooper, Long, 1994 и др.), которые показали участие цитокинина и ауксина в инициации образования клубенька. Функциональная значимость фитогормонов в этом процессе различная (Oldroyd, Downie, 2008). Если ауксины, цитокинины, а также гиббереллины и brassinosteroids, относятся к положительным регуляторам БРС, то другие – абсцизовая, жасмоновая, салициловая кислоты и этилен – негативные регуляторы симбиоза. Многочисленными исследованиями доказано участие ауксинов, цитокининов, гиббереллинов (ГБ) и brassinosteroids (БС) в инициации морфогенеза корневых клубеньков, а их уровень и соотношение являются ключевыми факторами в формировании клубеньков (Ferguson *et al.*, 2005; Oldroyd, Downie, 2008).

#### **Влияние ауксина и цитокинина на морфогенез корневых клубеньков**

В настоящем кратком обзоре основное внимание будет уделено физиологическим

аспектам действия цитокининов и ауксинов на процессы нодуляции (клубенькообразования) при формировании БРС, как наиболее изученной области проблемы мутуалистического симбиоза (Oldroyd *et al.*, 2011; Murray, 2011). Одновременно будет рассмотрен вопрос о морфогенезе латеральных корней. Следует отметить, что результат действия фитогормонов зависит от их комбинаций и специфической роли каждого из них. Взаимодействие гормонов происходит на метаболическом уровне через их действие на определенный процесс или на уровне сигналинга (Ferreira, Kieber, 2005).

Отношение ауксин : цитокинин является важным для регуляции многих процессов роста и развития, включая регенерацию органа из культуры тканей (Skoog, Miller, 1957). Отличительной чертой цитокининов, в отличие от других гормонов, является экспрессия ими синтеза так называемых ранних белков – нодулинов, характерных для раннего этапа БРС: ENOD2, ENOD12, ENOD40 и др. (Bauer *et al.*, 1996). Причем экспрессия генов-нодулинов под влиянием цитокининов происходит раньше, чем инициация образования примордия корневого клубенька (Hirsch, Fang, 1994). Вопрос принимают ли участие ранние белки-нодулины в органогенезе клубенька остается открытым. Есть мнение, что ранние нодулины могут быть индикаторами статуса эндогенного цитокинина в симбиотических тканях (Hirsch *et al.*, 1997) и могут принимать участие (ENOD40) в регуляции деления клеток кортекса (Mathesius *et al.*, 2000). Установлен факт, что под

влиянием ризобий повышается содержание цитокининов и происходит экспрессия генов ENOD-белков. Это говорит о влиянии ризобий на синтез цитокининов и последующей экспрессии генов *ENOD* под влиянием цитокининов.

Ингибиторы транспорта ауксина известны как индукторы образования псевдоклубеньков и экспрессии *ENOD40* – гена ассоциированного с инициацией образования примордия клубенька (Fang, Hirsch, 1998; Mathesius *et al.*, 2000). Кроме того, *транс*-зеатин (цитокинин) способен активизировать нодуляцию у бобовых в опытах с ризобиями, мутантными по синтезу Nod-факторов (Cooper, Long, 1994). Таким образом, модуляция уровней ауксина и цитокинина – важный ключевой этап в формировании корневого клубенька. Важная роль цитокинина в нодуляции подтверждается генетическими исследованиями. Так, мутанты *Lotus japonicus* по самопроизвольной нодуляции несут мутацию по гистидинкиназе (LHK1) – рецептору цитокинина (Tirichine *et al.*, 2007). Кроме того, потеря у мутанта люцерны функции *CRE1* (ортолога *LHK1*) уменьшает в сильной степени образование клубеньков (Gonzalez-Rizzo *et al.*, 2006). *Lhk1*-мутанты теряют способность образовывать примордии клубеньков, но не оказывают влияния на инфицирование корня ризобиями (Murray *et al.*, 2007). Однако при этом показано влияние мутации на рост инфекционных нитей, которые создают сложные инфекционные структуры. Делается вывод, что формирование примордия клубенька не связано с проникновением (инфекцией) ризобий в ткани

корня через эпидермис. В то же время экзогенный цитокинин индуцирует экспрессию генов, которые в норме ассоциированы с формированием примордия клубенька (Fang, Hirsh, 1998; Mathesius *et al.*, 2003). Мутации по гену *LHK1* указывают на центральную роль цитокининов в органогенезе клубенька в кортексе и одновременно свидетельствуют об отсутствии их влияния на ризобиальную инфекцию в эпидермисе.

