

## ОГЛЯДОВІ ПРАЦІ

DOI: [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2018.3\(43\).142584](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2018.3(43).142584)

УДК 579.2

**Т. В. Іваниця, І. В. Страшнова, Д. С. Смальчук**

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,  
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна,  
тел.: +38(048) 746 61 02, e-mail: t.ivanytsia@gmail.com

### ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРІЙ РОДУ *PANTOEA*

*В огляді представлені дані сучасних джерел літератури про бактерії роду Pantoea. Наведено загальні культуральні, біохімічні та морфологічні властивості бактерій даного роду. Детально розглянуто геном та генетичні елементи, їх вплив на ріст та поведінку мікроорганізмів. Також описана асоціація бактерій цього роду з *Daktulosphaera vitifoliae* – шкідником винограду, та розглянуто можливий вплив бактерій на виноградну філоксеру. Освітлено ендofітні та епіфітні властивості та особливості представлених видів. Розглянуто патогенні властивості та особливості виділення бактерій роду *Pantoea agglomerans*. Наведені приклади практичного використання даних бактерій.*

*Ключові слова: бактерії роду Pantoea, виноградна лоза, Daktulosphaera vitifoliae.*

Рід *Pantoea* включає багато видів бактерій, які можуть бути ізольовані з різноманітних джерел. Він був виокремлений в окремий рід відносно недавно, на цей час ідентифіковано близько 20 видів бактерій цього виду, які мають різні характеристики [16].

Рід *Pantoea* представляє собою групу жовто-пігментованих, паличкоподібних грамнегативних бактерій у родині *Enterobacteriaceae*. Деякі з перших ізолятів були визнані патогенами рослин, тому що здатні викликати галли, зів'янення, м'яку гниль і некроз у різних сільськогосподарських рослин [30].

У зв'язку з глобальною зміною клімату виноградарство на сьогоднішній день стикається з серйозною проблемою хвороб виноградної лози, що призводить до використання різних хімічних засобів боротьби з збудниками хвороб рослин. Це викликає ріст споживчого попиту на екологічно чисте виноградарство. За останні два десятиліття захворювання винограду, які поширюються по всьому світу, і мікробіологічний склад виноградної лози стали предметом серйозного занепокоєння серед виноградарів та вчених [14].

Увагу вчених привертали раніше головним чином мікроміцети та

© Т. В. Іваниця, І. В. Страшнова, Д. С. Смальчук, 2018



методи боротьби з ними, але боротьба з грибковими захворюваннями не знімає проблему захворювання винограду. Рід *Pantoea* є другим за чисельністю родом бактерій виділених з винограду. Найчастіше виділені штами є епіфітами або ендоефітами, але особливості даних видів вивчені недостатньо. Останнім часом, стало відомо, що бактерії роду *Pantoea* асоційовані з виноградною філоксерою, яка призводить колосальних збитків виноградарству по всьому світу [8].

Вивчення бактерій, що населяють виноградні лози є актуальним і донині, бо відкриває можливості розробки методів лікування рослин і розробки біоконтрольних агентів. Тому дослідження роду *Pantoea*, а також його повний і докладний опис є важливим.

### Систематичне положення бактерій роду *Pantoea* та їх фізіолого-біохімічні властивості

Систематичне положення, згідно 10 видання визначника Бергі, виглядає таким чином:

Домен *Bacteria*

Відділ *Proteobacteria*

Клас *Gammaproteobacteria*

Ряд Порядок *Enterobacteriales*

Родина *Enterobacteriaceae*

Рід *Pantoea*

Оптимальна температура росту для бактерій роду *Pantoea* 28–30 °С. Культивування і ріст при температурах, вищих за оптимальні, призводять до утворення непігментованих колоній. Біовари, у яких була відсутня пігментація, в цілому мають низьке виживання порівняно з диким типом в присутності  $H_2O_2$  на поживних речовинах. Біохімічний аналіз цих варіантів показав втрату здатності синтезувати основний кофактор тіаміну і неможливість використання вуглеводних джерел. Зазвичай колонії погано ростуть на живильному агарі [22]. Але при додаванні нікотинової кислоти до середовища починають краще рости. Колонії на живильному агарі гладкі, напівпрозорі і опуклі, з цільними краями [31].

Бактерії не утворюють капсул і спор, тест на оксидазу негативний. Здатність рости на середовищі Сімонса з цитратом, свідчить про те, що бактерії використовують цитрат як єдине джерело вуглецю. Більшість штамів стійкі до солей ціаністої кислоти, також ростуть на середовищі Лурія-Бертані. Більшість ізолятів *P. agglomerans* продукують жовтий пігмент на триптичному соєвому бульйоні [22].

Представники роду *Pantoea* – широко розповсюджені хемоорганотрофні грамнегативні бактерії з високою генетичною здатністю до адаптації. Всі бактерії цього роду факультативні анаероби, прямі палички розміром 0,5–1,0 x 1–3 мкм, і оптимальною температурою росту від 28 до 30 °С. Перетрихціальні джгутики, розташовані по всій поверхні клітинної стінки, забезпечують рухливість бактерій. Бактерії також можуть синтезувати ендотоксин, який є гетерополімерною макромолекулою, яка знаходиться в зовнішній частині клітинної стінки грамнегативних бактерій. Ендотоксин бактерій



роду *Pantoea* являє собою везикулярні наночастинки з ліпополіцукриду [17,2]. Везикули ендотоксину мають сильніші біологічні ефекти, ніж очищені ліпополіцукриди. Молекула ендотоксину складається з трьох областей: ліпіда А (що володіє високою біологічною активністю), олігоцукрида кору і О-специфічних поліцукридів (що володіють антигенними властивостями) [1,2].

Більшість бактерій роду *Pantoea* мають унікальну властивість утворювати свого роду багатоклітинні структури, які формуються окремими клітинами, тісно пов'язаними одна з одною, оточені екзополіцукридною оболонкою, так звані «сімплазмати». Екологічна роль і еволюційний початок утворення сімплазматів в бактеріях *Pantoea* залишаються неясним. Для рослин, які колонізуються штамми *P. agglomerans*, сімплазмати були безпосередньо виявлені на поверхнях коренів і листя, а також в рослинних тканинах [11]. Вони забезпечують стресостійкість і сприяють адаптації під час взаємодії бактерії з рослиною. У сімплазматах клітини щільно агрегують і покриваються позаклітинними білками і, отже, демонструють відносно низьку швидкість метаболізму, це дозволяє клітинам бути менш сприйнятливими до деформації під тиском і більш стійкими до несприятливих умов, викликаних слабким трансмембранним транспортом. Сімплазмати стійкі до дії протеїнази К та до забарвлення ліпофільним флуоресцентним барвником [24]. У рідкому середовищі їх утворення залежить від фази росту культури. Бактерії у сімплазматах проявляють різну рухливість на поверхні твердого середовища, це залежить від різних умов «харчування», вологості і вмісту води. Спостерігалось майже повне припинення утворення сімплазмат при рН середовища 7,8 і, наприклад, при наявності фруктози в середовищі це призводить до зниження концентрації утворення сімплазмат [18]. Додавання казамінових кислот (гідролізат казеїну) до середовища також призводить до значного зниження їх кількості, а в багатому середовищі та при температурі 37 °С сімплазмати взагалі не утворюються [16].

