

УДК 581.138.1

ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И АЗОТА ПРИ БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОМ СИМБИОЗЕ

© 2007 г. А. К. Глянько, Г. Г. Васильева

Сибирский институт физиологии и биохимии растений

Сибирского отделения Российской академии наук

(Иркутск, Россия)

Обобщены литературные данные о роли активных форм кислорода (АФК) и азота (АФА) при формировании и функционировании бобово-ризобиального симбиоза в сравнении с фитопатогенезом. Предполагается двойная функция АФК и АФА при бобово-ризобиальном симбиозе: включение механизмов, способствующих установлению симбиоза, и механизмов (защитных реакций), препятствующих формированию симбиотических структур. Приводится гипотетическая схема участия АФК и АФА в формировании бобово-ризобиального симбиоза.

Ключевые слова: *активные формы кислорода, активные формы азота, бобово-ризобиальный симбиоз, фитопатогенез, Nod-фактор, оксид азота, пероксид водорода*

В последние десятилетия решению проблемы роли активных форм кислорода (АФК) и активных форм азота (АФА) у организмов уделяется пристальное внимание. Следует отметить, что научная разработка этой проблемы на растениях началась позднее, чем на животных организмах. Однако к настоящему времени большой интерес к этой проблеме проявляют и фитобиологи, в том числе физиологи и биохимики растений [23].

АФК и АФА - вторичные продукты аэробного метаболизма у живых организмов. В высоких концентрациях эти соединения токсичны и нарушают различные звенья метаболизма [54]. В то же время АФК и АФА выполняют роль сигнальных молекул, вызывая через каскад реакций экспрессию различных генов, связанных, в частности, с защитой растения при действии абиотических и биотических стрессоров [45]. Итогом таких модификаций метаболизма является развитие растением системной приобретенной или индуцированной устойчивости на основе сверхчувствительного ответа клетки (СВЧ) на стрессовое воздействие и программированной клеточной смерти [49]. Роль АФК и АФА в процессах роста и развития

растений освещена в ряде обзоров [11, 13, 22, 34, 71].

Подобно животным организмам в растениях также может наблюдаться "окислительный и азотный взрыв", инициируемый действием различных стресс-факторов, и сопровождающийся резким накоплением в клетках свободных радикалов кислорода и азота, которые могут повреждать практически все компоненты клеток, в том числе белки, ферменты, нуклеиновые кислоты, мембранные структуры [60, 106].

Усиление образования активных форм кислорода и азота при действии на организмы неблагоприятных абиотических и биотических факторов может привести к глубоким нарушениям в обмене веществ, если защитная система организма, состоящая из антиоксидантных соединений (аскорбат, глутатион, гемоглобин и др.) и антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза, глутатионредуктаза, аскорбатпероксидаза, полифенолоксидаза и др.), не в состоянии обезвредить избыток этих соединений [10].

Активные формы кислорода

АФК (O_2^- , H_2O_2 , $\cdot OH$, OH^1 , O_2^1) в качестве своего предшественника имеют молекулярный кислород. Местом интенсивного образования АФК у растений является фотосистема, перок-

Адрес для корреспонденции: Глянько Анатолий Константинович, Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, 664033, Иркутск, а/я 317, Россия; e-mail: ustaft@sifibr.irk.ru

сисомы, плазмалемма, дыхательная цепь митохондрий и другие структуры клетки, где образование кислородных радикалов происходит в результате одноэлектронного восстановления O_2 в дыхательной цепи и других неферментативных и ферментативных реакций [13, 45, 74]. Из них следует отметить окислительно-восстановительные реакции с участием различных соединений и ферментов [12, 60]. Определенный вклад в образование АФК вносят пероксидаза и аминоксидаза, локализованные в клеточной стенке [64]. Одним из важнейших источников АФК при фитопатогенезе является пероксималая и НАДФН-оксидаза плазмалеммы [11, 19, 59]. Существует тесная связь продукции АФК с выходом ионов кальция в цитоплазму при действии абиотических и биотических стрессоров и отмечается значение Ca^{2+} и АФК как ключевых компонентов единой сигнальной сети [9]. Важную роль в этом играет НАДФН-оксидаза, которая связывает Ca^{2+} и активируется им [85].

Можно, очевидно, считать, что как сигнальная, так и разрушительная функции АФК при действии на растения различных стрессовых факторов доказаны. Чтобы выжить, растительные организмы должны поддерживать определенный баланс между этими функциями (прооксидантно-антиоксидантное равновесие) [8, 97]. Главную роль здесь играют антиоксидантная и сигнальная системы. Первая обезвреживает избыток АФК, вторая - с помощью тех же АФК обеспечивает включение защитных механизмов организма. Специфичность ответа растительного организма на АФК зависит от многих факторов: химических особенностей АФК, места их генерации, фазы развития растения, воздействия на организм стрессовых факторов и взаимодействия с другими сигнальными молекулами (оксид азота, фитогормоны, салициловая и жасмоновая кислоты, продукты липидного и фенольного обменов).

Активные формы азота

К активным формам азота (АФА) прежде всего относят оксид азота (NO) - липофильную молекулу, которая легко диффундирует через мембраны. NO -многофункциональная сигнальная молекула, управляющая внутриклеточными и межклеточными процессами в животных, бактериальных и растительных организмах и оказывающая как положительное, так и отрицательное влияние на метаболизм [17, 18, 30]. Известна кардинальная роль NO в функционировании иммунной, нервной, сосудистой систем у животных. В растительных организ-

мах NO играет роль в росте и развитии растений, индуцируя, в частности, прорастание семян, цветение, закрывание устьиц, рост корня [7, 47]. По данным Shimoda et al. [90], NO активирует экспрессию гена *LjHb1* у *Lotus japonicus*, кодирующего синтез несимбиотического гемоглобина, который, как известно, является детоксикантом оксида азота [40, 80]. В животных клетках NO индуцирует синтез гуанилатмонофосфата, связываясь с гемом гуанилатциклазы, что ведет к различным эффектам в метаболизме [109].

NO вступает в химические реакции с различными соединениями, входящими в состав клеток, с образованием молекул, обладающих как и сама NO, либо токсичностью, либо свойствами регуляторных молекул. Так, при взаимодействии NO с супероксидным анион-радикалом ($O_2^{\cdot-}$) образуется пероксинитрит ($ONOO^{\cdot}$) - более токсичный радикал, чем сама молекула NO [83]. Хотя по другим данным [38], $ONOO^{\cdot}$ в растительных клетках не обладает достаточной токсичностью, чтобы вызвать апоптоз клетки, что отличает действие пероксинитрита в животной клетке. По мнению Delledonne et al. [38], усиление токсичности $ONOO^{\cdot}$ связано с уровнем генерации пероксида водорода (H_2O_2), образующегося путем ферментативной дисмутации $O_2^{\cdot-}$.

Реакция NO с тиоловыми остатками биологических молекул (нитрозилирование) снижает устойчивость растений к фитопатогенам, по-видимому, вследствие уменьшения уровня свободного NO [42]. Из негативных эффектов оксида азота и его дериватов следует отметить: перекисное окисление липидов и тиоловых остатков, S-нитрозилирование белков [106]. Взаимодействие NO с железосодержащими белками ведет к ингибированию ферментов, таких, например, как цитохром *c* оксидаза в митохондриальной дыхательной цепи [105]. В то же время предполагают, что нитрозилирование белков путем связывания NO с остатком цистеина является первичным механизмом для активации NO [93]. NO способен реагировать с глутатионом с образованием S-нитрозоглутатиона (GSNO), который может вовлекаться в защитные реакции растений против биотических и абиотических стрессоров [41].

NO образуется в животных тканях из аргинина в реакции, катализируемой синтазой оксида азота (NO-синтаза), а также в незначительных количествах в реакциях, связанных с восстановлением нитратов и нитритов с участием других ферментов и веществ (цитохро-

ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ

моксидазы - в митохондриях; цитохрома P-450 - в микросомах; гемоглобина - в крови) [18].

