

мужской гормон тестостерон обладает способностью активировать окисление веществ в микросомах печени.

Опыты по изучению влияния фенозана на рецепторы дали следующие результаты. Непосредственного действия препарата на тонус изолированных отрезков мышц не обнаружено — не наблюдалось ни расслабления, ни сокращения тест-объектов. На величину эффектов агонистов рецепторов фенозан также не оказывал влияния.

Вместе с тем отчетливый и статистически значимый эффект СМД фенозана проявился в экспериментах с ОТК в присутствии антагонистов рецепторов — атропина и ДЛК. Атропин в концентрации $3 \cdot 10^{-10}$ М снижает на 50% контрактуру ОТК, вызванную ацетилхолином в концентрации $5 \cdot 10^{-8}$ М, добавленным после 15-минутной инкубации атропина с ОТК. Если одновременно с атропином вводили фенозан в концентрации $2 \cdot 10^{-15}$ М, то блокирующий эффект атропина не возникал.

В случае серотониновых рецепторов обнаружено, что реакция ОТК на серотонин ($3 \cdot 10^{-6}$ М) в присутствии ДЛК ($1 \cdot 10^{-9}$ М) после 15-ти минутного контакта ДЛК с ОТК уменьшается на $50 \pm 6\%$. При одновременном воздействии диэтиламида лизергиновой кислоты и фенозана ($2 \cdot 10^{-15}$ М) блокирующий эффект ДЛК усиливается до $78 \pm 12\%$.

Проведенные эксперименты показали, что фенозан в сверхмалых концентрациях оказывает влияние на процессы высшей нервной деятельности. Он проявляет антиамнезирующее действие. Кроме того, это вещество изменяет чувствительность животных к действию барбитуратов.

Непосредственно не оказывая влияния на синаптические нейрорецепторы, фенозан изменяет величину эффектов специфических лигандов. По-видимому, это действие сверхмалых доз фенозана проявляется неспецифически посредством влияния на мембранные структуры.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бурлакова Е.Б. Вестн. РАН, 1994, т. 64, № 5, с. 425.
2. Бурлакова Е. Б., Терехова С. Ф., Греченко Т. Н., Соколов Е.Н. Биофизика, 1986, т. 31, № 5, с. 921.
3. Хохлов А.Н. Нейрохимия, 1989, т. 8, № 1, с. 3.
4. Горбатова Е.Н., Духович Ф.С., Курочкин В.К. Тез. II Межд. симп. «Механизмы действия сверхмалых доз». РАН, Москва, 1995.
5. Блаттнер Р., Классен Х., Денерт Х., Деринг Х. Эксперименты на изолированных препаратах гладких мышц. М. Мир, 1983, с. 206.

УДК 581.143

Nod факторы ризобий — новые регуляторы роста растений

А. О. Овцына, И. А. Тихонович

АЛЕКСАНДРА ОЛЕГОВНА ОВЦЫНА — кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии. Область научных интересов: генетика и биохимия ранних этапов бобово-ризобияльного симбиоза, обмен молекулярными сигналами между симбионтами.

ИГОРЬ АНАТОЛЬЕВИЧ ТИХОНОВИЧ — доктор биологических наук, профессор, академик РАСХН, директор ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, заведующий лабораторией биотехнологии. Область научных интересов: симбиотическая азотфиксация, генетика и биохимия растительно-микробных взаимодействий, биопрепараты.

189620 Санкт-Петербург, Пушкин-8, ш. Подбельского, 3, ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, E-mail biotec@peterlink.ru

В физиологии растений традиционно принято выделять пять основных типов растительных гормонов: ауксины, цитокинины, гиббереллины, абсцизовую кислоту и этилен [1]. С недавних пор обсуждается вопрос об отнесении к гормонам растений олигосахаридов — небольших олигомеров сахаров, действующих в сверхмалых концентрациях и влияющих на морфогенез растений [2, 3]. В предлагаемом обзоре представлены данные о новом типе регуляторных молекул, обладающих биологической активностью по отношению к растениям и сходных по структуре с олигосахаридами, но имеющих бактериальное происхождение — это факторы клубенькообразования, или Nod факторы, синтезируемые почвенными симбиотическими бактериями ризобиями.

Роль бактерий ризобий в морфогенезе растений

К ризобиям относят обширную группу бактерий из семейства *Rhizobiaceae*, вступающих в симбиоз с бобовыми растениями. В результате симбиоза на корнях растений образуются специфические органы фиксации атмосферного азота — корневые (реже стеблевые) клубеньки.

Изучение бобово-ризобияльного симбиоза началось более 100 лет назад с открытия Гельригелем и Вильфартом фиксации азота в клубеньках бобовых растений. Механизмы инфекции ризобиями растений-хозяев варьируют, но наиболее распространенным способом является проникновение их в корень через корневые волоски: бактерии индуцируют закручива-

ния верхушек корневых волосков, затем формируется структура, называемая инфекционной нитью, которая прорастает через корневой волосок и кору корня. Из инфекционной нити бактерии высвобождаются и превращаются в бактериоиды — симбиотическую форму, фиксирующую азот воздуха. На некотором расстоянии от растущей инфекционной нити в коре корня индуцируются клеточные деления, дающие начало зоне роста клубенька.

Бобово-ризобиальный симбиоз — специфичное явление: каждое растение-хозяин способно к симбиозу только с определенным видом ризобий. Узнавание потенциальными партнерами друг друга происходит на самой ранней стадии взаимодействия, при этом только в совместимых комбинациях происходит развитие симбиоза, а при распознавании бактерии как “чужеродной” симбиоз блокируется [4—6].

