

РОЛЬ ФИТОГОРМОНОВ В КОНТРОЛЕ РАЗВИТИЯ СИМБИОТИЧЕСКИХ КЛУБЕНЬКОВ У БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ. СООБЩЕНИЕ II. АУКСИНЫ*
(обзор)

Е.А. ДОЛГИХ, А.Н. КИРИЕНКО, И.В. ЛЕПЯНЕН, А.В. ДОЛГИХ

В обзоре представлен анализ современных данных о роли ауксинов в регуляции развития азотфиксирующих клубеньков у бобовых растений. Обсуждается взаимодействие ауксинов с цитокининами и компонентами сигнального каскада, активируемого Nod-факторами, при органо-генезе клубеньков у растений с разным типом клубенькообразования. Основное внимание уделено участию ауксинов в контроле инициации и начальных этапов развития клубеньков. В ранних работах при анализе трансгенных растений, которые содержали конструкции с регулируемым ауксин-синами промоторами, слитыми с репортерными генами, было выявлено накопление ауксинов в местах закладки примордиев клубеньков, что свидетельствовало о непосредственном влиянии фитогормонов на этот процесс (U. Mathesius и соавт., 1998; C. Pacios-Bras и соавт., 2003). Сформировались представления о том, что появлению клубеньков предшествует создание максимумов содержания ауксинов в клетках, из которых в дальнейшем развиваются примордии этих органов. Создание таких максимумов зависит от Nod-факторов и активации цитокининового ответа, но по-разному контролируется у бобовых, формирующих клубеньки детерминированного (регуляция биосинтеза ауксинов) и недетерминированного (контроль транспорта ауксинов с участием флавоноидов) типа (A.P. Wasson и соавт., 2006; J. Plet и соавт., 2011; T. Suzuki и соавт., 2012). При этом влияние цитокининов на транспорт ауксинов (белки-транспортеры ауксина PIN) при формировании клубеньков имеет много общего с участием цитокининов в контроле программы развития боковых корней, что может свидетельствовать об эволюционном родстве двух морфогенетических программ. У бобовых растений программы развития клубеньков и боковых корней на начальных этапах имеют много общего, поскольку эти органы образуются в результате реактивации дифференцированных клеток корня и имеют черты структурного сходства. Однако в дальнейшем дивергенция приводит к формированию структурно и функционально различных органов, что может быть связано с неодинаковой ролью, которую играют цитокинины и ауксины в контроле описанных процессов. В обзоре также рассмотрена роль баланса ауксинов и цитокининов в определении программы развития клеток корня. Обсуждаются данные экспериментов с использованием экзогенных гормонов, показавшие что клетки-основательницы, которые дают начало боковым корням, характеризуются высокой пластичностью процессов развития, определяемой балансом ауксинов и цитокининов (L. Laplace и соавт., 2007; Chatfield и соавт., 2013). Вместе с тем роль ауксинов в контроле более поздних этапов клубенькообразования у бобовых растений остается малоисследованной.

Ключевые слова: бобово-ризобиальный симбиоз, ауксины, фитогормональный баланс, органогенез клубеньков.

Симбиотическое взаимодействие между бобовыми растениями и бактериями порядка *Rhizobiales* (ризобиями) приводит к развитию на их корнях новых органов — азотфиксирующих клубеньков. Этот процесс у бобовых растений инициируется сигнальными молекулами липохитоолигосахаридной природы — Nod-факторами, которые выделяют ризобии (1). Клубеньки развиваются в результате реактивации клеток корня, их дедифференцировки и перехода к делению, что определяет формирование кластера делящихся клеток, образующих примордии новых органов. Процесс клубенькообразования представляет собой уникальную модель для изучения того, как формирование органа *de novo* регулируется внешними сигналами (в обсуждаемой модели — под влиянием факторов клубенькообразования, выделяемых ризобиями).

Физиологические и генетические данные свидетельствуют о том, что индуцируемые Nod-факторами изменения в фитогормональном ба-

* Исследования выполнены при поддержке гранта Президента РФ НШ-6759.2016.4, грантов РФФИ 14-04-01084-а и РФФИ 14-24-00135. «Роль фитогормонов в контроле развития симбиотических клубеньков у бобовых растений. Сообщение II. Ауксины (обзор)» см. в журнале «Сельскохозяйственная биология», 2016, т. 51, № 3: 285-298 (doi: 10.15389/agrobiology.2016.3.285rus, doi: 10.15389/agrobiology.2016.3.285eng).

лансе представляют собой необходимое условие для успешного развития клубеньков (2-7). Эти изменения связаны с регуляцией генов, контролирующих биосинтез, активацию и транспорт фитогормонов в самом растении (5, 8). Синтезируемые ризобиями гормоны способны влиять на эффективность симбиоза, но не влияют на формирование клубеньков (9).