Доведено, що D-тирозин сприяє утворенню сімплазмат і збільшує бактеріальну рухливість, не впливаючи при цьому на ріст бактерій. Також при додаванні D-тироzinу, експресія білків зменшується, що перешкоджає трансмембранному переносу йонів і поживних речовин, приводячи до порушення гомеостазу клітин [21]. Кожна сімплазмата містить від декількох до сотень бактеріальних клітин всередині загальної капсули товщиною до 20 мікрометрів. Капсульний матеріал складається з глікокон'югата, що містить цукор (в першу чергу рамнозу, глюкозу і галактозу), уронові кислоти, гліцерин і інозит. Інкубація з метаперіодатом, хімічною речовиною, яка розщеплює поліцукриди, видаляє капсулу, але не виділяє клітини з кластерів. Клітини всередині залишаються чутливими до стимуляції хімічними сигналами з навколишнього середовища, і вони здатні реплікуватися після виділення з кластера [24]. Ген *lghA* кодує регуляторний білок LysR-типу *LghA*, який зберігається серед представників родини *Enterobacteriaceae* як транскрипційний репресор *flhDC*, який кодує головний ген-регулятор (джгутіка) рухливості і хемотаксису. Введення транспозонів в гени зменшували або змінювали подальше утворення, але не зупиняли формування сімплазмат. Багато з генів бактеріальних клітин, які знаходяться у сімплазматах кодують структурні або регуляторні білки, які



беруть участь в поглинанні або деградації вуглецевих субстратів, включаючи галактозу (mglB, mglA, mglD), піранозу (ytfQ), рамнозу (rhaT, rhaS), арабінозу (araC), рибозу (rbsK), мальтозу (malE), глюкуронати / галактонат (uxuA), 3-фосфат гліцерин (glpT), гліцерин (glpF), інозит (iolD, iolI) і жирні кислоти (fadL, fadI, fadD) [24].

Існує припущення, що поділ клітин на ранніх стадіях утворення сімплазмат відбувається синхронно. Починаючи з 8-клітинної стадії, ця синхронізація зникає і починає виглядати більш нерівномірною, що спостерігається в зрілих сімплазматах. Ця особливість сімплазмат відома як «genets», тобто групи генетично ідентичних індивідуумів, що ростуть разом і походять від одного пращура. Сімплазмат, які утворюються у *Pantoea*, є важливим видом структур для бактеріальної адаптації, виживання і асоціації з господарем [22].

Представники цього роду мають дихальний і бродильний тип метаболізму. Реакція Фогеса-Проскауера позитивна, і це свідчить про те, що бактерії викликають бутанолове бродіння глюкози, в процесі чого утворюється діацетил, попередниками якого є ацетоїн -2,3-бутандіол [24].

Представники *Pantoea* катаболізують D-глюкозу та інші вуглеводи (D-фруктозу, D-галактозу, трегалозу, D-маннозу, целобіозу) з утворенням кислоти, але не газу. Проба з метиловим червоним варіює. Кислоту отримують шляхом ферментації L-арабінози, D-рибози, D-ксилози, D-галактози, D-фруктози, L-рамнози, D-манітола, N-ацетилглюкозаміна, мальтози і трегалози. За здатністю використовувати малонат види розрізняються [12].

По лізиндекарбоксилазі, орнітиндекарбоксилазі й аргініндегідролазі негативні. Здатні синтезувати фермент глюкозодегідрогеназу. Бактерії не здатні деградувати пектат [12]. *P. agglomerans* єдиний вид, що здатен використовувати D-тарtrat як джерело вуглецю. По уреазі негативні, тобто не мають ферментів для гідролізу сечовини. Бактерії роду *Pantoea* гідролізують желатин, що свідчить про наявність протеолітичної активності. Види *Pantoea* можуть окиснювати глюкозу до глюконату [31].

Всі штами *P. agglomerans* однаково чутливі до аміноглікозидів, наприклад, до гентаміцину, тобраміцину, амікацину. Вони також чутливі до фторхінолонів, які порушують синтез ДНК бактеріальних клітин, а саме до офлоксацину та ципрофлоксацину. Всі бактерії повністю чутливі до цефалоспоринів широкого спектру дії, які пригнічують синтез пептидогліканового шару. У бактерій роду *Pantoea* зустрічається шікіматний шлях, який проходить через 2-аміно-4-дезоксихоризмат, результатом подальших метаболічних перетворень цієї сполуки у бактерій є утворення пігментів і антибіотиків феназинового ряду. Чутливість до  $\beta$ -лактамів може варіювати.

Ретельне обстеження шляхів метаболізму жирних кислот визначило здатність виконувати  $\beta$ -окиснення жирних кислот [26]. Також передбачається, що вони здатні продукувати поліаміновий спермідин [28]. Відомо що, бактерії цього виду здатні перетворювати екологічний хлорацетальдегід в гліколят, тим самим забезпечуючи подвійний засіб утилізації мутагена і доступ до гліколятів як джерела вуглецю [31].

Типовий вид даного роду виявляє унікальну активність до утворення льодяних ядер, які ініціюють формування кристалів льоду на поверхні рос-



лин, що призводить до їх пошкодження від замерзання при температурах, за яких зазвичай пошкодження не трапляється. Вони містять ген нуклеації льоду *inaA*, трохи схожий на *inaW* і *inaZ* гени *Pseudomonas syringae* і *P. fluorescens*. Ці структури надходять з зовнішньої мембрани бактерії у формі везикул, із білками всередині, розміром 50–300 нм [18].

У сукупності ці дані демонструють, що еволюція забезпечила бактерії роду *Pantoea* різноманітними метаболічними процесами, які роблять їх в цілому більш універсальними у своїй здатності адаптуватися до умов, що змінюються. Вони можуть використовувати більш широкий спектр джерел вуглецю і ефективніше використовувати наявні ресурси, переробляючи побічні продукти метаболізму. Це потенційно також дає їм конкурентну перевагу в умовах відсутності поживних речовин [26].

### Геном та гени патогенності

Секвенування геному бактерій роду *Pantoea*, сприяло кращому розумінню колонізувальних і метаболічних властивостей рослин-господарів. Найбільш поширеними причинами, які сприяють генетичній зміні, є випадкові мутації (точкові мутації, а також вставки і делеції) і горизонтальний перенос генів [28].

Хоча на даний момент не було широкомасштабного систематичного порівняльного або еволюційного геномного аналізу бактерій роду *Pantoea*, деякі загальні геномні ознаки, ідентифіковані в більш конкретних аналізах, включають ацил-гомосерин лактони та інші гени кворум сенсінгу, гени, що сприяють росту рослин, гени репарації ДНК, патогенні чинники, а також системи секреції типу III, IV і VI. Вміст G + C пар в ДНК становить від 52,7 до 60,6% [11]. Однією з функцій, нещодавно ідентифікованої для системи секреції 6 типу (T6 SS) різних бактеріальних таксонів, є секреція антимікробних ефекторів, яка передбачає роль у зв'язку з антибіотиком і в міжбактеріальній конкуренції [13].

Гени, що кодують білки, які визначають патогенність і інші ознаки видів роду часто розташовані в плазмідах. Спільним для всіх видів бактерій роду *Pantoea* є наявність гена, виявленого на плазмідах, *gerA*. У виді *P. agglomerans* були ідентифіковані плазміди родини *Large Pantoea Plasmids* (LPP) [25]. Зараз відомо, що ця плазміда спільна для всіх видів. Локуси, які кодуються плазмідом, пов'язані з метаболізмом і транспортуванням різних цукрів, вуглеводів, амінокислот і органічних кислот, а також асиміляцією неорганічних йонів, заліза і азоту, стійкістю до антибіотиків і важких металів, колонізації господаря, патогенезу. Плазмідні послідовності LPP мають розмір від 281 до 794 kb, вносять свій внесок між 5,6% і 12,6% від загального вмісту генома, зміст G + C 53,90%, і містять від 238 до 750 послідовностей, що кодують білок, які необхідні для біосинтезу тіаміну. Було показано, що штамми, позбавлені цієї плазміди, потребують тіамін для подальшого зростання. Гени *thiOSGF*, необхідні для біосинтезу основного кофактора тіаміну. LPP кодує велику кількість білків, які зіграли важливу роль в адаптації різних видів бактерій роду *Pantoea*. У плазміді міститься ген *crtEYIBZ*, його продукти беруть участь у продукції каротиноїдного пігменту – зеаксантину. Він захищає мі-





кроорганізми від ультрафіолетового опромінення [23].