Открытие Nod факторов, их общая структура

Уже самые первые наблюдения за ранними этапами бобово-ризобиального симбиоза показали, что стерильная среда, в которой культивировались ризобии, очищенная от ризобий фильтрованием, способна вызывать деформацию корневых волосков растений [7]. Природа деформирующего вещества долгое время оставалась неизвестной, хотя было ясно, что это не индолилуксусная кислота — известный стимулятор роста, синтезирующийся в растениях, а вещество, специфичное для бобово-ризобиального симбиоза. В 1982 году Ван Брусель с соавт. [8, 9] возродил интерес к этой проблеме. Он показал, что способность к изменению морфологии корней коррелирует с наличием у бактерий симбиотической плазмиды (кольцевой молекулы ДНК), несущей основные гены, необходимые для развития симбиоза.

Первые вещества из фильтратов бактерий ризобий, индуцирующие скручивания корневых волосков, были выделены в 1990 году из ризобий-симбионтов люцерны [10]. Они представляют собой липохитоолигосахариды — тетра- и пентамеры 1,4-N-ацетилглюкозамина, O-ацетилированные и N-ацилированные на нередуцирующем конце и сульфатированные на редуцирующем конце. Остаток жирной C₁₆-кислоты имеет две двойные связи в положениях 2 и 9 — кислотный фрагмент C₁₆:2. Обнаруженные бактериальные молекулы получили название Nod факторов (от *Nodulation* — клубенькообразование).

Открытие Nod факторов инициировало активное их изучение в других видах ризобий. Оказалось, что все клубеньковые бактерии, в том числе генетически довольно отдаленные друг от друга, продуцируют липохитоолигосахаридные Nod факторы [4, 5, 11].

Основная структура Nod факторов одинакова: 1,4-олигомер N-ацетилглюкозамина, имеющий N-ацильный заместитель на нередуцирующем конце (рис.1) [12].

Таксономические различия между ризобиями отражаются в химических модификациях основной структуры Nod факторов. Так, ризобии-симбионты гороха и вики производят, в отличие от симбионтов люцерны, Nod факторы без сульфатной группы и с другой специфической полиненасыщенной жирной кислотой — C₁₈:4 [13], а Nod факторы ризобий-симбионтов сои включают вместо сульфата метилфукозу и неспецифическую ацильную цепь C₁₈:1 — цисвакценовую кислоту (наиболее широко распростра-

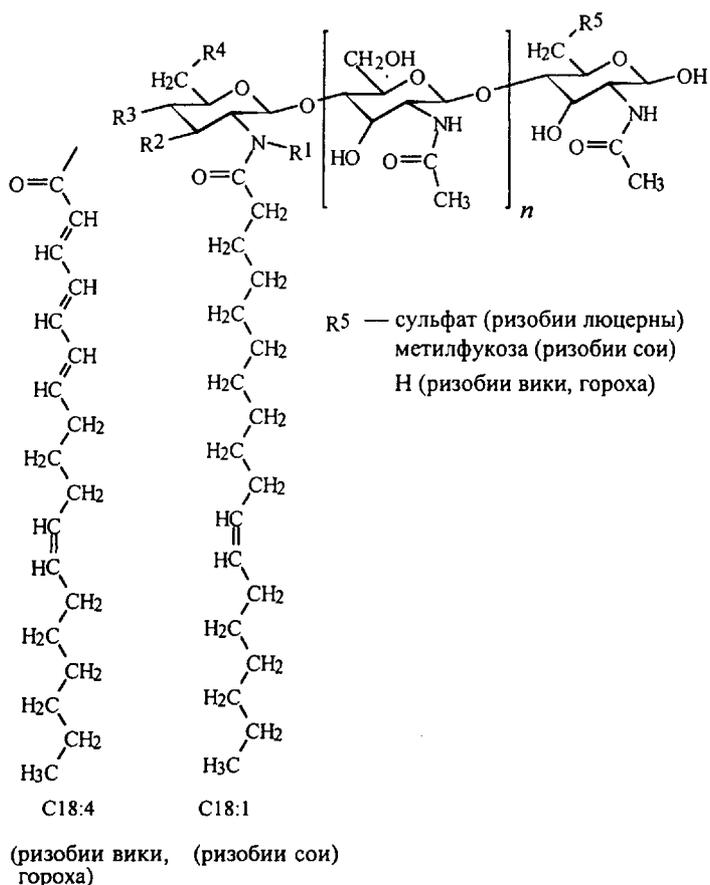


Рис. 1. Структура Nod факторов ризобий.

Показаны наиболее важные заместители: ацильная группа на нередуцирующем конце (C₁₈:1 или C₁₈:4) и варианты заместителей в позиции R⁵ на редуцирующем конце

ненный в ризобиях липид) [14-16] (см. рис.1). Более того, выяснилось, что именно структурные различия Nod факторов определяют специфичность ризобий по отношению к растениям-хозяевам. Так, удаление сульфатной группы из Nod факторов симбионтов люцерны приводит к тому, что они теряют способность заражать люцерну, но получают возможность инфицировать вику, природные симбионты которой производят несulfатированные Nod факторы [17]; симбионты гороха, получая дополнительную модификацию Nod факторов в виде фукозы на редуцирующем конце, приобретают способность инфицировать тропическое бобовое растение сиратро [18]. Таким образом, структура Nod факторов является важнейшей детерминантой хозяйской специфичности симбиоза.

Индивидуальные бактериальные штаммы ризобий продуцируют семейства Nod факторов, которые могут немного различаться по длине молекулярной цепи и заместителям. Благодаря этому достигаются не только основные хозяйско-специфические различия между видами и биотипами ризобий, но и тонкие особенности, необходимые для оптимального клубенькообразования на определенных растениях. Способность штаммов заражать широкий круг растений-хозяев часто коррелирует со способностью ризобий производить смесь различным образом модифицированных Nod факторов [19, 20]. Так, тропический штамм с очень широким кругом хозяев *Rhizobium sp.* NGR234, который заражает более 70 родов бобовых культур и небобовое растение *Parasponia*, продуцирует семейство Nod

факторов (более 18). Среди заместителей в этих факторах — карбоамидные группы на нередуцирующем конце, метильная группа в кислотном фрагменте, метилфукоза на редуцирующем конце, которая может быть либо О-ацетилирована, либо О-сульфатирована [19]. Кроме того, профиль Nod факторов, по-видимому, отражает адаптацию к растениям-хозяевам: ризобии, принадлежащие к разным систематическим группам, но заражающие одно и то же растение-хозяин, производят сходные наборы Nod факторов [14, 21].