Данные о наличии NO-синтазы в клетках растений имеются, но гомологов животной NO-синтазы у растений не обнаружено [36, 51, 73, 107]. Антитела к животной NO-синтазе реагируют с белками растений, однако эти белки не проявляют NO-синтазной активности и выполняют в растениях другие функции [33]. В некоторых работах ставится под сомнение наличие у растений NO-синтазы [107]. В ряде исследований уделяется внимание белку *AtNOS1* из арабидопсиса, который обладает NO-синтазной активностью [36]. Однако мутация в гене этого белка не прекращает полностью синтез NO у арабидопсиса, что говорит о том, что существуют иные пути синтеза NO [51]. Они могут быть связаны с восстановлением NO_3^- и NO_2^- нитрат- и нитритредуктазами [48, 70, 72, 104]. На NO, как промежуточный продукт при восстановлении нитратов у растений и микроорганизмов, указывали еще в начале 60-х годов прошлого столетия Fewson и Nicholas [44]. Не исключено образование NO в растительных клетках неферментативным путем при определенных условиях, например, при закислении клеточной среды из NO_2^- в присутствии восстановителей, в частности, аскорбиновой кислоты [36]. Показано усиление синтеза NO у *Arabidopsis thaliana* под воздействием экзогенно добавляемой в суспензию клеток салициловой кислоты. Увеличение генерации NO в этом случае идет, по крайней мере частично, за счет активации активности фермента, подобного NO-синтазе, и при участии кальция и киназы 2 [111].

Взаимодействие АФК и АФА

Важным является изучение взаимодействия АФК и АФА. Этот вопрос хорошо изучен при фитопатогенезе, когда системная приобретенная устойчивость формируется на основе СВЧ клетки и последующей ее гибели. Как показали исследования, гибель клетки растения-хозяина при СВЧ есть результат одновременно действия H_2O_2 и NO [106].

На рис. 1 изображена гипотетическая схема взаимосвязи АФК и АФА при действии биотических и абиотических факторов, построенная и дополненная на основе литературных данных [75]. *Суть схемы.* Стрессовый сигнал взаимодействует с растительным рецептором, что инициирует выход кальция в цитоплазму, фосфорилирование и активацию белков таких, как НАДФН-оксидаза, нитрат- и нит-

ритредуктазы и, возможно, NO-оксидаза. При активации образуется O_2^- , который с участием супероксиддисмутазы (СОД) дисмутирует в H_2O_2 . В результате активации нитрат-восстанавливающих ферментов и NO-синтазы продуцируется оксид азота (NO). При взаимодействии NO с O_2^- образуется пероксинитрит (OONO^-), который, как и NO, может взаимодействовать с белками (нитрование, S-нитрозилирование), изменяя их свойства [61]. Соотношение в клетке NO, O_2^- , H_2O_2 и OONO^- определяет СВЧ клетки на инвазию фитопатогена [38] или действие элиситора на растение [110].

Как сигнальная молекула, NO при участии салициловой кислоты (усилителя каскада реакций, инициируемых NO) может вызвать экспрессию генов защиты. При этом синтезируется PR1-белок, активируются ферменты - халконсинтаза, гуанилатциклаза, фенилаланин-аммоний-лиаза; усиливается синтез салициловой кислоты. Пероксид водорода может влиять на сигнальные функции NO посредством активации синтеза салициловой кислоты, которая в свою очередь, являясь конкурентным ингибитором каталазы, способствует накоплению H_2O_2 [82].

Пероксид водорода селективно вызывает экспрессию генов глутатионпероксидазы и глутатион-S-трансферазы, играющих роль детоксикантов цитотоксических соединений [66]. H_2O_2 оказывает антибактериальный эффект как непосредственно, так и путем участия в синтезе веществ (каллозы, лигнина) для укрепления клеточной стенки от бактериальной инвазии. Хорошо известно, что H_2O_2 детоксицируется в реакциях, катализируемых каталазой и пероксидазой, в то же время пероксидаза может быть и продуцентом H_2O_2 .

Обезвреживание избытка NO может происходить с участием несимбиотических форм гемоглобина, синтезируемых в растениях в ответ на различные стрессовые воздействия [40, 80]. Ураты предотвращают токсический эффект пероксинитрита у арабидопсиса [21].

АФК и АФА при бобово-ризобиальном симбиозе

В отличие от патогенеза, бобово-ризобиальный симбиоз - полезное для обоих организмов взаимодействие. Проникая в клетки растения, клубеньковые бактерии "организуют" для себя эндоэкологическую нишу, благоприятную для жизнедеятельности как макро-, так и микросимбионта. Установлено, что образова-

ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ

ние этой "эндозкологической ниши" для клубеньковых бактерий (в виде корневых клубеньков) происходит под "строгим" контролем растения-хозяина с помощью различных механизмов: генетических, биохимических, физиологических, экологических и др. Увеличивается число доказательств того, что важную роль в образовании и развитии бобово-ризобияльного симбиоза играют АФК и АФА [3, 43, 53, 76, 81, 87, 89]. Образование активных форм кислорода и азота в течение развития симбиотического взаимодействия является основным фактором сходства ранних ответов растения на инфекцию патогенами и симбиотрофами [25, 77]. Однако исследования, связанные с изучением роли АФК и АФА в симбиотических взаимоотношениях организмов, по сравнению с патогенезом, немногочисленные и разрозненные. Роль этих соединений на начальных этапах формирования бобово-ризобияльного и арбускулярно-микоризного взаимодействия обсуждается в ряде работ [6, 24, 31, 46, 76]. Участие АФК и антиоксидантных соединений в функционировании корневых клубеньков отражены в исследованиях Весана с сотрудниками [28, 55, 68].

Основной вопрос - это механизм, который используют клубеньковые бактерии, чтобы противодействовать иницированию защитных систем макросимбионта. Считается, что ризобии ингибируют сигнальные пути, ведущие к запуску защитных систем растения-хозяина [32]. Этот механизм, очевидно, запускается при взаимодействии ризобияльного *nod*-фактора (липохитоолигосахарид) с растительным рецептором белковой природы. Но даже если ризобии изначально супрессировали защитные реакции растения-хозяина и проникли в ткани корня, инфекционный процесс может прерываться на последующих стадиях. Так, установлено, что 90% инфекционных нитей, образованных в корневых волосках люцерны, останавливают свой рост и разрушаются. Абортирование инфекционных нитей - результат СВЧ, хорошо известного процесса, происходящего в клетках при фитопатогенезе с участием АФК как ключевых компонентов. Так, по данным Vasse et al. [100], отдельные инфекционные нити с находящимися в них ризобиями погибают, и в них обнаружены вещества, характерные для СВЧ клетки при фитопатогенезе (фенолы, РР-белки и др.). У люцерны обнаружены O_2^- и H_2O_2 в матриксе некоторых инфекционных нитей, окружающем бактерии, но не внутри бактерий [87]. D'Haese et al. [52] показали, что нодуляция латеральных корней тропического по-

луводного растения *Sesbania rastrata* связана с генерацией H_2O_2 и этилена. Причем оба эти процесса иницируются *Nod*-фактором. Увеличение содержания H_2O_2 в проростках люцерны и уменьшение активности антиоксидантных ферментов на ранних стадиях инфицирования наблюдали Bueno et al. [31] в опытах с дефектным по синтезу *Nod*-фактора мутантом *Sinorhizobium meliloti*. Повышенная генерация O_2^- проростками гороха происходит при взаимодействии растений с несовместимым штаммом *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* (фасолевый штамм) и увеличивается в первые сутки после инокуляции корней гороха совместимым штаммом *Rh. leguminosarum* bv. *viceae* [1]. Бактериальный антиоксидантный фермент СОД, катализирующий реакцию дисмутации O_2^- в H_2O_2 , необходим для прохождения нормальной ризобияльной инфекции и нодуляции у бобовых [87]. По данным Lohar et al. [62] изменение морфологии корневых волосков в ответ на ризобияльную инфекцию сопровождается временными колебаниями в концентрации пероксида водорода, что авторы связывают с необходимостью АФК для процессов, ведущих к скручиванию корневых волосков и последующей инвазии клубеньковых бактерий.

