



ЭКЗОПОЛИСАХАРИДЫ *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* — КРАТКИЙ ОБЗОР

Вершинина З.Р., Лавина А.М., Чубукова О.В.

Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Россия, 450054, Уфа, Проспект октября 71, E-mail: zilyaver@mail.ru

Резюме

Биопленки служат для многих бактерий физическим барьером от токсичных соединений и защитой от неблагоприятных условий окружающей среды. Кроме того, для клубеньковых бактерий (ризобий) биопленкообразование является фактором, определяющим конкурентоспособность штаммов ризобий в почвенных условиях. В этом процессе немаловажную роль играют экзополисахариды (ЭПС), биосинтез и функции которых для *Rhizobium leguminosarum* на сегодняшний день изучены недостаточно, в отличие, например, от *Sinorhizobium meliloti*. В данной статье рассмотрена основная информация о структуре и биосинтезе ЭПС у *R. leguminosarum*, описываются основные функции ЭПС, а также эксперименты с генами, связанными с синтезом ЭПС, с целью модификации биопленкообразования, в том числе для целей биотехнологии.

Ключевые слова: Экзопполисахариды, ЭПС, *Rhizobium leguminosarum*, ризобии, биопленки

Цитирование: Вершинина З.Р., Лавина А.М., Чубукова О.В. Экзопполисахариды *Rhizobium leguminosarum* — краткий обзор // Биомика. 2020. Т.12(1). С. 27-49. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-3

© Автор(ы)

EXOPOLYSACCHARIDES OF *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* — AN OVERVIEW

Vershinina Z.R., Lavina A.M., Chubukova O.V.

Institute of Biochemistry and Genetics - Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, 71 Prospect Oktyabrya, 450054, Ufa, Russia E-mail: zilyaver@mail.ru

Resume

For many bacteria, biofilms serve as a physical barrier against toxic compounds and protection against adverse environmental conditions. In addition, for nodule bacteria (rhizobia), biofilm formation is a factor determining the competitiveness of rhizobia strains in soil conditions. In this process, an important role is played by exopolysaccharides (EPS), the biosynthesis and functions of which for *Rhizobium leguminosarum* are currently insufficiently studied, unlike, for example, *Sinorhizobium meliloti*. This article discusses basic information about the structure and biosynthesis of EPS in *R. leguminosarum*, describes the main functions of EPS, as well as experiments with genes associated with the synthesis of EPS, with the aim of modifying biofilm formation, including for biotechnology.

Keywords: exopolysaccharides, EPS, *Rhizobium leguminosarum*, rhizobia, biofilm

Citation: Vershinina Z.R., Lavina A.M., Chubukova O.V. Exopolysaccharides of *Rhizobium leguminosarum* — an overview. *Biomics*. 2020. V.12(1). P. 27-49. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-3

© The Author(s)

Содержание	Стр.
Введение	28
Гены, участвующие в синтезе ЭПС у <i>R. leguminosarum</i>	29
Регуляция биосинтеза ЭПС в <i>R. leguminosarum</i>	31
Роль ЭПС в образовании биопленок <i>R. leguminosarum</i>	32
Роль ЭПС в бобово-ризобииальном симбиозе	33
ЭПС и биопленки ризобий в биоремедиации	33
Заключение	34
Литература	34
References	41

Content	Pages
Introduction	28
Genes involved in the synthesis of EPS in <i>R. leguminosarum</i>	29
Regulation of EPS biosynthesis in <i>R. leguminosarum</i>	31
The role of EPS in the formation of <i>R. leguminosarum</i> biofilms	32
The role of EPS in legume-rhizobial symbiosis	33
EPS and rhizobia biofilms in bioremediation	33
Conclusion	34
References (in Russian)	34
References	41

Введение

Ризобии - это граммотрицательные почвенные бактерии, принадлежащие к α - и β -протеобактериям, которые известны своей способностью формировать азотфиксирующие клубеньки в симбиозе с бобовыми растениями. Геном большинства ризобий состоит из хромосомы и нескольких плазмид. Гены, связанные с формированием симбиоза, обычно располагаются в одной из плазмид (так называемая, симбиотическая плазида или pSym) или в хромосоме в виде симбиотических островков [Long, 1996; Masson-Boivin et al., 2009]. Помимо pSym, другие части генома ризобий, в частности несимбиотические плазмиды, могут участвовать в формировании симбиотических взаимоотношений, кодируя дополнительные факторы, такие как белки-адгезины и поверхностные полисахариды, которые влияют на конкурентоспособность и развитие эффективного симбиоза, особенно в случае образования недетерминированных клубеньков [Downie, 2010; Gibson et al., 2008; Lopez-Guerrero et al., 2012; Skorupska et al., 2006; Wielbo et al., 2010; Wielbo et al., 2007].

Поверхность ризобииальных клеток содержит множество полисахаридов, таких как липополисахариды, капсулярные полисахариды, гелеобразующие полисахариды, экзополисахариды (ЭПС), К-антигены, циклические β -(1,2) глюкозы и глюкоманнаны [Janczarek, 2011; Laus et al., 2006; Skorupska et al., 2006]. ЭПС ризобий разнообразны и обычно штамм-специфичны. Они представляют собой гетерополимеры, состоящие из линейных или разветвленных повторяющихся единиц, содержащих моносахариды, такие как D-глюкоза, D-галактоза, D-манноза, L-рамноза, D-глюкуроновая кислота и D-

галактурановая кислота. Иногда моносахариды бывают замещены другими - не углеводными - группами (например, ацетил, пирувил, сукцинил и 3-гидроксипутаноил) [Canter Cremers et al., 1991; Laus et al., 2005; O'Neill et al., 1991; Robertsen et al., 1981]. Неоднородность экзополисахаридных структур, а также разнообразие гликозидных связей и степени полимеризации обуславливают сложность биосинтетического пути ЭПС [Janczarek, 2011].

Одним из наиболее изученных ризобииальных ЭПС является сукциногликан, продуцируемый различными штаммами *Sinorhizobium meliloti*, *Agrobacterium* и *Alcaligenes*. Структура сукциногликана, синтезируемого штаммами *S. meliloti* SU47, Rml021 и YE-2 изучена детально. Данный полимер состоит из октасахаридных повторяющихся единиц, содержащих 1 галактозный и 7 глюкозных остатков, соединенных β -1,3; β -1,4 и β -1,6 гликозидными связями. При этом в качестве заместителей в составе повторяющейся единицы могут быть ацетильные, пирувильные или сукцинильные группы [Gonzalez et al., 1996; Matulova et al., 1994; Mendrygal, Gonzalez, 2000]. Кроме сукциногликана, обычно обозначаемого ЭПС-1, штаммы *S. meliloti* могут продуцировать второй ЭПС, называемый галактоглюканом или ЭПС-2. ЭПС-2 содержит глюкозные и галактозные остатки в соотношении 1:1, соединенные α -1,3 and β -1,3 гликозидными связями. В его составе также могут присутствовать ацетильные и пирувильные группы [Ghosh, Maiti, 2016; Her et al., 1990; Rinaudi, Gonzalez, 2009; Sorroche et al., 2010]. ЭПС, продуцируемый штаммом *Rhizobium* sp. NGR234, сходен с сукциногликаном: повторяющиеся единицы этих ЭПС

практически идентичны, а в качестве заместителей обычно присутствуют ацетильные и пирувилльные остатки [Djordjevic et al., 1986; Staehelin et al., 2006]. Многие штаммы различных биотипов *R. leguminosarum* и *R. etli* имеют сходный состав наиболее часто синтезируемых ЭПС, хотя состав замещающих групп может быть различным [Ghosh, Maiti, 2016; Ivashina, Ksenzenko, 2012]. Штаммы *Bradyrhizobium japonicum* образуют ЭПС, содержащий глюкозу, маннозу, галактозу, глюкуроновую кислоту и 4-О-метилглюкозу, тогда как *B. elkanii* продуцирует ЭПС, состоящий из рамнозы и 4-О-метилглюкуроновой кислоты [Becker et al., 1998; Bomfeti et al., 2001; Karg et al., 2000]. Также интересен факт, что некоторые штаммы ризобий образуют формы ЭПС, различающиеся по молекулярной массе. Так две формы - высокомолекулярные полимеры и низкомолекулярные олигосахариды — выделены из культуральных жидкостей *S. meliloti* [Rinaudi, Gonzalez, 2009], *Rhizobium* sp. NGR234 [Staehelin et al., 2006], *R. leguminosarum* bv. *trifolii* [Ciesla et al., 2016], *Rhizobium* sp. GRH2 [Lopez-Lara et al., 1993], *B. japonicum* [Louch, Miller, 2001]. Несмотря на большое количество работ, посвященных влиянию различных генов на состав и молекулярную массу ЭПС, все еще не найдено эффективных способов модификации синтеза ЭПС в ризобияльных клетках с целью дальнейшего прикладного применения трансформированных штаммов. Большинство статей описывают мутантные штаммы, в которых экспрессия тех или иных генов, участвующих в биосинтезе ЭПС, заблокирована. Зачастую подобные штаммы теряют свою конкурентоспособность и не могут вступать в полноценные симбиотические взаимоотношения. В связи с этим исследования в области усиления производства ЭПС, а также изменения состава ЭПС ризобий несомненно актуальны и открывают не только новые перспективы в области биотехнологии, но и позволят принести новые фундаментальные знания об основах регуляции продукции экзополисахаридов у клубеньковых бактерий.

Гены, участвующие в синтезе ЭПС у *R. leguminosarum*

Знания о биосинтезе ЭПС были получены в результате всесторонних исследований сукциногликана, производимого *S. meliloti* и, в меньшей степени, из исследований синтеза ЭПС в *R. leguminosarum* [Janczarek, 2011; Ivashina, Ksenzenko, 2012]. Если говорить кратко, то гены, участвующие в биосинтезе экзополисахаридов, многочисленны и формируют крупные кластеры, расположенные либо в хромосоме, либо в мегаплазмидах [Finan et al., 2001; González et al., 2006; Król et al., 2007; Young et al., 2006]. Генетический контроль биосинтеза ЭПС в *R. leguminosarum* был лишь частично раскрыт во время исследования функций группы генов, названных *pss*

гены (от англ. «polysaccharide synthesis»). У *R. leguminosarum* основной набор генов биосинтеза ЭПС (более 20 генов) образует кластер *Pss-I* в хромосоме [González et al., 2006; Król et al., 2007; Young et al., 2006]. Область *Pss-I* содержит гены, кодирующие белки, ответственные за синтез субъединиц ЭПС (за исключением *pssA*, который кодирует белок, ответственный за добавление глюкозо-1-фосфата к полипренилфосфату на первой стадии синтеза ЭПС [Janczarek, Rachwał, 2013; Król et al., 1998] и гены, продукты которых ответственны за сборку и транспорт ЭПС [Mazur et al., 2002; Mazur et al., 2003; Mazur et al., 2005; Marczak et al., 2006].

Кластер *Pss-I* очень консервативен и практически идентичен у *R. leguminosarum* bv. *trifolii* и *viciae*, а также *Rhizobium etli*. Подобная консервативность обычно не является случайным признаком, и, скорее всего, дает адаптивное преимущество бактериальной клетке [Guerrero et al., 2005]. Таким образом, объединение основного набора генов *EPS* в кластер, вероятно, отражает их скоординированную экспрессию и регуляцию, осуществляемое как на транскрипционном, так и на посттранскрипционном уровнях, в зависимости от многочисленных факторов окружающей среды (включая свет), а также скорости роста и различных стрессовых воздействий [Janczarek, 2011; Bonomi et al., 2012; Cieśla et al., 2016; Mendrygal et al., 2000].

До недавнего времени в кластере *Pss-I* *R. leguminosarum* были идентифицированы лишь два гена *exoB* и *exo5*, ответственные за синтез предшественников ЭПС. *exoB* кодирует УДФ-глюкозо-4-эпимеразу, необходимую для синтеза УДФ-галактозы, которая является донором этого сахара в синтезе ЭПС и других полисахаридов, содержащих галактозу [Canter Cremers et al., 1990; Sánchez-Andújar et al., 1997]. Мутант *exoB* продуцирует ЭПС без остатков галактозы и практически не способен проникать в корни растений. Также было выявлено, что данный мутант формирует дефектные клубеньки. Ген *exo5* кодирует УДФ-глюкозодегидрогеназу, которая отвечает за превращение УДФ-глюкозы в УДФ-глюкуроновую кислоту. Мутант *exo5* характеризуется изменениями в составе бактериальной клеточной стенки и нарушениями при формировании симбиоза [Laus et al., 2004]. Этот мутант не способен синтезировать ни УДФ-глюкуроновую, ни УДФ-галактуриновую кислоты, и, как следствие, не производит ни ЭПС, ни капсулярных полисахаридов, а в его липополисахаридах не хватает галактуриновой кислоты [Laus et al., 2004, Muszyński et al., 2011].

Большинство генов кластера *Pss-I* кодируют белки-гликозилтрансферазы. На сегодняшний день мало информации о функциях данных белков в

ризобиях [Lombard et al., 2014], однако функции нескольких гликозилтрансфераз, кодируемых внутри и за пределами кластера Pss-I в *R. leguminosarum* bv. *trifolii* были исследованы. Среди них наиболее изученным является гликозил-изопренилфосфат трансфераза PssA, инициализирующая синтез ЭПС путем переноса остатка глюкозы на полипренилфосфат [Janczarek, Rachwał, 2013; Janczarek, Skorupska, 2003]. *pssA* является очень консервативным геном, присутствующим во всех видах *R. leguminosarum* [van Workum et al., 1997; Borthakur et al., 1988; Ivashina et al., 1994; Janczarek, Skorupska, 2003], а также в других близкородственных видах, таких как *Rhizobium etli* и *Rhizobium gallicum* [Janczarek et al., 2009]. Существует также гипотеза об участии PssA в регуляции длины ЭПС [Janczarek, Skorupska, 2003]. Мутации в гене *pssA* полностью блокируют биосинтез ЭПС и приводят к формированию пустых (без бактерий) клубеньков на корнях растений-хозяев, которые в норме образуют клубеньки недетерминированного типа (клевер, горох и вика) [Rolfe et al., 1996; van Workum et al., 1997; Janczarek et al., 2009]. Транскрипция *pssA* ex planta находится на очень низком уровне, что говорит о том, что экспрессия данного ключевого для синтеза ЭПС гена находится под строгой регуляцией [Janczarek и Skorupska, 2004]. Кроме того, экспрессия *pssA* находится на очень низком, почти неопределяемом уровне внутри клубеньков [Latchford et al., 1991; Mimmack et al., 1994a; Mimmack et al., 1994b].