Додатковий ген *crtX* додає диглюкозидну групу до пігменту. Локус *ascBFG* бере участь в транспорті і катаболізмі арбутину, саліцину і целобіози. Є локус, відповідальний за транспорт і катаболізм мальтози та мальтодекстрину. Інші локуси пов'язані з транспортом і метаболізмом, включаючи ті, які використовуються для синтезу галактану (*ganKEFGABCLR*). Показано, що позбавлені плазмідні бактерії не здатні ефективно використовувати ряд вуглеводних, аміно- і органічних кислотних субстратів, що вказує на роль плазмід в метаболічній універсальності цього організму. Наявність генів для адгезивних структур на LPP передбачає, що ця плазміда грає роль в прикріпленні і збереженні бактерій роду *Pantoea* в різних екологічних нішах, які вони займають, включаючи потенційних господарів рослин і комах [25].

Більшість штамів *P. agglomerans* містять також плазмідну рРАGA, з послідовністю 2734 пар нуклеотидів. Ця плазмідна кодує біосинтез антимікробного пептиду гербіколіну. Вона має унікальний сайт EcoR1, який зараз використовується для вставки плазмід у вектор і отримання генномодифікованих ендоефітів [6]. У більшості штамів *P. agglomerans* була знайдена загадкова плазмідна рРА3.0. Втрата цієї плазмідної кодує біосинтез антимікробного пептиду гербіколіну. Вона має унікальний сайт EcoR1, який зараз використовується для вставки плазмід у вектор і отримання генномодифікованих ендоефітів [6]. У більшості штамів *P. agglomerans* була знайдена загадкова плазмідна рРА3.0. Втрата цієї плазмідної кодує біосинтез антимікробного пептиду гербіколіну. Вона має унікальний сайт EcoR1, який зараз використовується для вставки плазмід у вектор і отримання генномодифікованих ендоефітів [6].

Наявність плазмід у цих бактеріях грає ключову роль в адаптації до нових екологічних ніш і розвитку їх як патогенів, так і як симбіонтів, промоторів росту рослин, сапрофітів, агентів біоконтролю [31]. Але така широка адаптивна ніша значно впливає на кількість корисних алелей і, ймовірно, призводить до збільшення частоти появи шкідливих алелів в геномі. Плазмідна рРАТН пов'язана з вірулентністю *P. agglomerans* для рослин, штамів відрізняються за наявністю цієї плазмідної кодує біосинтез антимікробного пептиду гербіколіну. Вона має унікальний сайт EcoR1, який зараз використовується для вставки плазмід у вектор і отримання генномодифікованих ендоефітів [6].

Бактеріофаги є потужним фактором мінливості бактерій. Вони мало досліджені. На даний момент відомими є бактеріофаги *LIMEzero* і *LIMElight* у *P. agglomerans*. Це літичні фаги, які мають дволанцюгові ДНК геноми (43 032 кб і 44 546 кб,) кодує біосинтез антимікробного пептиду гербіколіну. Вона має унікальний сайт EcoR1, який зараз використовується для вставки плазмід у вектор і отримання генномодифікованих ендоефітів [6].



Секвенування геному *LIMElight* дозволило виявити одноланцюгові розриви в деяких місцях, в геномі *LIMEzero* їх не було виявлено. Два і чотири фагоспецифічних промотора були виявлені в геномах *LIMEzero* і *LIMElight*. Пізня ділянка містить гени, що кодують структурні і лізисні білки. У *LIMEzero* і *LIMElight* є 16 і 19 ранніх генів, які не мають схожості між собою і не мають аналогів в базах даних. Ці гени транскрибуються відразу після зараження і беруть участь в перетворенні господаря. Було встановлено, що ці білки адаптують механізм клітин-господарів таким чином захищаючи бактеріофаг від механізмів захисту бактерій. Фаги *LIMEzero* і *LIMElight* є першими членами родини *Podoviridae*, які заражують бактерії цього роду, їх геноми були повністю секвеновані [5].

Деякі штами *P. agglomerans* можуть бути також інфіковані фагами *Erwinia spp* [29]. Такі штами зараз активно використовують під час боротьби з *Erwinia amylovora*, яка викликає опікові захворювання яблунь і груш, *Agrobacterium tumefaciens* та проти *Pseudomonas syringae*, яка викликає захворювання ячменю за рахунок синтезу 2-аміно-3-пропанол валіну [27]. *Pantoea agglomerans* грає подвійну роль в системі з фагом *Erwinia spp*. В першу чергу, він виконує роль носія, тим самим поширюючи популяцію літичного фагу. По-друге, *P. agglomerans* також є біологічним контрольним агентом, який колонізує рослину і запобігає подальшій колонізації *E. amylovora*. Вплив цього бактеріофагу на бактерії двоякий: опосередкований фагом перенос генів може сприяти збільшенню або втраті вірулентності, активують систему рестрикції – метилування та здатні змінювати резистентність до антибіотиків. Також наявність даного фагу може спричинити морфологічні зміни клітин *P. agglomerans*. Дослідження екології збудника захворювань, а також потенційних антагоністів були підґрунтям для розробки нехімічних засобів боротьби з хворобами, що зменшує потребу в частому застосуванні антибіотиків, таких як стрептоміцин і окситетрациклін, які зазвичай використовуються для боротьби з хворобами [29].

### Особливості бактерій роду *Pantoea* з виноградної лози

Методи, засновані на аналізі генів рибосомальної РНК (рРНК), показали, що філосферна мікробіота є складною і дуже різноманітною [13]. Отримані бази даних викликають велике хвилювання в зв'язку з перспективою рішення давніх питань в області філосферної мікробіології [13].

У листі виноградної лози міститься менше бактерій, ніж в ґрунті, на корінні і стеблі. Види роду *Pantoea*, виділені з виноградної лози зазвичай є ендодфітами. Секвенування генів 16S рРНК показало, що виділені бактерії з листя виноградної лози належали до *Pantoea agglomerans* [15]. При порівнянні звичайних листків лози з листям, що містять бактерії, спостерігалось підвищення в 2–2,5 рази активності ліпоксигенази. У порівнянні з листками, що не мають бактерій, активність фенілаланін-аміакліази через 6–8 годин була приблизно в п'ять разів вищою у листків, що містять *P. agglomerans*. Індукція хітинази штамами була незначною [16].

Деякі види також володіють хітинолітичною активністю. Добре відомо, що хітин, який складається із залишків N-ацетилглюкозаміну, зв'язаних



$\beta$ -1,4-глікозидним зв'язком, є основним структурним компонентом більшості клітинних стінок грибів. Тому *P. agglomerans* може бути хорошим протигрибковим засобом [14]. Але деякі штами можуть бути позбавлені хітинолітичної активності. Тоді вони синтезують ендохітинази, які кодує ген *chiA*. Була визначена його повна послідовність, і виведена амінокислотна послідовність ферменту, позначена *Chia\_Entag*. *Chia\_Entag* має відкриту рамку зчитування з 1 686 нуклеотидів, які кодують білок з 562 амінокислот з молекулярною масою 60,880 Да. Ген *chiA*, який кодує ендохітиназу клонували, секвенували і експресували в *Escherichia coli*. Трансформований штам *E. coli* виявляв протигрибкову активність. Проведені дослідження бактеріоциногенності *P. agglomerans* показали, що бактеріоцини цієї бактерії ефективно лізували клітини цілого ряду штамів *Agrobacterium tumefaciens*, а також багато штамів інших канцерогенних бактерій [3]. Виділені штами *P. agglomerans* показали явний антагоністичний ефект проти *B. cinerea* [7].

### Асоціація бактерій роду *Pantoea* з виноградною філоксерою

Нові дослідження виявили здатність рослинних патогенних бактерій використовувати комах як альтернативних господарів, оскільки вони пов'язані з певною рослиною. Зокрема, фітофагові комахи, які часто або періодично живляться на рослинних тканинах, можуть бути колонізовані епіфітними або рослинними патогенними бактеріями. Вони часто ігноруються як ключові екологічні учасники, незважаючи на те, що, швидше за все, мають зв'язок з фітопатогенними бактеріями, які знаходяться в/або на їх бажаних рослинах-хазяїнах [8].