Как уже отмечалось, начальные этапы взаимодействия растений с патогенными и симбиотическими микроорганизмами имеют общие черты [91]. Так, инфицирование ризобиями бобовых сопровождается выходом кальция в цитоплазму и изменением активности корневой НАДФН-оксидазы [102, 103]. Предполагается, что функциональная активность НАДФН-оксидазы - один из механизмов регуляции образования АФК на начальных этапах бобово-ризобияльного взаимодействия [4]. Это подтверждается данными Lohar et al. [62, 63], которые показали, что накопление транскриптов НАДФН-оксидазы в корнях люцерны совпадает с изменением содержания H_2O_2 в первые часы после инокуляции проростков ризобиями. С другой стороны, обработка проростков люцерны очищенным *Nod*-фактором ведет к ингибированию образования H_2O_2 [89], что авторы связывают с защитным ответом растений. На уменьшение генерации H_2O_2 и салициловой кислоты при инокуляции проростков гороха ризобиями указывают и другие авторы [5], которые объясняют этот факт функционированием защитно-регуляторного механизма при формировании бобово-ризобияльного симбиоза [6]. Противоречивость данных об изменении содержания H_2O_2 у макросимбионта при взаимо-

действии с ризобиями можно, по-видимому, объяснить разной продолжительностью опытов, т. е. временной зависимостью уровня H_2O_2 у макросимбионта.

H_2O_2 необходим для экспрессии гена *rip1*, кодирующего синтез раннего нодулина люцерны - пероксидазы [81], а также как субстрат для пероксидазы, катализирующей синтез лигнина и каллозы, для укрепления клеточной стенки от инвазии бактерий. По данным Глянько с соавт. [6] активность растворимой пероксидазы в корнях гороха в ответ на инокуляцию снижается в восприимчивом к ризобияльной инфекции участке корня и возрастает в невосприимчивом к инфекции участке. Подобной закономерности авторы не нашли для бесклубенькового мутанта гороха, у которого в ответ на ризобияльную инфекцию активность пероксидазы не изменялась в обоих участках корня. Авторы предполагают, что снижение активности пероксидазы способствует проникновению ризобий в корень, а ее повышение в невосприимчивом участке, возможно, имеет прямой антибактериальный эффект, направленный на предотвращение системного распространения ризобий и защиту корня растения от избыточного инфицирования. Феномен системной устойчивости к ризобияльной инфекции других участков корня бобовых после предварительной инфекции корня отмечается и в других работах [35]. С другой стороны, существует термин "авторегуляция", с которым связывают регуляцию макросимбиотом процессов инфицирования и нодуляции в восприимчивых к ризобияльной инфекции участках корня [39].

Модуляция метаболизма макросимбионта под влиянием микросимбионта и выражающаяся в накоплении АФК свидетельствует о СВЧ клеток растения-хозяина. Это, по-видимому, указывает на участие АФК и АФА в авторегуляции процессов инфицирования и нодуляции при взаимодействии симбионтов. Однако, по данным Васильевой и соавт. [1-3], в других органах растения-хозяина - эпикотиле гороха, в ответ на инвазию ризобий происходит накопление АФК в виде O_2^- и H_2O_2 . Авторы предполагают, что в данном случае макросимбионт развивает устойчивость подобную "системной индуцированной устойчивости" у растений при заражении непатогенными микроорганизмами [78]. Такая устойчивость у бобового растения, возникающая в ответ на внедрение ризобий, направлена, вероятно, на предотвращение проникновения ризобий в другие органы и включается сигнальной системой, возможно, сходной с

той, которая функционирует при заражении растений непатогенными микробами с участием жасмоновой кислоты [79].

Как известно, системная приобретенная устойчивость формируется с участием салициловой кислоты, синтез которой тесно связан с другой сигнальной молекулой - пероксидом водорода [84]. Возможность участия салициловой кислоты в бобово-ризобияльном симбиозе обсуждалось в ряде работ [5, 29, 46, 65, 92]. Экзогенная салициловая кислота отрицательно влияла на формирование и функционирование бобово-ризобияльного симбиоза [20, 65]. Однако при нормальных условиях синтез салициловой кислоты у макросимбионта регулируется, вероятно, на генном уровне с участием *Nod*-фактора ризобий. Так, мутация у ризобияльного штамма по *Nod*-фактору или инокуляция люцерны несовместимым ризобияльным штаммом вело к резкому накоплению салициловой кислоты в корнях, способствуя функционированию салициловой кислоты как сигнальной молекулы, инициирующей включение защитных реакций у макросимбионта, что тормозит процессы инфекции и нодуляции [29]. Иначе говоря, под воздействием ризобияльного *Nod*-фактора интенсивность синтеза салициловой кислоты у растения-хозяина снижается, что ведет к блокированию опосредованного ею сигнального механизма, связанного с защитными реакциями макросимбионта [31, 65]. Stacey et al. [92] показали, что уменьшение эндогенного уровня салициловой кислоты у *Lotus japonicus* и *Medicago truncatula* путем трансгенной экспрессии фермента салицилат гидролазы (*NahG*) способствует увеличению инфицирования и нодуляции бобовых растений с детерминантным и недетерминантным типом клубеньков. Авторы предполагают важную роль салициловой кислоты в защитных реакциях растения-хозяина при формировании симбиоза.

Синтез и роль NO при симбиозе

Роль NO в процессах симбиотрофного взаимодействия организмов, в частности, растений, микробов, грибов остаётся малоизученной. При рассмотрении этого вопроса можно выделить два направления исследований: роль этой молекулы в нормальных условиях формирования и функционирования симбиотрофного механизма и при действии экстремальных факторов, препятствующих симбиозу.

Наличие NO в клубеньках люцерны подтверждено в опытах [27], причем авторы полагают, что генерация NO в клубеньках происхо-

ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ

дит с участием NO-синтазы, но не нитрат- или нитритредуктазы. Подчеркивается, что в нормальных физиологических условиях роль NO как негативного регулятора N₂-фиксации в клубеньках маловероятна [53]. Показано присутствие в зрелых функционирующих клубеньках сои комплекса NO с леггемоглобином в отсутствие нитратов в среде [67]. По данным Kanayama et al. [56, 57], при высоком содержании в растениях сои NO₃⁻ в бактериоидах синтезируется NO, который связывается с леггемоглобином с образованием нитрозиллеггемоглобина. Это может вести к ингибированию процесса переноса кислорода в бактериоиды и, как следствие, к снижению активности нитрогеназы и последующей деградации клубеньков. В опытах *in vitro* показано ингибирующее действие NO на нитрогеназу клубеньков сои [99]. NO может участвовать в регуляции активности двух генов N₂-фиксации *nifA* и *fixK* путем образования комплекса с мембранно-связанным белком *FixL*, вовлеченном в регуляцию азотфиксации у *Rhizobium meliloti*. Этот белок является O₂-сенсором и активируется при низких и инактивируется при высоких концентрациях O₂. Предполагается, что NO, как и O₂, может участвовать в регуляции активности *FixL*, а следовательно, и азотфиксации [50].

Вопросы механизма синтеза NO и роль этой молекулы в регуляции активности азотфиксирующего аппарата ризобий в бактериоидах остаются до конца невыясненными. С одной стороны, есть данные о том, что синтез NO в клубеньках может происходить за счет ферментов, обладающих NO-синтазной активностью [37, 51], с другой - при высоких дозах нитратного азота не исключено участие в генерации NO нитрат- и нитритредуктазы [57]. В пользу первого предположения говорит факт, что в клубеньках в высоких концентрациях присутствует аргинин - субстрат для NO-синтазы [96]. Однако при высоких концентрациях нитратов в среде в клубеньках наблюдается накопление нитритов, которые могут быть субстратом для последующего образования NO с участием нитрат-восстанавливающих ферментов [56, 57]. В опытах Meakin et al. [69] с бактериоидами клубеньков сои показано, что максимальное накопление в бактериоидах нитрозиллеггемоглобина наблюдалось при подкормке растений нитратами и при гипоксии. При этом наибольший вклад в генерацию NO вносит бактериоидная периплазматическая нитратредуктаза. В дополнение к этому можно также привести данные Kato et al. [58] об индукции активности нитрат-

редуктазы в инфекционной зоне клубеньков *L. japonicus* в отсутствие нитратов в среде.