На последующих этапах сборки ЭПС участвуют белки, кодируемые другими генами *pss*, расположенными в кластере Pss-I. В частности глюконозил-β-1,4-гликозилтрансфераза PssDE переносит глюконовую кислоту на глюкозу, а другой остаток глюконовой кислоты переносится глюконозил-β-1,4-глюконозилтрансферазой PssC. Мутации в генах, кодирующих данные гликозилтрансферазы, могут привести к полному ингибированию синтеза ЭПС или снижению уровня синтеза, как в случае мутанта с дефектным геном *pssC*. Возможно, мутация *pssC* не блокирует полностью биосинтез ЭПС, так как функции соответствующей гликозилтрансферазы дублируются другим белком [Marczak et al., 2017]. Ферменты, участвующие в последующих стадиях синтеза субъединиц ЭПС, подробно не исследовались. Весьма вероятно, что некоторые из *pss*-генов, расположенных в кластере Pss-I, кодируют также гликозилтрансферазы (*pssF*, *pssG*, *pssH*, *pssI*, *pssJ* и *pssS*) [Janczarek, 2011; Król et al., 2007, Sadykov et al., 1998]. Другие *pss*-гены, присутствующие в этом кластере, такие как *pssR*, кодирующий предположительно ацетилтрансферазу и *pssM*, кодирующий кеталь-пируваттрансферазу, наиболее вероятно участвуют в добавлении

неуглеводных заместителей к субъединицам ЭПС. Недавно была подтверждена роль гена *pssM* в модификации ЭПС и симбиозе *R. leguminosarum* с растениями гороха. Мутация этого гена приводила к формированию не фиксирующих азот клубеньков из-за нарушения процессов образования бактериоидов [Ivashina et al., 2010]. Эти данные показали, что экспрессия *pssM* у *R. leguminosarum* имеет решающее значение для формирования и развития симбиоза [Janczarek et al., 2011].

Также в *R. leguminosarum* bv. *viciae*, был идентифицирован ген *exo-344*, кодирующий гликозилтрансферазу, ответственную за добавление галактозного остатка, которая, возможно, задействована на последних этапах сборки субъединиц ЭПС [Breedveld et al., 1993]. Мутант *exo-344* демонстрирует фенотип, очень похожий на *exoB*-мутант, поскольку он продуцирует субъединицы, не имеющие терминальной галактозы.

Несмотря на, казалось бы, большое количество работ, посвященных изучению гликозилтрансфераз, механизмы действия, субстратная специфичность, доменная структура и взаимодействия между гликозилтрансферазами и другими белками остаются все еще не раскрытыми [Marczak et al., 2017].

Полимеризация и выделение ЭПС на поверхность клетки осуществляются системой секреции, состоящей, по меньшей мере, из трех белков, кодируемых генами *pssT*, *pssN* и *pssP*, образующих оперон *pssTNOP* [Król et al., 2007]. Белок PssP является основным компонентом данной системы [Mazur et al., 2002]. Делеция *pssP* полностью отменяет продукцию ЭПС в *R. leguminosarum*. PssT представляет собой интегральный белок внутренней мембраны, мутация в этом гене приводит к перепроизводству ЭПС [Mazur et al., 2003]. Третий компонент этой системы секреции, липопротеин PssN, является наружным мембранным белком, N-концевая сигнальная последовательность которого направлена в периплазматическое пространство [Marczak et al., 2006]. Кроме того, высказано предположение, что белок PssL может быть одним из компонентов вышеописанной системы секреции [Mazur et al., 2005].

Ген *pssO* - другой ген оперона *pssTNOP* кодирует белок, найденный лишь в *R. leguminosarum* и *R. etli*, который выделяется бактериями наружу, но остается прикрепленным к клеткам [Marczak et al., 2008]. Мутанты *pssO* не продуцируют ЭПС и образуют на растениях клевера клубеньки, не способные к фиксации азота, что указывает на важность белка PssO для синтеза и/или переноса ЭПС.

Помимо генов *pss*, описанных выше, другие гены, необходимые для синтеза ЭПС также находятся в кластере Pss-I. К ним относятся гены *plyA* и *prsDE*,

расположенные близко к *pssCDE* [Król et al., 2007]. Гены *prsDE* кодируют компоненты системы секреции белка типа I, который характерен для всех видов *R. leguminosarum*, а также *R. etli*, *S. meliloti* и *Agrobacterium tumefaciens* [Downie, 2010]. Эта система секреции проявляет атипично широкую субстратную специфичность, экспортируя по меньшей мере 13 веществ, среди которых глюканазы (PlyA, PlyB и PlyC), ризобияльные адгезионные белки (RapA2, RapB и RapC) и белок NodO [Finnie et al., 1997; Finnie et al., 1998; Ausmees et al., 1991; Krehenbrink, Downie, 2008]. Гликозилгидролазы PlyA и PlyB расщепляют ЭПС, влияя на их процессинг [Krehenbrink, Downie, 2008; Zorreguieta et al., 2000]. Мутант *prsD* продуцирует ЭПС с более высокой степенью полимеризации, чем штамм дикого типа, и вызывает образование большого количества клубеньков, не способных к фиксации азота [Finnie et al., 1997].

Регуляция биосинтеза ЭПС в *R. leguminosarum*

Данные о регуляции биосинтеза ЭПС в *R. leguminosarum* очень фрагментарны. До сих пор было описано лишь несколько регуляторных генов, участвующих в этом процессе. К ним относятся два гена *psiA* и *psrA*, расположенные на симбиотической мегаплазмиде (pSym), и гены *exoR*, *pssB*, *rosR* и *expr*, расположенные на хромосоме *R. leguminosarum* [Mimmack et al., 1994a; Mimmack et al., 1994b; Borthakur, Johnston, 1987; Reeve et al., 1997; Janczarek et al., 1999; Janczarek, Skorupska, 2007; Edwards et al., 2009].

psiA (ген ингибирования синтеза полисахарида) и *psrA* (ген стимулирования синтеза полисахарида) были впервые обнаружены на pSym *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*, недалеко от утатсков *nod-nif*, участвующих в образовании клубеньков и фиксации азота [Borthakur, Johnston, 1987]. Хотя мутация в *psiA* не влияют на синтез ЭПС, дополнительные копии этого гена полностью ингибируют синтез ЭПС и предотвращают образование клубеньков на растениях фасоли [Latchford et al., 1991; Mimmack et al., 1994a, Mimmack et al., 1994b, Borthakur, Johnston, 1987]. Ингибирующий эффект дополнительных копий *psiA* преодолевается при наличии нескольких копий *psrA* или *pssA* генов [Latchford et al., 1991; Mimmack et al., 1994a]. Это указывает на то, что для правильной продукции ЭПС требуется сбалансированное количество копий *psiA*, *pssA* и *psrA*. *psiA*, скорее всего, функционирует как посттрансляционный ингибитор *PssA* [Janczarek, 2011].

Второй регулятор *PsrA*, который принадлежит к семейству регуляторов транскрипции, подавляет транскрипцию *psiA* [Mimmack et al., 1994b; Borthakur, Johnston, 1987]. Мутант *psrA* продуцирует уменьшенное количество ЭПС по сравнению с

штаммом дикого типа, что указывает на положительное влияние этого гена на синтез ЭПС. Штаммы с несколькими копиями генов *psrA* и *psiA* вызывают образование на растениях клубеньков, не способных фиксировать азот. Эти данные свидетельствуют о том, что *psiA*, скорее всего, ингибирует продукцию ЭПС в клубеньках, непосредственно блокируя экспрессию гена *psrA*. Гены *psiA* и *psrA* были идентифицированы исключительно на плазмиде pSym *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*, что указывает на то, что этот регуляторный механизм специфичен только для этого биотипа [Janczarek et al., 2009; Borthakur, Johnston, 1987].

Производство ЭПС в *R. leguminosarum* также отрицательно регулируется. *exoR* мутант *R. leguminosarum* bv. *viciae* производит в 3 раза больше ЭПС, чем штамм дикого типа [Reeve et al., 1997], однако он индуцирует как эффективные, так и не фиксирующие азот клубеньки на растениях гороха [Janczarek, 2011].

Ген *pssB*, по-видимому, участвует в отрицательной регуляции синтеза ЭПС, однако его точная роль в этом процессе не установлена. Мутант *pssB* продуцирует больше ЭПС, чем дикий тип, и вызывает образование не фиксирующих азот клубеньков на клевере и вике [Janczarek et al., 1999; Ivashina et al., 1996; Kutkowska et al., 2007], тогда как дополнительные копии этого гена приводят к остановке производства ЭПС [Janczarek, Skorupska, 2001]. *pssB* кодирует белок, принадлежащий к семейству фосфатаз инозитолмонофосфатов, присущих как прокариотическим, так и эукариотическим организмам [Kutkowska et al., 2007; Janczarek, Skorupska, 2001]. В клетках млекопитающих эти ферменты ответственны за превращение инозитолмонофосфата в инозитол, но их роль в метаболизме ризобий не ясна. *PssB*, видимо, участвует в поддержании высокого уровня иноzitола как в бактериоидах, так и в клубеньках. С другой стороны, катаболизм инозитола важен для выживания и конкурентоспособности ризобий, что имеет решающее значение для успешного становления симбиоза [Janczarek, Skorupska, 2001].

Недавно в хромосоме *R. leguminosarum* bv. *trifolii* был найден ген *rosR*, который, по-видимому, играет ключевую роль в регуляции синтеза ЭПС [Janczarek, Skorupska, 2007]. Этот ген очень консервативен и присутствует в геномах всех штаммов, принадлежащих трем биоварам *R. leguminosarum* и близкородственным видам *R. etli* и *R. gallicum* [Janczarek et al., 2009; Bittinger et al., 1997]. Также *rosR* *R. leguminosarum* имеет значительное сходство с *rosA. tumefaciens* [Chou et al., 1998], *rosAR A. radiobacter* [Hussain, Johnston, 1997] и *mucR S. meliloti* [Keller et al., 1995]. Все эти гены кодируют

регуляторы транскрипции, принадлежащие к семейству белков Ros/MucR, которые участвуют в регуляции синтеза ЭПС. Исследования показали, что RosR *R. etli* влияет на экспрессию многих генов, в том числе тех, которые ответственны за синтез и модификацию полисахаридов (*exoB*, *prsD*, *pssK* и *plyA*) [Bittinger, Handelsman, 2000]. Мутация в *rosR* *R. leguminosarum* bv. *trifolii* приводит к существенному снижению синтеза ЭПС, тогда как дополнительные копии этого гена приводят к почти двукратному увеличению [Janczarek et al., 2009; Janczarek, Skorupska, 2007], что указывает на то, что *rosR* функционирует как положительный регулятор производства ЭПС. Также показано, что мутация *rosR* *R. leguminosarum* bv. *trifolii* приводит к снижению эффективности колонизации корневых волосков клевера данными бактериями, однако, несколько копий гена *rosR* значительно повышают конкурентоспособность ризобий и эффективность образования клубеньков, подтверждая ключевую роль *rosR* в симбиозе [Janczarek et al., 2009].

Уровень экспрессии гена *rosR* зависит от различных факторов окружающей среды [Janczarek, Skorupska, 2007; Janczarek, Skorupska, 2009; Janczarek, Skorupska, 2011]. В присутствии глюкозы транскрипция *rosR* значительно снижается, что указывает на регуляцию экспрессии данного гена путем катаболической репрессии [Janczarek, Skorupska, 2009]. Кроме того, транскрипция *rosR* увеличивается в присутствии корневых экссудатов клевера и активатора NodD [Janczarek, Skorupska, 2011]. Синтез ЭПС в *R. leguminosarum* зависит от концентрации фосфатов, аммония, растительных флавоноидов и вида источника углерода [Janczarek, Skorupska, 2009; Janczarek, Skorupska, 2011; Wielbo, Skorupska, 2008]. Увеличение синтеза ЭПС в присутствии флавоноидов, глицерина и при ограниченном количестве фосфора опосредуется *rosR*, чья транскрипция также значительно возрастает в этих условиях. Это, по-видимому, связано с положительной регуляцией RosR экспрессии *pssA* [Janczarek, Skorupska, 2007] и репрессией экспрессии генов *exoR* и *pssB*, подавляющих синтез ЭПС [Janczarek, 2011]. Возможно, тот факт, что корневые экссудаты, недостаток фосфатов и аммония также влияют на транскрипцию некоторых *pss*-генов (*pssA*, *pssB*, *pssO* и *pssP*), также опосредован работой *rosR* [Janczarek et al., 2009; Wielbo et al., 2004].

Исследования показали в большинстве случаев положительный эффект флавоноидов и продуктов *nod*-генов на производство ЭПС в *R. leguminosarum* и *S. meliloti*, что предполагает непосредственное участие ЭПС в «молекулярном диалоге» между растением и ризобиями [Овцына, Тихонович (Ovtsyna, Tikhonovich), 2004]. Однако

положительное влияние флавоноидов на продукцию ЭПС не так однозначно. Например, воздействие генистеина - эффективного индуктора *nod*-генов - приводит к снижению выработки ЭПС в *S. fredii* HN103. С другой стороны, сверхэкспрессия гена *nolR*, регулирующего работу *nod*-генов, оказывает положительное влияние на синтез ЭПС в этом штамме [Vinardell et al., 2004; Chen et al., 2005].

Роль ЭПС в образовании биопленок *R. leguminosarum*

Подобно другим бактериальным ЭПС, ризобийные ЭПС играют важную роль в образовании биопленок, формируя матрикс, служащий физическим барьером от токсичных соединений и защищающий от неблагоприятных условий окружающей среды [Rinaudi, Giordano, 2010]. Мутация в *pssA* *R. leguminosarum*, ключевом гене для синтеза ЭПС, полностью блокирует производство этого полисахарида и образование биопленок. Кроме того, для формирования биопленок очень важен размер ЭПС. Это подтверждается тем фактом, что мутанты по генам *prsD*, *prsE*, *plyB* и *plyBplyA*, которые производят более длинные ЭПС, чем дикие штаммы, не могут эффективно формировать биопленки [Russo et al., 2006]. Также показано, что штаммы с мутациями в генах *prsD* и *prsE*, кодирующих компоненты PrsD-PrsE системы секреции, способны образовывать только незрелые биопленки. Кроме того, мутации в генах *plyA* и *plyB*, которые кодируют глюканазы, расщепляющие ЭПС, замедляют образование биопленок, а образованные биопленки обладают атипичной структурой. Мутации в *rosR* приводят к образованию биопленок, которые в значительной мере отличаются от биопленок, образуемых диким штаммом, несовершенством структуры и снижением жизнеспособности клеток, что подтверждает важную роль *rosR* в формировании биопленок [Janczarek et al., 2010; Janczarek, Skorupska, 2011].

Кроме того, образование биопленок у *R. leguminosarum* регулируется количеством питательных веществ и стрессовыми факторами. Концентрации фосфатов и аммония, тип источника углерода и присутствие флавоноидов растений, несомненно, влияют на эффективность формирования биопленок [Janczarek, Skorupska, 2011]. Частично это связано с изменением в количестве вырабатываемых при данных условиях ЭПС. Помимо ЭПС, в созревании биопленок также участвуют другие полисахариды и клеточные компоненты ризобий, например Nod-факторы, жгутики и пили, что указывает на сложность данного процесса [Rinaudi, Giordano, 2010]. Было показано, что мутации в генах *celA* (участвует в синтезе целлюлозы) и *gmsA* (участвует в синтезе глюкоманнана) у *R. leguminosarum* приводят к ингибированию образования биопленок на корневых волосках

растений, хотя образование биопленок *in vitro* происходит без отклонений, что подтверждает значительную роль данных полисахаридов в симбиотических взаимодействиях. [Janczarek et al., 2009; Janczarek, 2011].