Важным условием регуляции оптимального клубенькообразования является количество Nod факторов. Установлено, что Nod факторы биологически активны в концентрациях 10^{-9} – 10^{-12} М. Экспериментальное усиление продукции Nod факторов бактериями не только не приводит к увеличению количества индуцируемых ими клубеньков, но, напротив, вызывает значительное снижение клубенькообразования [22]. Воздействии на корни растений Nod факторов в концентрации 10^{-4} М, которая на несколько порядков превышает физиологическую, полностью подавляет авторегуляцию клубенькообразования, в норме наблюдаемой под влиянием бактерий и Nod факторов [23]. Таким образом, Nod факторы стимулируют симбиотические реакции лишь в очень малых концентрациях, так что их действие можно отнести к уникальным эффектам сверхмалых доз. Суммарная биологическая активность Nod факторов на различных растениях-хозяевах определяется их химической структурой и концентрацией в зоне корня.

Контроль синтеза Nod факторов

Гены, отвечающие за синтез Nod факторов, были локализованы в симбиотических плаزمидах, и было установлено, что их работа регулируется координированно [5, 6]. Запуск работы этих генов индуцируется флавоноидами, выделяемыми из корней растений-хозяев соответствующих ризобий (рис.2) [24–28]. Специфические флавоноиды узнаются бактериальным белком — регулятором транскрипции NodD. Комплекс флавоноид-NodD активирует работу генов синтеза и секреции Nod факторов [29–31]. К настоящему времени установлены функции белковых продуктов большинства этих генов. На рис.3 приведена общая схема синтеза Nod факторов [4].

Мономерные предшественники синтеза производятся из фруктозо-6-фосфата под действием глюкозаминсинтазы NodM [32]. Основная структура Nod факторов синтезируется белками NodA, NodB и NodC. Белок NodC является хитоолигосахарид-синтазой, синтезирующей олигомеры Nod факторов размером до 5 остатков ацетилглюкозамина [33–35]. Белок NodB

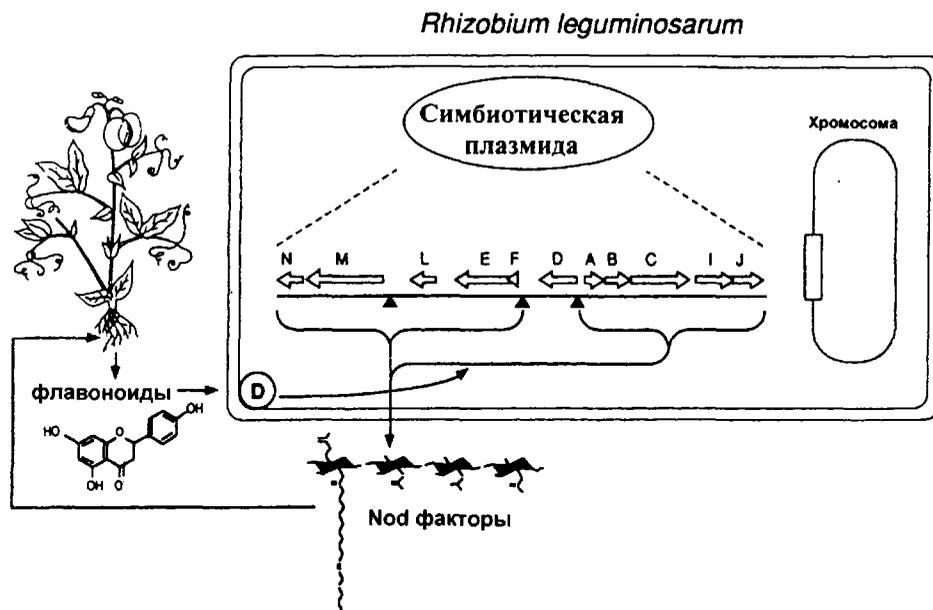


Рис.2 Схема сигнальных взаимодействий между горохом и его симбиотической клубеньковой бактерией *Rhizobium leguminosarum* [12].

Корни растений выделяют специфические флавоноиды, которые в комплексе с бактериальным белком NodD активируют синтез бактериальных сигнальных молекул — Nod факторов

деацетилюет терминальный нередуцирующий ацетилглюкозамин [36], а белок NodA присоединяет жирную кислоту к этому глюкозамину [37, 38].

Следующая группа белков участвует в специфической модификации олигосахаридного скелета. Трансферазная активность была показана для белков NodL, NodX, NodH, NodS, NodZ, NoeC, NoeE, NolL.

Известны три О-ацетилтрансферазы, каждая из которых ацетилюет Nod факторы в определенном положении: NodL добавляет О-ацетильную группу в С6-позицию нередуцирующего конца Nod фактора [39]; NodX ацетилюет С6-позицию редуцирующего конца Nod фактора [40]; NolL ацетилюет фукозный остаток на Nod факторе (одну из возможных модификаций фактора) [41].

Сульфотрансфераза NodH переносит сульфатную группу на редуцирующий конец фактора [16]. Донор сульфата — 3¹-фосфоаденозин-5¹-фосфосульфат (ФАФС), продуцируется комплексом из белков NodP (АТФ-сульфурилаза) и NodQ (АФС-киназа) [16, 17]. Другая сульфотрансфераза — NoeE специфически сульфатирует фукозный заместитель на Nod факторе [42]. Метильная группа переносится на нередуцирующий конец Nod фактора от S-аденозилметионина (SAM) N-метилтрансферазой NodS [43, 44].