Таким образом, можно отметить два возможных механизма генерации NO в клубеньках: с участием фермента(ов), обладающего(их) NO-синтазной активностью, и нитрат-восстанавливающих ферментов - нитратредуктазы и нитритредуктазы. Участие самих ризобий в генерации NO в реакции денитрификации не подтверждается [76]. Преобладание того или иного механизма будет, вероятно, зависеть от эндогенных и экзогенных условий, благоприятствующих или неблагоприятствующих симбиозу.

Роль NO в симбиотической азотфиксации неясна. Как свидетельствуют имеющиеся в литературе данные, в функционирующих клубеньках NO может выполнять роль регулятора переноса O₂ в бактериоиды, образуя комплекс с леггемоглобином. Как уже отмечено выше, негативная роль NO в функционирующих клубеньках маловероятна в физиологически нормальных условиях [53]. Однако при этом NO в клубеньках должен быть на достаточно низком уровне, не позволяющем ингибировать активность нитрогеназы [57] и доставку O₂ в бактериоиды путем образования комплекса с леггемоглобином. Для этого в клубеньках должен быть механизм, эффективно обезвреживающий избыток NO. К нему прежде всего можно отнести леггемоглобин и несимбиотический гемоглобин, которые могут быть скавенгерами (scavengers) NO и модулировать активность этого радикала в инфицированных клетках. По данным Shimoda et al. [90], содержание несимбиотического гемоглобина (*LbHg1*) увеличивается в функционирующих клубеньках в ответ на ризобиальную инфекцию, сопряженную с преходящим увеличением NO в корнях *Lotus japonicus*. Предполагается, что несимбиотический гемоглобин играет роль скавенгера NO [90, 101].

Сведений о влиянии NO на инфицирование и формирование бобово-ризобиального симбиоза в литературе практически нет. Есть предположения, что NO может участвовать в регуляции количества клубеньков на корнях бобовых [53]. Stohr и Stremlau [94] в своем обзоре приводят данные о генерации NO на плазматической мембране клеток растений при бобово-ризобиальном и арбускулярно-микоризном взаимодействиях. Авторы заключают, что усиление генерации NO наблюдается при высоких дозах нитратного азота в среде, которое совпадает с повышением активности

мембранной (но не цитоплазматической) нитратредуктазы. Высокие концентрации NO могут способствовать включению защитных реакций растения-хозяина и таким образом препятствовать инфицированию растений ризобиями и микоризой. Meyer et al. [70] считают, что в результате функционирования нитратредуктазы количество образующегося в клетках растений NO более чем достаточно для сигналинга.

По данным Митановой с соавт. [14], экзогенный NO (в виде нитропрусида натрия) отрицательно влиял на адгезию и проникновение ризобий в ткани корня проростков гороха. Добавление в среду с нитропрусидом натрия - донором NO, гемоглобина из эритроцитов лошади в 1,5 раза снимало ингибирующий эффект NO на эти процессы. Авторы предполагают, что ингибирование взаимодействия ризобий с корнями растения-хозяина может происходить уже в ризосфере из-за высокого содержания NO в почве, образующегося, в частности, в процессах микробной денитрификации, особенно при внесении в почву азотных удобрений.

Высокое содержание азота в почве ведет к усилению поглощения нитратов проростками гороха в условиях инфицирования растений ризобиями [15]. Можно предполагать, что активация восстановления поглощенных клетками растения-хозяина нитратов с образованием оксида азота приводит к функционированию NO как сигнальной молекулы, включающей защитные механизмы против симбиотического партнера, и таким образом препятствующей установлению бобово-ризобиального симбиоза. Это может быть одной из причин отрицательного действия высоких доз нитратного удобрения на симбиоз.

Следует отметить, что механизмы отрицательного влияния высоких доз минерального азота на установление и функционирование бобово-ризобиального симбиоза остаются до конца невыясненными. Отмечается важная роль на начальных стадиях формирования симбиоза т.н. NIN-белка (nodule inception), синтез которого осуществляется только у бобовых растений [88]. По данным Barbulova et al. [26], в опытах с инокуляцией 6-дневных проростков лядвенца (*Lotus japonicus*) Nod-фактором, выделенным и очищенным из *Mezorhizobium loti*, высокие дозы нитратного азота не блокировали морфологические изменения корневых волосков в ответ на инокуляцию, но ингибировали деление кортикальных клеток и дальнейший морфогенез клубеньков у *Lotus japonicus*. Ингибирование начальных стадий симбиоза в слу-

чае высоких доз аммонийного азота наблюдалось уже на стадии скручивания корневых волосков. Авторы предполагают отрицательное влияние высоких доз минерального азота на экспрессию гена NIN-белка, осуществляющего регуляцию симбиотического взаимодействия (скручивание корневых волосков, образование инфекционных нитей, органогенез клубенька). По нашему мнению, не исключено участие АФК и АФА в нарушении бобово-ризобиального взаимодействия при высоких дозах минерального азота в среде, что требует экспериментальных доказательств.

Гипотетическая схема влияния активных форм кислорода и азота на начальные пути бобово-ризобиального симбиоза отражена на рис. 2. Следует обратить внимание по крайней мере на четыре компартмента, где происходит взаимодействие симбионтов: внешняя среда, клеточная стенка, плазмалемма и цитоплазма. Во внешней среде находятся флавоноиды, выделяемые макросимбионтом. Эти соединения (дадзенин, апегенин, лютеолин и др.) инициируют экспрессию Nod-генов ризобий, результатом чего является синтез бактериями Nod-фактора - липохитоолигосахарида (ЛХОС). ЛХОС взаимодействует, по-видимому, на клеточной стенке с растительным рецептором (предположительно с белком подобным киназе) [95] и "запускает" генетическую программу реализации начальных (инфицирование, образование инфекционной нити, органогенез клубенька) и последующих этапов бобово-ризобиального симбиоза. Во внешней среде могут также находиться N-соединения (NO, NO₂), которые нарушают способность ризобий взаимодействовать с растением-хозяином [16]. Ферменты, которые могут участвовать в генерации активных форм кислорода и азота, локализованы на плазмалемме (НАДФН-оксидаза, нитрат- и нитритредуктазы, NO-синтаза). От их активности зависит уровень АФК и АФА, который, в свою очередь, регулируется системой антиоксидантной защиты. Инициация экспрессии генов защиты макросимбионта при участии активных форм кислорода и азота блокирует развитие симбиоза. Что касается развития растением-хозяином системной устойчивости против ризобий в нечувствительных к инфекции частях корня и в других органах (эпикотиль), то она, вероятно, генетически запрограммирована и включается в условиях, благоприятных для развития симбиоза.