В настоящем обзоре обсуждаются результаты классических и современных исследований, посвященных роли ауксинов в клубенькообразовании, и значение баланса ауксинов и цитокининов в определении программы развития клеток корня у бобовых растений.

Ауксины участвуют в контроле инициации и начальных этапов развития клубеньков. Исследования последних лет показали, что сигнальный каскад, активируемый Nod-факторами, приводит к стимуляции цитокининового ответа в клетках коры корня (10, 11). При этом у бобовых растений, формирующих клубеньки недетерминированного типа (люцерна слабоусеченная *Medicago truncatula*, горох *Pisum sativum*, клевер белый *Trifolium repens*), ответ на цитокинины активируется в клетках перидермы, эндодермы и внутренней коры корня, формирующих примордий клубенька (5). Напротив, у бобовых, образующих клубеньки детерминированного типа (лядвенец *Lotus japonicus*, соя *Glycine max*) стимуляция цитокининового ответа происходит в клетках наружной коры корня (6).

Вместе с тем экспериментальные данные указывают на важную роль ауксинов в регуляции инициации и развития клубеньков на корнях бобовых растений (4, 5, 7, 12, 13). Достаточно давно было показано, что обработка бобовых растений ингибиторами полярного транспорта ауксинов приводит к появлению клубенькоподобных структур на корнях, что указывает на участие этой группы фитогормонов в образовании клубеньков (4, 14). С использованием генетических конструкций, содержащих регулируемые ауксином промоторы *GH3:GUS*, *DR5:GUS*, слитые с репортерными генами, было выявлено накопление ауксинов в местах закладки примордиев клубеньков, что свидетельствовало о непосредственном влиянии указанных фитогормонов на этот процесс (17-19).

У бобовых растений, формирующих недетерминированные клубеньки, инокуляция ризобиями и обработка Nod-факторами приводит к нарушению полярного транспорта ауксинов (ПАТ) и локальному накоплению ауксинов в местах закладки клубеньков (17, 18). Выполненные исследования позволили выявить две возможные причины ингибирования ПАТ. С одной стороны, было установлено, что флавоноиды, синтез которых активируется под влиянием Nod-факторов, влияют на ПАТ в месте инокуляции (17, 18, 20-22). С другой стороны, возможной причиной ингибирования ПАТ могло быть влияние цитокининов на распределение белков — транспортеров ауксинов PIN (PIN-FORMED) в проводящей системе корня. В отличие от растений дикого типа у мутанта *cre1*, дефектного по рецептору к цитокининам, в ответ на инокуляцию не происходили изменения в локализации белков PIN (5, 23). Отсутствие изменений в распределении PIN могло приводить к тому, что ингибирование ПАТ не наблюдалось.

На современном этапе исследований детальный анализ мутанта *cre1* позволил приблизиться к пониманию событий, которые происходят на молекулярном уровне с участием Nod-факторов, ауксинов и цитокининов у растений, формирующих клубеньки недетерминированного типа. Установлено, что у мутанта *cre1* в ответ на инокуляцию синтез флавоноидов не стимулируется, как следствие, изменения в локализации PIN не происходят и полярный транспорт ауксинов не нарушается (24). При этом обработка мутантных растений *cre1* флавоноидами и ингибиторами ПАТ восстанавливала клубенькообразование (24). Следовательно, активаци-

ция сигнального пути под влиянием Nod-факторов стимулирует рецептор к цитокининам, что влияет на синтез флавоноидов (экспрессируются гены, контролирующие биосинтез этих соединений). В свою очередь, флавоноиды оказывают влияние на белки-переносчики PIN, что приводит к ингибированию транспорта ауксинов. В результате локального накопления ауксинов в местах закладки клубеньков стимулируется пролиферация клеток перикарпа, эндодермы и коры, дающих начало клубеньку.

Ранее способность флавоноидов выступать в качестве регуляторов транспорта ауксинов была показана для других растений, поскольку эти соединения влияли на синтез (25) и локализацию белков PIN (26). Таким образом, у растений, формирующих клубеньки недетерминированного типа, при клубенькообразовании действие Nod-факторов и цитокининов предшествует изменению в содержании и локализации ауксинов. Цитокинины влияют на синтез флавоноидов и распределение белков PIN, что служит необходимым условием для создания локального градиента ауксина и формирования нового латерального органа — корневого клубенька.