*Daktulosphaira vitifoliae* відноситься до родини *Phylloxeridae* в надродині *Aphidoidea*. Цей організм викликає гали, живлячись листям і корінням багатьох видів винограду. Виникнення нових і агресивних штамів виноградної філоксери знову викликало інтерес до цієї комахи-шкідника і його екології [20].

*Daktulosphaira vitifoliae* – «космополітичний» ендопаразит з винограду, який індукує збагачені поживними речовинами галли на листках та коренях. Розміри паразиту коливаються від 0,3 мм до 0,8 мм. Випадкове ввезення філоксери в Європу і її рослини-господаря *Vitis vinifera* в 1860-х роках спустошило виноградне виробництво і виноробну промисловість, оскільки європейські сорти винограду не були стійкі до шкідника. Ураження рослин вірусами, бактеріями або комахами може призвести до аномального росту тканини і зміни зовнішньої морфології через пухлиноподібне утворення галів [8].

Зміни в транскриптомі зрілої листової хворої тканини дають підстави припустити, що філоксери маніпулюють генами свого виноградного господаря, щоб перепрограмувати свій метаболізм від автотрофного до гетеротрофного типу.

На листі утворюються невеликі нарости, всередині яких і знаходяться виноградні філоксери. У галах є отвір зверху, через який потім комаха виходить назовні. За один сезон одне потомство філоксери може заражати один кущ винограду близько 5 разів, піднімаючись після звільнення з галів вище, і потрапляючи на нове листя.





Для пошуку присутності мікроорганізмів в філоксері було застосовано молекулярно-біологічні методи. Використовуючи специфічні праймери ПЛР на загальній ДНК, екстрагованої з дорослих філоксер, фрагменти бактеріального походження ампліфікували, клонували і секвенували. Після аналізу отриманих перших послідовностей праймери *ragF* і *ragR* були спеціально розроблені для ампліфікації 16S рДНК *P. agglomerans*, в результаті чого були отримані окремі високоспецифічні фрагменти розміром близько 1000 п.н. Для отримання чітко видимих фрагментів потрібно від 35 до 40 циклів. Бактерії були виявлені також методом гібридизації *in situ* [10]. Для з'ясування їх функції та передачі специфічні 16S-рДНК-зонди були гібридизовані на ультра тонких ділянках дорослих листових філоксер. Сигнали були виявлені всередині слинного насоса комахи, а також в середині яєць, які перебувають в тілі комахи [10].

Бактерії роду *Pantoea* були ідентифіковані у кількох видів популяцій філоксери з використанням універсальних праймерів 16S рДНК, а саме у кореневої і листової. Вони виявили антагоністичні ефекти проти 13 видів грибів і семи видів бактерій [15].

Бактерії роду *Pantoea* були виявлені в яйцях, у дорослих самок і в тканинах уражених листків [20]. Бактерії вважаються «вторинним» ендосимбіонтом, так як вони слабо асоційовані і не передаються по материнській лінії. Точна роль бактерій не ясна, так само як і те, чи є виділені штами специфічними. В популяціях філоксери винограду, асоційованої з бактеріями, присутня незначна генетична варіація. Виноградна філоксера проникає в паренхіматозні тканини і через це не потребує синтезу незамінних амінокислот і білків, що притаманне для видів, які живляться флоемним соком [10]. Актуальність *P. agglomerans* в цій асоціації залишається неясною, але можуть бути запропоновані дві гіпотези. Перша, свідчить про те, що бактерії можуть отримувати «вигоду» за рахунок поліпшення умов життя у викликаних філоксерою листових галах, а зараження відбувається випадково, без користі для комахи. А друга гіпотеза вказує на те, що стабільна асоціація могла розвинутися між бактеріями і *Daktulosphaira vitifoliae* з плином часу, що призвело до взаємної вигоди [20].

Але аналізи результатів культивування, проведені *in vitro*, показали, що бактерії повністю життєздатні. Це свідчить про те, що зв'язок між *D. vitifoliae* і *P. agglomerans* не такий тісний. Були продемонстровані важливі наслідки для біології комахи, включаючи вплив на ріст, розмноження та стійкість до інших паразитів. Симбіотичні і асоціативні бактерії можуть відігравати важливу роль в адаптації філоксери до різних рослин-господарів, що призводить до утворення нових біотипів. На сьогоднішній день до сих пір не відомо, чи є штами *P. agglomerans* з філоксери специфічними [8].

### Бактерії роду *Pantoea* як ендофіти та епіфіти

Найбільш численними мешканцями філосфери є бактерії роду *Pantoea*. Багато пов'язаних з листям бактерій здатні рости, тобто, розмножуватися, використовуючи кілька ресурсів, які пропонує листові поверхні. Одним з важливих чинників ендофітної колонізації є наявність вуглецевмісних поживних



речовин. Бактерії отримують доступ до рослини через рани, що призводить до, колонізації або апопласта, або ксилеми, виробництва екзополіцукридів [30].

Внутрішнє середовище судин ксилеми виноградної лози є особливою екологічною нішею, яка підтримує мікробне співтовариство. Іноді рослинний сік може просочуватися з ран, нанесених під час годування комахами або пошкодженням під час морозу. З ран рослини виділяються глюкоза, фруктоза і цукроза. Так що такі місця зазвичай мають велику кількість бактерій [13]. Але наявність поживних речовин на листках просторово неоднорідна. Бактерії зазвичай розташовані не випадковим чином, а локалізовані на жилках, продихах і трихомах [15].

Епіфітні популяції для конкурування і полегшення виживання виробляють індоліл-3 оцтову кислоту, яка викликає витік поживних речовин з рослини [23]. Індоліл-оцтова кислота є найбільш поширеним, головним ауксином з родини фітогормонів. Вона є ключовим регулятором практично всіх процесів росту і розвитку рослин, таких як органогенез, утворення судинних тканин, фототропізм і подовження клітин. Низька концентрація екзогенного ауксину викликала зростання, тоді як висока концентрація зменшувала ріст бактерії. Оскільки бактерії на рослинах часто обмежені поживними речовинами, було висунуто припущення, що велика епіфітна придатність штамів, які продукують індоліл оцтову кислоту, зумовлена підвищеною доступністю поживних речовин, викликана сильним витоком цукридів з рослинних клітин [27].

Індоліл-оцтова кислота сприяє розрихленню клітинної стінки при дуже низьких концентраціях, а екзогенно застосований ауксин стимулює вивільнення цукридів. Поряд з цим індоліл-оцтова кислота також діє як сигнальна молекула, яка допомагає розпізнавати рослини мікроорганізмам і пригнічує ріст декількох патогенних мікроорганізмів на рослинах [23]. Штами, які продукують індоліл-оцтову кислоту, значно покращують проростання насіння, утворення коренів і продуктивність рослини-хазяїна. Леткі речовини, такі як 2–3 бутандіол і ацетоїн, які продукують бактерії, мабуть, є механізмом, відповідальним за стимулювання росту рослин. Було також показано, що бактерії роду *Pantoea* продукують антибіотики і протигрибкові феноли. Наприклад, гербіколін, який використовується для лікування яблунь і груш, мікроцин, феназин. Синтез каротиноїдів, розташованих в мембрані бактерій, забезпечує стійкість до ультрафіолетового випромінювання, а також від шкідливих активних форм кисню. *Pantoea agglomerans* і близькоспоріднені види *Pantoea* виробляють фітазу, фермент, що руйнує фітат [28].