Белок NodZ присоединяет к редуцирующему концу N-глюкозамина остаток 2-О-метилфукозы [18, 45, 46]. Предшественник фукозы — ГДФ-фукоза синтезируется, по-видимому, продуктом гена nolK [46]. Добавление D-арабинозы к Nod факторам осуществляется белком NoeC [46].

Белки NodE и NodF, функционирующие соответственно как кетоацилсинтаза и ацилпереносающий белок, необходимы для синтеза высоконенасыщенной ацильной цепи на нередуцирующем конце Nod фактора [13, 38, 47]. Длина молекулярной цепи и степень насыщенности жирной кислоты определяет межвидовые и даже внутривидовые различия в хозяйской специфичности ризобий [48, 49]. Различия в структуре

плазмы, деформации корневых волосков и реинициация полярного роста кончика корня [59]. Nod факторы запускают в работу ряд растительных генов, включение которых четко коррелирует с ранними стадиями симбиоза [60], а также генов флавоноидного биосинтеза, таких как фенилаланинаммонийлиаза и халконсинтаза, что приводит к усилению синтеза растением флавоноидных индукторов, в свою очередь, активирующих синтез новых Nod факторов [61].

Роль Nod факторов в образовании корневых клубеньков была убедительно доказана на многих видах растений. Эти липохитоолигосахариды при воздействии на корни в отсутствие бактерий индуцируют образование примордия клубенька — ткани, где реиницируются клеточные деления и начинается рост клубенька [13, 62]. На корнях люцерны примордий может развиваться в полностью сформированный «пустой» клубенек, который имеет все анатомические и гистологические признаки истинного клубенька, но не содержит бактерий [62]. У большинства других растений этого не происходит, и развитие клубенька тормозится на стадии небольшого выроста [12]. Исключительная способность люцерны к образованию «пустых» клубеньков, вероятно, связана с тем, что существуют некоторые естественные генотипы люцерны, формирующие корневые клубеньки при полном отсутствии ризобий и Nod факторов [63].

Кроме участия в индукции развития клубенька, митогенные липохитоолигосахариды вызывают образование структур, названных преинфекционными нитями, — цитоплазматических тяжей, пронизывающих внешнюю кору корня [64]. При этом клетки коры корня претерпевают морфологические изменения (компактизация ядер и миграция их в центр клетки), которые можно интерпретировать как результат активации клеточного цикла [65]. В экспериментах на суспензии клеток люцерны было установлено, что Nod факторы действительно стимулируют прохождение клеточного цикла: в клетках усиливается включение тимидина, увеличивается количество клеток, находящихся в фазе деления, активируются гены-маркеры клеточного цикла [66].

Действие Nod факторов, по-видимому, опосредуется другими растительными гормонами. В пользу этого свидетельствуют следующие факты: эффект индукции Nod факторами псевдоклубеньков на корнях люцерны имитируется ингибиторами транспорта ауксинов и флавоноидами [67]; мутанты ризобий, неспособные к синтезу Nod факторов, восстанавливают способность к образованию клубеньков после введения в них гена биосинтеза цитокинина [68]; чувствительность к ауксинам и баланс между ауксинами и цитокининами влияют на клубенькообразование у люцерны [69]. Nod факторы и цитокинин сходным образом стимулируют деления клеток коры корня и включают некоторые гены, активные в делящихся клетках [31]. Недавно было показано, что Nod факторы и индуцируемые ими флавоноиды вызывают временное ингибирование транспорта ауксинов в корнях, приводящее к локальному изменению баланса фитогормонов. В точке сдвига баланса и возникают клеточные деления, дающие начало зоне роста клубенька [70].

Кроме эффекта ауксинов и цитокининов, широко описано влияние на клубенькообразование другого растительного гормона — эндогенного этилена. Этилен подавляет образование клубеньков [71], но в то же

время он является необходимым элементом регуляции клубенькообразования, так как количество сайтов инфекции и расположение будущих клубеньков относительно сосудистых пучков в корне контролируются этиленом [72, 73].

Таким образом, растительные гормоны участвуют в регуляции клубенькообразования и для передачи сигнала к делению клеток Nod факторы частично используют те же пути, что и основные гормоны растений.

Липохитоолигосахариды — универсальные регуляторы роста и развития

Появились данные, позволяющие предположить, что вещества, сходные по структуре с Nod факторами и влияющие на процессы дифференцировки клеток, содержатся в растениях, в том числе и в небобовых, и даже в организме животных [4, 12]. Об этом свидетельствует, например, тот факт, что введение в растения табака генов, контролируемых ферментами синтеза Nod факторов — белков NodB (хитоолигосахарид-ацетилаза) и NodA (ацилтрансфераза), приводит к серьезным изменениям в развитии растения: замедляется рост, снижается апикальное доминирование, наблюдается редукция органов, появляются листья с измененной морфологией [74]. Представляется вполне вероятным, что растения содержат субстраты для ферментов, модифицирующих хитиновые остатки, а производные хитина могут выполнять важные сигнальные функции в процессе развития растений. Возможным субстратом для белков NodA и NodB могут быть открытые недавно олигосахаридсодержащие производные гликопротеинов нуклеопорного комплекса или их предшественники [75].

Было показано также, что Nod факторы в наномолярных концентрациях способны восстанавливать нормальное развитие эмбрионов у температурочувствительных соматических эмбриогенных мутантов моркови [76]. Олигомеры хитина не дают такого эффекта, следовательно, для активности требуется остаток жирной кислоты Nod фактора. Восстановление эмбриогенеза достигается также при добавлении 32-kD эндохитиназы моркови [77]. Поскольку хитин и его производные являются единственными известными субстратами для этого фермента, можно предположить, что эндохитиназа высвобождает активные Nod факторподобные молекулы путем расщепления более длинных макромолекул, присутствующих в клетках моркови [76].