#### **Влияние фенольных соединений (флавоноидов) на органогенез клубенька**

Известно, что флавоноиды бобовых вызывают экспрессию ризобиальных *nod*-генов, ведущих к синтезу бактериальных хитоолигосахаридных Nod-факторов, которые инициируют ответные реакции у растения-хозяина на внедрение ризобий (Mulligan, Long, 1989). Но на этом функции флавоноидов при формировании клубенька не заканчиваются: имеется достаточное количество литературных данных, указывающих на регуляцию (модуляцию) локального уровня ауксина в тканях корня, связанного с ингибированием флавоноидами белков - транспортеров ауксина (PINs и PGP) (Zhang *et al.*, 2009) и участием этих соединений и пероксидазы в распаде ауксина (ИУК) (Mathesius *et al.*, 2001). PINs (PIN-formed auxin) – белки-транспортеры ауксина (семейство TC 2.A.69). Другое семейство белков-транспортеров ауксина PGP (phosphoglycoproteins) (TC 3.A.1), интегрированно в плазматическую мембрану. Предполагается, что флавоноиды модулируют транспорт ауксина путем

изменения фосфорилирования белков - киназ и фосфолипидов (DeLong *et al.*, 2002).

Одним из возможных механизмов при ризобиальной инфекции по индуцированию гормональных изменений в кортексе является локализация синтеза флавоноидов, которые могут ингибировать транспорт ауксина и таким образом изменять поток ауксина в корне (Mathesius, 2001). С 1988 года известно (Jacobs, Rubery, 1988), что флавоноидные соединения (кварцетин, апигенин, кемферол и др.) могут блокировать полярный транспорт ауксина у растений, замещая функцию природного ингибитора транспорта ауксина NPA (1-naphthylphthalamic acid). Это позволяет в настоящее время рассматривать эндогенные растительные флавоноиды как природные регуляторы потока ауксина в клетках и полярного транспорта ауксина (Peer, Murphy, 2007; Adamowski, Friml, 2015). Ризобии через индукцию синтеза флавоноидов, могут также оказывать влияние на баланс цитокинины : ауксины в корневом кортексе. Главный источник цитокинина – меристематическая верхушка корня, в то время как источник ауксина - меристематическая верхушка стебля, и их потоки в корне - противоположные по направлению (Sakakibara, 2005; Leyser, 2006). Мутация по ферменту биосинтеза флавоноидов – халконсинтазе, ведет к ингибированию инициации образования примордия клубенька, что связывается с регуляцией флавоноидами потока ауксина в корне (Wasson *et al.*, 2006). Флавоноиды скорее всего следует рассматривать как модуляторы

транспортных процессов ауксина, чем как регуляторы (Peer, Murphy, 2007).

### **Механизмы влияния гормонов на органогенез клубенька и латеральных корней**

Рассмотрим схему образования латеральных (боковых) корней и морфогенез клубенька на основе представлений о регуляции этих процессов цитокинином и ауксином. Инициация латеральных корней происходит в зоне дифференциации клеток на фоне высокого содержания ауксина в покоем центре ствольных клеток (stem cells). Цитокининовый сигналинг, связанный с ингибированием транспортеров ауксина – PINs, PGPс, блокируется, что создает условия для транспорта ауксина в меристематическую верхушку корня и накопления ауксина в местах образования латеральных корней.