У бобовых растений с детерминированными клубеньками (*L. japonicus*) ингибирование транспорта ауксинов в ответ на инокуляцию не наблюдали, но в месте закладки клубеньков возрастало содержание ауксинов, что было показано в экспериментах с ауксин-регулируемыми конструкциями (27, 28). При этом увеличение содержания ауксинов коррелировало с индукцией экспрессии гена *TRYPTOPHAN AMINOTRANSFERASE RELATED 1 (TAR1)*, контролирующего биосинтез ауксинов (29, 30). Вместе с тем оказалось, что у *L. japonicus* так же действие цитокининов при инициации органогенеза предшествовало накоплению ауксинов, которые, по мнению авторов, стимулировали пролиферацию клеток корня, влияя на регуляторы клеточного цикла (29, 30).

Действительно, участие и цитокининов, и ауксинов в контроле органогенеза может быть объяснено их взаимным влиянием друг на друга. Анализ данных литературы свидетельствует о том, что цитокинины могут регулировать процессы морфогенеза, оказывая влияние на транспорт и метаболизм ауксинов. Транспорт играет существенную роль в формировании градиента ауксинов в растении, что обуславливает специализацию клеток и регуляцию их пролиферации и дифференцировки (31). Транспорт ауксинов в растении был изучен на примере индолил-3-уксусной кислоты (ИАА), поступление которой в клетку осуществляется с помощью AUX1/LAX (AUXIN RESISTANT 1/LIKE AUX 1) и PGP (P-гликопротеин из семейства MDR — Multidrug resistance) (32). Выделение ауксинов из клетки регулируется белками PIN и PGP, которые встроены в плазматическую мембрану и располагаются полярно по отношению к переносчикам AUX1/LAX. Это позволяет осуществлять акропетальный, базипетальный, а также латеральный транспорт в растении (32). У бобовых изменения в транспорте ауксинов или биосинтезе ауксинов наблюдаются уже после вовлечения цитокининов в контроль клубенькообразования. Эти данные свидетельствуют о том, что цитокинины на начальных этапах развития клубеньков могут оказывать влияние на ауксины (4).

Феномен взаимного влияния фитогормонов цитокининов и ауксинов при органогенезе у растений достаточно хорошо изучен (33–36). Например, при формировании боковых корней у модельного растения *Arabidopsis* цитокинины сходным образом регулируют синтез PIN, их локализацию и избирательную деградацию (33–36). Установлено, что именно с помощью этих механизмов цитокинины, вероятно, регулируют формирование градиента ауксинов при развитии боковых корней (36, 37). Известно, что цитокинины и ауксины неодинаково влияют на развитие

побегов и корней: цитокинины стимулируют образование побегов, ауксины — корней. Исследования на *Arabidopsis* показали, что в апикальной меристеме побега цитокинины стимулируют пролиферацию клеток, а ауксины, напротив, влияют на их дифференцировку. В меристеме корня ауксины необходимы для поддержания меристематической активности, тогда как цитокинины подавляют развитие корневой меристемы (38, 39). При этом цитокинины влияют на дифференцировку клеток корня, ингибируя стимулирующий эффект ауксинов в отношении клеточного деления, то есть действуют в тесной взаимосвязи друг с другом. Баланс между делением и дифференцировкой клеток и, как следствие, контроль за размером меристемы достигаются в результате стимулирования цитокининами репрессоров ауксинового ответа Aux/IAA, что подавляет экспрессию переносчиков ауксинов PIN и транспорт ауксинов и приводит к изменению баланса цитокининов и ауксинов в той зоне корня, где клетки переходят от деления к дифференцировке (38, 39). Этим представлениям соответствует стимуляция пролиферации клеток корня, дающих начало клубенькам, под влиянием ауксинов, выявленная у бобовых растений.

Роль баланса гормонов ауксинов и цитокининов в определении программы развития клеток корня. В последние годы опубликовано достаточно много работ о взаимном влиянии цитокининов и ауксинов, что позволяет говорить о роли их баланса в определении программы развития клеток. Именно баланс ауксинов и цитокининов может определять выбор той или иной программы развития. Например, известно, что у *Arabidopsis* закладка бокового корня происходит из определенных клеток перицикла (клеток-основательницы бокового корня), в результате воздействия максимумов содержания ауксина (40). При этом экзогенное добавление ауксина ИАА приводило к увеличению числа боковых корней (41). Напротив, добавление экзогенного цитокинина 6-бензиламинопурина (6-БАП) к развивающемуся примордию бокового корня блокирует его развитие: нарушается план деления клеток и происходит уплощение примордия (37). Более того, при определенных условиях добавление экзогенного цитокинина на ранних стадиях закладки примордиев боковых корней способно вызывать полное изменение программы развития корня, в результате чего примордий бокового корня преобразуется в функционирующую меристему побега (42). Таким образом, данные экспериментов с использованием экзогенных гормонов указывают на то, что клетки-основательницы, дающие начало боковому корню, характеризуются большой пластичностью процессов развития, и вектор их развития определяется балансом ауксинов и цитокининов.