Роль ЭПС в бобово-ризобальном симбиозе

Хотя существует достаточно много исследований, где рассматриваются роли ЭПС в симбиозе, до полного понимания функций ЭПС в формировании и функционировании симбиотических систем еще далеко. Было показано, что качество и количество полисахаридов, особенно ЭПС и липополисахаридов, вырабатываемых ризобиями, могут влиять как на их агглютинацию этих бактерий, так и на образование биопленок на поверхности корней растений, что играет решающую роль на начальных этапах симбиоза [Rinaudi, González, 2009; Sorroche et al., 2012; Bogino et al., 2013; Fujishige et al., 2006]. Роли ЭПС на начальных этапах симбиоза преимущественно изучались на примере *Sinorhizobium meliloti* и *Rhizobium leguminosarum*. Мутанты, которые не производили ЭПС, могли вызывать скручивания корневых волосков, но не образовывали инфекционных нитей и клубеньков [Skorupska et al., 2006; Jones et al., 2007; Cheng H.P., Walker, 1998; Leigh et al., 1985; Rolfe et al., 1996; Battisti et al., 1992; Pellock et al., 2000; Wang et al., 1999]. Также показано, что ЭПС принимают участие в различных этапах развития инфекционной нити, бактериоидов и подавлении иммунного ответа растения-хозяина [Kelly et al., 2013; Frayse et al., 2003, Brewin, 2004, Ивашина и Ксененко, 2012, D'Haese et al., 2004, Wielbo et al., 2004]. Также было выявлено положительное влияние штамма *R. leguminosarum*, которые вырабатывал большее количество экзополисахарида с более высокой степенью полимеризации, чем штамм дикого типа, на биомассу растений клевера [Mazur et al., 2003; Marczak et al., 2013]. Существует несколько работ, которые были посвящены специфичности бобово-ризобального симбиоза, обусловленного структурой ЭПС [Kawaharada et al., 2015; Kawaharada et al., 2017]. Было высказано предположение, что количество ЭПС, вырабатываемых ризобиями, связано с оптимизацией взаимодействия микросимбионта с макросимбионтом [Jones, 2012]. Таким образом, ЭПС это один из ключевых факторов для достижения успешного взаимодействия между симбиотическими партнерами [Downie, 2010; Ghosh, Maiti, 2016; Skorupska et al., 2006].

ЭПС и биопленки ризобий в биоремедиации

Биоремедиация представляет собой устранение, обезвреживание или перевод в менее токсичную форму эксуполлютантов с помощью биологических процессов. Данный метод достаточно

часто применяют в случаях загрязнения почв тяжелыми металлами (ТМ), используя микроорганизмы и растения для восстановления биологической продуктивности экосистемы [Singh et al., 2006, Lynch, Moffat, 2005].

У бактерий существуют различные механизмы для преодоления токсичного действия ТМ, включая процессы пассивной адсорбции на поверхности клеток, ионный обмен, комплексообразование, хелатирование и осаждение. Бактериальные полисахариды (в том числе и ЭПС) являются одними из метаболитов, которые принимают непосредственное участие в связывании ТМ [Ledin, 2000; Nocelli et al., 2016]. Будучи полианионным по своей природе, ЭПС образуют комплексы с катионами металлов, что приводит к их иммобилизации. Более того, ферментативная активность ЭПС также способствует детоксикации ТМ путем трансформации и последующего осаждения [Pal, Paul, 2008].

Участью ЭПС различных бактерий в детоксикации ТМ посвящено достаточно много статей [Flemming, Wingender, 2001; Kazy et al., 2002; González et al., 2010; Joshi et al., 2012], однако ЭПС ризобий в этом плане изучались очень мало. Данный факт является досадным упущением, во-первых, из-за пагубного воздействия ТМ на симбиотические процессы, что требует дальнейшего изучения формирования устойчивости ризобий и растений к ТМ, во-вторых, из-за, несомненно, большого потенциала бобово-ризобального симбиоза в фиторемедиации [Younis, 2007; Белимов, Тихонович (Belimov, Tikhonovich), 2011]. Среди работ, посвященных полисахаридам ризобий и различным металлам, можно упомянуть статьи про осаждение металлических катионов экзополисахаридами из штаммов *Bradyrhizobium* [Corzo et al., 1994], связывание ионов марганца, свинца, цинка и меди капсулярными полисахаридами из *Rhizobium etli* [Foster et al., 2000; Pulsawat et al., 2003], образование комплексов с кадмием внеклеточными полимерными веществами из *S. meliloti* [Slaveykova et al., 2010], устойчивость *Rhizobium* к высоким концентрациям алюминия, опосредуемая производством ЭПС [Avelar Ferreira et al., 2012], и использование ЭПС *S. meliloti* для очищения сточных вод от оксида хрома [Szewczuk-Karpisz et al., 2014]. Также было показано, что ЭПС, выделенные из *B. japonicum* USDA110 и *B. elkanii* USDA76, эффективно связывают ионы магния [Osińska-Jaroszuk et al., 2018], ЭПС *S. meliloti* обеспечивает устойчивость штаммов этих бактерий к ртути и мышьяку [Nocelli et al., 2016], а ЭПС *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* защищает от избытка цинка бактерии как в свободно живущем состоянии, так и на различных этапах симбиотических взаимодействий [Корусиńska et al., 2018].

Образование биопленок бактериями повышает эффективность биоремедиации, поскольку биопленка обеспечивает адаптацию бактерий к неблагоприятным условиям среды и повышает шансы на выживание [Donlan, 2002; Costerton et al., 1995; Singh et al., 2006]. Так биопленка поддерживает оптимальный уровень pH, концентрацию растворенных веществ и редокс-потенциал, что позволяет клеткам эффективно проводить процессы минерализации [Singh et al., 2006]. Биопленки бактерий обычно используются для сорбции углеводов и ТМ из больших объемов разбавленных водных растворов, таких как промышленные и бытовые сточные воды [Singh et al., 2006; Singh, Cameotra, 2004; Vu et al., 2009].

Образование биопленок ризобиями в ответ на воздействие ТМ, в основном, обусловлено повышением синтеза ЭПС, однако, по всей видимости, это не единственный фактор. Так кадмий положительно влияет на формирование биопленок бактерией *Rhizobium alarii* [Schue et al., 2011], но при этом не наблюдается повышение выработки ЭПС. Высокие концентрации железа способствуют образованию биопленки *S. meliloti* на абиотических поверхностях, что экспериментаторы объясняют изменениями в работе генов регуляторов уровня железа и метаболизма жирных кислот [Amaya-Gómez et al., 2015]. В экспериментах с *S. meliloti* ртуть и мышьяк способствовали формированию биопленок, что было опосредовано увеличением выработки ЭПС [Nocelli et al., 2016]. Тот же фактор способствовал формированию биопленок *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* в присутствии повышенных концентраций цинка [Korucińska et al., 2018].

Заключение

Таким образом, исследования, посвященные фундаментальным основам регуляции производства ЭПС штаммами ризобий и формированию биопленок, в том числе при воздействии токсичных концентраций ТМ, несомненно, важны, как для создания эффективных симбиотических систем для сельского хозяйства, так и для применения растительно-микробных симбиозов в биоремедиации.

Литература

1. Белимов А.А., Тихонович И.А. Микробиологические аспекты устойчивости и аккумуляции тяжелых металлов у растений (обзор) // Сельскохозяйственная биология. 2011. № 3. С. 10-15.
2. Овцына А. О., Тихонович И. А. Структура, функции и возможность практического применения сигнальных молекул, инициирующих развитие бобово-ризобияльного симбиоза // Экологическая генетика. 2004. Т. 2(3). С. 14-24.

3. Amaya-Gomez C.V., Hirsch A.M., Soto M.J. Biofilm formation assessment in *Sinorhizobium meliloti* reveals interlinked control with surface motility // BMC microbiology. 2015. V. 15(1). P. 58. doi:10.1186/s12866-015-0390-z
4. Ausmees N., Jacobsson K., Lindberg M. A unipolarly located, cell-surface-associated agglutinin, RapA, belongs to a family of *Rhizobium*-adhering proteins (Rap) in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* // Microbiology. 2001. V. 147(3). P. 549-559. doi:10.1099/00221287-147-3-549
5. Battisti L., Lara J.C., Leigh J.A. Specific oligosaccharide form of the *Rhizobium meliloti* exopolysaccharide promotes nodule invasion in alfalfa // Proceedings of the National Academy of Sciences. 1992. V. 89(12). P. 5625-5629. doi:10.1073/pnas.89.12.5625
6. Becker B.U., Kosch K., Parniske M., Müller P. Exopolysaccharide (EPS) synthesis in *Bradyrhizobium japonicum*: sequence, operon structure and mutational analysis of an exo gene cluster // Molecular and General Genetics MGG. 1998. V. 259 (2). P. 161-171. doi:10.1007/s004380050801
7. Bittinger M.A., Handelsman J. Identification of genes in the *RosR* regulon of *Rhizobium etli* // Journal of Bacteriology. 2000. V. 182(6). P. 1706-1713. doi: 10.1128/jb.182.6.1706-1713.2000
8. Bittinger M.A., Milner J.L., Saville B.J., Handelsman J. *rosR*, a determinant of nodulation competitiveness in *Rhizobium etli* // Molecular plant-microbe interactions. 1997. V. 10(2). P. 180-186. doi:10.1094/MPMI.1997.10.2.180
9. Bogino P., Oliva M., Sorroche F., Giordano W. The role of bacterial biofilms and surface components in plant-bacterial associations // International journal of molecular sciences. 2013. V. 14(8). P. 15838-15859. doi:10.3390/ijms140815838
10. Bomfeti C.A., Florentino L.A., Guimarães A.P., Cardoso P.G., Guerreiro M.C., Moreira F.M.D.S. Exopolysaccharides produced by the symbiotic nitrogen-fixing bacteria of leguminosae // Revista Brasileira de Ciencia do Solo. 2011. V. 35 (3). P. 657-671. doi:10.1590/S0100-06832011000300001
11. Bonomi H.R., Posadas D.M., Paris G., del Carmen Carrica M., Frederickson M., Pietrasanta L.I., Bogomolni R.A., Zorreguieta A., Goldbaum F. A. Light regulates attachment, exopolysaccharide production, and nodulation in *Rhizobium leguminosarum* through a LOV-histidine kinase photoreceptor // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2012. V. 109(30). P. 12135-12140. doi:10.1073/pnas.1121292109
12. Borthakur D., Johnston A.W.B. Sequence of *psi*, a gene on the symbiotic plasmid of *Rhizobium*

- phaseoli* which inhibits exopolysaccharide synthesis and nodulation and demonstration that its transcription is inhibited by *psr*, another gene on the symbiotic plasmid // *Molecular and General Genetics MGG*. 1987. V. 207(1) P. 149-154. doi:10.1007/bf00331502
13. Borthakur D., Barker R.F., Latchford J.W., Rossen L., Johnston A.W.B. Analysis of *pss* genes of *Rhizobium leguminosarum* required for exopolysaccharide synthesis and nodulation of peas: their primary structure and their interaction with *psi* and other nodulation genes // *Molecular and General Genetics MGG*. 1988. V. 213(1). P. 155-162. doi:10.1007/bf00333413
 14. Breedveld M.W., Cremers H.C., Batley M., Posthumus M.A., Zevenhuizen L.P., Wijffelman C.A., Zehnder A.J. Polysaccharide synthesis in relation to nodulation behavior of *Rhizobium leguminosarum* // *Journal of Bacteriology*. 1993. V. 175(3). P. 750-757. doi:10.1128/jb.175.3.750-757.1993
 15. Brewin N.J. Plant cell wall remodelling in the *Rhizobium*-legume symbiosis // *Critical Reviews in Plant Sciences*. 2004. V. 23(4). P. 293-316. doi:10.1080/07352680490480734
 16. Chen H., Gao K., Kondorosi E., Kondorosi A., Rolfe B. G. Functional genomic analysis of global regulator *NoIR* in *Sinorhizobium meliloti* // *Molecular plant-microbe interactions*. 2005. V. 18(12). P. 1340-1352. doi:10.1094/MPMI-18-1340
 17. Cheng H.P., Walker G.C. Succinoglycan is required for initiation and elongation of infection threads during nodulation of alfalfa by *Rhizobium meliloti* // *Journal of Bacteriology*. 1998. V. 180(19). P. 5183-5191. doi:10.1128/JB.180.19.5183-5191.1998
 18. Chou A.Y., Archdeacon J., Kado C.I. *Agrobacterium* transcriptional regulator *Ros* is a prokaryotic zinc finger protein that regulates the plant oncogene *ipt* // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998. V. 95(9). P. 5293-5298. doi:10.1073/pnas.95.9.5293
 19. Ciesla J., Kopycinska M., Lukowska M., Bieganski A., Janczarek M. Surface properties of wild-type *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* strain 24.2 and its derivatives with different extracellular polysaccharide content // *PloS one*. 2016. V. 11(10). e0165080. doi:10.1371/journal.pone.0165080
 20. Corzo J., León-Barrios M., Hernando-Rico V., Gutierrez-Navarro A.M. Precipitation of metallic cations by the acidic exopolysaccharides from *Bradyrhizobium japonicum* and *Bradyrhizobium (Chamaecytisus)* strain BGA-1 // *Applied and Environmental Microbiology*. 1994. V. 60(12). P. 4531-4536. doi:10.1128/AEM.60.12.4531-4536.1994
 21. Costerton J.W., Lewandowski Z., Caldwell D.E., Korber D.R., Lappin-Scott H.M. (1995). Microbial biofilms // *Annual Reviews in Microbiology*. 1995. V. 49(1). P. 711-745. doi:10.1146/annurev.mi.49.100195.003431
 22. Cremers H.C.C., Stevens K., Lugtenberg B.J., Wijffelman C.A., Batley M., Redmond J.W., Breedveld M.W., Zevenhuizen L.P. Unusual structure of the exopolysaccharide of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* strain 248 // *Carbohydrate Research*. 1991. V. 218. P. 185-200. doi:10.1016/0008-6215(91)84097-x
 23. Cremers H.C., Batley M., Redmond J.W., Eydeys L., Breedveld M.W., Zevenhuizen L.P., Pees E., Wijffelman C.A., Lugtenberg B. J. *Rhizobium leguminosarum exoB* mutants are deficient in the synthesis of UDP-glucose 4'-epimerase // *Journal of Biological Chemistry*, 1990. V. 265(34). P. 21122-21127.
 24. D'Haese W., Glushka J., De Rycke R., Holsters M., Carlson R.W. Structural characterization of extracellular polysaccharides of *Azorhizobium caulinodans* and importance for nodule initiation on *Sesbania rostrata* // *Molecular Microbiology*. 2004. V. 52(2). P. 485-500. doi:10.1111/j.1365-2958.2004.03989.x
 25. Djordjevic S.P., Rolfe B.G., Batley M., Redmond J.W. (1986). The structure of the exopolysaccharide from *Rhizobium* sp. strain ANU280 (NGR234) // *Carbohydrate Research*. 1986. V. 148 (1). P. 87-99. doi:10.1016/0008-6215(86)80039-8
 26. Donlan R.M. Biofilms: microbial life on surfaces // *Emerging Infectious Diseases*. 2002. V. 8(9). P. 881. doi:10.3201/eid0809.020063
 27. Downie J.A. The roles of extracellular proteins, polysaccharides and signals in the interactions of rhizobia with legume roots // *FEMS Microbiology reviews*. 2010. V. 34(2). P. 150-170. doi:10.1111/j.1574-6976.2009.00205.x
 28. Edwards A., Frederix M., Wisniewski-Dyé F., Jones J., Zorreguieta A., Downie J.A. The *cin* and *rai* quorum-sensing regulatory systems in *Rhizobium leguminosarum* are coordinated by *ExpR* and *CinS*, a small regulatory protein coexpressed with *CinI* // *Journal of Bacteriology*. 2009. V. 191(9). P. 3059-3067. doi:10.1128/JB.01650-08
 29. Ferreira P.A.A., Bomfeti C.A., Soares B.L., de Souza Moreira F.M. Efficient nitrogen-fixing *Rhizobium* strains isolated from amazonian soils are highly tolerant to acidity and aluminium // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2012. V. 28(5). P. 1947-1959. doi:10.1007/s11274-011-0997-7