Таким образом, можно, по-видимому, говорить о пространственно-временной схеме

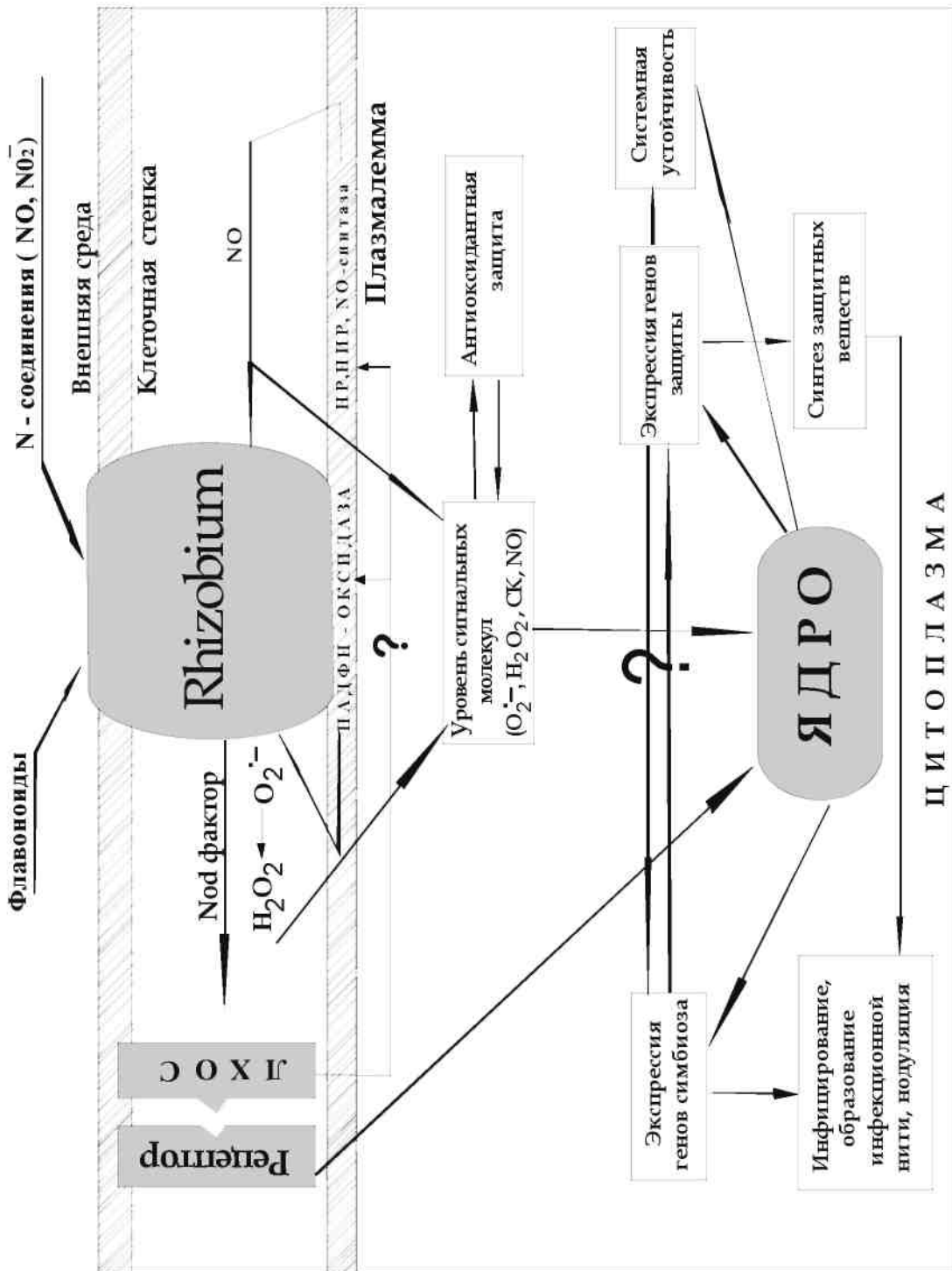


Рис. 2. Гипотетическая схема участия АФК и АФА в бобово-ризобияльном симбиозе на начальном его этапе. ЛХОС – липохитоолигосахарид, остальные обозначения, как на рис. 1

регуляции симбиоза с участием активных форм кислорода и азота, выполняющих, вероятно, двойную функцию: включение механизмов, способствующих установлению симбиоза, и механизмов (защитных реакций) препятствующих формированию симбиотических структур. В первом случае формирование симбиоза происходит при благоприятных условиях, во втором - на фоне действия экстремальных факторов. В целом, это направление в проблеме бобово-ризобияльного и арбускулярно-микоризного симбиоза остается малоизученным. Дальнейшие исследования физиологических механизмов роли АФК и АФА на начальных стадиях развития симбиоза могут быть направлены на изучение ферментов, участвующих в генерации АФК и АФА; их локализацию в компартментах клетки растения-хозяина, динамику их активности и определение роли активных форм кислорода и азота как сигнальных молекул, инициирующих процессы, способствующие формированию симбиоза или препятствующие этому. Важным является состояние гомеостатического равновесия между экспрессией генов симбиоза и генов защиты макросимбионта. Очевидно, что это равновесие нарушается при действии неблагоприятных факторов в пользу усиления функционирования защитных систем растения-хозяина. Как это отразится на механизмах формирования симбиоза - вопрос, на который предстоит ответить. Следует также отметить, что генерация растением-хозяином токсических соединений (АФК, АФА, фенолов и др.) активирует и защитную систему микросимбионта. Недавно опубликованный обзор дает представление о знаниях в этой области бобово-ризобияльного и актиноризобияльного симбиоза [98].

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильева Г.Г., Миронова Н.В., Глянько А.К., Шепотько Л.Н. Генерация супероксидных радикалов в проростках гороха при инокуляции азотфиксирующими бактериями разной совместимости // С-х. биология. - 2001. - № 3. - С. 79-83.
2. Васильева Г.Г., Глянько А.К., Миронова Н.В. Содержание пероксида водорода и активность каталазы при инокуляции клубеньковыми бактериями проростков гороха с разной способностью к нодуляции // Прикл. биохим. микробиол. - 2005. - Т. 41, № 6. - С. 621-625.
3. Васильева Г.Г., Глянько А.К., Миронова Н.В. и др. Активные формы кислорода в проростках гороха при взаимодействии с симбиотическими и патогенными микроорганизмами // Там же. - 2007. - Т. 43, № 2. - С. 240-245.
4. Васильева Г.Г., Глянько А.К., Ищенко А.А. и др. Активность НАДФН-оксидазы в зонах корня проростков гороха, различающихся по чувствительности к ризобияльной инфекции // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. - 2007. - Вип. 2 (11). - С. 34-42.
5. Глянько А.К., Макарова Л.Е., Васильева Г.Г., Миронова Н.В. Возможное участие перекиси водорода и салициловой кислоты в бобово-ризобияльном симбиозе // Известия РАН. Серия биол. - 2005. - Т. 32, № 3. - С. 300-305.
6. Глянько А.К., Акимова Г.П., Соколова М.Г. и др. Защитно-регуляторные механизмы при развитии бобово-ризобияльного симбиоза // Прикл. биохим. микробиол. - 2007. - Т. 43, № 3. - С. 289-297.
7. Дмитриев А.П. Сигнальная роль оксида азота у растений // Цитология и генетика. - 2004. - Т. 38, № 4. - С. 67-75.
8. Ерисковская Н.К., Керкис А.Ю., Соловьева Н.А., Салганик Р.И. Наследственная гиперпродукция свободных радикалов, индукция канцерогенеза // Доклады АН [Россия]. - 1994. - Т. 338, № 2. - С. 255-258.
9. Колупаев Ю.Е. Кальций и стрессовые реакции растений // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. - 2007. - Вип. 1 (10). - С. 24-41.
10. Лю Б.М., Ефимов М.Л. Антиоксидантная система клетки и канцерогенез // Успехи соврем. биологии. - 1976. - Т. 82, № 3. - С. 245-254.
11. Максимов И.В., Черепанова Е.А. Про-/антиоксидантная система и устойчивость растений к патогенам // Там же. - 2006. - Т. 126, № 3. - С. 250-261.
12. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К. Свойства и функции НАДФН-оксидаз клеток млекопитающих // Там же. - 2006. - Т. 126, № 1. - С. 97-112.
13. Мерзляк М.Н. Активированный кислород и окислительные процессы в мембранах растительной клетки. // Итоги науки и техники. Сер. "Физиология растений". - М., 1989. - Т. 6. - 166 с.
14. Митанова Н.Б., Глянько А.К., Васильева Г.Г. Влияние азотных соединений на адгезию и проникновение клубеньковых бактерий в ткани корней и рост этиолированных проростков гороха // Агрехимия. - 2006. - № 10. - С. 52-55.
15. Митанова Н.Б., Миронова Н.В., Глянько А.К. Поглощение нитратов проростками гороха в зависимости от дозы азота и инокуляции клу-

ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ

- беньковыми бактериями // Там же. - 2006. - № 1. - С. 32-33.
16. Митанова Н.Б., Глянько А.К., Васильева Г.Г. Возможные причины отрицательного влияния высоких доз азотных удобрений на формирование бобово-ризобияльного симбиоза // Роль с.-х. науки в развитии АПК Приангарья: Матлы научно-практ. конф. - Иркутск: ИНИИСХ РАСХН, 2007. - С. 103-107.
 17. Проскуряков С.Я., Коноплянников А.Г., Иванников А.И., Скворцов В.Г. Биология окиси азота // Успехи соврем. биол. - 1999. - Т. 119, № 4. - С. 380-395.
 18. Реутов В.П., Сорокина, Е.Г., Косицын Н.С. Проблемы оксида азота и цикличности в биологии и медицине // Там же. - 2005. - Т.125, № 1. - С. 41-65.
 19. Тарчевский И.А. Сигнальные системы клеток растений. - М.: Наука, 2002. - С. 103-113.
 20. Шумный В.К., Сидорова, К.К. Клевенская И.Л. и др. Биологическая фиксация азота. - Новосибирск: Наука, 1991. - С.108-110.
 21. Alamillo J.M., Garcia-Olmedo F. Effect of urate, a natural inhibitor of peroxynitrite-mediated toxicity, in the response of *Arabidopsis thaliana* to the bacterial pathogen *Pseudomonas syringae* // Plant J. - 2001. - V. 25, N 5. - P. 529-540.
 22. Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction // Annu. Rev. Plant Biol. - 2004. - V. 55. - P. 373-399.
 23. Bailey J., Mittler R. The roles of reactive oxygen species in plant cell // Plant Physiol. - 2006. - V. 141, N 2. - P. 311-312.
 24. Baptista P., Martins A., Pais M.S. et al. Involvement of reactive oxygen species during early stages of ectomycorrhiza establishment between *Castanea sativa* and *Pisolithus tinctorius* // Mycorrhiza. - 2007. - V. 17, N 3. - P. 185-193.
 25. Baron C., Zambryski P.C. The plant response in pathogenesis, symbiosis, and wounding: variations on a common theme? // Annu. Rev. Genet. - 1995. - V. 29. - P. 107-129.
 26. Barbulova A, Rogato A., D'Arizzo E. et al. Differential effects of combined N sources on early steps of the Nod factor-dependent transduction pathway in *Lotus japonicus* // Mol. Plant-Microbe Interac. - 2007. - V. 20, N 8. - P. 994-1003.
 27. Baudouin E., Pieuchot L., Engler G. et al. Nitric oxide is formed in *Medicago truncatula* - *Sinorhizobium meliloti* functional nodules // Mol. Plant-Microbe Interac. - 2006. - V. 19, N 9. - P. 970-975.
 28. Becana M., Dalton D.A., Moran J.F. et al. Reactive oxygen species and antioxidants in legume nodules // Physiol. Plant. - 2000. - V. 109, N 4. - P. 372-381.
 29. Blilou I., Ocampo J., Garcia-Garrido J. Resistance of pea root to endomycorrhizal fungus or *Rhizobium* correlates with enhanced levels of endogenous salicylic acid // J. Exp. Bot. - 1999. - V. 50, N 340. - P. 1663-1668.
 30. Bolwell J.P. Role of active oxygen species and NO in plant defence responses // Cur. Opin Plant Biol. - 1999. - V. 2, Is. 4 - P. 287-294.
 31. Bueno P., Soto M.J., Rodriguez-Rosales M.P. et al. Time-course of lipoxygenase, antioxidant enzyme activities and H₂O₂ accumulation during the early stages of *Rhizobium*-legume symbiosis // New Phytol. - 2001. - V. 152, Is.1. - P. 91-96.
 32. Buffard D., Esnault R., Kondorosi A. Role of plant defence in alfalfa during symbiosis // World J. Microbiol. Biotechnol. - 1996. - V. 12, N 2. - P. 175-188.
 33. Butt YK-C., Lum JH-K., Lo SC-L. Proteomic identification of plant proteins probed by mammalian nitric oxide synthase antibodies // Planta. - 2003. - V. 216, N 5. - P. 762-771.
 34. Carol R.J., Dolan L. The role of reactive oxygen species in cell growth: lessons from root hairs // J. Exp. Bot. - 2006. - V. 57, N 8. - P. 1829-1834.
 35. Catford J.-G., Staehelin C., Lerat S. et al. Suppression of arbuscular mycorrhizal colonization and nodulation in split-root systems of alfalfa after pre-inoculation and treatment with *Nod* factors // Ibid. - 2003. - V. 54, N 386. - P. 1481-1487.
 36. Crawford N.M. Mechanisms for nitric oxide synthesis in plants // Ibid. - 2006. - V. 57, N 2. - P. 471-478.
 37. Cueto M., Hernandez-Perera O., Martin R. et al. Presence of nitric oxide synthase activity in roots and root nodules of *Lupinus albus* // FEBS Lett. - 1996. - V. 398, N 1. - P. 159-164.
 38. Delledonne M., Zeier J., Marocco A., Lamb C. Signal interactions between nitric oxide and reactive oxygen intermediates in the plant hypersensitive disease resistance response // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 2001. - V. 98, N 23. - P. 13454-13459.
 39. Delves A.C., Mathews A., Day D.A. et al. Regulation of soybean-*Rhizobium* nodule symbiosis by shoot and root factors // Plant Physiol. - 1986. - V. 82, N 3. - P. 588-590.