У бобовых растений программы развития клубеньков и боковых корней на начальных этапах имеют много общего, поскольку оба этих органа образуются в результате реактивации дифференцированных клеток корня и имеют черты структурного сходства (43–47). Однако в дальнейшем дивергенция приводит к формированию структурно и функционально различных органов, что может быть связано с неодинаковой ролью, которую играют цитокинины и ауксины в контроле описанных процессов. Это позволило некоторым авторам предложить гипотезу о том, что программа образования клубеньков эволюционировала на основе программы формирования боковых корней (48). В пользу такого предположения свидетельствуют данные о том, что Nod-факторы могут стимулировать развитие не только клубеньков, но и боковых корней (49, 50). Кроме того, стимуляция роста боковых корней Nod-факторами зависит от основных генов (*NFP*, *DMI1*, *DMI2*, *DMI3* и *NSP2*), контролирующих передачу сигнала после ре-

цепции Nod-факторов. Те же гены регулируют активацию ранних нодулинов и начальные деления клеток коры корня при клубенькообразовании.

Данные сравнительного анализа транскриптома корней растений дикого типа *M. truncatula* и мутанта *sickle*, обработанных Nod-факторами, подтверждают это предположение. Мутант *sickle* характеризуется повышенной чувствительностью к инокуляции и более интенсивным ответом на действие Nod-факторов из-за невосприимчивости к этилену (51, 52). Показано, что при обработке Nod-факторами у растений дикого типа и особенно у мутанта значительно возрастает экспрессия генов, которые контролируют развитие корней (существенная часть из них — гомологи генов модельного растения *Arabidopsis*) (53). У *Arabidopsis* многие из таких генов вовлечены в контроль деления клеток и формирование примордиев боковых корней, а также в поддержание пула стволовых клеток и структуры меристемы в организующем центре корня. Авторы приводят доказательства того, что усиление экспрессии этих генов связано с формированием клубеньков. Значительное увеличение числа примордиев клубеньков, но не боковых корней у мутанта *sickle* свидетельствует о том, что индукция экспрессии этого набора генов связана преимущественно с клубенькообразованием (53), что свидетельствует в пользу предположения о том, что у бобовых растений одни и те же гены могут контролировать начальные этапы развития боковых корней и клубеньков.

Итак, появлению клубеньков предшествует создание максимумов содержания ауксинов в клетках, из которых у бобовых растений в дальнейшем развиваются примордии этих органов. Создание таких максимумов зависит от Nod-факторов и активации цитокининового ответа в растениях, но по-разному контролируется у бобовых, формирующих клубеньки детерминированного (регуляция биосинтеза ауксинов) и недетерминированного (контроль транспорта ауксинов с участием флавоноидов) типа. Влияние цитокининов на белки-транспортеры ауксина PIN и транспорт ауксинов при формировании клубеньков имеет много общего с участием цитокининов в контроле программы развития боковых корней, что может свидетельствовать об эволюционном родстве двух морфогенетических программ.

ФГБНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной
микробиологии,
196608 Россия, г. Санкт-Петербург—Пушкин, ш. Подбельского, 3,
e-mail: dol2helen@yahoo.com

Поступила в редакцию
18 марта 2016 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2016, V. 51, № 5, pp. 585-592

ROLE OF PHYTOHORMONES IN THE CONTROL OF SYMBIOTIC NODULE DEVELOPMENT IN LEGUME PLANTS. II. AUXINS (review)

E.A. Dolgikh, A.N. Kirienko, I.V. Leppyanen, A.V. Dolgikh

All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, Federal Agency of Scientific Organizations, 3, sh. Podbel'skogo, St. Petersburg, 196608 Russia, e-mail dol2helen@yahoo.com

Acknowledgements:

Supported by the grant of the President of the Russian Federation (project HIII-6759.2016.4), the Russian Foundation for Basic Research (project № 14-04-01084-a) and Russian Science Foundation (project № 14-24-00135)