30. Finan T.M., Weidner S., Wong K., Buhrmester J., Chain P., Vorhölter F.J., Hernandez-Lucas I., Becker A., Cowie A., Gouzy J., Golding B., Pühler A. The complete sequence of the 1,683-kb pSymB megaplasmid from the N₂-fixing endosymbiont *Sinorhizobium meliloti* // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2001. V. 98(17). P. 9889-9894. doi:10.1073/pnas.161294698
31. Finnie C., Hartley N.M., Findlay K.C., Downie J.A. The *Rhizobium leguminosarum* prsDE genes are required for secretion of several proteins, some of which influence nodulation, symbiotic nitrogen fixation and exopolysaccharide modification // Molecular Microbiology. 1997. V. 25(1). P. 135-146. doi:10.1046/j.1365-2958.1997.4471803.x
32. Finnie C., Zorreguieta A., Hartley N. M., Downie J. A. Characterization of *Rhizobium leguminosarum* exopolysaccharide glycanases that are secreted via a type I exporter and have a novel heptapeptide repeat motif // Journal of Bacteriology. 1998. V. 180(7). P. 1691-1699. doi:10.1128/JB.180.7.1691-1699.1998
33. Flemming H.C., Wingender J. Relevance of microbial extracellular polymeric substances (EPSs)-Part I: Structural and ecological aspects // Water Science and Technology. 2011. V. 43(6). P. 1-8. doi:10.1002/0471263397.env292
34. Foster L.J.R., Moy Y.P., Rogers P.L. Metal binding capabilities of *Rhizobium etli* and its extracellular polymeric substances // Biotechnology Letters. 2000. V. 22(22). P. 1757-1760. doi:10.1023/A:1005694018653
35. Fraysse N., Couderc F., Poinso V. Surface polysaccharide involvement in establishing the rhizobium-legume symbiosis // European Journal of Biochemistry. 2003. V. 270(7). P.1365-1380. doi:10.1046/j.1432-1033.2003.03492.x
36. Fujishige N.A., Kapadia N.N., De Hoff P.L., Hirsch A.M. Investigations of *Rhizobium biofilm* formation // FEMS Microbiology Ecology. 2006. V. 56(2). P. 195-206. doi:10.1111/j.1574-6941.2005.00044.x
37. Ghosh P.K., Maiti T.K. Structure of extracellular polysaccharides (EPS) produced by rhizobia and their functions in legume-bacteria symbiosis:—A Review // Achievements in the Life Sciences. 2016. V. 10 (2). P. 136-143. doi:10.1016/j.als.2016.11.003
38. Gibson K.E., Kobayashi H., Walker G.C. Molecular determinants of a symbiotic chronic infection // Annual Review of Genetics. 2008. V. 42. P.413-441. doi:10.1146/annurev.genet.42.110807.091427
39. González A.G., Shirokova L.S., Pokrovsky O.S., Emnova E.E., Martínez R.E., Santana-Casiano J.M., González-Dávila M., Pokrovski G.S. Adsorption of copper on *Pseudomonas aureofaciens*: protective role of surface exopolysaccharides // Journal of colloid and interface science. 2010. V. 350(1). P. 305-314. doi:10.1016/j.jcis.2010.06.020
40. Gonzalez J.E., York G.M., Walker G.C. *Rhizobium meliloti* exopolysaccharides: synthesis and symbiotic function // Gene. 1996. V. 179 (1). P. 141-146. doi:10.1016/S0378-1119(96)00322-8
41. Gonzalez V., Santamaria R.I., Bustos P., Hernandez-Gonzalez I., Medrano-Soto A., Moreno-Hagelsieb G., Chandra Janga S., Ramirez M.A., Jiménez-Jacinto V., Collado-Vides J., Davila G. The partitioned *Rhizobium etli* genome: genetic and metabolic redundancy in seven interacting replicons // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2006. V. 103(10). P. 3834-3839. doi:10.1073/pnas.0508502103
42. Guerreiro N., Ksenzenko V.N., Djordjevic M.A., Ivashina T.V., Rolfe B.G. Elevated levels of synthesis of over 20 proteins results after mutation of the *Rhizobium leguminosarum* exopolysaccharide synthesis gene *pssA* // Journal of Bacteriology. 2000. V. 182(16). P. 4521-4532. doi:10.1128/JB.182.16.4521-4532.2000
43. Guerrero G., Peralta H., Aguilar A., Diaz R., Villalobos M. A., Medrano-Soto A., Mora J. Evolutionary, structural and functional relationships revealed by comparative analysis of syntenic genes in Rhizobiales // BMC Evolutionary Biology. 2005. V. 5(1). P. 55. doi:10.1186/1471-2148-5-55
44. Hussain H., Johnston A.W.B. Iron-dependent transcription of the regulatory gene *ros* of *Agrobacterium radiobacter* // Molecular Plant-Microbe Interactions. 1997. V. 10(9). P.1087-1093. doi:10.1094/MPMI.1997.10.9.1087
45. Ivashina T.V., Ksenzenko V.N. Exopolysaccharide biosynthesis in *Rhizobium leguminosarum*: from genes to functions. In: Karunaratne D.N., editor. The Complex world of polysaccharides. In Tech; Rijeka, Croatia. 2012. P. 99–126. <http://dx.doi.org/10.5772/51202>
46. Ivashina T.V., Fedorova E.E., Ashina N.P., Kalinchuk N.A., Druzhinina T.N., Shashkov A.S., Shibaev V.N., Ksenzenko V.N. Mutation in the *pssM* gene encoding ketal pyruvate transferase leads to disruption of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*-*Pisum sativum* symbiosis // Journal of Applied Microbiology. 2010. V. 109(2). P. 731-742. doi:10.1111/j.1365-2672.2010.04702.x
47. Ivashina T.V., Khmel'nitsky M.I., Shiyapnikov M.G., Kanapin A.A., Ksenzenko V.N. The *pss4* gene from *Rhizobium leguminosarum* bv *viciae* VF39: cloning, sequence and the possible role in polysaccharide production and nodule formation // Gene. 1994. V. 150(1). P. 111-116. doi:10.1016/0378-1119(94)90868-0

48. Ivashina T.V., Sadykov M.R., Chatuev B.M., Kanapin A.A., Shliapnikov M.G., Ksenzenko, V N. The *Rhizobium leguminosarum* bv *viciae* VF39 *pssB* gene product participates in symbiotic fixation of molecular nitrogen. In Doklady Akademii Nauk. 1996. V. 350 (5). P. 712.
49. Janczarek M. Environmental signals and regulatory pathways that influence exopolysaccharide production in rhizobia // International Journal of Molecular Sciences. 2011. V. 12(11). P. 7898-7933. doi:10.3390/ijms12117898
50. Janczarek M., Rachwał K. Mutation in the *pssA* gene involved in exopolysaccharide synthesis leads to several physiological and symbiotic defects in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* // International Journal of Molecular Sciences. 2013. V. 14(12). P. 23711-23735. doi:10.3390/ijms141223711
51. Janczarek M., Skorupska, A. The *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* *pssB* gene product is an inositol monophosphatase that influences exopolysaccharide synthesis // Archives of Microbiology. 2001. V. 175(2). P. 143-151. doi:10.1007/s002030000250
52. Janczarek M., Skorupska, A. Exopolysaccharide synthesis in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* is related to various metabolic pathways // Research in Microbiology. 2003. V. 154(6). P. 433-442. doi:10.1016/S0923-2508(03)00113-X
53. Janczarek M., Skorupska A. Regulation of *pssA* and *pssB* gene expression in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* in response to environmental factors // Antonie Van Leeuwenhoek. 2004. V. 85(3). P. 217-227. doi:10.1023/B:ANTO.0000020342.39867.fb
54. Janczarek M., Skorupska, A. The *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* *rosR*: transcriptional regulator involved in exopolysaccharide production // Molecular Plant-Microbe Interactions. 2007. V. 20(7). P. 867-881. doi:10.1094/MPMI-20-7-0867
55. Janczarek M., Skorupska A. *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* *rosR* gene expression is regulated by catabolic repression // FEMS Microbiology Letters. 2009. V. 291(1). P. 112-119. doi:10.1111/j.1574-6968.2008.01443.x
56. Janczarek M., Skorupska A. Modulation of *rosR* expression and exopolysaccharide production in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* by phosphate and clover root exudates // International Journal of Molecular Sciences. 2011. V. 12(6). P. 4132-4155. doi:10.3390/ijms12064132
57. Janczarek M., Jaroszuk-Sciseł J., Skorupska A. Multiple copies of *rosR* and *pssA* genes enhance exopolysaccharide production, symbiotic competitiveness and clover nodulation in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* // Antonie Van Leeuwenhoek. 2009. V. 96(4). P. 471-486. doi:10.1007/s10482-009-9362-3
58. Janczarek M., Kalita M., Skorupska A.M. New taxonomic markers for identification of *Rhizobium leguminosarum* and discrimination between closely related species // Archives of Microbiology. 2009. V. 191(3). P. 207-219. doi:10.1007/s00203-008-0447-6
59. Janczarek M., Krol J., Skorupska, A. The *pssB* gene product of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* is homologous to a family of inositol monophosphatases // FEMS Microbiology Letters. 1999. V. 173(2). P. 319-325. doi:10.1111/j.1574-6968.1999.tb13520.x
60. Janczarek M., Kutkowska J., Piersiak T., Skorupska A. *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* *rosR* is required for interaction with clover, biofilm formation and adaptation to the environment // BMC Microbiology. 2010. V. 10(1). P. 284. doi:10.1186/1471-2180-10-284
61. Janczarek M., Rachwał K., Turska-Szewczuk A. A mutation in *pssE* affects exopolysaccharide synthesis by *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*, its surface properties, and symbiosis with clover // Plant and Soil. 2017. V. 417(1-2). P. 331-347. doi:10.1007/s11104-017-3262-5
62. Jones K.M. Increased production of the exopolysaccharide succinoglycan enhances *Sinorhizobium meliloti* 1021 symbiosis with the host plant *Medicago truncatula* // Journal of Bacteriology. 2012. V. 194. P. 4322-4331. doi:10.1128/JB.00751-12
63. Jones K.M., Kobayashi H., Davies B.W., Taga M.E., Walker G.C. How rhizobial symbionts invade plants: the *Sinorhizobium-Medicago* model // Nature Reviews Microbiology. 2007. V. 5(8). P. 619. doi:10.1038/nrmicro1705
64. Joshi N., Ngwenya B.T., French C.E. Enhanced resistance to nanoparticle toxicity is conferred by overproduction of extracellular polymeric substances // Journal of Hazardous Materials. 2012. V. 241. P. 363-370. doi:10.1016/j.jhazmat.2012.09.057
65. Karr D.B., Liang R.T., Reuhs B.L., Emerich D.W. Altered exopolysaccharides of *Bradyrhizobium japonicum* mutants correlate with impaired soybean lectin binding, but not with effective nodule formation // Planta. 2000. V. 211 (2). P. 218-226. doi:10.1007/s004250000288
66. Kaur V., Bera M.B., Panesar P.S., Chopra H.K. Production and characterization of exopolysaccharide produced by *Alcaligenes faecalis* B14 isolated from indigenous soil // International Journal of Biotechnology and Bioengineering Research. 2013. V. 4(4). P. 365-374.
67. Kawaharada Y., Kelly S., Nielsen M.W., Hjuler C.T., Gysel K., Muszyński A., Carlson R.W.,

- Thygesen M.B., Sandal N., Asmussen M.H., Vinther M., Andersen S.U., Krusell L., Thirup S., Jensen K.J., Ronson C.W., Blaise M., Radutoiu S., Stougaard J. Receptor-mediated exopolysaccharide perception controls bacterial infection // *Nature*. 2015. V. 523(7560). P. 308. doi:10.1038/nature14611
68. Kawaharada, Y., Nielsen, M. W., Kelly, S., James, E. K., Andersen, K. R., Rasmussen, S. R., Füchtbauer W., Madsen L.H., Heckmann A.B., Radutoiu S., Stougaard J. Differential regulation of the Epr3 receptor coordinates membrane-restricted rhizobial colonization of root nodule primordia // *Nature Communications*. 2017. V. 8. P. 14534. doi:10.1038/ncomms14534
69. Kazy S.K., Sar P., Singh S.P., Sen A.K., D'souza S. Extracellular polysaccharides of a copper-sensitive and a copper-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain: synthesis, chemical nature and copper binding // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2002. V. 18(6). P. 583-588. doi:10.1023/A:1016354713289
70. Keller M., Roxlau A., Weng W.M., Schmidt M., Quandt J., Niehaus K., Jording D., Arnold W., Puhler, A. Molecular analysis of the *Rhizobium meliloti mucR* gene regulating the biosynthesis of the exopolysaccharides succinoglycan and galactoglucan // *Molecular Plant Microbe Interactions*. 1995. V. 8(2). P. 267-277. doi:10.1094/mpmi-8-0267
71. Kelly S.J., Muszyński A., Kawaharada Y., Hubber A.M., Sullivan J.T., Sandal N., Carlson R.W., Stougaard J., Ronson C.W. Conditional requirement for exopolysaccharide in the *Mesorhizobium-Lotus* symbiosis // *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2013. V. 26(3). P. 319-329. doi:10.1094/MPMI-09-12-0227-R
72. Kopycinska M., Lipa P., Ciesla J., Koziel M., Janczarek M. Extracellular polysaccharide protects *Rhizobium leguminosarum* cells against zinc stress in vitro and during symbiosis with clover // *Environmental Microbiology Reports*. 2018. V. 10(3). P. 355-368. doi:10.1111/1758-2229.12646
73. Krehenbrink M., Downie J.A. Identification of protein secretion systems and novel secreted proteins in *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* // *BMC Genomics*. 2008. V. 9(1). P. 55. doi:10.1186/1471-2164-9-55
74. Krol J.E., Mazur A., Marczak M., Skorupska A. Syntenic arrangements of the surface polysaccharide biosynthesis genes in *Rhizobium leguminosarum* // *Genomics*. 2007. V. 89(2). P. 237-247. doi:10.1016/j.ygeno.2006.08.015
75. Krol J., Wielbo J., Mazur A., Kopycinska J., Lotocka B., Golinowski W., Skorupska A. Molecular characterization of *pssCDE* genes of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* strain TA1: *pssD* mutant is affected in exopolysaccharide synthesis and endocytosis of bacteria // *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 1998. V. 11(11). P. 1142-1148. doi:10.1094/MPMI.1998.11.11.1142
76. Kutkowska J., Janczarek M., Kopycinska J., Urbanik-Sypniewska T., Skorupska A. Effects of *pssB* mutation on surface polysaccharides and symbiotic phenotype of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* // *Acta Biol. Crac. Ser. Bot.* 2007. V. 49 P. 81-89.
77. Latchford J.W., Borthakur D., Johnston A.W.B. The products of *Rhizobium* genes, *psi* and *pss*, which affect exopolysaccharide production, are associated with the bacterial cell surface // *Molecular Microbiology*. 1991. V. 5(9). P. 2107-2114. doi:10.1111/j.1365-2958.1991.tb02140.x
78. Laus M.C., Logman T.J., Lamers G.E., Van Brussel A.A., Carlson R.W., Kijne J.W. A novel polar surface polysaccharide from *Rhizobium leguminosarum* binds host plant lectin // *Molecular Microbiology*. 2006. V. 59(6). P. 1704-1713. doi:10.1111/j.1365-2958.2006.05057.x
79. Laus M.C., Logman T.J., Van Brussel A.A., Carlson R.W., Azadi P., Gao M.Y., Kijne J.W. Involvement of *exo5* in production of surface polysaccharides in *Rhizobium leguminosarum* and its role in nodulation of *Vicia sativa* subsp. *nigra* // *Journal of Bacteriology*. 2004. V. 186(19). P. 6617-6625. doi:10.1128/JB.186.19.6617-6625.2004
80. Laus M.C., van Brussel A.A., Kijne J.W. Exopolysaccharide structure is not a determinant of host-plant specificity in nodulation of *Vicia sativa* roots // *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2005. V. 18(11). P. 1123-1129. doi:10.1094/MPMI-18-1123
81. Ledin M. Accumulation of metals by microorganisms—processes and importance for soil systems // *Earth-Science Reviews*. 2000. V. 51(1-4). P. 1-31. doi:10.1016/S0012-8252(00)00008-8
82. Leigh J.A., Signer E.R., Walker G.C. Exopolysaccharide-deficient mutants of *Rhizobium meliloti* that form ineffective nodules // *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1985. V. 82(18). P. 6231-6235. doi:10.1073/pnas.82.18.6231
83. Lombard V., Golaconda Ramulu H., Drula E., Coutinho P.M., Henrissat B. The carbohydrate-active enzymes database (CAZy) in 2013 // *Nucleic Acids Research*. 2014. V. 42(D1). P. D490-D495. doi:10.1093/nar/gkt1178
84. Long S.R. *Rhizobium* symbiosis: nod factors in perspective // *Plant Cell*. 1996. V. 8(10). P. 1885. doi:10.1105/tpc.8.10.1885
85. Lopez-Guerrero M.G., Ormeno-Orrillo E., Acosta J.L., Mendoza-Vargas A., Rogel M.A., Ramirez M.A., Rosenblueth M., Martinez-Romero J.,