40. *Dordas C., Rivoal J., Hill R.D.* Plant haemoglobins, nitric oxide and hypoxia stress // *Ann. Bot.* - 2003. - V. 91, N 2. - P. 173-178.
41. *Durner J., Klessig D.F.* Nitric oxide as a signal in plants // *Curr. Opin. Plant Biol.* - 1999. - V. 2, N 5. - P. 369-374.
42. *Feechan A., Kwon E., Yun B.-W. et al.* A central role for S-nitrosotriols in plant disease resistance // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 2005. - V. 102, N 22. - P. 8054-8059
43. *Ferguson B.J., Mathesius U.* Signaling interactions during nodule development // *J. Plant Growth Reg.* - 2003. - V. 22, N 1. - P. 47-72.
44. *Fewson C.A., Nicholas D.J.D.* Utilization of nitric oxide by microorganisms and higher plants // *Nature.* - 1960. - V. 188, N 4753. - P. 794-796.
45. *Foyer C.H., Noctor G.* Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria // *Physiol. Plant.* - 2003. - V. 119, N 3. - P. 355-364.
46. *Garcia-Garrido J.M., Ocampo J.A.* Regulation of the plant defense response in arbuscular-mycorrhizal symbiosis // *J. Exp. Bot.* - 2002. - V. 53, N 373. - P. 1377-1386.
47. *Garcia-Mata C., Lamattina L.* Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress // *Plant Physiol.* - 2001. - V. 126, N 3. - P. 1196-1204.
48. *Garcia-Mata C., Lamattina L.* Abscisic acid, nitric oxide and stomatal closure - is nitrate reductase one of the missing links? // *Trends Plant Sci.* - 2003. - V. 8, N 1. - P. 20-26.
49. *Gechev T.S., Van Breusegem F., Stone J.M. et al.* Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death. *BioEssays.* - 2006. - V. 28, N 11. - P. 1091-1101.
50. *Gilles-Gonzalez M.A., Gonzalez G., Perutz M.F. et al.* Heme-based sensors, exemplified by the kinase FixL, are a new class of heme protein with distinctive ligand binding and autoxidation // *Biochemistry* - 1994. - V. 33, N 26. - P. 8067-8073.
51. *Guo F.Q., Okamoto M., Crawford N.M.* Identification of a plant nitric oxide synthase gene involved in hormonal signaling // *Science.* - 2003. - V. 302, N 5642. - P.100-103.
52. *D'Haese W., De Rycke R., Mathis R. et al.* Reactive oxygen species and ethylene play a positive role in lateral root base nodulation of a semiaquatic legume // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 2003. - V. 100, N 20. - P. 11789-11794.
53. *Herouart D., Baudouin E., Frenod P. et al.* Reactive oxygen species, nitric oxide and glutathione: key role in the establishment of the legume-*Rhizobium* symbiosis // *Plant Physiol. Biochem.* - 2002. - V. 40, N 6-8. - P. 619-624.
54. *Implay J.A.* Pathways of oxidative damage. *Annu. Rev. Microbiol.* - 2003. - V. 57. - P. 395-418.
55. *Iturbe-Ormaetxe I., Matamoros M.A., Rubio M.C. et al.* The antioxidants of legume nodule mitochondria // *Mol. Plant-Microbe Interac.* - 2001. - V. 14, N 10. - P. 1189- 1196.
56. *Kanayama Y., Yamamoto Y.* Inhibition of nitrogen fixation in soybean plants supplied with nitrate. II. Accumulation and properties of nitrosylhemoglobin in nodules // *Plant Cell Physiol.* - 1990. - V. 31, N 2. - P. 207-214.
57. *Kanayama Y., Watanabe I., Yamamoto Y.* Inhibition of nitrogen fixation in soybean plants supplied with nitrate. I. Nitrite accumulation and formation of nitrosylhemoglobin in nodules // *Ibid.* - 1990. - V. 31, N 3. - P. 341-346.
58. *Kato K., Okamura Y., Kanahama K., Kanayama Y.* Nitrate-independent expression of plant nitrate reductase in *Lotus japonicum* root nodules // *J. Exp. Bot.* - 2003. - V. 54, N 388. - P. 1685-1690.
59. *Kotchoni S.O., Gachomo E.W.* The reactive oxygen species network pathways: an essential prerequisite for perception of pathogen attack and the acquired disease resistance in plants // *J. Biosci.* - 2006. - V. 31, N 3. - P. 389-404.
60. *Lamb C., Dixon R.A.* The oxidative burst in plant disease resistance // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* - 1997. - V. 48. - P. 405-410.
61. *Lindermayr C., Saalbach G., Durner J.* Proteomic identification of S-nitrosylated proteins in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* - 2005. - V. 137, N 3. - P. 951-930.
62. *Lohar D.P., Haridas S., Gantt J.S., Vanden Bosch K.A.* A transient decrease in reactive oxygen species in roots leads to root hair deformation in the legume-rhizobia symbiosis // *New Phytol.* - 2007. - V. 173, Is. 1. - P. 39-54.
63. *Lohar D.P., Sharopova N., Endre G., Penuela S., Samas D., Town C.D., Silverstein K.A.T., Vanden Bosch K.A.* Transcript analysis of early nodulation events in *Medicago truncatula* // *Plant Physiol.* - 2006. - V. 140, N 1. - P. 221-234.
64. *Mahalingam R., Fedoroff N.* Stress response, cell death and signalling: the many faces of reactive oxygen species // *Physiol. Plant.* - 2003. - V. 119, Is. 1. - P. 56-68.

ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ

65. *Martinez-Abarka F., Herrera-Cervera J.A., Bueno P. et al.* Involvement of salicylic acid in the establishment of the *Rhizobium meliloti*-alfalfa symbiosis // *Mol. Plant-Microbe Interac.* - 1998. - V. 11, N 2. - P. 153-155.
66. *Marrs K.A.* The functions and regulation of glutathione S-transferases in plants // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* - 1996. - V. 47. - P. 127-158.
67. *Mathieu C., Moreau S., Frendo P. et al.* Direct detection of radicals in intact soybean nodules: presence of nitric oxide-leghemoglobin complexes // *Free Rad. Biol. Med.* - 1998. - V. 24, Is. 7-8. - P. 1242-1249.
68. *Matamoros M.A., Dalton D.A., Ramos J. et al.* Biochemistry and molecular biology of antioxidants in the rhizobia-legume symbiosis // *Plant Physiol.* - 2003. - V. 133, N 2. - P. 499-509.
69. *Meakin G.E., Bueno E., Jepson B. et al.* The contribution of bacteroidal nitrate and nitrite reduction to the formation of nitrosylleghaemoglobin complexes in soybean root nodules // *Microbiology.* - 2007. - V. 153, N 2. - P.411-419.
70. *Meyer C., Lea U.S., Provan F. et al.* Is nitrate reductase a major player in the plant NO (nitric oxide) game? // *Photosynth. Res.* - 2005. - V. 83, N 2. - P. 181-189.
71. *Mittler R.* Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // *Trends Plant Sci.* - 2002. - V. 7, N 5. - P. 405-410.
72. *Modolo L.V., Augusto O., Almeida I.M.G. et al.* Nitrite as the major source of nitric oxide production by *Arabidopsis thaliana* in response to *Pseudomonas syringae* // *FEBS Letters.* - 2005. - V. 579, N 17. - P. 3814-3820.
73. *Mur L.A.J., Carver T.L.W., Prats E.* NO way to live; the various roles of nitric oxide in plant-pathogen interactions // *J. Exp. Bot.* - 2006. - V. 57, N 3. - P. 489-505.
74. *Navrot N., Rouhier N., Gelhaye E., Jacquot J.-P.* Reactive oxygen species generation and antioxidant systems in plant mitochondria // *Physiol. Plant.* - 2007. - V. 129, Is. 1. - P. 185-195.
75. *Neill S.J., Desikan R., Clarke A. et al.* Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants // *J. Exp. Bot.* - 2002. - V. 53, N 372. - P. 1237-1247.
76. *Pauly N., Pucciariello C., Mandon K. et al.* Reactive oxygen and nitrogen species and glutathione: key players in the legume-*Rhizobium* symbiosis // *J. Exp. Bot.* - 2006. - V. 57, N 8. - P. 1769-1776.
77. *Parniske M.* Intracellular accommodation of microbes by plants: a common developmental program for symbiosis and disease? // *Curr. Opin. Plant Biol.* - 2000. - V. 3, N 4. - P. 320-328.
78. *Pieterse M.J., van Wees S.C.M., van Pelt J.A. et al.* A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in *Arabidopsis* // *Plant Cell.* - 1998. - V. 10, N 9. - P. 1571-1580.
79. *Pieterse C.M.J., van Pelt J.A., Ton J. et al.* Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* requires sensitivity to jasmonate and ethylene but is not accompanied by an increase in their production // *Physiol. Mol. Plant Pathol.* - 2000. - V. 57, No1. - P. 123-134.
80. *Perazzolli M., Dominici P., Romero-Puertas M.C. et al.* *Arabidopsis* nonsymbiotic hemoglobin *AHb1* modulates nitric oxide bioactivity // *Plant Cell.* - 2004. - V. 16, N 10. - P. 2785-2794.
81. *Ramu K., Peng H.M., Cook D.R.* *Nod* factor induction of reactive oxygen species production is correlated with expression of the nodulin gene *rip1* in *Medicago truncatula* // *Mol. Plant-Microbe Interac.* - 2002. - V.15, N 6. - P. 522-528.
82. *Rao M.V., Paliyath G., Ormrod D.P. et al.* Influence of salicylic acid on H₂O₂ production, oxidative stress, and H₂O₂-metabolizing enzymes. Salicylic acid-mediated oxidative damage requires H₂O₂ // *Plant Physiol.* - 1997. - V. 115, N 1. - P. 137-149.
83. *Romero N., Denicola A., Radi R.* Red blood cells in the metabolism of nitric oxide-derived peroxynitrite // *IUBMB Life.* - 2006. - V. 58, N 10. - P. 572-580.
84. *Ryals J.A., Neuenschwander U.H., Willits M.G. et al.* Systemic acquired resistance // *Plant Cell.* - 1996. - V. 8, N 10. - P. 1809-1819.
85. *Sagi M., Fluhr R.* Production of reactive oxygen species by plant NADPH oxidases // *Plant Physiol.* - 2006. - V. 141, N 2. - P. 336-340.
86. *Santos R., Herouart D., Puppo A., Touati D.* Critical protective role of bacterial superoxide dismutase in *Rhizobium*-legume symbiosis // *Mol. Microbiol.* - 2000. - V. 38, N 4. - P. 750-759.
87. *Santos R., Herouart D., Sigaud S. et al.* Oxidative burst in alfalfa-*Sinorhizobium meliloti* symbiotic interaction // *Mol. Plant-Microbe Interac.* - 2001. - V. 14, N 1. - P. 86-89.
88. *Schauser L., Roussis A., Stiller J., Stougaard J.* A plant regulator controlling development of symbiotic root nodules // *Nature.* - 1999. - V. 402, N 6758. - P. 191-195.