Структура Nod факторов, углеродный скелет которых идентичен короткому фрагменту хитина, может быть сходной со структурой продуктов расщепления хитиназой более высокомолекулярных субстратов, но в то же время позволяет им служить непосредственным субстратом для хитиназ. Nod факторы действительно расщепляются растительными хитиназами, причем их устойчивость к расщеплению зависит от природы заместителя в углеродном скелете фактора и от длины полимерной цепи. Декорированные Nod факторы, несущие сульфатную, ацетильную, фукозильную группы, более устойчивы, чем незамещенные факторы [78; А.О. Овцына с соавт., неопубликованные данные].

Субстратная специфичность хитиназ по отношению к различным образом модифицированным Nod факторам настолько высокая, что позволяет проводить идентификацию хитиназ по характеру расщепления ими различных Nod факторов [79].

Растительные хитиназы наиболее активно синтезируются в ходе защитной реакции растения при патогенной атаке и во время стресса, однако их наличие часто регистрируется и в отсутствие патогена, причем осуществляется специфический синтез их в тканях [12]. Экспрессия генов хитиназ увеличивается почти сразу после обработки эпидермальной кожицы табака ауксинами и цитокининами [12]. Различная активность хитиназ в репродуктивных органах петунии подтверждает гипотезу, что растительные хитиназы играют пока неизвестную роль в половом размножении высших растений [80].

Поиски субстрата для хитиназы в клеточной стенке высших растений выявили, что хитиназы связываются со вторичной клеточной стенкой, где, по-видимому, присутствуют N-ацетилглюкозаминсодержащие молекулы [81]. Предположение о существовании молекул, родственных Nod факторам, в растительных тканях позволило бы объяснить роль хитиназ в развитии растений. В целях поиска подобных молекул методом тонкослойной хроматографии были проанализированы экстракты неинфицированных растений чины [12]. Оказалось, что в тканях растений находятся липофильные молекулы, которые могут разрушаться хитиназами, причем разные части растения имеют различающийся набор этих молекул [12].

Таким образом, не исключено, что сходные по структуре с Nod факторами молекулы действительно присутствуют в растениях. Более того, появились данные о том, что подобные молекулы могут содержаться и в тканях позвоночных животных: ризобиальный белок NodC, отвечающий за олигомеризацию углеродного скелета Nod фактора, имеет большое сходство с белком DG42, активным на определенной стадии раннего эмбриогенеза лягушки, рыб и мыши [82, 83]. Данный белок работает *in vitro* как хитинолигосахарид-синтаза [83, 84]. Хроматографический и ферментативный анализ экстрактов из эмбрионов циприноидных рыб показал, что в организме рыб синтезируются хитинолигосахариды на стадии поздней гаструляции. Микроинъекции антител к DG42 или белка NodZ (фукозилтрансферазы, модифицирующей Nod факторы) в оплодотворенные яйца рыб приводят к тяжелым нарушениям в развитии хвоста и туловища эмбрионов рыб (рис. 4) [85]. Следовательно, молекулы, очень сходные с ризобиальными Nod факторами, играют важную роль в развитии эмбрионов позвоночных животных.

Перспективы практического использования Nod факторов

Механизм синтеза Nod факторов изучен достаточно детально, благодаря чему появилась возможность направленно изменять их структуру генетическими методами, а также осуществлять полный химический синтез Nod факторов. Поскольку структурные модификации Nod факторов влекут за собой изменение

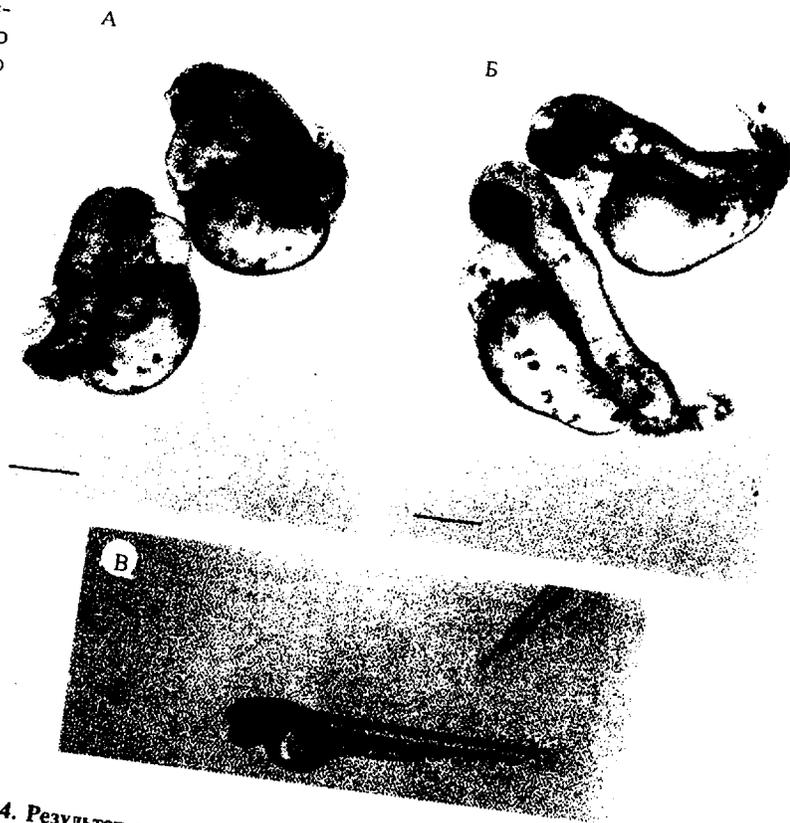


Рис. 4. Результаты микроинъекций белков, затрагивающих хитоолигосахариды, в эмбрионах рыбы [85].