В случае ризобияльной инфекции основную роль играет Nod-фактор, активируемый растительными рецептор-подобными киназами. Установлено, что механизмы инициации органогенеза корневого клубенька основаны на регуляции потоков цитокинина и ауксина, в которых решающую роль принадлежит ризобияльным Nod-факторам (NF). Они представляют липохитоолигосахариды, которые взаимодействуют на плазмалемме эпидермальных клеток с растительными рецепторами (рецептор-подобными киназами, LysM-RLK, LRR-RLK) и иницируют активность сигнальных систем растения-хозяина (Глянко, 2015). Считается, что NF являются первоначальным триггером запуска физиологических, биохимических, генетических и

других процессов, изменяющим направленность метаболизма растения-хозяина и ведущих к созданию симбиотрофного организма (Ferguson *et al.*, 2010).

NF, локализованный на поверхности клеток эпидермиса, индуцирует транскрипционный фактор NIN (nodule inception) и запускает через активацию рецептора (гистидинкиназы) CRE1 - цитокининовый сигналинг. В результате блокируется транспорт ауксина через ингибирование транспортных белков (PINs, PGPс, NPA или флавоноидов) и ведет к накоплению цитокинина, инициирующего морфогенез клубенька. Схематически это можно представить следующим образом (схема 1).

**1. Ризобии (Rhizobia) → Nod-фактор (NF) → Рецепторные киназы (LysM-RLK / LRR-RLK) → Кальциевые осцилляции (Ca<sup>2+</sup>-spiking) → Кальций и кальмодулинзависимая киназа (CCaMK) → Транскрипционный белок (NIN) → Рецептор цитокинина (CRE1, LHK1) → Цитокининовый сигналинг (Cytokinin signaling) → Транскрипционные факторы (белки) нодуляционного сигнального пути 1 и 2 (NSP1/2) → Ингибирование полярного транспорта ауксина (Inhibition polar auxin transport —| PINs) → Высокая концентрация цитокинина/низкая концентрация ауксина (High cytokinin/Low auxin) → Деление кортикальных клеток, органогенез клубенька (Cortical cells division, organogenesis nodule).**

Инициация образования боковых (латеральных) и придаточных корней, связана с ингибированием цитокининового сигналинга путем

индукции супрессоров этого процесса *RR7* и *RR15* (Response Regulator genes) (схема 2). При этом ингибируется супрессор транспортера ауксина PIN, что ведет к уменьшению содержания цитокинина и увеличению ауксина, локализованного в местах появления латеральных корней (ткани перидикла). Потеря функции *RR7* и *RR15* ведет к нарушению раннего эмбриогенеза в корневой «stem-cells» системе (Muller, Sheen, 2008).

## 2. Ответные регуляторные гены (*RR7*, *RR15*)

→ Цитокининовый сигналинг (Cytokinin signaling — PINs) → Высокая концентрация ауксина/низкая концентрация цитокинина (High auxin/Low cytokinin) → Морфогенез латеральных корней (Morphogenesis lateral roots).

Возникает вопрос о происхождении цитокинина в клетках симбиотрофного организма – растительного или бактериального (ризобияльного). Считают, что это растительный цитокинин, хотя установлена способность фотосинтетических видов *Bradyrhizobium*, не продуцирующих Nod-фактор, непосредственно влиять на гормональный уровень. Предполагается, что эта бактерия может индуцировать нодуляцию путем снабжения растения интермедиатами для синтеза цитокинина. Бобовое растение *Aeschynomene sensitive*, инокулированное мутантами *Bradyrhizobium*, неспособные к синтезу Nod-фактора, не теряет способности к образованию корневых клубеньков (Giraud *et al.*, 2007). Эти генетические модели говорят о двух механизмах инициации органогенеза клубенька: с

активацией Nod-фактором и индукцией цитокинином (Oldroyd, 2007). Проникновение *Bradyrhizobium* ssp в кортикальные клетки корня через трещины в эпидермисе, минуя корневые волоски, может быть важным доказательством в использовании цитокининового сигнала в инициации деления кортикальных клеток и органогенеза клубенька вместо Nod-фактора (Downie, 2007).