Виявлена здатність бактерій синтезувати сідерофори, які ефективно зв'язують залізо. І також виявлено здатність приймати сідерофори, які синтезують інші мікроорганізми. Бактерії роду *Pantoea* здатні конкурувати з іншими мікроорганізмами за рахунок виробництва протимікробних сполук, таких як 4-гідроксибензоат і гама-аміномасляна кислота (ГАМК). Отримання екзогенного поліцукриду, який вважається основним компонентом бактеріальної стінки, під час перебування в агрегатній структурі, може принести користь епіфітам в філосфері [18]. З огляду на те, що доступність води, ймовірно, є одним з найбільш сильно мінливих факторів на поверхнях листя, екзополі-



цукрид в агрегатах може захищати бактерії від стресу висихання. Крім того, екзогенний поліцукрид захищає від активних форм кисню, які часто зустрічаються в рослинах. Продемонстровано, що агреговані бактерії опираються окиснювальному стресу краще, ніж планктонні бактерії. Через здатність ендодфітів розмножуватися усередині рослинної тканини, вони частіше взаємодіють з господарем, ніж ризосферні бактерії. Ці характеристики роблять бактеріальних ендодфітів чудовими кандидатами для розробки стратегій у вирощуванні сільськогосподарських культур [16].

### Патогенні властивості бактерій роду *Pantoea*

Патогенні бактерії мають фактори патогенності, які включають систему секреції типу III (Т3SS), кворум сенсинг і екзополіцукриди (EPS) [17].

Система секреції типу III є ключовим фактором вірулентності, що використовується протеобактеріями, забезпечує транспорт ефекторних молекул з цитоплазми бактерії в клітини рослини. Ефекторні білки викликають реорганізацію цитоскелету клітини-господаря, що сприяє проникненню бактерії в клітину-хазяїна, а також викликають різні порушення функцій клітин, що призводять в підсумку до виникнення патологічного процесу. Цю систему ще називають «контакт- залежною», так як секреція ефекторних білків відбувається після контакту бактерії з клітиною-хазяїна. Здатність бактерій розмножуватися усередині їх господарів і індукувати некротичні прояви залежить від їх генів *hgr*, які кодують компоненти Т3SS і, ймовірно, вірулентні білки, що секретуються через цю систему. Гени *hgr* пригнічуються, коли бактерії культивуються в складних середовищах, але ростуть до високих рівнів, коли бактерії ростуть в рослинному апопласті або знаходяться в тісному контакті з рослинними клітинами [31].

Гени *hgr*, також експресуються, коли бактерії ростуть в мінімальному середовищі. Цукроза позитивно впливає на експресію гена, в той час як сукцинат, цитрат і глутамат її пригнічують. Індукція генів *hgr* у бактерій відбувається на ранній стадії після контакту з рослиною. Нгр-залежна білкова секреція потрібна, також, для виявлення гіперчутливої відповіді у інших рослин, які не є хазяїнами. Гіперчутлива відповідь – це запрограмована загибель рослинних клітин в місці зараження патогеном. Вона призводить до поліпшення росту рослин, підвищенню врожайності і якості за рахунок стимулювання захисної реакції [13].

Багато бактеріальних білків, які називаються авірулентними (Avr), транспортуються всередину клітини рослини через систему секреції Нгр [13]. Потрапивши в рослину, вони розпізнаються рослинними білками і можуть викликати гіперчутливу відповідь у не хазяйських рослин. На експресію генів *hgr* також впливає рН. Гени *hgr* найкраще синтезуються при рН близько 5,5. Загальна роль системи секреції типу III полягає в тому, щоб доставити ефекторні білки і фактори патогенності у клітини рослини-хазяїна, які забезпечують інфікування і розвиток захворювання. Ефекторні білки, вироблені системою секреції III типу дуже важливі для забезпечення патогенності у фітопатогенних бактерій [13].

Кворум сенсинг необхідний для координації експресії генів в залежності



не тільки від умов зовнішнього середовища, а й від щільності бактеріальної популяції через необхідність досягти критичної щільності для ефективного поширення. Таким чином бактерії роду *Pantoea* регулюють синтез антибіотиків, рівень метаболізму і, навіть, поведінку популяцій. Для підтримки кворум сенсингу бактерії постійно виробляють і виділяють у зовнішнє середовище специфічні сигнальні молекули. Бактерії роду *Pantoea* виділяють сигнальну речовину ацил-гомосерин-лактон [21]. Коли його концентрація в середовищі досягає «порогового» значення (це відбувається при високій щільності популяції), в бактеріальних клітинах активується регуляторний білок. Також сигнальні молекули можуть активно пригнічувати імунну відповідь рослин. Гени *pagRI*, необхідні для виробництва ацил-гомосерин-лактонового аутоіндуктора *PagI* і регулятора транскрипції *PagR*, беруть участь у регуляції генів екологічної придатності і вірулентності у бактерій різних видів *Pantoea*. Продемонстровано, що *P. agglomerans* викликає гали, виробляючи індоліл-оцтову кислоту [11].

Оскільки патогенні бактерії існують як популяції, члени яких виявляють різну ступінь вірулентності, інтеграція генетичних, еволюційних і епідеміологічних досліджень може дати важливу інформацію про походження та розповсюдження бактеріальних захворювань. В останні роки ряд розробок поліпшив можливості для проведення комплексних досліджень, можливо, головним з них є збільшення швидкості і зниження витрат часу на визначення нуклеотидної послідовності. Генерація великих обсягів даних послідовностей, в поєднанні з розробкою нових аналітичних методів, обіцяє краще розуміння складнощів еволюції бактеріальних популяцій [11].

### Методи виділення бактерій роду *Pantoea*

Ідентифікація фітопатогенних бактерій видів роду *Pantoea* ускладнена через високий ступінь фенотипової подібності між видами цього роду і родини *Enterobacteriaceae* [11]. Хоча фізіологічні характеристики дають уявлення про те, яка потенційна метаболічна диференціація могла статися під час видоутворення, можуть виникати невідповідності через диференціальну експресію генів у різних ізолятів або регуляцію експресії в певних середовищах. Види *Pantoea* зазвичай характеризуються по морфології колоній, фізіологічних і біохімічних реакціях, а в деяких випадках – аналізу спектру жирних кислот або хінону. Однак цей підхід виявився ненадійним, оскільки ідентифікація, заснована виключно на фенотипових характеристиках, призвела до помилкової ідентифікації багатьох штамів, що належать комплексу «*Erwinia herbicola* – *Enterobacter agglomerans*» [31].

Для міжвидових порівнянь набір генів бактерій роду *Pantoea* (розрахований з 21 генома) складається з 1862 генів. Види роду фенотипово тісно пов'язані, що ускладнює швидку ідентифікацію штамів роду *Pantoea* на рівні видів. З труднощами, які раніше виникали при диференціації видів роду *Pantoea*, як фенотипово, так і філогенетично і ґрунтуючись на секвенуванні 16S рРНК, штами зазвичай можуть бути віднесені до роду *Pantoea*, але часто не до конкретних видів [12].

Секвенування гена 16S рРНК зазвичай використовується при іден-



тифікації бактеріальних видів і вважається стандартним елементом опису бактеріальних таксонів. Однак послідовності 16S рРНК занадто висококонсервативні, щоб надійно диференціювати близькі види, як це має місце в даному роді [26]. Однак з часом, коли різноманітність досліджуваних зразків збільшилася, стало зрозуміло, що тільки одна послідовність гену 16S рРНК не забезпечує достатніх філогенетичних даних. Тому для отримання повного дерева були застосовані більш надійні підходи до філогенетичного аналізу, а саме метод мультилокусного секвенування генів (MLSA) [16].

Неповні послідовності генів, що кодуєть білок, виявилися необхідними для ідентифікації видів і філогенетичних маркерів в родині *Enterobacteriaceae*. З цією метою були оцінені такі гени: *groB*, *infB*, *groEL*; *gyrB*, *tuf* і *atpD*, *carA* і *gcsA*. Результати показали, що вони надійніші, ніж послідовності генів 16S рРНК для ідентифікації видів і для визначення внутрішніх і деяких міжвидових зв'язків. Дані послідовності мають розмір: *gyrB* (742 bp), *groB* (637 bp), *atpD* (657 bp) та *infB* (615 bp). Ці гени кодуєть ДНК-гіразу, субодиницю РНК-полімерази  $\beta$ , субодиницю АТФ-синтази  $\beta$  і фактор ініціації трансляції. Отже, MLSA неповні нуклеотидних послідовностей генів *gyrB*, *groB*, *atpD* та *infB* може використовуватися для класифікації, ідентифікації та філогенетичного аналізу штамів роду *Pantoea* [28].