- Martinez-Romero E. Rhizobial extrachromosomal replicon variability, stability and expression in natural niches // *Plasmid*. 2012. V. 68(3). P. 149-158. doi:10.1016/j.plasmid.2012.07.002
86. Lopez-Lara I.M., Orgambide G., Dazzo F.B., Olivares J., Toro N. Characterization and symbiotic importance of acidic extracellular polysaccharides of *Rhizobium* sp. strain GRH2 isolated from acacia nodules // *Journal of Bacteriology*. 1993. V. 175 (10). P. 2826-2832. doi:10.1128/jb.175.10.2826-2832.1993
87. Louch H.A., Miller K.J. Synthesis of a low-molecular-weight form of exopolysaccharide by *Bradyrhizobium japonicum* USDA 110 // *Appl. Environ. Microbiol.* 2001. V. 67 (2). P. 1011-1014. doi:10.1128/AEM.67.2.1011-1014.2001
88. Lynch J.M., Moffat A.J. Bioremediation—prospects for the future application of innovative applied biological research // *Annals of Applied Biology*. 2005. V. 146(2). P. 217-221. doi:10.1111/j.1744-7348.2005.040115.x
89. Marczak M., Dzwierzynska M., Skorupska A. Homo- and heterotypic interactions between Pss proteins involved in the exopolysaccharide transport system in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* // *Biological Chemistry*. 2013. V. 394(4). P. 541-559. doi:10.1515/hsz-2012-0161
90. Marczak M., Mazur A., Gruszecki W. I., Skorupska, A. PssO, a unique extracellular protein important for exopolysaccharide synthesis in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* // *Biochimie*. 2008. V. 90(11-12). P. 1781-1790. doi:10.1016/j.biochi.2008.08.004
91. Marczak M., Mazur A., Koper P., Żebracki K., Skorupska A. Synthesis of rhizobial exopolysaccharides and their importance for symbiosis with legume plants // *Genes*. 2017. V. 8(12). P. 360. doi:10.3390/genes8120360
92. Marczak M., Mazur A., Krol J.E., Gruszecki W.I., Skorupska A. Lipoprotein PssN of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*: subcellular localization and possible involvement in exopolysaccharide export // *Journal of Bacteriology*. 2006. V. 188(19). P. 6943-6952. doi:10.1128/JB.00651-06
93. Masson-Boivin C., Giraud E., Perret X., Batut J. Establishing nitrogen-fixing symbiosis with legumes: how many rhizobium recipes? // *Trends in Microbiology*. 2009. V. 17(10). P. 458-466. doi:10.1016/j.tim.2009.07.004
94. Matulova M., Toffanin R., Navarini L., Gilli R., Paoletti S., Cesaro A. NMR analysis of succinoglycans from different microbial sources: partial assignment of their ¹H and ¹³C NMR spectra and location of the succinate and the acetate groups // *Carbohydrate Research*. 1994. V. 265 (2). P. 167-179. doi:10.1016/0008-6215(94)00227-4
95. Mazur A., Krol J.E., Marczak M., Skorupska A. Membrane topology of PssT, the transmembrane protein component of the type I exopolysaccharide transport system in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* strain TA1 // *Journal of Bacteriology*. 2003. V. 185(8). P. 2503-2511. doi:10.1128/JB.185.8.2503-2511.2003
96. Mazur A., Krol J.E., Wielbo J., Urbanik-Sypniewska T., Skorupska A. *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* PssP protein is required for exopolysaccharide biosynthesis and polymerization // *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2002. V. 15(4). P. 388-397. doi:10.1094/MPMI.2002.15.4.388
97. Mazur A., Marczak M., Krol J.E., Skorupska A. Topological and transcriptional analysis of *pssL* gene product: a putative Wzx-like exopolysaccharide translocase in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* TA1 // *Archives of Microbiology*. 2005. V. 184(1). P. 1-10. doi:10.1007/s00203-005-0018-z
98. Mendrygal K.E., Gonzalez J.E. Environmental regulation of exopolysaccharide production in *Sinorhizobium meliloti* // *Journal of Bacteriology*. 2000. V. 182 (3). P. 599-606. doi:10.1128/jb.182.3.599-606.2000
99. Mimmack M.L., Borthakur D., Jones M.A., Downie J.A., Johnston A.W.B. The *psi* operon of *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*: identification of two genes whose products are located at the bacterial cell surface // *Microbiology*. 1994. V. 140(5). P. 1223-1229. doi:10.1099/13500872-140-5-1223
100. Mimmack M.L., Hong G.F., Johnston A.W.B. Sequence and regulation of *psrA*, a gene on the Sym plasmid of *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* which inhibits transcription of the *psi* genes // *Microbiology*. 1994. V. 140(3). P. 455-461. doi:10.1099/00221287-140-3-455
101. Muszynski A., Laus M., Kijne J.W., Carlson R.W. Structures of the lipopolysaccharides from *Rhizobium leguminosarum* RBL5523 and its UDP-glucose dehydrogenase mutant (*exo5*) // *Glycobiology*. 2010. V. 21(1). P. 55-68. doi:10.1093/glycob/cwq131
102. Nocelli N., Bogino P.C., Banchio E., Giordano W. Roles of extracellular polysaccharides and biofilm formation in heavy metal resistance of rhizobia // *Materials*. 2016. V. 9(6). P. 418. doi:10.3390/ma9060418
103. O'Neill M.A., Darvill A.G., Albersheim P. The degree of esterification and points of substitution by O-acetyl and O-(3-hydroxybutanoyl) groups in the acidic extracellular polysaccharides secreted by

- Rhizobium leguminosarum* biovars *viciae*, *trifolii*, and *phaseoli* are not related to host range // Journal of Biological Chemistry. 1991. V. 266(15). P. 9549-9555.
104. Osinska-Jaroszuk M., Jaszek M., Starosielec M., Sulej J., Matuszewska A., Janczarek M., Renata Bancarz R., Wydrych J., Wiater A., Jarosz-Wilkolazka A. Bacterial exopolysaccharides as a modern biotechnological tool for modification of fungal laccase properties and metal ion binding // Bioprocess and Biosystems Engineering. 2018. V. 41(7). P. 973-989. doi:10.1007/s00449-018-1928-x
105. Pal A., Paul A.K. Microbial extracellular polymeric substances: central elements in heavy metal bioremediation // Indian Journal of Microbiology. 2008. V. 48(1). P. 49-64. doi: 10.1007/s12088-008-0006-5
106. Pellock B.J., Cheng H.P., Walker G.C. Alfalfa root nodule invasion efficiency is dependent on *Sinorhizobium meliloti* polysaccharides // Journal of Bacteriology. 2000. V. 182(15). P. 4310-4318. doi:10.1128/JB.182.15.4310-4318.2000
107. Pollock T.J., van Workum W.A., Thorne L., Mikolajczak M.J., Yamazaki M., Kijne J.W., & Armentrout R.W. Assignment of biochemical functions to glycosyl transferase genes which are essential for biosynthesis of exopolysaccharides in *Sphingomonas* strain S88 and *Rhizobium leguminosarum* // Journal of Bacteriology. 1998. V. 180(3). P. 586-593. doi:10.1128/JB.180.3.586-593.1998
108. Pulsawat W., Leksawasdi N., Rogers P.L., Foster L.J.R. Anions effects on biosorption of Mn (II) by extracellular polymeric substance (EPS) from *Rhizobium etli* // Biotechnology Letters. 2003. V.25(15). P. 1267-1270. doi:10.1023/A:1025083116343
109. Reeve W.G., Dilworth M.J., Tiwari R.P., Glenn A.R. Regulation of exopolysaccharide production in *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* WSM710 involves *exoR* // Microbiology. 1996. V. 143(6). P. 1951-1958. doi:10.1099/00221287-143-6-1951
110. Rinaudi L.V., Giordano W. An integrated view of biofilm formation in rhizobia // FEMS Microbiology Letters. 2010. V. 304(1). P. 1-11. doi:10.1111/j.1574-6968.2009.01840.x
111. Rinaudi L.V., Gonzalez J.E. The low-molecular-weight fraction of exopolysaccharide II from *Sinorhizobium meliloti* is a crucial determinant of biofilm formation // Journal of Bacteriology. 2009. V. 191 (23). P. 7216-7224. doi:10.1128/JB.01063-09
112. Robertsen B.K., Åman P., Darvill A.G., McNeil M., Albersheim P. Host-symbiont interactions: V. The structure of acidic extracellular polysaccharides secreted by *Rhizobium leguminosarum* and *Rhizobium trifolii* // Plant Physiology. 1981. V. 67(3). P. 389-400. doi:10.1104/pp.67.3.389
113. Rolfe B.G., Carlson R.W., Ridge R.W., Dazzo F.B., Mateos P.F., Pankhurst C.E. Defective infection and nodulation of clovers by exopolysaccharide mutants of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* // Functional Plant Biology. 1996. V. 23(3). P. 285-303. doi:10.1071/PP9960285
114. Russo D.M., Williams A., Edwards A., Posadas D.M., Finnie C., Dankert M., Downie J.A. Zorreguieta, A. Proteins exported via the PrsD-PrsE type I secretion system and the acidic exopolysaccharide are involved in biofilm formation by *Rhizobium leguminosarum* // Journal of Bacteriology. 2006. V. 188(12). P. 4474-4486. doi:10.1128/JB.00246-06
115. Sadykov M.R., Ivashina T.V., Shlyapnikov M.G., Ksenzenko V.N., Kanapin A.A. Structural and functional organization of the exopolysaccharide biosynthesis genes in *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* VF39 // Molecular Biology. 1998. V. 32(5). P. 665-671.
116. Sanchez-Andujar B., Coronado C., Philip-Hollingsworth S., Dazzo F. B., Palomares A.J. Structure and role in symbiosis of the *exoB* gene of *Rhizobium leguminosarum* bv *trifolii* // Molecular and General Genetics. 1997. V. 255(2). P. 131-140. doi:10.1007/s004380050481
117. Schue M., Fekete A., Ortet P., Brutesco C., Heulin T., Schmitt-Kopplin P., Achouak W., Santaella C. Modulation of metabolism and switching to biofilm prevail over exopolysaccharide production in the response of *Rhizobium alamii* to cadmium // PLoS One. 2011. V. 6(11). e26771. doi:10.1371/journal.pone.0026771
118. Singh P., Cameotra S.S. Enhancement of metal bioremediation by use of microbial surfactants // Biochemical and Biophysical Research Communications. 2004. V. 319(2). P. 291-297. doi:10.1016/j.bbrc.2004.04.155
119. Singh R., Paul D., Jain R.K. Biofilms: implications in bioremediation // Trends in Microbiology. 2006. V. 14(9). P. 389-397. doi:10.1016/j.tim.2006.07.001
120. Skorupska A., Janczarek M., Marczak M., Mazur A., Król J. Rhizobial exopolysaccharides: genetic control and symbiotic functions. // Microbial Cell Factories. 2006. V. 5(1). P. 7. doi:10.1186/1475-2859-5-7
121. Slaveykova V.I., Parthasarathy N., Dedieu K., Toescher D. Role of extracellular compounds in Cd-sequestration relative to Cd uptake by bacterium *Sinorhizobium meliloti* // Environmental Pollution. 2010. V. 158(8). P. 2561-2565. doi:10.1016/j.envpol.2010.05.016