Роль гормонов в образовании клубеньков первоначально основывалась на результатах опытов с изменением уровня цитокинина и применением ингибиторов транспорта ауксина в корнях (Cooper, Long, 1994). В дальнейшем опыты с мутантами *L. japonicum* по рецептору цитокинина LHK1 и мутантами люцерны по его ортологу CRE1 подтвердили необходимость цитокинина для индукции морфогенеза клубенька (Tirichine *et al.*, 2007).

Цитокининовый сигналинг локализуется во внутренних тканях корня (кортекс, перидикл) и не связан с эпидермисом. Непосредственным результатом цитокининового сигналинга является CRE1-зависимое изменение в полярном транспорте ауксина, который ингибируется ризобиями и очищенным Nod-фактором (Plet *et al.*, 2011). Ингибирование полярного транспорта ауксина, ведущего к низкому уровню ауксина, и ответная реакция в меристеме клубенька ауксин-чувствительного гена *GH3*, исходные факторы органогенеза клубенька, которые наблюдаются при обработке зон корня очищенным Nod-фактором или ризобиями (Mathesius *et al.*, 1998).

Супрессия цитокининового сигналинга через рецептор цитокинина CRE1 снижает количество клубеньков и увеличивает количество латеральных корней (Gonzalez-Rizzo *et al.*, 2006). В то время как при ингибировании ауксинового сигналинга наблюдается обратное - увеличивается количество клубеньков и снижается образование латеральных корней (Kuppusamy *et al.*, 2009; Champion *et al.*, 2015). Так, по данным Champion *et al.* (2015) ингибирование ауксинового сигналинга посредством ауксин-сигнального регулятора (1-3-AA7) при актиноризальном муталистическом симбиозе ведет к увеличению нодуляции и N<sub>2</sub>-фиксации у древесного вида *Casuarina glauca*, инокулированного почвенной азотфиксирующей бактерией *Frankia*.

Изучалось влияние ризобияльной инфекции на уровень ИУК и цитокининов (зеатин+зеатинрибозид) в чувствительной к ризобиям зоне корня (0-20 мм) этиолированных проростков гороха (Глянко *и др.*, 2007; Акимова, Соколова, 2012). Показано, что спустя сутки после инокуляции в указанной зоне корня наблюдалось повышение содержания как ИУК, так и цитокининов. Причем активность ферментов, разлагающих ИУК – пероксидазы и ИУК-оксидазы, снижалась. Эти данные можно, вероятно, объяснить длительностью экспериментов (1 сут), когда зачаточные клетки примордия клубенька вступили в активную фазу деления и размножения, что требует для этих процессов повышенных доз ауксина и изменения соотношения между гормонами. Это подтверждается данными, которые

показали сильную активацию ауксин-чувствительного гена *GH3.1* (Gretchen Hagen3.1) в меристеме зачаточного клубенька (Grunewald *et al.*, 2009). Другие данные (Olah *et al.*, 2005) свидетельствуют о стимуляции очищенным Nod-фактором образования латеральных корней в 1-5-дневных опытах с проростками люцерны. В связи с этими данными требуются исследования по изучению роли ауксина и цитокинина на различных стадиях развития клубенька относительно начальной стадии - инициации образования примордия клубенька (Timmers, 2008). С другой стороны, имеются данные об участии ауксинового сигналинга также в ризобияльном инфекционном процессе, в частности, в образовании инфекционной нити в корневых волосках (Breakspear *et al.*, 2014).

## CONCLUSION

Полученные экспериментальные данные указывают на то, что цитокинин и ауксин ключевые регуляторы в инициации органогенеза клубенька в кортексе корня. Однако в отличие от образования корневой апикальной меристемы или меристемы латерального корня для инициации клубенька необходим высокий уровень цитокинина и низкий ауксина. Модуляция этих гормонов происходит под первоначальным влиянием ризобияльных Nod-факторов, которые активируются на плазмалемме эпидермальных клеток корня рецептор-подобными киназами (RLK). Наблюдаемый после этого каскад реакций, включающий, в частности, активацию сигнальных систем растения, экспрессию симбиотических генов, синтез ранних белков-

нодулинов (ENODs) и белков-транскрипционных факторов (NSP1/2), приводит к инфицированию тканей корня ризобиями и образованию симбиотических структур – инфекционных нитей и клубеньков.