- А — эмбрионы после инъекции антител к хитоолигосахарид-синтазе — белку DG42; 61% эмбрионов имели дефекты в развитии туловища и хвоста.
 Б — эмбрионы после инъекции ризобиального белка NodZ — фукозил-трансферазы, активной на Nod факторах; 69% эмбрионов имели сходные с А дефекты развития.
 В — эмбрионы в качестве контроля вводили идентичный препарат белка NodZ, но инактивированный кипячением.
 Г — контрольные эмбрионы, инъекцированные преиimmunной сывороткой кролика

способности бактерий заражать то или иное растение-хозяин, то становится возможным, меняя строение Nod факторов, получать новые штаммы ризобий, вступающие в симбиоз исключительно с желаемыми растениями.

Генно-инженерный подход к манипулированию структурой Nod факторов заключается в следующем. В ризобиальный штамм вводится ген фермента, контролирующего присоединение к Nod фактору какой-либо бактерии производящих Nod факторы с дополнительным заместителем и приобретает способность инфицировать новое растение-хозяин.

Этот подход был успешно применен во ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии для создания новых штаммов бактерий, способных к симбиозу с определенными линиями гороха — так называемыми «афганскими», в норме не заражаемых ризобиями из почв Европы и Северной Америки.

Было установлено, что для придания последним способности к заражению афганского гороха необходимо ввести в них либо ген ацетилтрансферазы podX, либо ген фукозилтрансферазы podZ (рис.5) [86]. Оба эти фермента присоединяют заместители — ацетил и

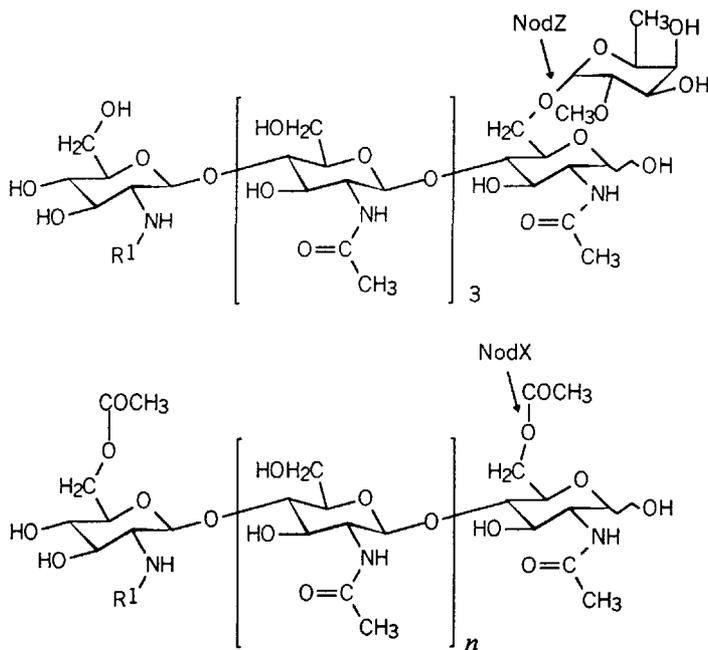


Рис. 5. Структура Nod факторов, требуемая для заражения бактериями афганского гороха [86].

Показаны две модификации структуры Nod фактора, необходимые для придания ризобиям способности к заражению афганского гороха: фукозил (присоединение контролируется фукозилтрансферазой NodZ) и ацетил (присоединение контролируется ацетилтрансферазой NodX)

фукозил, соответственно, в С6-положение редуцирующего конца Nod фактора [40, 45]. Следовательно, для симбиоза с афганским горохом бактериям требуется неспецифическая модификация редуцирующего конца Nod фактора [86]. Таким образом, путем введения в бактерии дополнительных генов удалось создать пары симбионтов, специфически взаимодействующих друг с другом.

Штаммы ризобий с высокой эффективностью азотфиксации широко используются для обработки выращиваемых бобовых культур. Свойство заражать избранные линии растений является очень важным для этих штаммов, поскольку оно позволяет вновь вносимым бактериям избегать конкуренции с местными почвенными штаммами ризобий, обычно более конкурентоспособными, но менее эффективными, чем вносимые. В результате возрастает общая эффективность фиксации азота бобовыми культурами.

Другой путь — химический синтез Nod факторов позволяет получать практически неограниченные количества этих молекул с любыми модификациями. Тестирование биологической активности синтетических Nod факторов и их разнообразных производных дает возможность проанализировать, каким образом структура Nod факторов связана с их активностью [87, 88]. К синтетическим Nod факторам могут быть присоединены флуоресцентные и фотоактивируемые группы. Такие маркированные производные Nod факторов открывают новые возможности изучения взаимодействия Nod факторов с растениями [4].

Потенциальные области применения Nod факторов ризобий разнообразны. Это использование их как регуляторов клеточного цикла и морфогенеза в культуре растительных тканей; введение в биопрепараты как стимуляторов симбиоза; применение в фундамен-

тальных научных исследованиях как средства для изучения путей передачи сигналов в клетках и поиска сходных с Nod факторами регуляторных хитиноподобных молекул в растениях и животных. В качестве одного из способов поиска предлагается радиоактивное мечение возможных хитоолигосахаридных субстратов в исследуемых тканях с помощью трансфераз, модифицирующих ризобияльные Nod факторы [4].