Received March 18, 2016

doi: 10.15389/agrobiology.2016.5.585eng

Abstract

This review refers to analysis of the modern data about the role of auxins in the regulation of nitrogen-fixing nodule development in the legume plants. The interaction of these hormones with cytokinins and components of signaling cascade activated by Nod factors during nodule organogenesis in legume plants with different types of nodules are discussed. Emphasis is being given to the par-

icipation of auxins in the control of initiation and early stages of nodule development. In early works the analysis of transgenic plants containing the fusions between promoters regulated by auxins and reporter genes, showed the accumulation of auxins in the places of nodule primordia development. It indicates a direct effect of these plant hormones on the process (U. Mathesius et al., 1998; C. Pacios-Bras et al., 2003). These studies became the basis for the suggestion that the auxin maximum in the cells giving later nodule primordia precedes these organs appearance. The creation of such peaks is dependent on Nod factors and cytokine response activation in plants, but it is differently regulated in legumes with determined (regulation of auxin biosynthesis) and non-determined (control of auxin transport with flavonoids) type of nodules (A.P. Wasson et al., 2006; J. Plet et al., 2011; T. Suzuki et al., 2012). The effect of cytokinins on the auxin transport (auxin transporters PINs) during the formation of nodules has much in common with the participation of cytokinins in the control of lateral root development program, which may indicate an evolutionary relationship of two morphogenetic programs. In legume nodules and lateral roots development programs the initial stages have much in common, since both structures are formed as a result of the reactivation of differentiated root cells and have the features of structural similarity. However further divergence leads to the formation of structurally and functionally distinct organs that can be associated with unequal role that cytokinins and auxins play in controlling these processes. The review also examined the role of the balance of auxin and cytokinin hormones in determining the program of development of root cells. We discuss the experimental data using exogenous hormones, which showed that the founder-cells, giving rise to lateral roots, characterized by high plasticity of development processes, determined by the balance of auxins and cytokinins (L. Laplaze et al., 2007; Chatfield et al., 2013). However, an analysis of the data leads to the conclusion that the role of auxin in the control later stages nodulation in legumes is little investigated.

Keywords: legume-rhizobial symbiosis, auxins, phytohormonal balance, nodule organogenesis.

REFERENCES

1. Spaink H., Sheeley D.M., van Brussel A.A.N., Glushka J., York W.S., Tak T., Geiger O., Kennedy E., Reinhold N., Lugtenberg B.J.J. A novel highly unsaturated fatty acid moiety of lipooligosaccharide signals determines host specificity of *Rhizobium*. *Nature*, 1991, 354: 125-130 (doi: 10.1038/354125a0).
2. Gonzalez-Rizzo S., Crespi M., Frugier F. The *Medicago truncatula* CRE1 cytokinin receptor regulates lateral root development and early symbiotic interaction with *Sinorhizobium meliloti*. *The Plant Cell*, 2006, 18: 2680-2693 (doi: 10.1105/tpc.106.043778).
3. Tirichine L., Sandal N., Madsen L.H., Radutoiu S., Albrektzen A.S., Sato S., Asamizu E., Tabata S., Stougaard J. A gain-of-function mutation in a cytokinin receptor triggers spontaneous root nodule organogenesis. *Science*, 2007, 315: 104-107 (doi: 10.1126/science.1132397).
4. Rightmyer A.P., Long S.R. Pseudonodule formation by wild-type and symbiotic mutant *Medicago truncatula* in response to auxin transport inhibitors. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 2011, 24: 1372-1384 (doi: 10.1094/MPMI-04-11-0103).
5. Plet J., Wasson A., Ariel F., Le Signor C., Baker D., Mathesius U., Crespi M., Frugier F. MtCRE1-dependent cytokinin signaling integrates bacterial and plant cues to coordinate symbiotic nodule organogenesis in *Medicago truncatula*. *Plant J.*, 2011, 65: 622-633 (doi: 10.1111/j.1365-313X.2010.04447.x).
6. Held M., Hou H., Miri M., Huynh C., Ross L., Hossain M.S., Sato S., Tabata S., Perry J., Wang T.L., Szczyglowski K. *Lotus japonicus* cytokinin receptors work partially redundantly to mediate nodule formation. *The Plant Cell*, 2014, 26: 678-694 (doi: 10.1105/tpc.113.119362).
7. Ferguson B.J., Mathesius U. Phytohormone regulation of legume-rhizobia interactions. *J. Chem. Ecol.*, 2014, 201(40): 770-790 (doi: 10.1007/s10886-014-0472-7).
8. van Zeijl A., Op den Camp R.H.M., Deinum E.E., Charnikhova T., Franssen H., Op den Camp H.J.M., Bouwmeester H., Kohlen W., Bisseling T., Geurts R. Rhizobium lipo-chitooligosaccharide signaling triggers accumulation of cytokinins in *Medicago truncatula* roots. *Molecular Plant*, 2015, 8(8): 1213-1226 (doi: 10.1016/j.molp.2015.03.010).
9. Kisiala A., Laffont C., Emery J.R.N., Frugier F. Bioactive cytokinins are selectively secreted by *Sinorhizobium meliloti* nodulating and nonnodulating strains. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 2013, 26: 1225-1231 (doi: 10.1094/MPMI-02-13-0054-R).
10. Frugier F., Kosuta S., Murray J.D., Crespi M., Szczyglowski K. Cytokinin: secret agent of symbiosis. *Trends Plant Sci.*, 2008, 13: 115-120 (doi: 10.1016/j.tplants.2008.01.003).
11. Oldroyd G.E.D., Murray J.D., Poole P.S., Downie J.A. The rules of engagement in the legume-rhizobial symbiosis. *Annu. Rev. Genet.*, 2011, 45: 119-144 (doi: 10.1146/annurev-genet-110410-132549).
12. Libbenga K.R., Harkes P.A. Initial proliferation of cortical cells in the formation of root nodules in *Pisum sativum* L. *Planta*, 1973, 114: 17-28 (doi: 10.1007/BF00390281).
13. Mathesius U. Auxin: at the root of nodule development? *Funct. Plant Biol.*, 2008, 35: 651-