122. Sorroche F.G., Rinaudi L.V., Zorreguieta A., Giordano W. EPS II-dependent autoaggregation of *Sinorhizobium meliloti* planktonic cells // *Current Microbiology*. 2010. V. 61 (5). P. 465-470. doi:10.1007/s00284-010-9639-9
123. Sorroche F.G., Spesia M.B., Zorreguieta A., Giordano W. A positive correlation between bacterial autoaggregation and biofilm formation in native *Sinorhizobium meliloti* isolates from Argentina // *Applied and Environmental Microbiology*. 2012. AEM-07826. doi:10.1128/AEM.07826-11
124. Staehelin C., Forsberg L.S., D'Haese W., Gao M.Y., Carlson R.W., Xie Z.P., Pellock B.J., Jones K.M., Walker G.C., Streit W.R., Broughton, W.J. Exo-oligosaccharides of *Rhizobium* sp. strain NGR234 are required for symbiosis with various legumes // *Journal of Bacteriology*. 2006. V. 188 (17). P. 6168-6178. doi:10.1128/JB.00365-06
125. Stredansky M., Conti E., Bertocchi C., Matulova, M., Zanetti F. Succinoglycan production by *Agrobacterium tumefaciens* // *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 1998. V. 85 (4). P. 398-403. doi:10.1007/s002530051528
126. Szewczuk-Karpisz K., Wisniewska M., Pac M., Choma A., Komaniecka I. *Sinorhizobium meliloti* 1021 exopolysaccharide as a flocculant improving chromium (III) oxide removal from aqueous solutions // *Water, Air, & Soil Pollution*. 2014. V. 225 (8). P. 2052. doi:10.1007/s11270-014-2052-4
127. van Workum W.A., Cremers H.C.C., Wijffjes A.H., van der Kolk C., Wijffelman C.A., Kijne J.W. Cloning and characterization of four genes of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* involved in exopolysaccharide production and nodulation // *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 1997. V. 10(2). P. 290-301. doi:10.1094/MPMI.1997.10.2.290
128. Vinardell J., Ollero F.J., Hidalgo A., López-Baena F.J., Medina C., Ivanov-Vangelov K., Parada M., Madinabeitia N., Espuny Mdel R., Bellogín R.A., Camacho M., Rodríguez-Navarro D.N., Soria-Díaz M.E., Gil-Serrano A.M., Ruiz-Sainz J.E. NoIR regulates diverse symbiotic signals of *Sinorhizobium fredii* HH103 // *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2004. V. 17(6). P. 676-685. doi:10.1094/MPMI.2004.17.6.676
129. Vu B., Chen M., Crawford R.J., Ivanova E.P. Bacterial extracellular polysaccharides involved in biofilm formation // *Molecules*. 2009. V. 14(7) P. 2535-2554. doi:10.3390/molecules14072535
130. Wang L.X., Wang, Y., Pellock B., Walker G.C. Structural characterization of the symbiotically important low-molecular-weight succinoglycan of *Sinorhizobium meliloti* // *Journal of Bacteriology*. 1999. V. 181(21). P.6788-6796. doi:10.1128/JB.181.21.6788-6796.1999
131. Wielbo J., Skorupska A. Influence of phosphate and ammonia on the growth, exopolysaccharide production and symbiosis of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* TA1 with clover (*Trifolium pratense*) // *Acta Biologica Hungarica*. 2008. V. 59(1). P. 115-127. doi:10.1556/ABiol.59.2008.1.10
132. Wielbo J., Marek-Kozaczuk M., Kubik-Komar A., Skorupska A. Increased metabolic potential of *Rhizobium* spp. is associated with bacterial competitiveness // *Canadian Journal of Microbiology*. 2007. V. 53(8). P. 957-967. doi:10.1139/W07-053
133. Wielbo J., Marek-Kozaczuk M., Mazur A., Kubik-Komar A., Skorupska A. Genetic and metabolic divergence within a *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* population recovered from clover nodules // *Applied and Environmental Microbiology*. 2010. V. 76(14). P. 4593-4600. doi:10.1128/AEM.00667-10
134. Wielbo J., Mazur A., Krol J.E., Marczak M., Skorupska A. Environmental modulation of the *psrTNOP* gene expression in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* // *Canadian Journal of Microbiology*. 2004. V. 50(3). P. 201-211. doi:10.1139/w04-004
135. Wielbo J., Mazur A., Krol J., Marczak M., Kutkowska J., Skorupska A. Complexity of phenotypes and symbiotic behaviour of *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* exopolysaccharide mutants // *Archives of Microbiology*. 2004. V. 182(4). P. 331-336. doi:10.1007/s00203-004-0723-z
136. Young J.P.W., Crossman L.C., Johnston A.W., Thomson N.R., Ghazoui Z.F., Hull K.H. et al. The genome of *Rhizobium leguminosarum* has recognizable core and accessory components // *Genome Biology*. 2006. V. 7(4). R34. doi:10.1186/gb-2006-7-4-r34
137. Younis M. Responses of Lablab purpureus-Rhizobium symbiosis to heavy metals in pot and field experiments // *World J. Agric. Sci*. 2007. V. 3. P. 111-122.
138. Zorreguieta A., Finnie C., Downie J.A. Extracellular glycanases of *Rhizobium leguminosarum* are activated on the cell surface by an exopolysaccharide-related component // *Journal of Bacteriology*. 2000. V. 182(5). P. 1304-1312. doi:10.1128/JB.182.5.1304-1312.2000

References

1. Amaya-Gomez C.V., Hirsch A.M., Soto M.J. Biofilm formation assessment in *Sinorhizobium meliloti* reveals interlinked control with surface motility. *BMC microbiology*. 2015. V. 15(1). P. 58. doi:10.1186/s12866-015-0390-z

2. Ausmees N., Jacobsson K., Lindberg M. A unipolarly located, cell-surface-associated agglutinin, RapA, belongs to a family of *Rhizobium*-adhering proteins (Rap) in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*. *Microbiology*. 2001. V. 147(3). P. 549-559. doi:10.1099/00221287-147-3-549
3. Battisti L., Lara J.C., Leigh J.A. Specific oligosaccharide form of the *Rhizobium meliloti* exopolysaccharide promotes nodule invasion in alfalfa. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1992. V. 89(12). P. 5625-5629. doi:10.1073/pnas.89.12.5625
4. Becker B.U., Kosch K., Parniske M., Müller P. Exopolysaccharide (EPS) synthesis in *Bradyrhizobium japonicum*: sequence, operon structure and mutational analysis of an *exo* gene cluster. *Molecular and General Genetics*. 1998. V. 259 (2). P. 161-171. doi:10.1007/s004380050801
5. Belimov A.A., Tikhonovich I.A. Mikrobiologicheskie aspekty ustojchivosti i akkumuljaccii tjazhelyh metallov u rastenij (obzor). *Sel'skohozjajstvennaja biologija*. 2011. V. 3. S. 10-15. [Microbiological aspects of resistance and accumulation of heavy metals by plants (review)]. (In Russian).
6. Bittinger M.A., Handelsman J. Identification of genes in the *RosR* regulon of *Rhizobium etli*. *Journal of Bacteriology*. 2000. V. 182(6). P. 1706-1713. doi: 10.1128/jb.182.6.1706-1713.2000
7. Bittinger M.A., Milner J.L., Saville B.J., Handelsman J. *rosR*, a determinant of nodulation competitiveness in *Rhizobium etli*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 1997. V. 10(2). P. 180-186. doi:10.1094/MPMI.1997.10.2.180
8. Bogino P., Oliva M., Sorroche F., Giordano W. The role of bacterial biofilms and surface components in plant-bacterial associations. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013. V. 14(8). P. 15838-15859. doi:10.3390/ijms140815838
9. Bomfeti C.A., Florentino L.A., Guimarães A.P., Cardoso P.G., Guerreiro M.C., Moreira F.M.D.S. Exopolysaccharides produced by the symbiotic nitrogen-fixing bacteria of leguminosae. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo*. 2011. V. 35 (3). P. 657-671. doi:10.1590/S0100-06832011000300001
10. Bonomi H.R., Posadas D.M., Paris G., del Carmen Carrica M., Frederickson M., Pietrasanta L.I., Bogomolni R.A., Zorreguieta A., Goldbaum F. A. Light regulates attachment, exopolysaccharide production, and nodulation in *Rhizobium leguminosarum* through a LOV-histidine kinase photoreceptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 2012. V. 109(30). P. 12135-12140. doi:10.1073/pnas.1121292109
11. Borthakur D., Johnston A.W.B. Sequence of *psi*, a gene on the symbiotic plasmid of *Rhizobium phaseoli* which inhibits exopolysaccharide synthesis and nodulation and demonstration that its transcription is inhibited by *psr*, another gene on the symbiotic plasmid. *Molecular and General Genetics*. 1987. V. 207(1) P. 149-154. doi:10.1007/bf00331502
12. Borthakur D., Barker R.F., Latchford J.W., Rossen L., Johnston A.W.B. Analysis of *pss* genes of *Rhizobium leguminosarum* required for exopolysaccharide synthesis and nodulation of peas: their primary structure and their interaction with *psi* and other nodulation genes. *Molecular and General Genetics*. 1988. V. 213(1). P. 155-162. doi:10.1007/bf00333413
13. Breedveld M.W., Cremers H.C., Batley M., Posthumus M.A., Zevenhuizen L.P., Wijffelman C.A., Zehnder A.J. Polysaccharide synthesis in relation to nodulation behavior of *Rhizobium leguminosarum*. *Journal of Bacteriology*. 1993. V. 175(3). P. 750-757. doi:10.1128/jb.175.3.750-757.1993
14. Brewin N.J. Plant cell wall remodelling in the *Rhizobium*-legume symbiosis. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 2004. V. 23(4). P. 293-316. doi:10.1080/07352680490480734
15. Chen H., Gao K., Kondorosi E., Kondorosi A., Rolfe B. G. Functional genomic analysis of global regulator *NolR* in *Sinorhizobium meliloti*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2005. V. 18(12). P. 1340-1352. doi:10.1094/MPMI-18-1340
16. Cheng H.P., Walker G.C. Succinoglycan is required for initiation and elongation of infection threads during nodulation of alfalfa by *Rhizobium meliloti*. *Journal of Bacteriology*. 1998. V. 180(19). P. 5183-5191. doi:10.1128/JB.180.19.5183-5191.1998
17. Chou A.Y., Archdeacon J., Kado C.I. *Agrobacterium* transcriptional regulator *Ros* is a prokaryotic zinc finger protein that regulates the plant oncogene *ipt*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1998. V. 95(9). P. 5293-5298. doi:10.1073/pnas.95.9.5293
18. Ciesla J., Kopycinska M., Lukowska M., Bieganowski A., Janczarek M. Surface properties of wild-type *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* strain 24.2 and its derivatives with different extracellular polysaccharide content. *PLoS One*. 2016. V. 11(10). e0165080. doi:10.1371/journal.pone.0165080
19. Corzo J., León-Barrios M., Hernando-Rico V., Gutierrez-Navarro A.M. Precipitation of metallic cations by the acidic exopolysaccharides from *Bradyrhizobium japonicum* and *Bradyrhizobium (Chamaecytisus)* strain BGA-1. *Applied and*

- Environmental Microbiology*. 1994. V. 60(12). P. 4531-4536. doi:10.1128/AEM.60.12.4531-4536.1994
20. Costerton J.W., Lewandowski Z., Caldwell D.E., Korber D.R., Lappin-Scott H.M. Microbial biofilms. *Annual Reviews in Microbiology*. 1995. V. 49(1). P. 711-745. doi:10.1146/annurev.mi.49.100195.003431
 21. Cremers H.C.C., Stevens K., Lugtenberg B.J., Wijffelman C.A., Batley M., Redmond J.W., Breedveld M.W., Zevenhuizen L.P. Unusual structure of the exopolysaccharide of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* strain 248. *Carbohydrate Research*. 1991. V. 218. P. 185-200. doi:10.1016/0008-6215(91)84097-x
 22. Cremers H.C., Batley M., Redmond J.W., Eydemis L., Breedveld M.W., Zevehuizen L.P., Pees E., Wijffelman C.A., Lugtenberg B. J. *Rhizobium leguminosarum* *exoB* mutants are deficient in the synthesis of UDP-glucose 4'-epimerase. *Journal of Biological Chemistry*. 1990. V. 265(34). P. 21122-21127.
 23. D'Haese W., Glushka J., De Rycke R., Holsters M., Carlson R.W. Structural characterization of extracellular polysaccharides of *Azorhizobium caulinodans* and importance for nodule initiation on *Sesbania rostrata*. *Molecular Microbiology*. 2004. V. 52(2). P. 485-500. doi:10.1111/j.1365-2958.2004.03989.x
 24. Djordjevic S.P., Rolfe B.G., Batley M., Redmond J.W. (1986). The structure of the exopolysaccharide from *Rhizobium* sp. strain ANU280 (NGR234). *Carbohydrate Research*. 1986. V. 148 (1). P. 87-99. doi:10.1016/0008-6215(86)80039-8
 25. Donlan R.M. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Diseases*. 2002. V. 8(9). P. 881. doi:10.3201/eid0809.020063
 26. Downie J.A. The roles of extracellular proteins, polysaccharides and signals in the interactions of rhizobia with legume roots. *FEMS Microbiology Reviews*. 2010. V. 34(2). P. 150-170. doi:10.1111/j.1574-6976.2009.00205.x
 27. Edwards A., Frederix M., Wisniewski-Dyé F., Jones J., Zorreguieta A., Downie J.A. The cin and rai quorum-sensing regulatory systems in *Rhizobium leguminosarum* are coordinated by ExpR and CinS, a small regulatory protein coexpressed with CinI. *Journal of Bacteriology*. 2009. V. 191(9). P. 3059-3067. doi:10.1128/JB.01650-08
 28. Ferreira P.A.A., Bomfeti C.A., Soares B.L., de Souza Moreira F.M. Efficient nitrogen-fixing *Rhizobium* strains isolated from amazonian soils are highly tolerant to acidity and aluminium. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2012. V. 28(5). P. 1947-1959. doi:10.1007/s11274-011-0997-7
 29. Finan T.M., Weidner S., Wong K., Buhrmester J., Chain P., Vorhölter F.J., Hernandez-Lucas I., Becker A., Cowie A., Gouzy J., Golding B., Pühler A. The complete sequence of the 1,683-kb pSymB megaplasmid from the N₂-fixing endosymbiont *Sinorhizobium meliloti*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 2001. V. 98(17). P. 9889-9894. doi:10.1073/pnas.161294698
 30. Finnie C., Hartley N.M., Findlay K.C., Downie J.A. The *Rhizobium leguminosarum* *prsDE* genes are required for secretion of several proteins, some of which influence nodulation, symbiotic nitrogen fixation and exopolysaccharide modification. *Molecular Microbiology*. 1997. V. 25(1). P. 135-146. doi:10.1046/j.1365-2958.1997.4471803.x
 31. Finnie C., Zorreguieta A., Hartley N. M., Downie J. A. Characterization of *Rhizobium leguminosarum* exopolysaccharide glycanases that are secreted via a type I exporter and have a novel heptapeptide repeat motif. *Journal of Bacteriology*. 1998. V. 180(7). P. 1691-1699. doi:10.1128/JB.180.7.1691-1699.1998
 32. Flemming H.C., Wingender J. Relevance of microbial extracellular polymeric substances (EPSs)-Part I: Structural and ecological aspects. *Water Science and Technology*. 2011. V. 43(6). P. 1-8. doi:10.1002/0471263397.env292
 33. Foster L.J.R., Moy Y.P., Rogers P.L. Metal binding capabilities of *Rhizobium etli* and its extracellular polymeric substances. *Biotechnology Letters*. 2000. V. 22(22). P. 1757-1760. doi:10.1023/A:1005694018653
 34. Fraysse N., Couderc F., Poinot V. Surface polysaccharide involvement in establishing the rhizobium-legume symbiosis. *European Journal of Biochemistry*. 2003. V. 270(7). P.1365-1380. doi:10.1046/j.1432-1033.2003.03492.x
 35. Fujishige N.A., Kapadia N.N., De Hoff P.L., Hirsch A.M. Investigations of *Rhizobium* biofilm formation. *FEMS Microbiology Ecology*. 2006. V. 56(2). P. 195-206. doi:10.1111/j.1574-6941.2005.00044.x
 36. Ghosh P.K., Maiti T.K. Structure of extracellular polysaccharides (EPS) produced by rhizobia and their functions in legume-bacteria symbiosis:—A Review. *Achievements in the Life Sciences*. 2016. V. 10 (2). P. 136-143. doi:10.1016/j.als.2016.11.003
 37. Gibson K.E., Kobayashi H., Walker G.C. Molecular determinants of a symbiotic chronic infection. *Annual Review of Genetics*. 2008. V. 42. P. 413-441. doi:10.1146/annurev.genet.42.110807.091427
 38. González A.G., Shirokova L.S., Pokrovsky O.S., Emnova E.E., Martínez R.E., Santana-Casiano J.M., González-Dávila M., Pokrovski G.S. Adsorption of copper on *Pseudomonas aureofaciens*: protective role of surface exopolysaccharides. *Journal of Colloid*