Как уже отмечалось, некоторые виды ризобий (например, *Bradyrhizobium*) не нуждаются в Nod-факторах для инициации морфогенеза клубеньков, что, по-видимому, свидетельствует о прямом регулировании уровня цитокинина в клетках растения-хозяина (макросимбионта). Однако большинство ризобий используют Nod-фактор как эволюционно закрепленный путь образования симбиотических структур. Не исключено, что координация реакций в эпидермисе и кортексе в течение нодуляции может быть связана с еще не известными сигналами, которые регулируют поток гормонов. В этом плане представляет интерес флавоноиды, локальное накопление которых в корне может изменять баланс гормонов, инициирующих формирование латеральных корней или клубеньков. На различных этапах формирования клубеньковой меристемы концентрация, соотношение и физиологическая роль этих гормонов может, по-видимому, изменяться, что требует дальнейшего изучения.

## REFERENCES

Adamowski M. and Friml J. (2015) PIN-dependent

auxin transport: action, regulation, and evolution. *Plant Cell*, **27**, 20-32.

Akimova G.P. and Sokolova M.G. (2012) Cytokinin content during early stages of legume- rhizobial symbiosis and effect of hypothermia. *Russian J.*

*Plant Physiol.*, **59**, 656-661.

Bauer P., Ratet P., Crespi M.D. and Kondorosi A. (1996) Nod factors and cytokinins induce similar cortical cell division, amyloplast deposition and MsEnod12A expression patterns in alfalfa roots. *Plant J.*, **10**, 91-106.

Breakspear A., Liu C., Roy S., Stacey N., Rogers C., Trick M., Morien G., Mysore K.S., Wen J., Olroyd G.E.D., Downie J.A. and Murray J. D. (2014) The root hair "Infectome" of *Medicago truncatula* uncovers changes in cell cycle genes and reveals a requirement for auxin signaling in rhizobial infection. *Plant Cell*, **26**, 4680-4701.

Champion A., Lucas M., Tromas A., Vaissayre V., Crabos A., Diedhiou I., Prodjinoto H., Moukouanga D., Piroles E., Cissoko M., Bonneau J., Gherbi H., Franche C., Hocher V., Svistoonoff S. and Laplace L. (2015) Inhibition of auxin signaling in *Frankia* species-infected cells in *Casuarina glauca* nodules leads to increased nodulation. *Plant Physiol.*, **167**, 1149-1157.

Cooper J.B. and Long S.R. (1994) Morphogenetic rescue of *Rhizobium meliloti* nodulation mutants by trans-zeatin secretion. *Plant Cell*, **6**, 215-225.

DeLong A., Mockaitis K. and Christensen S. (2002) Protein phosphorylation in the delivery of and response to auxin signals. *Plant Mol. Biol.*, **49**, 285-303.

Downie J.A. (2007) Infectious heresy. *Science*, **316**, 1296-1297.

Fang Y. and Hirsh A.M. (1998) Studying early nodulin gene ENOD40 expression and induction by