Дальнейшее изучение и использование Nod факторов ризобий представляется весьма перспективным, поскольку эти биологически активные молекулы, помимо уже известных их специфических сигнальных функций на ранних этапах симбиоза и запуска процесса формирования клубеньков бобовых растений, могут выполнять роль регуляторных молекул более широкого спектра действия, влияющих на морфогенез растений и животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гудвин Т., Мерсер Э. Введение в биохимию растений, т. 2. Под ред. В.Л. Кретовича. М.: Мир, 1986, 312 с.
2. Albersheim P., Darvill A.G., Mcneil M. e. a. In: Structure and Function of Plant Genomes. Eds.: O. Ciferri, L. Dure. 1983, N.-Y.: Plenum, p. 293—312.
3. Ryan C.A., Farmer E.F. Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol., 1991, v. 42, p. 651—674.
4. Spaink H.P. Crit. Rev. Plant Sci., 1996, v. 15, p. 559—582.
5. Denarie J., Debelle F., Prome J.C. Ann. Rev. Biochem., 1996, v. 65, p. 531—535.
6. Schultze M., Kondorosi A. Ann. Rev. Genet., 1998, v. 32, p. 33—57.
7. McCoy E. Proc. Roy. Soc. London B, 1932, v. 110, p. 514—533.
8. Van Brussel A.A.N., Tak T., Wetselaar A. e. a. Plant Sci. Lett., 1982, v. 27, p. 317—325.
9. Van Brussel A.A.N., Zaat S.A.J., Canter Cremers H.C.J. e. a. J. Bacteriol., 1986, v. 165, p. 517—522.
10. Lerouge P., Roche P., Faucher C. e. a. Nature, 1990, v. 344, p. 781—784.
11. Schultze M., Quiclet - Sire B., Kondorosi E. e. a. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1992, v. 89, p. 192—196.
12. Spaink H.P., Wijffes A.H.M., van Vliet T.B. e. a. Austral. J. Plant Physiol., 1993, v. 20, p. 381—392.
13. Spaink H.P., Sheeley D.M., van Brussel A.A.A. e. a. Nature, 1991, v. 354, p. 125—130.
14. Carlson R.W., Sanjuan J., Bhat U.V. e. a. J. Biol. Chem., 1993, v. 268, p. 8372—8381.
15. Bec-Ferte M.P., Krishnan H.B., Prome D. Biochemistry, 1994, v. 33, p. 11782—11788.
16. Schwedock J., Long S.R. Nature, 1990, v. 348, p. 644—647.
17. Roche P., Debelle F., Mailet F. e. a. Cell, 1991, v. 67, p. 1131—1143.
18. Lopez-Lara I.M., Blok-Tip L., Quinto C. e. a. Mol. Microbiol., 1996, v. 21, № 2, p. 397—408.
19. Relic B., Falmont F., Kopsinska J. e. a. Mol. Plant—Microbe Interact., 1994, v. 5, № 6, p. 764—774.
20. Lopez-Lara I.M., van der Drift K.M.G.M., van Brussel A.A.N. e. a. Plant Mol. Biol., 1995, v. 29, p. 465.
21. Lorquin J., Lortet G., Ferro M. e. a. Mol. Plant — Microbe Interact., 1997, v.10, p. 879—890.