- and Interface Science. 2010. V. 350(1). P. 305-314. doi:10.1016/j.jcis.2010.06.020
39. Gonzalez J.E., York G.M., Walker G.C. *Rhizobium meliloti* exopolysaccharides: synthesis and symbiotic function. *Gene*. 1996. V. 179 (1). P. 141-146. doi:10.1016/S0378-1119(96)00322-8
 40. Gonzalez V., Santamaria R.I., Bustos P., Hernandez-Gonzalez I., Medrano-Soto A., Moreno-Hagelsieb G., Chandra Janga S., Ramirez M.A., Jiménez-Jacinto V., Collado-Vides J., Davila G. The partitioned *Rhizobium etli* genome: genetic and metabolic redundancy in seven interacting replicons. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 2006. V. 103(10). P. 3834-3839. doi:10.1073/pnas.0508502103
 41. Guerreiro N., Ksenzenko V.N., Djordjevic M.A., Ivashina T.V., Rolfe B.G. Elevated levels of synthesis of over 20 proteins results after mutation of the *Rhizobium leguminosarum* exopolysaccharide synthesis gene *pssA*. *Journal of Bacteriology*. 2000. V. 182(16). P. 4521-4532. doi:10.1128/JB.182.16.4521-4532.2000
 42. Guerrero G., Peralta H., Aguilar A., Díaz R., Villalobos M. A., Medrano-Soto A., Mora J. Evolutionary, structural and functional relationships revealed by comparative analysis of syntenic genes in Rhizobiales. *BMC Evolutionary Biology*. 2005. V. 5(1). P. 55. doi:10.1186/1471-2148-5-55
 43. Hussain H., Johnston A.W.B. Iron-dependent transcription of the regulatory gene *ros* of *Agrobacterium radiobacter*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 1997. V. 10(9). P.1087-1093. doi:10.1094/MPMI.1997.10.9.1087
 44. Ivashina T.V., Ksenzenko V.N. Exopolysaccharide biosynthesis in *Rhizobium leguminosarum*: from genes to functions. In: Karunaratne D.N., editor. The Complex world of polysaccharides. In Tech; Rijeka, Croatia. 2012. P. 99–126. <http://dx.doi.org/10.5772/51202>
 45. Ivashina T.V., Fedorova E.E., Ashina N.P., Kalinchuk N.A., Druzhinina T.N., Shashkov A.S., Shibaev V.N., Ksenzenko V.N. Mutation in the *pssM* gene encoding ketal pyruvate transferase leads to disruption of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*-*Pisum sativum* symbiosis. *Journal of Applied Microbiology*. 2010. V. 109(2). P. 731-742. doi:10.1111/j.1365-2672.2010.04702.x
 46. Ivashina T.V., Khmelnskiy M.I., Shiyapnikov M.G., Kanapin A.A., Ksenzenko V.N. The *pss4* gene from *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* VF39: cloning, sequence and the possible role in polysaccharide production and nodule formation. *Gene*. 1994. V. 150(1). P. 111-116. doi:10.1016/0378-1119(94)90868-0
 47. Ivashina T.V., Sadykov M.R., Chatuev B.M., Kanapin A.A., Shliapnikov M.G., Ksenzenko, V N. The *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* VF39 *pssB* gene product participates in symbiotic fixation of molecular nitrogen. *Doklady Akademii Nauk*. 1996. V. 350 (5). P. 712.
 48. Janczarek M. Environmental signals and regulatory pathways that influence exopolysaccharide production in rhizobia. *International Journal of Molecular Sciences*. 2011. V. 12(11). P. 7898-7933. doi:10.3390/ijms12117898
 49. Janczarek M., Rachwał K. Mutation in the *pssA* gene involved in exopolysaccharide synthesis leads to several physiological and symbiotic defects in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013. V. 14(12). P. 23711-23735. doi:10.3390/ijms141223711
 50. Janczarek M., Skorupska, A. The *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* *pssB* gene product is an inositol monophosphatase that influences exopolysaccharide synthesis. *Archives of Microbiology*. 2001.V. 175(2). P. 143-151. doi:10.1007/s002030000250
 51. Janczarek M., Skorupska, A. Exopolysaccharide synthesis in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* is related to various metabolic pathways. *Research in Microbiology*. 2003. V. 154(6). P. 433-442. doi:10.1016/S0923-2508(03)00113-X
 52. Janczarek M., Skorupska A. Regulation of *pssA* and *pssB* gene expression in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* in response to environmental factors. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2004. V. 85(3). P. 217-227. doi:10.1023/B:ANTO.0000020342.39867.fb
 53. Janczarek M., Skorupska, A. The *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* RosR: transcriptional regulator involved in exopolysaccharide production. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2007. V. 20(7). P. 867-881. doi:10.1094/MPMI-20-7-0867
 54. Janczarek M., Skorupska A. *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* *rosR* gene expression is regulated by catabolic repression. *FEMS Microbiology Letters*. 2009. V. 291(1). P. 112-119. doi:10.1111/j.1574-6968.2008.01443.x
 55. Janczarek M., Skorupska A. Modulation of *rosR* expression and exopolysaccharide production in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* by phosphate and clover root exudates. *International Journal of Molecular Sciences*. 2011. V. 12(6). P. 4132-4155. doi:10.3390/ijms12064132
 56. Janczarek M., Jaroszuk-Sciseł J., Skorupska A. Multiple copies of *rosR* and *pssA* genes enhance exopolysaccharide production, symbiotic competitiveness and clover nodulation in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*. *Antonie Van*

- Leeuwenhoek*. 2009. V. 96(4). P. 471-486. doi:10.1007/s10482-009-9362-3
57. Janczarek M., Kalita M., Skorupska A.M. New taxonomic markers for identification of *Rhizobium leguminosarum* and discrimination between closely related species. *Archives of Microbiology*. 2009. V. 191(3). P. 207-219. doi:10.1007/s00203-008-0447-6
58. Janczarek M., Krol J., Skorupska, A. The *pssB* gene product of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* is homologous to a family of inositol monophosphatases. *FEMS Microbiology Letters*. 1999. V. 173(2). P. 319-325. doi:10.1111/j.1574-6968.1999.tb13520.x
59. Janczarek M., Kutkowska J., Piersiak T., Skorupska A. *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* *rosR* is required for interaction with clover, biofilm formation and adaptation to the environment. *BMC Microbiology*. 2010. V. 10(1). P. 284. doi:10.1186/1471-2180-10-284
60. Janczarek M., Rachwał K., Turska-Szewczuk A. A mutation in *pssE* affects exopolysaccharide synthesis by *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*, its surface properties, and symbiosis with clover. *Plant and Soil*. 2017. V. 417(1-2). P. 331-347. doi:10.1007/s11104-017-3262-5
61. Jones K.M. Increased production of the exopolysaccharide succinoglycan enhances *Sinorhizobium meliloti* 1021 symbiosis with the host plant *Medicago truncatula*. *Journal of Bacteriology*. 2012. V. 194. P. 4322-4331. doi:10.1128/JB.00751-12
62. Jones K.M., Kobayashi H., Davies B.W., Taga M.E., Walker G.C. How rhizobial symbionts invade plants: the *Sinorhizobium-Medicago* model. *Nature Reviews Microbiology*. 2007. V. 5(8). P. 619. doi:10.1038/nrmicro1705
63. Joshi N., Ngwenya B.T., French C.E. Enhanced resistance to nanoparticle toxicity is conferred by overproduction of extracellular polymeric substances. *Journal of Hazardous Materials*. 2012. V. 241. P. 363-370. doi:10.1016/j.jhazmat.2012.09.057
64. Karr D.B., Liang R.T., Reuhs B.L., Emerich D.W. Altered exopolysaccharides of *Bradyrhizobium japonicum* mutants correlate with impaired soybean lectin binding, but not with effective nodule formation. *Planta*. 2000. V. 211 (2). P. 218-226. doi:10.1007/s004250000288
65. Kaur V., Bera M.B., Panesar P.S., Chopra H.K. Production and characterization of exopolysaccharide produced by *Alcaligenes faecalis* B14 isolated from indigenous soil. *International Journal of Biotechnology and Bioengineering Research*. 2013. V. 4(4). P. 365-374.
66. Kawaharada Y., Kelly S., Nielsen M.W., Hjuler C.T., Gysel K., Muszyński A., Carlson R.W., Thygesen M.B., Sandal N., Asmussen M.H., Vinther M., Andersen S.U., Krusell L., Thirup S., Jensen K.J., Ronson C.W., Blaise M., Radutoiu S., Stougaard J. Receptor-mediated exopolysaccharide perception controls bacterial infection. *Nature*. 2015. V. 523(7560). P. 308. doi:10.1038/nature14611
67. Kawaharada, Y., Nielsen, M. W., Kelly, S., James, E. K., Andersen, K. R., Rasmussen, S. R., Füchtbauer W., Madsen L.H., Heckmann A.B., Radutoiu S., Stougaard J. Differential regulation of the Epr3 receptor coordinates membrane-restricted rhizobial colonization of root nodule primordia. *Nature Communications*. 2017. V. 8. P. 14534. doi:10.1038/ncomms14534
68. Kazy S.K., Sar P., Singh S.P., Sen A.K., D'souza S. Extracellular polysaccharides of a copper-sensitive and a copper-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain: synthesis, chemical nature and copper binding. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2002. V. 18(6). P. 583-588. doi:10.1023/A:1016354713289
69. Keller M., Roxlau A., Weng W.M., Schmidt M., Quandt J., Niehaus K., Jording D., Arnold W., Puhler, A. Molecular analysis of the *Rhizobium meliloti mucR* gene regulating the biosynthesis of the exopolysaccharides succinoglycan and galactoglucan. *Molecular Plant Microbe Interactions*. 1995. V. 8(2). P. 267-277. doi:10.1094/mpmi-8-0267
70. Kelly S.J., Muszyński A., Kawaharada Y., Hubber A.M., Sullivan J.T., Sandal N., Carlson R.W., Stougaard J., Ronson C.W. Conditional requirement for exopolysaccharide in the *Mesorhizobium-Lotus* symbiosis. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2013. V. 26(3). P. 319-329. doi:10.1094/MPMI-09-12-0227-R
71. Kopycinska M., Lipa P., Ciesla J., Koziel M., Janczarek M. Extracellular polysaccharide protects *Rhizobium leguminosarum* cells against zinc stress in vitro and during symbiosis with clover. *Environmental Microbiology Reports*. 2018. V. 10(3). P. 355-368. doi:10.1111/1758-2229.12646
72. Krehenbrink M., Downie J.A. Identification of protein secretion systems and novel secreted proteins in *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*. *BMC Genomics*. 2008. V. 9(1). P. 55. doi:10.1186/1471-2164-9-55
73. Krol J.E., Mazur A., Marczak M., Skorupska A. Syntenic arrangements of the surface polysaccharide biosynthesis genes in *Rhizobium leguminosarum*. *Genomics*. 2007. V. 89(2). P. 237-247. doi:10.1016/j.ygeno.2006.08.015
74. Krol J., Wielbo J., Mazur A., Kopycinska J., Lotocka B., Golinowski W., Skorupska A. Molecular characterization of *pssCDE* genes of *Rhizobium*

- leguminosarum* bv. *trifolii* strain TA1: *pssD* mutant is affected in exopolysaccharide synthesis and endocytosis of bacteria. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 1998. V. 11(11). P. 1142-1148. doi:10.1094/MPMI.1998.11.11.1142
75. Kutkowska J., Janczarek M., Kopcinska J., Urbanik-Sypniewska T., Skorupska A. Effects of *pssB* mutation on surface polysaccharides and symbiotic phenotype of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*. *Acta Biol. Crac. Ser. Bot.* 2007. V. 49 P. 81–89.
 76. Latchford J.W., Borthakur D., Johnston A.W.B. The products of *Rhizobium* genes, *psi* and *pss*, which affect exopolysaccharide production, are associated with the bacterial cell surface. *Molecular Microbiology*. 1991. V. 5(9). P. 2107-2114. doi:10.1111/j.1365-2958.1991.tb02140.x
 77. Laus M.C., Logman T.J., Lamers G.E., Van Brussel A.A., Carlson R.W., Kijne J.W. A novel polar surface polysaccharide from *Rhizobium leguminosarum* binds host plant lectin. *Molecular Microbiology*. 2006. V. 59(6). P. 1704-1713. doi:10.1111/j.1365-2958.2006.05057.x
 78. Laus M.C., Logman T.J., Van Brussel A.A., Carlson R.W., Azadi P., Gao M.Y., Kijne J.W. Involvement of *exo5* in production of surface polysaccharides in *Rhizobium leguminosarum* and its role in nodulation of *Vicia sativa* subsp. *nigra*. *Journal of Bacteriology*. 2004. V. 186(19). P. 6617-6625. doi:10.1128/JB.186.19.6617-6625.2004
 79. Laus M.C., van Brussel A.A., Kijne J.W. Exopolysaccharide structure is not a determinant of host-plant specificity in nodulation of *Vicia sativa* roots. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2005. V. 18(11). P. 1123-1129. doi:10.1094/MPMI-18-1123
 80. Ledin M. Accumulation of metals by microorganisms—processes and importance for soil systems. *Earth-Science Reviews*. 2000. V. 51(1-4). P. 1-31. doi:10.1016/S0012-8252(00)00008-8
 81. Leigh J.A., Signer E.R., Walker G.C. Exopolysaccharide-deficient mutants of *Rhizobium meliloti* that form ineffective nodules. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1985. V. 82(18). P. 6231-6235. doi:10.1073/pnas.82.18.6231
 82. Lombard V., Golaconda Ramulu H., Drula E., Coutinho P.M., Henrissat B. The carbohydrate-active enzymes database (CAZy) in 2013. *Nucleic Acids Research*. 2014. V. 42(D1). P. D490-D495. doi:10.1093/nar/gkt1178
 83. Long S.R. *Rhizobium* symbiosis: nod factors in perspective. *Plant Cell*. 1996. V. 8(10). P. 1885. doi:10.1105/tpc.8.10.1885
 84. Lopez-Guerrero M.G., Ormeno-Orrillo E., Acosta J.L., Mendoza-Vargas A., Rogel M.A., Ramirez M.A., Rosenblueth M., Martinez-Romero J., Martinez-Romero E. Rhizobial extrachromosomal replicon variability, stability and expression in natural niches. *Plasmid*. 2012. V. 68(3). P. 149-158. doi:10.1016/j.plasmid.2012.07.002
 85. Lopez-Lara I.M., Orgambide G., Dazzo F.B., Olivares J., Toro N. Characterization and symbiotic importance of acidic extracellular polysaccharides of *Rhizobium* sp. strain GRH2 isolated from acacia nodules. *Journal of Bacteriology*. 1993. V. 175 (10). P. 2826-2832. doi:10.1128/jb.175.10.2826-2832.1993
 86. Louch H.A., Miller K.J. Synthesis of a low-molecular-weight form of exopolysaccharide by *Bradyrhizobium japonicum* USDA 110. *Appl. Environ. Microbiol.* 2001. V. 67 (2). P. 1011-1014. doi:10.1128/AEM.67.2.1011-1014.2001
 87. Lynch J.M., Moffat A.J. Bioremediation—prospects for the future application of innovative applied biological research. *Annals of Applied Biology*. 2005. V. 146(2). P. 217-221. doi:10.1111/j.1744-7348.2005.040115.x
 88. Marczak M., Dzwierzynska M., Skorupska A. Homo- and heterotypic interactions between Pss proteins involved in the exopolysaccharide transport system in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*. *Biological Chemistry*. 2013. V. 394(4). P. 541-559. doi:10.1515/hsz-2012-0161
 89. Marczak M., Mazur A., Gruszecki W. I., Skorupska, A. PssO, a unique extracellular protein important for exopolysaccharide synthesis in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*. *Biochimie*. 2008. V. 90(11-12). P. 1781-1790. doi:10.1016/j.biochi.2008.08.004
 90. Marczak M., Mazur A., Koper P., Żebracki K., Skorupska A. Synthesis of rhizobial exopolysaccharides and their importance for symbiosis with legume plants. *Genes*. 2017. V. 8(12). P. 360. doi:10.3390/genes8120360
 91. Marczak M., Mazur A., Krol J.E., Gruszecki W.I., Skorupska A. Lipoprotein PssN of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*: subcellular localization and possible involvement in exopolysaccharide export. *Journal of Bacteriology*. 2006. V. 188(19). P. 6943-6952. doi:10.1128/JB.00651-06
 92. Masson-Boivin C., Giraud E., Perret X., Batut J. Establishing nitrogen-fixing symbiosis with legumes: how many rhizobium recipes? *Trends in Microbiology*. 2009. V. 17(10). P. 458-466. doi:10.1016/j.tim.2009.07.004
 93. Matulova M., Toffanin R., Navarini L., Gilli R., Paoletti S., Cesaro A. NMR analysis of succinoglycans from different microbial sources: partial assignment of their ¹H and ¹³C NMR spectra and location of the succinate and the acetate groups.