Завдяки мультилокусному аналізу послідовностей виявлено, що різні типи штамів *P. agglomerans* тісно пов'язані і мають подібну специфічність і вірулентність. Важливо, що стійкість до фосфоміцину спостерігалася для всіх штамів *P. agglomerans*, але не для інших видів, і, таким чином, може бути корисним і простим методом для ідентифікації. Мультилокусне секвенування білок-кодувальних генів виступає як додатковий аналіз для ідентифікації *P. agglomerans* і для характеристики нетипових штамів [16].

### Особливості використання бактерій роду *Pantoea*

Патогенні властивості цієї бактерії врівноважуються неймовірно корисними рисами, виявленими у *P. agglomerans*, і близькородинних видів цього роду [19].

Бактерії роду *Pantoea*, ізольовані з рослин, володіють багатьма корисними рисами, які можуть бути використані для профілактики і лікування захворювань людини і тварин, боротьби з патогенами рослин, стимулювання росту рослин і біоремедіації навколишнього середовища. *P. agglomerans* успішно використовується для боротьби з *Rhizopus stolonifer* і *Monilinia laxa*. Виробляє ряд антибіотиків, які можна використовувати для боротьби з патогенами рослин, захворюваннями тварин і людини. Ліпополіцукрид з низькою молекулярною масою, виділений з *P. agglomerans* демонструє ряд лікувальних властивостей. Наприклад, ліпополіцукрид представляє собою компонент ліків, які потенційно можуть вилікувати рак. Його також використовують в розробці ліків від малярійного плазмодію. [19]. Були зроблені успішні спроби застосувати стратегію паратрансгенеза, в якій бактеріальні симбіонти генетично сконструйовані для експресії і секреції білків проти малярійного плазмодія. Використання як агента біоконтролю дозволяє знизити дози пестицидів, будучи екологічно чистим процесом [9].





### Узагальнення

Роль виділених з виноградної лози бактеріальних видів двояка. Вони можуть супроводжувати патогенні бактерії і викликати різноманітні захворювання винограду. Також викликати серйозні захворювання людини. Не випадково, що багато хто з найбільш ефективних агентів біоконтролю хвороб рослин також є потенційними патогенами людини. Вони дуже активно конкурують за поживні речовини і можуть продукувати протимікробні метаболіти і самі по собі можуть бути стійкими до деяких антибіотиків. Вживання при захисних реакціях рослини може зробити ендоефітні популяції бактерій стійкими до захисту організму людини [30].

До корисних властивостей можна віднести синтез антибіотиків і також прояв антипроліферативної активності проти пухлинних клітин людини. Для цього використовують низькомолекулярний ліполіцукрид з *P. agglomerans*. Ще однією позитивною якістю є сприяння зростанню рослин різними механізмами. Сюди можна віднести виділення екзополіцукридів, синтез індоліл-оцтової кислоти. Також деякі штами *P. agglomerans* використовують для боротьби з малярійним плазмодієм. Крім того, бактерії роду *Pantoea* володіють унікальною здатністю до біодеструкції, включаючи гербіциди та інші токсичні сполуки, що відкриває перспективи для розробки і комерціалізації корисних продуктів. Проте потрібно зважати на велику невизначеність щодо асоціації цих бактерій з хазяїном і патогенетичними властивостями окремих штамів.

Також вони здатні пригнічувати ріст багатьох патогенних та шкідливих бактерій. Однак, комерційна реєстрація продуктів біоконтролю *P. agglomerans* ускладнена, тому що цей вид в даний час зазначений як організм біологічної безпеки 2 (BL2) через клінічні повідомлення як опортуністичний патоген людини [28]. Незважаючи на доведену патологічну роль *P. agglomerans* при виникненні захворювань алергічного і імунотоксичного тла і випадкових інфекцій, корисні риси цього роду *Pantoea* мають велике значення для потенційного використання в багатьох областях біотехнології [14].

**Т. В. Іваница, И. В. Страшнова, Д. С. Смальчук**

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова,  
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина,  
тел.: +38(048) 746 61 02, e-mail: t.ivanytsia@gmail.com

## ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРІЙ РОДА *PANTOEA*

### Реферат

В обзоре представлены данные современных источников литературы о бактериях рода *Pantoea*. Приведены общие культуральные, биохимические и морфологические свойства бактерий данного рода. Детально рассмотрены геном и генетические элементы, их влияние на рост и поведение микроорганизмов. Также описана ассоциация бактерий этого рода с *Daktulosphaera vitifoliae* – вредителем винограда, и рассмотрено возможное влияние бактерий на виноградную филлоксеру. Рассмотрены эндоефитные и эпифитные



свойства и особенности представленных видов. Описаны патогенные свойства и особенности выделения бактерий рода *Pantoea agglomerans*. Приведенные примеры практического использования данных бактерий.

Ключевые слова: бактерии рода *Pantoea*, виноградная лоза, *Daktulosphaira vitifoliae*.

**T. V. Ivanytsia, I. V. Strashnova, D. S. Smalchuk**

Odesa National Mechnykov University,  
2, Dvoryanska St., Odesa, 65082. Ukraine,  
tel.: +38(048) 746 61 02, e-mail: t.ivanytsia@gmail.com

## CHARACTERISTICS OF BACTERIAL GENUS *PANTOEA*

### Summary

The review presents data according to the modern sources of literature data about bacteria of the genus *Pantoea*. The general cultural, biochemical and morphological properties of bacteria of this genus are presented. The genome and genetic elements, their influence on the growth and behavior of microorganisms are considered in detail. It also describes the association of bacteria of this genus with *Daktulosphaira vitifoliae*, a pest of grape, and examines the possible effects of bacteria on grape phylloxera. The endophytic and epiphytic properties and features of the presented species are illuminated. Pathogenic properties and the features of isolation of bacteria of the genus *Pantoea agglomerans* are considered. The examples of practical use of bacteria data are given.

Key words: genus of bacteria *Pantoea*, grape, *Daktulosphaira vitifoliae*.

### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Булигіна Т. В., Яковлева Л. М., Броварська О. С., Варбанець Л. Д. Серологічні властивості та біологічна активність ліпополісахаридів *Pantoea agglomerans* // Мікробіол. журн. 2015. – 77, № 6. – С. 11–20.
2. Л. Д. Варбанец, О. С. Броварская, Т. Н. Булыгина, Е. Г. Гаркавая, Н. В. Житкевич. Характеристика липополісахаридов *Pantoea agglomerans* // Мікробіологія. – 2014. – 83, № 6. С. 656–666.
3. Лиманська Н. В., Іваниця В. О., Сергєєва Ж. Ю., Товкач Ф. І. Бактеріоциногенна активність штамів *Rhizobium vitis* і *Pantoea agglomerans*, виділених з рослин винограду // Мікробіологія і біотехнологія. – 2009. – № 4. – С. 26–32.
4. Evelien M. Adriaenssens, Pieter-Jan Ceysens, Vincent Dunon, Hans-Wolfgang Ackermann, Johan Van Vaerenbergh, Martine Maes, Maurice De Proft, Rob Lavigne Bacteriophages LIMelight and LIMEzero of *Pantoea agglomerans*, belonging to the “phiKMV-Like Viruses” // Appl. Environ. Microbiol. – 2011. – Vol. 77, № 10. – P. 3443–3450.
5. Rudi Emerson de Lima Procópio, Welington Luiz Araújo, Fernando Dini Andreote, João Lúcio Azevedo Characterization of a small cryptic plasmid from endophytic *Pantoea agglomerans* and its use in the construction of an expression vector // Genet. Mol. Biol. – 2011. – Vol. 34. – P. 103–109.



6. Aziz A., Biagianti S., Couderchet M. Characterization of new bacterial biocontrol agents *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Pantoea* and *Pseudomonas* spp. mediating grapevine resistance against *Botrytis cinerea* // Environmental and Experimental Botany. – 2008. – Vol. 64. – P. 21–32.