89. Shaw S.L., Long S.R. Nod factor inhibition of reactive oxygen efflux in a host legume // *Plant Physiol.* - 2003. - V. 132, N 4. - P. 2196-2204.
90. Shimoda U., Nagata M., Suzuki A. et al. Symbiotic rhizobium and nitric oxide induce gene expression of non-symbiotic hemoglobin in *Lotus japonicus* // *Plant Cell Physiol.* - 2005. - V. 46, N 1. - P. 99-107.
91. Soto M.J., Sanjuan J., Olivares J. Rhizobia and plant-pathogenic bacteria: common infection weapons // *Microbiology* - 2006. - V. 152, N 11. - P. 3167-3174.
92. Stacey G., McAlvin C.B., Sung-Yong Kim. et al. Effect of endogenous salicylic acid on nodulation in the model legumes *Lotus japonicus* and *Medicago truncatula* // *Plant Physiol.* - 2006. - V. 141, N 4. - P. 1473-1481.
93. Stamler J.S., Lamas S., Fang F.C. Nitrosylation the prototypic redox-based signaling mechanism // *Cell.* - 2001. - V. 106, N 6. - P. 675-683.
94. Stohr C., Stremmlau S. Formation and possible roles of nitric oxide in plant roots // *J. Exp. Bot.* - 2006. - V. 57, N 3. - P. 463-470.
95. Stracke R., Kistner C., Yoshida S. et al. A plant receptor-like kinase required for both fungal and bacterial symbiosis // *Nature.* - 2002. - V. 417, N 6892. - P. 959-962.
96. Streeter J.G. Inhibition of legume nodule formation and N₂ fixation by nitrate // *Crit. Rev. Plant Sci.* - 1988. - V. 7, N 1. - P. 1-23.
97. Suzuki N., Mittler R. Reactive oxygen species and temperature stresses: A delicate balance between signaling and destruction // *Physiol. Plant.* - 2006. - V. 126, Is.1. - P. 45-51.
98. Tavares F., Santos C.L., Sellstedt A. Reactive oxygen species in legume and actinorhizal nitrogen-fixing symbioses: the microsymbiont's responses to an unfriendly reception // *Ibid.* - 2007. - V. 130, Is. 3. - P. 344-356.
99. Trinchant J.C., Rigaud J. Nitrite and nitric oxide as inhibitors of nitrogenase from soybean bacteroids // *Appl. Environ. Microbiol.* - 1982. - V. 44, N 6. - P. 1385-1388.
100. Vasse J., de Billy F., Truchet G. Abortion of infection during the *Rhizobium-meliloti*- alfalfa symbiotic interaction is accompanied by a hypersensitive reaction // *Plant J.* - 1993. - V. 4, N 3. - P. 555-566.
101. Vieweg M.F., Hohnjec N., Kuster H. Two genes encoding different truncated haemoglobins are regulated during root nodule and arbuscular mycorrhiza symbioses of *Medicago truncatula* // *Planta.* - 2005. - V. 220, N 5. - P. 757-766.
102. Wais R.J., Galera C., Oldroyd G. et al. Genetic analysis of calcium spiking responses in nodulation mutants of *Medicago truncatula* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 2000. - V. 97, N 24. - P. 13407-13412.
103. Walker S.A., Viprey V., Downie J.A. Dissection of nodulation signaling using pea mutants defective for calcium spiking induced by Nod factors and chitin oligomers // *Ibid.* - 2000. - V. 97, N 21. - P. 13413-13418.
104. Yamasaki H., Sakihama Y. Simultaneous production of nitric oxide and peroxynitrite by plant nitrate reductase: *in vitro* evidence for the NR-dependent formation of active nitrogen species // *FEBS Letters.* - 2000. - V. 468, N 1. - P. 89-92.
105. Yamasaki H., Shimoji H., Ohshiro Y., Sakihama Y. Inhibitory effects of nitric oxide on oxidative phosphorylation in plant mitochondria // *Nitric Oxide.* - 2001. - V. 5, N 3. - P. 261-270.
106. Zaninotto F., La Camera S., Polverari A., Delle-donne M. Cross talk between reactive nitrogen and oxygen species during the hypersensitive disease resistance response // *Plant Physiol.* - 2006. - V. 141, N 2. - P. 379-383.
107. Zeidler D., Zahringer U., Gerber I. et al. Innate immunity in *Arabidopsis thaliana*: lipopolysaccharides activate nitric oxide synthase (NOS) and induce defense genes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 2004. - V. 101, N 44. - P. 15811-15816.
108. Zemojtel T., Frohlich A., Palmieri M.C. et al. Plant nitric oxide synthase: a never-ending story? // *Trends Plant Sci.* - 2006. - V. 11, N 11. - P. 524-525.
109. Zhao Y., Brandish P.E., Ballou D.P., Marletta M.A. A molecular basis for nitric oxide sensing by soluble guanylate cyclase // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1999. - V. 96, N 26. - P. 14753-14758.
110. Zhao J., Fujita K., Sakai K. Reactive oxygen species, nitric oxide, and their interactions play different roles in *Cupressus lusitanica* cell death and phytoalexin biosynthesis // *New Phytol.* - 2007. - V. 175, Is. 2. - P. 215-229.
111. Zottini M., Costa R., De Michele A. et al. Salicylic acid activates nitric oxide synthesis in *Arabidopsis* // *J. Exp. Bot.* - 2007. - V. 58, N 6. - P. 1397-1405.

Поступила в редакцию
01.10.2007 г.

ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ

FEATURES OF ACTION OF ACTIVE FORMS OF OXYGEN AND NITROGEN AT LEGUME-RHIZOBIAL SYMBIOSIS

A. K. Glyan'ko, G. G. Vasil'eva

*Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry
Siberian Division of the Russian Academy Sciences
(Irkutsk, Russia)*

The literary data on a role of reactive oxygen species (ROS) and nitrogen (RNS) are generalized at formation and functioning legume-rhizobial symbiosis in comparison with phytopatogenesis. Double function ROS and RNS is supposed at legume-rhizobial symbiosis: inclusion of the mechanisms promoting an establishment of symbiosis, and mechanisms (protective reactions), symbiotic structures interfering formation. The hypothetical scheme of participation ROS and RNS in formation legume-rhizobial symbiosis is resulted.

Key words: *reactive oxygen species (AOS), reactive nitrogen species (ANS), legume-rhizobial symbiosis, phytopatogenesis, Nod-factor, nitric oxide, hydrogen peroxide*

ОСОБЛИВОСТІ ДІЇ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ І АЗОТУ ПРИ БОБОВО-РИЗОБІАЛЬНОМУ СИМБІОЗІ

А.К. Глянько, Г.Г. Васильєва

*Сибірський інститут фізіології і біохімії рослин
Сибірського відділення Російської академії наук
(Іркутськ, Росія)*

Узагальнені літературні дані про роль активних форм кисню (АФК) і азоту (АФА) при формуванні і функціонуванні бобово-ризобіального симбіозу порівняно з фітопатогенезом. Висловлюється припущення про подвійну функцію АФК і АФА при бобово-ризобіальному симбіозі: включення механізмів, що сприяють встановленню симбіозу, і механізмів (захисних реакцій), які перешкоджають формуванню симбіотичних структур. Наводиться гіпотетична схема участі АФК і АФА у формуванні бобово-ризобіального симбіозу.

Ключові слова: *активні форми кисню, активні форми азоту, бобово-ризобіальний симбіоз, фітопатогенез, Nod-фактор, оксид азоту, пероксид водню*