- 668 (doi: 10.1071/FP08177).
14. Allen E.K., Allen O.N., Newman A.S. Pseudonodulation of leguminous plants induced by 2-bromo-3,5-dichlorobenzoic acid. *Am. J. Bot.*, 1953, 40: 429-435 (doi: 10.2307/2438526).
 15. Hirsch A.M., Bhuvaneshwari J.G., Torrey J.G., Bisseling T. Early nodulin genes are induced in alfalfa root outgrowths elicited by auxin transport inhibitors. *PNAS USA*, 1989, 86: 1244-1248 (doi: 10.1105/tpc.15.00231).
 16. Long S.R. The Rhizobium-legume symbiosis: life together in the underground. *Cell*, 1989, 56: 203-214 (doi: 10.1016/0092-8674(89)90893-3).
 17. Mathesius U., Schlaman H.R., Spaik H.P., Sautter C., Rolfe B.G., Djordjevic M.A. Auxin transport inhibition precedes root nodule formation in white clover roots and is regulated by flavonoids and derivatives of chitin oligosaccharides. *Plant J.*, 1998, 14: 23-34 (doi: 10.1046/j.1365-313X.1998.00090.x).
 18. Huo X.Y., Schnabel E., Hughes K., Frugoli J. RNAi phenotypes and the localization of a protein:GUS fusion imply a role for *Medicago truncatula* PIN genes in nodulation. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2006, 25: 156-165 (doi: 10.1007/s00344-005-0106-y).
 19. Takanashi K., Sugiyama A., Yazaki K. Involvement of auxin distribution in root nodule development of *Lotus japonicus*. *Planta*, 2011, 234: 73-81 (doi: 10.1007/s00425-011-1385-0).
 20. Boot K.J.M., van Brussel A.A.N., Tak T., Spaik H.P., Kijne J.W. Lipochitin oligosaccharides from *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* reduce auxin transport capacity in *Vicia sativa* subsp. *nigra* roots. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 1999, 12: 839-844 (doi: 10.1094/MPMI.1999.12.10.839).
 21. van Noorden G.E., Kerim T., Goffard N., Wiblin R., Pellerone F.I., Rolfe B.G., Mathesius U. Overlap of proteome changes in *Medicago truncatula* in response to auxin and *Sinorhizobium meliloti*. *Plant Physiol.*, 2007, 144: 1115-1131 (doi: 10.1104/pp.107.099978).
 22. Wasson A.P., Pellerone F.I., Mathesius U. Silencing the flavonoid pathway in *Medicago truncatula* inhibits root nodule formation and prevents auxin transport regulation by rhizobia. *The Plant Cell*, 2006, 18: 1617-1629 (doi: 10.1105/tpc.105.038232).
 23. Xiao T.T., Schilderink S., Moling S., Deinum E.E., Kondorosi E., Franssen H., Kulikova O., Niebel A., Bisseling T. Fate map of *Medicago truncatula* root nodules. *Development*, 2014, 141: 3517-3528 (doi: 10.1242/dev.110775).
 24. Ng J.L.P., Hassan S., Truong T.T., Hocart C.H., Laffont C., Frugier F., Mathesius U. Flavonoids and auxin transport inhibitors rescue symbiotic nodulation in the *Medicago truncatula* cytokinin perception mutant cre1. *The Plant Cell*, 2015, 27(8): 2210-2226 (doi: 10.1105/tpc.15.00231).