7. Berenbaum M. R., Haus M. J., Nabity P. D. Leaf-galling phylloxera on grapes reprograms host metabolism and morphology // National Academy of Sciences. – 2013. – Vol. 110, № 41. – P. 16663–16668.

8. Bisi D. C., Lampe D. J. Secretion of Anti-Plasmodium Effector Proteins from a Natural *Pantoea agglomerans* Isolate by Using PelB and HlyA Secretion Signals // Applied and environmental microbiology. – 2011. – Vol. 77, № 3. – P. 4669–4675.

9. Blaich R., Forneck A., Sonntag K., Vorwerk S. Application of current in situ hybridization techniques for grape phylloxera (*Daktulosphaira vitifoliae*, Fitch) and grapevine (*Vitis* spp. L.) // Vitis. – 2008. – Vol. 47, № 2. – P. 113–116.

10. Brady C. L., Cleenwerck I., Venter S.N. A FAFLP system for the improved identification of plant-pathogenic and plant-associated species of the genus *Pantoea* // Systematic and Applied Microbiology. – 2007. – Vol. 30. – P. 413–417.

11. Brady C.L., Cleenwerck I., Venter S.N. Emended description of the genus *Pantoea*, description of four species from human clinical samples, *Pantoea septica* sp. nov., *Pantoea eucrina* sp. nov., *Pantoea brenneri* sp. nov. and *Pantoea conspicua* sp. nov. // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 2010. – Vol. 60. – P. 2430–2440.

12. Brencic A., Winans S.C. Detection of and response to signals involved in host-microbe interactions by plant-associated bacteria // Microbiol. Mol. Biol. Rev. – 2005. – Vol. 69, № 1. – P. 155–194.

13. Bruez E., Haidar R., Alou M. T., Vallance J., Bertsch C., Mazet F., Fermaud M., Deschamps A., Guerin-Dubrana L., Compant S., Rey P. Bacteria in a wood fungal disease: characterization of bacterial communities in wood tissues of esca-foliar symptomatic and asymptomatic grapevines // Front Microbiol. – 2015. – Vol. 6. – P. 1137–1149.

14. Bulgari D., Casati P. Endophytic bacterial diversity in grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaves described by 16S rRNA gene sequence analysis and length heterogeneity-PCR // The Journal of Microbiology. – 2009. – Vol. 47, № 4. – P. 393–401.

15. Decré D., Delétoile A. Phylogeny and Identification of *Pantoea* Species and Typing of *Pantoea agglomerans* Strains by Multilocus Gene Sequencing // J. Clin. Microbiol. – 2009. – Vol. 47, № 2. – P. 300–310.

16. Dutkiewicz J., Mackiewicz B., Lemieszek M. K., Golec M., Skórska C., Góra-Florek A., Milanowski J. *Pantoea agglomerans*: a mysterious bacterium of evil and good. Part II – Deleterious effects: Dust-borne endotoxins and allergens – focus on grain dust, other agricultural dusts and wood dust // Annals of Agricultural and Environmental Medicine. – 2016. – Vol. 23, № 1. – P. 6–29.

17. Dutkiewicz J., Mackiewicz B., Kinga Lemieszek M., Golec M., Milanowski J. *Pantoea agglomerans*: a mysterious bacterium of evil and good. Part III. Deleterious effects: infections of humans, animals and plants // Annals of Agricultural and Environmental Medicine. – 2016(a). – Vol. 23, № 2. – P. 197–205.



18. Jacek Dutkiewicz, Barbara Mackiewicz, Marta Kinga Lemieszek, Marcin Golec, Janusz Milanowski *Pantoea agglomerans*: a mysterious bacterium of evil and good. Part IV. Beneficial effects // *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. – 2016(b). – Vol. 23, № 2. – P. 206–222.

19. Forneck A., Martinez-Torres D., Vorwerk S. *Pantoea agglomerans*-associated bacteria in grape phylloxera (*Daktulosphaira vitifoliae*, Fitch) // *Agricultural and Forest Entomology*. – 2007. – Vol. 9. – P. 57–64.

20. Yang J., Yu J., Jiang J., Liang C., Feng Y. D-tyrosine affects aggregation behavior of *Pantoea agglomerans* // *J. of Basic Microbiology*. – 2017. – Vol. 57, №2. – P. 184 – 189.

21. Kado C. I. *Erwinia* and Related Genera // *The Prokaryotes: Proteobacteria: Gamma Subclass*. – 2006. – Vol. 6. – P. 443–450.

22. Kulkarni G. B., Nayak A. S., Sajjan S. S., Oblesha A., Karegoudar T. B. Indole-3-acetic acid biosynthetic pathway and aromatic amino acid aminotransferase activities in *Pantoea dispersa* strain GPK // *Lett Appl Microbiol*. – 2013. – Vol. 56, №5. – P. 340–347.

23. Leveau H. J., Tecon, R. Symplasmata are a clonal, conditional, and reversible type of bacterial multicellularity // *Sci. Rep.* №6. – 2016.

24. Pieter De Maayer Wai-Yin Chan, Jochen Blom, Stephanus N. Venter, Brion Duffy, Theo H M Smits., Teresa A Coutinho. The large universal *Pantoea* plasmid LPP-1 plays a major role in biological and ecological diversification // *BMC Genomics*. – 2012. – Vol. 13. – P. 625–637.

25. Marike Palmer, Emma T. Steenkamp, Martin P.A. Coetzee, Jochen Blom, Stephanus N. Venter Genome-Based Characterization of Biological Processes That Differentiate Closely Related Bacteria // *Front Microbiol*. – 2018. – Vol. 9. – P. 113–136.

26. Reiher K., Sammer U.F., Spitteller D., Wensing A. Assessment of the relevance of the antibiotic 2-amino-3-(oxirane-2,3-dicarboxamido)-propanoyl-valine from *Pantoea agglomerans* biological control strains against bacterial plant pathogens // *MicrobiologyOpen*. – 2012. – Vol. 1. – P. 438–449.

27. Rezzonico F., Smits T. Genotypic comparison of *Pantoea agglomerans* plant and clinical strains // *BMC Microbiology*. – 2009. – Vol. 9, № 1. – P. 204.

28. Roach D. R., Sjaarda D. R., Sjaarda C. P., Ayala C. J., Howcroft B., Castle A. J., Svircev A. M. Absence of lysogeny in wild populations of *Erwinia amylovora* and *Pantoea agglomerans* // *Microbial Biotechnology*. – 2015. – Vol. 8, № 3. – P. 510–518.

29. Rosenblueth M., Romero E. M. Bacterial endophytes and Their Interactions with Hosts // *Molecular Plant-Microbe Interactions Journal*. – 2006. – Vol. 19, № 8. – P. 827–837.

30. Stavrínides J., Walterson A. *Pantoea*: insights into a highly versatile and diverse genus within the *Enterobacteriaceae* // *FEMS Microbiology Reviews*. – 2015. – Vol. 39. – P. 968–984.

31. Tindall B. J. The combination *Enterobacter agglomerans* is to be cited as *Enterobacter agglomerans* (Beijerinck 1888) Ewing and Fife 1972 and the combination *Pantoea agglomerans* is to be cited as *Pantoea agglomerans* (Beijerinck 1888) Gavini et al. 1989 // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. – 2014. – Vol. 64. – P. 3582–3583.