22. Downie J.A., Davies A.E., Sutton J.M. e. a. In: Proc. of the 1st Eur. Nitrogen Fixation Conf. Eds. G. Kiss, G. Endre., Szeged: Officina Press, Hungary, 1994, p. 54–58.
23. Van Brussel A.A.N., Tak T., Boot C.J.M. e. a. Abstrs 12th Int. Congress on Nitrogen Fixation. Foz do Iguacu–Parana–Brazil, 1999, p. 69.
24. Peters N.K., Frost J.W., Long S.R. Science, 1986, v. 233, p. 977–980.
25. Koslák R.M., Bookland R., Barkei J. e. a. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1987, v. 84, p. 7428–7432.
26. Djordjevic M.A., Redmond W., Batley M., Rolfe G.B. EMBO J., 1987, v. 6, № 5, p. 1173–1179.
27. Hartwig U.A., Maxwell C.A., Joseph C.M., Phillips D.A. J. Bacteriol., 1990, v. 172, p. 2769–2773.
28. Hartwig U.A., Phillips D.A. Plant Physiol., 1991, v. 95, p. 804–807.
29. Spaink H.P., Wijffelman C.A., Pees E. e. a. Nature, 1987, v. 328, p. 337–340.
30. Schlaman H.R.M., Okker R.J.H., Lugtenberg B.J.J. J. Bacteriol., 1992, v. 174, p. 5177–5182.
31. Schultze M., Kondorosi A. World J. Microbiol. Biotechnol., 1996, v. 12, p. 137–149.
32. Baev N., Endre G., Petrovics G. e. a. Mol. Gen. Genet., 1992, v. 228, p. 113–
33. Debelle F., Rosenberg C., Denarie J. Mol. Plant-Microbe Interact., 1992, v. 5, p. 443–446.
34. Atkinson E.M., Long S.R. Mol. Plant-Microb. Interact., 1992, v. 5, p. 439–442.
35. Geremia R.A., Mergaert P., Geelen D. e. a. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1994, v. 91, p. 2669–2673.
36. John M., Rohrig H., Schmidt J. e. a. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1993, v. 90, p. 625–629.
37. Atkinson E.M., Palcic M.M., Hondsgaul O. e. a. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1994, v. 91, p. 8418–8422.
38. Ritsema T., Wijffelman A. H. M., Lugtenberg B. J. J., Spaink H.P. Mol. Gen. Genet., 1996, v. 251, p. 44–51.
39. Bloemberg G.V., Thomas - Oates J.E., Lugtenberg B.J.J., Spaink H.P. Mol. Microbiol., 1994, v. 11, № 4, p. 793.
40. Firmin J.L., Wilson K.E., Carlson R.W. e. a. Mol. Microbiol., 1993, v. 10, № 2, p. 351–360.
41. Frieberg C., Fellay R., Bairoch A. e. a. Nature, 1997, v. 387, p. 394–401.
42. Hanin M., Jabbouri S., Quesada-Vincens D. e. a. Mol. Microbiol., 1997, v. 24, p. 1119–1129.
43. Geelen D., Mergaert P., Geremia R.A. e. a. Mol. Microbiol., 1993, v. 9, p. 145–154.
44. Jabbouri S., Fellay R., Talmont F. e. a. J. Biol. Chem., 1995, v. 270, № 39, p. 22968–22973.
45. Stacey G., Luka S., Sanjuan J. e. a. J. Bacteriol., 1994, v. 176ss, p. 620–633.
46. Mergaert P., D'Haese W., Fernandez-Lopez M. e. a. Mol. Microbiol., 1996, v. 21, № 2, p. 409–419.
47. Demont N., Debelle F., Aurelle H. e. a. J. Biol. Chem., 1993, v. 268, p. 20134–20142.
48. Spaink H.P., Bloemberg G.V., Van Brussel A.A.N. e. a. J. Mol. Plant-Microbe Interact., 1995a, v. 8, p. 155.
49. Bloemberg G.V., Kamst E., Harteveld M. e. a. Mol. Microbiol., 1995, v. 16, № 6, p. 1123–1136.
50. Slabas A.R., Chase D., Nishida I. e. a. Biochem. J., 1992, v. 283, p. 321–326.
51. Evans I.J., Downie J.A. Gene, 1986, v. 43, p. 95.
52. Vazquez M., Santana O., Quinto C. Mol. Microbiol., 1993, v. 8, № 1, p. 369–377.
53. Spaink H.P., Wijffes A.H.M., Lugtenberg B.J.J. J. Bacteriol., 1995, v. 177, p. 6276–6281.
54. Rivilla R., Sutton J.M., Downie J.A. Gene, 1995, v. 161, p. 27–31.
55. Ehrhardt D.W., Atkinson E.M., Long S.R. Science, 1992, v. 256, p. 998–1000.
56. Kurkdjian A.C. Plant Physiol., 1995, v. 107, p. 783.
57. Felle H.H., Kondorosi E., Kondorosi A., Schultze M. Plant J., 1995, v. 7, p. 939–947.
58. Allen N.S., Bennet M.N., Cox D.N. In: Advances in Molecular Genetics of Plant-Microbe Interactions. Dordrecht., 1994, p. 107–114.
59. Heidstra R., Geurts R., Franssen H. e. a. Plant Physiol., 1994, v. 105, p. 787–797.
60. Horvath B., Heidstra R., Lados M. e. a. Plant J., 1993, v. 4, p. 727–733.
61. Recourt K., Schripsema J., Kijne J.W. e. a. Plant Mol. Biol., 1991, v. 16, p. 841–852.
62. Truchet G., Roche P., Lerouge P. e. a. Nature, 1991, v. 351, p. 670–673.
63. Truchet G., Barker D.G., Camut S. e. a. Mol. Gen. Genet., 1989, v. 219, p. 65–68.
64. Van Brussel A.A.N., Bakhuizen R., van Spronsen P.C. e. a. Science, 1992, v. 257, p. 70–72.
65. Verma D.P.S. Plant Cell, 1992, v. 4, p. 373–382.
66. Savoure A., Magyar Z., Pierre M. e. a. EMBO J., 1994, v. 13, p. 1093–1102.
67. Hirsch A.M., Bhuvaneswari T.V., Torrey J.G., Bisseling T. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1989, v. 86, p. 1244–1248.
68. Long S.R., Cooper J. In: Molecular Genetics of Plant – Microbe Interactions. Eds.: R. Palacios, D.P.S. Verma, 1988, St-Paul: Amer. Phytopathological Soc. Press. P. 163.
69. Kondorosi E., Hoffmann B., Endre G. e. a. In: New Horizons in Nitrogen Fixation. Eds.: R. Palacios, 1993, Kluwer Acad. Publ., Netherlands, p. 357.
70. Mathesius U., Schlaman H.R.M., Spaink H.P. e. a. Plant J., 1998, v. 14, p. 23–34.
71. Fear J.C., LaRue T.A. Plant Physiol., 1992, v. 96, p. 239.
72. Pemnetsa R.V., Cook D.R. Science, 1997, v. 275, p. 527.
73. Heidstra R., Yang W.C., Yalcin Y. e. a. Development, 1997, v. 124, p. 1781–1787.
74. Schmidt J., Rohrig H., John M. e. a. Plant J., 1993, v. 4, № 4, p. 651–658.
75. Heese-Peck A., Cole R.N., Borkhsenius O. e. a. Plant Cell, 1995, v. 7, p. 1459–1471.
76. De Jong A.J., Heidstra R., Spaink H.P. e. a. Plant Cell., 1993, v. 5, p. 615–620.
77. De Jong A.J., Cordewener J., Lo Schiavo F. E. e. a. Ibid., 1992, v. 4, p. 425–433.
78. Staehelin C., Schultze M., Kondorosi E. e. a. Plant J., 1994, v. 5, № 3, p. 319–330.
79. Schultze M., Staehelin C., Brunner F. e. a. Plant J., 1998, v. 16, p. 571–580.
80. Leung D.W.M. Phytochemistry, 1992, v. 31, p. 1899.
81. Benhamou N., Asselin A. Biol. of the Cell., 1989, v. 67, p. 341–350.
82. Rosa F., Sargent T.D., Rebbert M.L. e. a. Develop. Biol., 1988, v. 129, p. 114–123.
83. Semino C.E., Specht C.A., Raimondi A., Robbins P.W. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1996, v. 93, p. 4548.
84. Semino C.E., Robbins P.W. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1995, v. 92, p. 3498–3501.
85. Bakkers J., Semino C.E., Stroband H. e. a. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1997, v. 94, p. 7982–7986.
86. Ovtsyna A.O., Geurts R., Bisseling T. e. a. Mol. Plant–Microbe Interact., 1998, v. 11, № 5, p. 418.
87. Stokkermans T.J.W., Ikeshita S., Cohn J. e. a. In: Proc. of the I Eur. Nitrogen Fixation Conf. Eds.: G.B. Kiss, G. Endre, 1993, Szeged: Officina Press, p. 59.
88. Stokkermans T.J.W., Ikeshita S., Cohn J. e. a. Plant Physiol., 1995, v. 108, p. 1587–1595.