 25. Peer W.A., Bandyopadhyay A., Blakeslee J.J., Makam S.N., Chen R.J., Masson P.H., Murphy A.S. Variation in expression and protein localization of the PIN family of auxin efflux facilitator proteins in flavonoid mutants with altered auxin transport in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell*, 2004, 16: 1898-1911 (doi: 10.1105/tpc.021501).
 26. Santelia D., Henrichs S., Vincenzetti V., Sauer M., Bigler L., Klein M., Bailly A., Lee Y., Friml J., Geisler M., Martinoia E. Flavonoids redirect PIN-mediated polar auxin fluxes during root gravitropic responses. *J. Biol. Chem.*, 2008, 283: 31218-31226 (doi: 10.1074/jbc.M71012220).
 27. Pacios-Bras C., Schlaman H.R., Boot K., Admiraal P., Langerak J.M., Stougaard J., Spaik H.P. Auxin distribution in *Lotus japonicus* during root nodule development. *Plant Mol. Biol.*, 2003, 52: 1169-1180 (doi: 10.1007/s00425-011-1385-0).
 28. Subramanian S., Stacey G., Yu O. Endogenous isoflavones are essential for the establishment of symbiosis between soybean and *Bradyrhizobium japonicum*. *The Plant Journal*, 2006, 48: 261-273 (doi: 10.1111/j.1365-313X.2006.02874.x).
 29. Suzaki T., Yano K., Ito M., Umehara Y., Suganuma N., Kawaguchi M. Positive and negative regulation of cortical cell division during root nodule development in *Lotus japonicus* is accompanied by auxin response. *Development*, 2012, 139: 3997-4006 (doi: 10.1242/dev.084079).
 30. Suzaki T., Ito M., Kawaguchi M. Genetic basis of cytokinin and auxin functions during root nodule development. *Front. Plant Sci.*, 2013, 4: 42 (doi: 10.3389/fpls.2013.00042).
 31. Benková E., Michniewicz M., Sauer M., Teichmann T., Seifertová D., Jürgens G., Friml J. Local, efflux dependent auxin gradients as a common module for plant organ formation. *Cell*, 2003, 115: 591-602 (doi: 10.1016/S0092-8674(03)00924-3).
 32. Petrásek J., Friml J. Auxin transport routes in plant development. *Development*, 2009, 136: 2675-2688 (doi: 10.1242/dev.030353).
 33. Pernisová M., Klíma P., Horák J., Válková M., Malbeck J., Soucek P., Reichman P., Hoyerová K., Dubová J., Friml J., Zazimalová E., Hejátko J. Cytokinins modulate auxin induced organogenesis in plants via regulation of the auxin efflux. *PNAS USA*, 2009, 106: 3609-3614 (doi: 10.1073/pnas.0811539106).
 34. Ruzicka K., Simásková M., Duclercq J., Petrásek J., Zazimalová E., Simon S., Friml J., Van Montagu M.C.E., Benková E. Cytokinin regulates root meristem activity via modulation of the polar auxin transport. *PNAS USA*, 2009, 106: 4284-4289 (doi: 10.1073/pnas.0900060106).
 35. Marhavý P., Bielach A., Abas L., Abuzeineh A., Duclercq J., Tanaka H.,