## References

1. *Bulygina TV, Yakovleva LM, Brovarska OS, Varbanets LD*. Serological properties and biological activity of lipopolysaccharides *Pantoea agglomerans* // *Microbiologic journal*. 2015. – 77, №6. – P. 11–20.
2. *Varbanets LD, Brovarska OS, Byligina, Garkovaya EG, NV Zhytkevich* Characteristics of lipopolysaccharides of *Pantoea agglomerans* // *Microbiology*. – 2014. – 83, №6. С. 656-666.
3. *Limanska NV, Ivanytsia VO, Sergeeva ZhYu, Tovkach FI* Bacteriocinogenic activity of strains *Rhizobium vitis* i *Pantoea agglomerans*, isolated from grape plant // *Microbiology and biotechnology*. – 2009. – № 4. – P. 26–32.
4. *Evelien M, Adriaenssens Pieter-Jan Ceysens, Vincent Dunon, Hans-Wolfgang Ackermann, Johan Van Vaerenbergh, Martine Maes, Maurice De Proft, Rob Lavigne* Bacteriophages LIMELight and LIMEzero of *Pantoea agglomerans*, belonging to the “phiKMV-Like Viruses”. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011; 77 (10): 3443–3450.
5. *Rudi Emerson de Lima Procópio, Welington Luiz Araújo, Fernando Dini Andreote, João Lúcio Azevedo* Characterization of a small cryptic plasmid from endophytic *Pantoea agglomerans* and its use in the construction of an expression vector. *Genet. Mol. Biol.* 2011; 34: 103–109.
6. *Aziz A, Biagianti S, Couderchet M*. Characterization of new bacterial biocontrol agents *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Pantoea* and *Pseudomonas spp.* mediating grapevine resistance against *Botrytis cinerea*. *Environmental and Experimental Botany*. 2008; 64: 21–32.
7. *Berenbaum MR, Haus MJ, Nabity PD*. Leaf-galling phylloxera on grapes reprograms host metabolism and morphology. *National Academy of Sciences USA*. 2013; 110 (№41):16663–16668.
8. *Bisi DC, Lampe DJ*. Secretion of Anti-Plasmodium Effector Proteins from a Natural *Pantoea agglomerans* Isolate by Using PelB and HlyA Secretion Signals. *Applied and environmental microbiology*. 2011; 77 (3): 4669–4675.
9. *Blaich R, Forneck A, Sonntag K, Vorwerk S*. Application of current in situ hybridization techniques for grape phylloxera (*Daktulosphaira vitifoliae*, Fitch) and grapevine (*Vitis spp.* L.). *Vitis*. 2008; 47 (2) : 113–116. Available at: <https://www.vitis-vea.de/admin/volltext/w1%2008%20897.pdf>
10. *Brady CL, Cleenwerck I, Venter SN*. A FAFLP system for the improved identification of plant-pathogenic and plant-associated species of the genus *Pantoea*. *Systematic and Applied Microbiology*. 2007; 30: 413–417.
11. *Brady CL, Cleenwerck I, Venter SN*. Emended description of the genus *Pantoea*, description of four species from human clinical samples, *Pantoea septica sp. nov.*, *Pantoea eucrina sp. nov.*, *Pantoea brenneri sp. nov.* and *Pantoea conspicua sp. nov.* *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2010; 60: 2430–2440.
12. *Brencic A, Winans SC*. Detection of and response to signals involved in host-microbe interactions by plant-associated bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2005; 69 (1): 155–194.
13. *Bruez E, Haidar R, Alou MT, Vallance J, Bertsch C, Mazet F, Fermaud M, Deschamps A, Guerin-Dubrana L, Compant S, Rey P*. Bacteria in a wood fungal





disease: characterization of bacterial communities in wood tissues of esca-foliar symptomatic and asymptomatic grapevines. *Front Microbiol.* 2015; 6: 1137–1149.

14. Bulgari D, Casati P. Endophytic bacterial diversity in grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaves described by 16S rRNA gene sequence analysis and length heterogeneity-PCR. *The Journal of Microbiology.* 2009; 47 (4) : 393–401.

15. Decré D, Delétoile A. Phylogeny and Identification of *Pantoea* Species and Typing of *Pantoea agglomerans* Strains by Multilocus Gene Sequencing. *J. Clin. Microbiol.* 2009; 47 (2):300–310.

16. Dutkiewicz J, Mackiewicz B, Lemieszek MK, Golec M, Skórska C, Góra-Florek A, Milanowski J. *Pantoea agglomerans*: a mysterious bacterium of evil and good. Part II – Deleterious effects: Dust- borne endotoxins and allergens – focus on grain dust, other agricultural dusts and wood dust. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine.* 2016; 23(1): 6–29.

17. Dutkiewicz J, Mackiewicz B, Kinga Lemieszek M, Golec M, Milanowski J. *Pantoea agglomerans*: a mysterious bacterium of evil and good. Part III. Deleterious effects: infections of humans, animals and plants. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine.* 2016; 23(2):197–205.

18. Jacek Dutkiewicz, Barbara Mackiewicz, Marta Kinga Lemieszek, Marcin Golec, Janusz Milanowski *Pantoea agglomerans*: a mysterious bacterium of evil and good. Part IV. Beneficial effects. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine.* 2016; 23(2): 206–222.

19. Forneck A, Martinez-Torres D, Vorwerk S. *Pantoea agglomerans*-associated bacteria in grape phylloxera (*Daktulosphaera vitifoliae*, Fitch). *Agricultural and Forest Entomology.* 2007; 9: 57–64.

20. Yang J, Yu J, Jiang J, Liang C, Feng Y. D-tyrosine affects aggregation behavior of *Pantoea agglomerans*. *J. of Basic Microbiology.* 2017; 57 (2): 184–189.

21. Kado CI. *Erwinia* and Related Genera. *The Prokaryotes: Proteobacteria: Gamma Subclass.* 2006; 6: 443–450.

22. Kulkarni GB, Nayak AS, Sajjan SS, Oblesha A, Karegoudar TB. Indole-3-acetic acid biosynthetic pathway and aromatic amino acid aminotransferase activities in *Pantoea dispersa* strain GPK. *Lett Appl Microbiol.* 2013; 56 (5): 340–347.

23. Leveau HJ, Tecon R. Symplasmata are a clonal, conditional, and reversible type of bacterial multicellularity. *Scientific Reports.* 2016; (6). Available at: <https://www.nature.com/articles/srep31914>

24. Pieter De Maayer Wai-Yin Chan, Jochen Blom, Stephanus N Venter, Brion Duffy, Theo H M Smits, Teresa A Coutinho. The large universal *Pantoea* plasmid LPP-1 plays a major role in biological and ecological diversification. *BMC Genomics.* 2012; 13: 625–637.

25. Marike Palmer, Emma T Steenkamp, Martin PA Coetzee, Jochen Blom, Stephanus N. Venter Genome-Based Characterization of Biological Processes That Differentiate Closely Related Bacteria. *Front Microbiol.* 2018; 9: 113–136.

26. Reiher K, Sammer UF, Spiteller D, Wensing A Assessment of the relevance of the antibiotic 2-amino-3-(oxirane-2,3-dicarboxamido)-propanoyl-valine from *Pantoea agglomerans* biological control strains against bacterial plant pathogens. *MicrobiologyOpen.* 2012; 1: 438–449.



27. Rezzonico F, Smits T. Genotypic comparison of *Pantoea agglomerans* plant and clinical strains . BMC Microbiology. 2009; 9(1): 204.

28. Roach DR, Sjaarda DR, Sjaarda CP, Ayala CJ, Howcroft B, Castle AJ, Svircev AM. Absence of lysogeny in wild populations of *Erwinia amylovora* and *Pantoea agglomerans*. Microbial Biotechnology. 2015; 8(3): 510–518.

29. Rosenblueth M, Romero EM. Bacterial endophytes and Their Interactions with Hosts. Molecular Plant-Microbe Interactions Journal. 2006; 19(8): 827–837.

30. Stavrinides J, Walterson A. *Pantoea*: insights into a highly versatile and diverse genus within the *Enterobacteriaceae*. FEMS Microbiology Reviews. 2015; 39: 968–984.

31. Tindall BJ. The combination *Enterobacter agglomerans* is to be cited as *Enterobacter agglomerans* (Beijerinck 1888) Ewing and Fife 1972 and the combination *Pantoea agglomerans* is to be cited as *Pantoea agglomerans* (Beijerinck 1888) Gavini et al. 1989. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2014; 64: 3582–3583.

Стаття надійшла до редакції 20.08.2018 р.