- Carbohydrate Research*. 1994. V. 265 (2). P. 167-179. doi:10.1016/0008-6215(94)00227-4
94. Mazur A., Krol J.E., Marczak M., Skorupska A. Membrane topology of PssT, the transmembrane protein component of the type I exopolysaccharide transport system in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* strain TA1. *Journal of Bacteriology*. 2003. V. 185(8). P. 2503-2511. doi:10.1128/JB.185.8.2503-2511.2003
95. Mazur A., Krol J.E., Wielbo J., Urbanik-Sypniewska T., Skorupska A. *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* PssP protein is required for exopolysaccharide biosynthesis and polymerization. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2002. V. 15(4). P. 388-397. doi:10.1094/MPMI.2002.15.4.388
96. Mazur A., Marczak M., Krol J.E., Skorupska A. Topological and transcriptional analysis of *pssL* gene product: a putative Wzx-like exopolysaccharide translocase in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* TA1. *Archives of Microbiology*. 2005. V. 184(1). P. 1-10. doi:10.1007/s00203-005-0018-z
97. Mendrygal K.E., Gonzalez J.E. Environmental regulation of exopolysaccharide production in *Sinorhizobium meliloti*. *Journal of Bacteriology*. 2000. V. 182 (3). P. 599-606. doi:10.1128/jb.182.3.599-606.2000
98. Mimmack M.L., Borthakur D., Jones M.A., Downie J.A., Johnston A.W.B. The *psi* operon of *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*: identification of two genes whose products are located at the bacterial cell surface. *Microbiology*. 1994. V. 140(5). P. 1223-1229. doi:10.1099/13500872-140-5-1223
99. Mimmack M.L., Hong G.F., Johnston A.W.B. Sequence and regulation of *psrA*, a gene on the Sym plasmid of *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* which inhibits transcription of the *psi* genes. *Microbiology*. 1994. V. 140(3). P. 455-461. doi:10.1099/00221287-140-3-455
100. Muszynski A., Laus M., Kijne J.W., Carlson R.W. Structures of the lipopolysaccharides from *Rhizobium leguminosarum* RBL5523 and its UDP-glucose dehydrogenase mutant (*exo5*). *Glycobiology*. 2010. V. 21(1). P. 55-68. doi:10.1093/glycob/cwq131
101. Nocelli N., Bogino P.C., Banchio E., Giordano W. Roles of extracellular polysaccharides and biofilm formation in heavy metal resistance of rhizobia. *Materials*. 2016. V. 9(6). P. 418. doi:10.3390/ma9060418
102. O'Neill M.A., Darvill A.G., Albersheim P. The degree of esterification and points of substitution by O-acetyl and O-(3-hydroxybutanoyl) groups in the acidic extracellular polysaccharides secreted by *Rhizobium leguminosarum* biovars *viciae*, *trifolii*, and *phaseoli* are not related to host range. *Journal of Biological Chemistry*. 1991. V. 266(15). P. 9549-9555.
103. Osinska-Jaroszuk M., Jaszek M., Starosielec M., Sulej J., Matuszewska A., Janczarek M., Renata Bancercz R., Wydrych J., Wiater A., Jarosz-Wilkolazka A. Bacterial exopolysaccharides as a modern biotechnological tool for modification of fungal laccase properties and metal ion binding. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 2018. V. 41(7). P. 973-989. doi:10.1007/s00449-018-1928-x
104. Ovtsyna A.O., Tikhonovich I.A. Структура, функции и возможность практического применения сигнальных молекул, инициирующих развитие бобово-ризобияльного симбиоза. *Журнал экологической генетики*. 2004. V. 2 (3). S. 14-24. [Structure, functions and perspectives of practical application of the signal molecules inducing development of rhizobia-legume symbiosis]. (In Russian).
105. Pal A., Paul A.K. Microbial extracellular polymeric substances: central elements in heavy metal bioremediation. *Indian Journal of Microbiology*. 2008. V. 48(1). P. 49-64. doi: 10.1007/s12088-008-0006-5
106. Pellock B.J., Cheng H.P., Walker G.C. Alfalfa root nodule invasion efficiency is dependent on *Sinorhizobium meliloti* polysaccharides. *Journal of Bacteriology*. 2000. V. 182(15). P. 4310-4318. doi:10.1128/JB.182.15.4310-4318.2000
107. Pollock T.J., van Workum W.A., Thorne L., Mikolajczak M.J., Yamazaki M., Kijne J.W., & Armentrout R.W. Assignment of biochemical functions to glycosyl transferase genes which are essential for biosynthesis of exopolysaccharides in *Sphingomonas* strain S88 and *Rhizobium leguminosarum*. *Journal of Bacteriology*. 1998. V. 180(3). P. 586-593. doi:10.1128/JB.180.3.586-593.1998
108. Pulsawat W., Leksawasdi N., Rogers P.L., Foster L.J.R. Anions effects on biosorption of Mn (II) by extracellular polymeric substance (EPS) from *Rhizobium etli*. *Biotechnology Letters*. 2003. V.25(15). P. 1267-1270. doi:10.1023/A:1025083116343
109. Reeve W.G., Dilworth M.J., Tiwari R.P., Glenn A.R. Regulation of exopolysaccharide production in *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* WSM710 involves *exoR*. *Microbiology*. 1996. V. 143(6). P. 1951-1958. doi:10.1099/00221287-143-6-1951
110. Rinaudi L.V., Giordano W. An integrated view of biofilm formation in rhizobia. *FEMS Microbiology Letters*. 2010. V. 304(1). P. 1-11. doi:10.1111/j.1574-6968.2009.01840.x
111. Rinaudi L.V., Gonzalez J.E. The low-molecular-weight fraction of exopolysaccharide II from

- Sinorhizobium meliloti* is a crucial determinant of biofilm formation. *Journal of Bacteriology*. 2009. V. 191 (23). P. 7216-7224. doi:10.1128/JB.01063-09
112. Robertsen B.K., Åman P., Darvill A.G., McNeil M., Albersheim P. Host-symbiont interactions: V. The structure of acidic extracellular polysaccharides secreted by *Rhizobium leguminosarum* and *Rhizobium trifolii*. *Plant Physiology*. 1981. V. 67(3). P. 389-400. doi:10.1104/pp.67.3.389
 113. Rolfe B.G., Carlson R.W., Ridge R.W., Dazzo F.B., Mateos P.F., Pankhurst C.E. Defective infection and nodulation of clovers by exopolysaccharide mutants of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*. *Functional Plant Biology*. 1996. V. 23(3). P. 285-303. doi:10.1071/PP9960285
 114. Russo D.M., Williams A., Edwards A., Posadas D.M., Finnie C., Dankert M., Downie J.A., Zorreguieta, A. Proteins exported via the PrsD-PrsE type I secretion system and the acidic exopolysaccharide are involved in biofilm formation by *Rhizobium leguminosarum*. *Journal of Bacteriology*. 2006. V. 188(12). P. 4474-4486. doi:10.1128/JB.00246-06
 115. Sadykov M.R., Ivashina T.V., Shlyapnikov M.G., Ksenzenko V.N., Kanapin A.A. Structural and functional organization of the exopolysaccharide biosynthesis genes in *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* VF39. *Molecular Biology*. 1998. V. 32(5). P. 665-671.
 116. Sanchez-Andujar B., Coronado C., Philip-Hollingsworth S., Dazzo F. B., Palomares A.J. Structure and role in symbiosis of the *exoB* gene of *Rhizobium leguminosarum* bv *trifolii*. *Molecular and General Genetics*. 1997. V. 255(2). P. 131-140. doi:10.1007/s004380050481
 117. Schue M., Fekete A., Ortet P., Brutesco C., Heulin T., Schmitt-Kopplin P., Achouak W., Santaella C. Modulation of metabolism and switching to biofilm prevail over exopolysaccharide production in the response of *Rhizobium alamii* to cadmium. *PLoS One*. 2011. V. 6(11). e26771. doi:10.1371/journal.pone.0026771
 118. Singh P., Cameotra S.S. Enhancement of metal bioremediation by use of microbial surfactants. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2004. V. 319(2). P. 291-297. doi:10.1016/j.bbrc.2004.04.155
 119. Singh R., Paul D., Jain R.K. Biofilms: implications in bioremediation. *Trends in Microbiology*. 2006. V. 14(9). P. 389-397. doi:10.1016/j.tim.2006.07.001
 120. Skorupska A., Janczarek M., Marczak M., Mazur A., Król J. (2006). Rhizobial exopolysaccharides: genetic control and symbiotic functions. *Microbial Cell Factories*. 2006. V. 5(1). P. 7. doi:10.1186/1475-2859-5-7
 121. Slaveykova V.I., Parthasarathy N., Dedieu K., Toescher D. Role of extracellular compounds in Cd-sequestration relative to Cd uptake by bacterium *Sinorhizobium meliloti*. *Environmental Pollution*. 2010. V. 158(8). P. 2561-2565. doi:10.1016/j.envpol.2010.05.016
 122. Sorroche F.G., Rinaudi L.V., Zorreguieta A., Giordano W. EPS II-dependent autoaggregation of *Sinorhizobium meliloti* planktonic cells. *Current Microbiology*. 2010. V. 61 (5). P. 465-470. doi:10.1007/s00284-010-9639-9
 123. Sorroche F.G., Spesia M.B., Zorreguieta Á., Giordano W. A positive correlation between bacterial autoaggregation and biofilm formation in native *Sinorhizobium meliloti* isolates from Argentina. *Applied and Environmental Microbiology*. 2012. AEM-07826. doi:10.1128/AEM.07826-11
 124. Staehelin C., Forsberg L.S., D'Haese W., Gao M.Y., Carlson R.W., Xie Z.P., Pellock B.J., Jones K.M., Walker G.C., Streit W.R., Broughton, W.J. Exo-oligosaccharides of *Rhizobium* sp. strain NGR234 are required for symbiosis with various legumes. *Journal of Bacteriology*. 2006. V. 188 (17). P. 6168-6178. doi:10.1128/JB.00365-06
 125. Stredansky M., Conti E., Bertocchi C., Matulova, M., Zanetti F. Succinoglycan production by *Agrobacterium tumefaciens*. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 1998. V. 85 (4). P. 398-403. doi:10.1007/s002530051528
 126. Szewczuk-Karpisz K., Wisniewska M., Pac M., Choma A., Komaniecka I. *Sinorhizobium meliloti* 1021 exopolysaccharide as a flocculant improving chromium (III) oxide removal from aqueous solutions. *Water, Air, & Soil Pollution*. 2014. V. 225 (8). P. 2052. doi:10.1007/s11270-014-2052-4
 127. van Workum W.A., Cremers H.C.C., Wijffjes A.H., van der Kolk C., Wijffelman C.A., Kijne J.W. Cloning and characterization of four genes of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* involved in exopolysaccharide production and nodulation. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 1997. V. 10(2). P. 290-301. doi:10.1094/MPMI.1997.10.2.290
 128. Vinardell J., Ollero F.J., Hidalgo Á., López-Baena F.J., Medina C., Ivanov-Vangelov K., Parada M., Madinabeitia N., Espuny Mdel R., Bellogín R.A., Camacho M., Rodríguez-Navarro D.N., Soria-Díaz M.E., Gil-Serrano A.M., Ruiz-Sainz J.E. NolR regulates diverse symbiotic signals of *Sinorhizobium fredii* HH103. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2004. V. 17(6). P. 676-685. doi:10.1094/MPMI.2004.17.6.676
 129. Vu B., Chen M., Crawford R.J., Ivanova E.P. Bacterial extracellular polysaccharides involved in

- biofilm formation. *Molecules*. 2009. V. 14(7) P. 2535-2554. doi:10.3390/molecules14072535
130. Wang L.X., Wang, Y., Pellock B., Walker G.C. Structural characterization of the symbiotically important low-molecular-weight succinoglycan of *Sinorhizobium meliloti*. *Journal of Bacteriology*. 1999. V. 181(21). P.6788-6796 doi:10.1128/JB.181.21.6788-6796.1999
131. Wielbo J., Skorupska A. Influence of phosphate and ammonia on the growth, exopolysaccharide production and symbiosis of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* TA1 with clover (*Trifolium pratense*). *Acta Biologica Hungarica*. 2008. V. 59(1). P. 115-127. doi:10.1556/ABiol.59.2008.1.10
132. Wielbo J., Marek-Kozaczuk M., Kubik-Komar A., Skorupska A. Increased metabolic potential of *Rhizobium* spp. is associated with bacterial competitiveness. *Canadian Journal of Microbiology*. 2007. V. 53(8). P. 957-967. doi:10.1139/W07-053
133. Wielbo J., Marek-Kozaczuk M., Mazur A., Kubik-Komar A., Skorupska A. Genetic and metabolic divergence within a *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* population recovered from clover nodules. *Applied and Environmental Microbiology*. 2010. V. 76(14). P. 4593-4600. doi:10.1128/AEM.00667-10
134. Wielbo J., Mazur A., Krol J.E., Marczak M., Skorupska A. Environmental modulation of the *pssTNOP* gene expression in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*. *Canadian Journal of Microbiology*. 2004. V. 50(3). P. 201-211. doi:10.1139/w04-004
135. Wielbo J., Mazur A., Krol J., Marczak M., Kutkowska J., Skorupska A. Complexity of phenotypes and symbiotic behaviour of *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* exopolysaccharide mutants. *Archives of Microbiology*. 2004. V. 182(4). P. 331-336. doi:10.1007/s00203-004-0723-z
136. Young J.P.W., Crossman L.C., Johnston A.W., Thomson N.R., Ghazoui Z.F., Hull K.H. et al. The genome of *Rhizobium leguminosarum* has recognizable core and accessory components. *Genome Biology*. 2006. V. 7(4). R34. doi:10.1186/gb-2006-7-4-r34
137. Younis M. Responses of Lablab purpureus-*Rhizobium* symbiosis to heavy metals in pot and field experiments. *World J. Agric. Sci.* 2007. V. 3. P. 111-122.
138. Zorreguieta A., Finnie C., Downie J.A. Extracellular glycanases of *Rhizobium leguminosarum* are activated on the cell surface by an exopolysaccharide-related component. *Journal of Bacteriology*. 2000. V. 182(5). P. 1304-1312. doi:10.1128/JB.182.5.1304-1312.2000