- Parezová M., Petrášek J., Friml J., Kleine-Vehn J., Benková E. Cytokinin modulates endocytic trafficking of PIN1 auxin efflux carrier to control plant organogenesis. *Dev. Cell*, 2011, 21: 796-804 (doi: 10.1016/j.devcel.2011.08.014).
36. Marhavý P., Duclercq J., Weller B., Feraru E., Bielach A., Offringa R., Friml J., Schwechheimer C., Murphy A., Benková E. Cytokinin controls polarity of PIN1-dependent auxin transport during lateral root organogenesis. *Curr. Biol.*, 2014, 24: 1031-1037 (doi: 10.1016/j.cub.2014.04.002).
 37. Laplaze L., Benkova E., Casimiro I., Maes L., Vanneste S., Swarup R., Weijers D., Calvo V., Parizot B., Herrera-Rodriguez M.B., Offringa R., Graham N., Doumas P., Friml J., Bogusz D., Beeckman T., Bennett M. Cytokinins act directly on lateral root founder cells to inhibit root initiation. *The Plant Cell*, 2007, 19(12): 3889-3900 (doi: 10.1105/tpc.107.055863).
 38. Dello Ioio R., Linhares F.S., Scacchi E., Casamitjana-Martinez E., Heidstra R., Costantino P., Sabatini S. Cytokinins determine *Arabidopsis* root meristem size by controlling cell differentiation. *Curr. Biol.*, 2007, 17: 678-682 (doi: 10.1016/j.cub.2007.02.047).
 39. Moubayidin L., Perilli S., Dello Ioio R., Di Mambro R., Costantino P., Sabatini S. The rate of cell differentiation controls the *Arabidopsis* root meristem growth phase. *Curr. Biol.*, 2010, 20: 1138-1143 (doi: 10.1016/j.cub.2010.05.035).
 40. De Smet I., Tetsumura T., De Rybel B., Freidit Frey N., Laplaze L., Casimiro I., Swarup R., Naudts M., Vanneste S., Audenaert D., Inzé D., Bennett M.J., Beeckman T. Auxin-dependent regulation of lateral root positioning in the basal meristem of *Arabidopsis*. *Development*, 2007, 134: 681-690 (doi: 10.1242/dev.02753).
 41. Overvoorde P., Fukaki H., Beeckman T. Auxin control of root development. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2010, 2: a001537 (doi: 10.1101/cshperspect.a001537).
 42. Chatfield S.P., Capron R., Severino A., Penttila P.-A., Alfred S., Nahal H., Provart N.J. Incipient stem cell niche conversion in tissue culture: using a systems approach to probe early events in WUSCHEL dependent conversion of lateral root primordia into shoot meristems. *The Plant Journal*, 2013, 73: 798-813 (doi: 10.1111/tpj.12085).
 43. Casimiro I., Marchant A., Bhalerao R.P., Beeckman T., Dhooge S., Swarup R., Graham N., Inzé D., Sandberg G., Casero P.J., Bennett M.J. Auxin transport promotes *Arabidopsis* lateral root initiation. *The Plant Cell*, 2001, 13: 843-852 (doi: 10.1105/tpc.13.4.843).
 44. Dubrovsky J.G., Colyn-Carmona A., Rost T.L., Doerner P.W. Early primordium morphogenesis during lateral root initiation in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 2001, 214: 30-36 (doi: 10.1007/s004250100598).
 45. Péret B., de Rybel B., Casimiro I., Benkova I., Swarup R., Laplaze L., Beeckman T., Bennett M.J. *Arabidopsis* lateral root development: an emerging story. *Trends Plant Sci.*, 2009, 14: 399-408 (doi: 10.1016/j.tplants.2009.05.002).
 46. Benková E., Bielach A. Lateral root organogenesis — from cell to organ. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2010, 13: 677-683 (doi: 10.1016/j.pbi.2010.09.006).
 47. Op den Camp R.H., De Mita S., Lillo A., Cao Q., Limpens E., Bisseling T., Geurts R. A phylogenetic strategy based on a legume-specific whole genome duplication yields symbiotic cytokinin type-A response regulators. *Plant Physiol.*, 2011, 157: 2013-2022 (doi: 10.1104/pp.111.187526).
 48. Soyano T., Hayashi M. Transcriptional networks leading to symbiotic nodule organogenesis. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2014, 20: 146-154 (doi: 10.1016/j.pbi.2014.07.010).
 49. Oláh B., Brière C., Bécard G., Dénarié J., Gough C. Nod factors and a diffusible factor from arbuscular mycorrhizal fungi stimulate lateral root formation in *Medicago truncatula* via the DMI1/DMI2 signalling pathway. *Plant J.*, 2005, 44: 195-207 (doi: 10.1111/j.1365-313X.2005.02522.x).
 50. Maillet F., Poinsot V., André O., Puech-Pagès V., Haouy A., Gueunier M., Cromer L., Giraudet D., Formey D., Niebel A., Martinez E.A., Driguez H., Bécard G., Dénarié J. Fungal lipochitooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza. *Nature*, 2011, 469: 58-63 (doi: 10.1038/nature09622).
 51. Penmetsa R.V., Cook D.R. A legume ethylene-insensitive mutant hyperinfected by its rhizobial symbiont. *Science*, 1997, 275: 527-530 (doi: 10.1126/science.275.5299.527).
 52. Penmetsa R.V., Uribe P., Anderson J., Lichtenzweig J., Gish J.C., Nam Y.W., Engstrom E., Xu K., Sckisel G., Pereira M., Baek J.M., Lopez-Meyer M., Long S.R., Harrison M.J., Singh K.B., Kiss G.B., Cook D.R. The *Medicago truncatula* ortholog of *Arabidopsis* EIN2, sickle, is a negative regulator of symbiotic and pathogenic microbial associations. *Plant J.*, 2008, 55: 580-595 (doi: 10.1111/j.1365-313X.2008.03531.x).
 53. Larrainzar E., Riely B.K., Kim S.C., Carrasquilla-Garcia N., Yu H.-Y., Hwang H.-J., Oh M., Kim G.B., Surendrarao A.K., Chasman D., Siahpirani A.F., Penmetsa R., Lee G.-S., Kim N., Roy S., Jeong-Hwan Mun L.-H., Cook D.R. Deep sequencing of the *Medicago truncatula* root transcriptome reveals a massive and early interaction between nodulation factor and ethylene signals. *Plant Physiol.*, 2015, 169: 233-265 (doi: 10.1104/pp.15.00350).