- nodulation factor and cytokinin in transgenic alfalfa. *Plant Physiol.*, **116**, 53-68.
- Ferreira F.J. and Kieber J.J. (2005) Cytokinin signaling. *Curr. Opin. Plant Biol.*, **8**, 518-525.
- Ferguson B.J., Ross J.J. and Reid J.B. (2005) Nodulation phenotypes of gibberellin and brassinosteroid mutants of pea. *Plant Physiol.*, **138**, 2396-2405
- Ferguson B.J., Indrasumunar A., Hayashi S., Lin Y-H., Reid D.E. and Gresshoff P.M. (2010) Molecular analysis of legume nodule development and autoregulation. *J. Integr. Plant Biol.*, **52**, 61-76.
- Gamburg K.Z., Rekoslavskaya N.I., Shvetsov S.G. (1990) Auksinyi v kul'turah tkaney i kletok pachteniy. Novosibirsk: Nauka, 240 s. (in Russian).
- Giraud E., Moulin L., Vallenet D., Barbe V., Cytryn E., Sadowsky M. et al. (2007) Legumes symbioses: absence of Nod genes in photosynthetic *Bradyrhizobia*. *Science*, **316**, 1307-1312.
- Glyan'ko A.K. (2015) Signaling systems of rhizobia (*Rhizobiaceae*) and plants (*Fabaceae*) at formation of legume-rhizobium symbiosis. *Appl. Biochem. Microbiol.*, **51**, no 5 (in press).
- Glyan'ko A.K., Akimova G.P., Sokolova M.G., Makarova L.E. and Vasil'eva G.G. (2007) The defense and regulatory mechanisms during development of legume-rhizobium symbiosis // *Appl. Biochem. Microbiol.*, **43**, 260-267.
- Gonzalez-Rizzo S., Crespi M. and Frugier F. (2006) The *Medicago truncatula* CRE1 cytokinin receptor regulates lateral root development and early symbiotic interaction with *Sinorhizobium meliloti*. *Plant Cell*, **18**, 2680-2693.
- Hirsch A.M. (1992). Developmental biology of legume nodulation. *New Phytol.*, **122**, 211-237.
- Hirsch A.M. and Fang Y. (1994) Plant hormones and nodulation: what's the connection? *Plant Mol. Biol.*, **26**, 5-9.
- Hirsch A.M., Fang Y., Asad S. and Kapulnik Y. (1997) The role phytohormones in plant-microbe symbioses. *Plant Soil*, **194**, 171-184.
- Ioio R.D., Linhares F.S., Scacchi E., Casamitjana-Martinez E., Heidstra R., Costantino P. and Sabatini S. (2007) Cytokinins determine *Arabidopsis* root-meristem size by controlling cell differentiation. *Curr. Biol.* **17**, 678-682.
- Jacobs M. and Rubery P. H. (1988) Naturally occurring auxin transport regulators. *Science*, **241**, 346-349.
- Kefeli V.I. (1974) Prirodnyie ingibitoryi rosta i fitogormonyi. Moskva: Nauka, 254 s. (in Russian).
- Kulaeva O. N. (1973) Citokininy, ih struktura i funkcija. Moskva: Nauka, 264 s.
- Kuppusamy K.T., Ivashuta S., Bucciarelli B., Vance C.P., Gantt J.S., VandenBosch K.A. (2009) Knockdown of cell division cycle16 reveals an inverse relationship between lateral root and nodule numbers and a link to auxin in *Medicago truncatula*. *Plant Physiol.*, **151**, 1155-1166.
- Leyser O. (2006) Dynamic integration of auxin transport and signaling. *Curr. Biol.*, **16**, R424-

433. Murray J.D., Karas B.J., Sato S., Tabata S., Amyot L. and Szczyglowski K. (2007) A cytokinin perception mutant colonized by *Rhizobium* in the absence of nodule organogenesis. *Science*, **315**, 101-104.
- Lohar D.P., Schaff J.E., Laskey J.G., Kieber J.J., Bilyeu K.D. and Bird D.M. (2004) Cytokinins play opposite roles in lateral root formation, and nematode and rhizobial symbioses. *Plant J.*, **38**, 203-214.
- Mathesius U., Schlaman H.R.M., Spaink H.P., Sautter C., Rolfe B.G. and Djordjevic M.A. (1998) Auxin transport inhibition precedes root nodule formation in white clover roots and is regulated by flavonoids and derivatives of chitin oligosaccharides. *Plant J.*, **14**, 23-34.
- Mathesius U., Charon C., Rolfe B.G., Kondorosi A. and Crespi M. (2000) Temporal and spatial order of events during the induction of cortical cell divisions in white clover by *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* inoculation or localized cytokinin addition. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, **13**, 617-628.
- Mathesius U. (2001) Flavonoids induced in cells undergoing nodule organogenesis in white clover are regulators of auxin breakdown by peroxidase. *J. Exp. Bot.*, **52**, 419-426.
- Moubayidin L., Mambro R. and Sabatini S. (2009) Cytokinin-auxin crosstalk. *Trends Plant Sci.*, **14**, 557-562.
- Muller B. and Sheen J. (2008) Cytokinin and auxin interaction in root stem-cell specification during early embryogenesis. *Nature*, **453**, 1094-1097.
- Mulligan J.T. and Long S.K. (1989) A family of activator genes regulates expression of *Rhizobium meliloti* nodulation genes. *Genetics*, **122**, 7-18.
- Murray J.D. (2011) Invasion by invitation: rhizobial infection in legumes. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, **24**, 631-639.
- Olah B., Briere C., Becard G., Denarie J., Gough C. (2005). Nod factors and a diffusible factor from arbuscular mycorrhizal fungi stimulate lateral root formation in *Medicago truncatula*. *Plant J.*, **44**, 195-207.
- Oldroyd G.E. (2007) Nodules and hormones. *Science*, **315**, 52-53.
- Oldroyd G.E. and Downie J.A. (2008) Coordinating nodule morphogenesis with rhizobial infection in legumes. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **59**, 519-546.
- Oldroyd G.E., Murray J.D., Poole P.S. and Downie J.A. (2011) The rules of engagement in the legume-rhizobial symbiosis. *Annu. Rev. Genet.*, **45**, 119-144.
- Peer W.A. and Murphy A.S. (2007) Flavonoids and auxin transport: modulators or regulators? *Trends Plant Sci.*, **12**, 556-563.
- Plet J., Wasson A., Ariel F., Le Signor C. and Baker D. (2011) MtCRE1-dependent cytokinin signaling integrates bacterial and plant cues to coordinate symbiotic nodule organogenesis in *Medicago truncatula*. *Plant J.*, **65**, 622-633.
- Polevoy V.V. (1982) Fitogormonyi. Leningrad:

- Isdatel'stvo LGU, 248 s. (in Russian).
- Sakakibara H. (2005). Cytokinin biosynthesis and regulation. *Vitam. Horm.*, **72**, 271-287.
- Skoog F. and Miller C.O. (1957) Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in vitro*. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, **54**, 118-131.
- Thimann K.V. (1936). On the physiology of the formation of nodules on legume roots. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **22**, 511-514.
- Timmers A.C.J. (2008) The role of the plant cytoskeleton in the interaction between legumes and rhizobia. *J. Microsc.*, **231**, 247-256.
- Tirichine L., Sandal N., Madsen L.H., Radutoiu S. and Albrektsen A.S. (2007) A gain-of-function mutation in a cytokinin receptor triggers spontaneous root nodule organogenesis. *Science*, **315**, 104-107.
- Truchet G., Barker D.G., Camut S., deBilly F., Vasse J. and Huguet T. (1989) Alfalfa nodulation in the absence of Rhizobium. *Mol. Gen. Genet.*, **219**, 65-68.
- Wasson A.P., Pellerone F.I. and Mathesius U. (2006) Silencing the flavonoid pathway in *Medicago truncatula* inhibits root nodule formation and prevents auxin transport regulation by rhizobia. *Plant Cell*, **18**, 1617-1629.
- Werner T., Motyka V., Laucou V., Smets R., Van Onckelen H. and Schmuelling T. (2003) Cytokinin-deficient transgenic *Arabidopsis* plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the regulation of shoot and root meristem activity. *Plant Cell*. **15**, 2532-2550.
- Zhang J., Subramanian S., Stacey G. and Yu O. (2009) Flavones and flavonols play distinct critical roles during nodulation of *Medicago truncatula* by *Sinorhizobium meliloti*. *Plant J.*, **57**, 171-183.