https://doi.org/10.15407/frg2019.05.371
УДК 581.1:577.15

НІТРАТРЕДУКТАЗА ТА ЇЇ РОЛЬ У БОБОВО-РИЗОБІАЛЬНОМУ СИМБІОЗІ

С.Я. КОЦЬ, Л.М. МИХАЛКІВ

Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17
mykhalkiv.l@gmail.com

Наведено огляд вітчизняної та зарубіжної літератури, що стосується будови нітратредуктази, її локалізації та функціонування, зокрема у бобово-ризобіальних симбіотичних системах. Висвітлено питання, присвячені регуляції синтезу та активності цього ферменту, показано їх зумовленість чинниками зовнішнього середовища і можливість зниження інгібувальної дії останніх при застосуванні певних прийомів. Зазначено, що в кореневих бульбочках бобових, які формуються в результаті взаємодії рослин і ризобій, відбуваються процеси відновлення нітратного й молекулярного азоту, в яких беруть участь відповідно нітратредуктаза і нітрогеназа. За наявності в симбіозі бобова рослина—бульбочкові бактерії активної системи фіксації атмосферного азоту нітратредуктаза може по-різному взаємодіяти з нітрогеназою залежно від локалізації і типу ферменту, генетичних особливостей симбіонтів, умов культивування бобових. Розглянуто гіпотези щодо можливих механізмів взаємодії обох ферментів, наведено дані про розподіл нітратредуктазної активності в різних зонах бульбочки. Розкрито роль нітратредуктази в азотному живленні й формуванні урожаю рослин. Окремо висвітлено значення монооксиду азоту для рослин та участі нітратредуктази в його синтезі. Окреслено можливі шляхи оптимізації функціонування нітратредуктази з метою підвищення ефективності симбіозу й продуктивності рослин.

Ключові слова: нітратредуктаза, нітрогеназа, азотне живлення рослин, бобово-ризобіальний симбіоз, бульбочки, нітрати, монооксид азоту, продуктивність.

Продуктивність сільськогосподарських культур великою мірою визначається їх азотним живленням, оскільки нітроген є вагомим чинником біомаси рослин і найважливішим компонентом біомолекул. Джерела азоту для більшості рослин — амоній і нітрати ґрунту. Бобові рослини поза симбіозом теж використовують для життєдіяльності лише той азот, що міститься в ґрунті. В разі живлення амонійними солями рослини не накопичують вільний аміак, який отруйний для них, а відразу використовують його на синтез амінокислот, білків чи амідів. Нітрати ж добре засвоюються кореневою системою і можуть накопичуватись у рослинному організмі в різних тканинах [1]. Перш ніж вступити у взаємодію з вуглеводами чи

© С.Я. КОЦЬ, Л.М. МИХАЛКІВ, 2019

продуктами їх перетворень нітрати відновлюються до нітритів, а відтак — до аміаку. В агросистемах забезпечення нітратами прямо впливає на ріст і продуктивність рослин [2, 3].

Виробництво і застосування азотних добрив потребує величезної кількості енергії, а їх надлишок шкодить довкіллю. Тому підвищення ефективності використання рослинами азоту важливе для сталого розвитку сільського господарства [4, 5]. У зв'язку з цим питання, що стосуються особливостей азотного живлення рослин, сьогодні є особливо актуальними.

Ключовим ферментом азотного живлення рослин є нітратредуктаза (НР) [6]. Вона каталізує НАД(Ф)Н відновлення нітратів до нітритів. Ця реакція є першою і найповільнішою ланкою в ланцюгу перетворень атома азоту від окисненого стану до компонента органічних сполук, тому саме цей етап лімітує швидкість процесу загалом. У рослинних тканинах немає альтернативних шляхів відновлення NO_3^- і NO_2^-, відтак активність НР свідчить про інтенсивність засвоєння нітратного азоту [7]. НР у рослинах локалізована головно в цитозолі, хоча відомо про існування її аналога, зв'язаного з плазматичною мембраною [7, 8]. Припускають, що нітратредуктаза, яка локалізується на зовнішньому боці мембрани, діє як сенсор NO_3^-[9].

У рослин НР є гомодимером, кожна мономерна частина якого містить ФАД, цитохром b_{557} и молібдоптерин [10]. In vitro у НР виявлено дві активні частини: діафораза, що каталізує відновлення штучних акцепторів (фериціанід чи цитохром *c* з НАД(Ф)Н), і термінальна НР, яка каталізує відновлення нітратів із використанням електронів, які постачаються ФАД, віологенами чи бромфенолом синім, хімічно відновленим дитіоніном [1, 6].

Донором електронів для реакції відновлення нітратів є НАД(Ф)Н, який утворюється в процесі дихання і частково світлових реакціях фотосинтезу. Це зумовлює тісний зв'язок процесів відновлення нітратів і дихального газообміну. Оскільки для нормального перебігу дихання потрібні вуглеводи, то в разі штучного зниження вмісту цих сполук нітрати накопичуються в рослинах. За посиленого надходження нітратів вміст вуглеводів зменшується. Отже, на процес відновлення нітратів, а також на рівень активності НР істотно впливає світло [11, 12] — за низького освітлення, дефіциту заліза і молібдену активність ферменту знижується і нітрати накопичуються в клітині.

Виявлено, що індукування НР світлом і нітратами забезпечує адитивні ефекти і стимулюється цитокінінами [11]. Показано, що NO_2, який є основним компонентом газоподібних викидів автотранспортних засобів, може поглинатися рослинами після окиснення до нітрату і спричинювати підвищення нітратредуктазної активності чи білків НР у мезофілі листків [13—15]. Довготривала посуха призводить до інактивації та деградації НР [16], а короткотривалий водний стрес зумовлює зворотну інактивацію НР, що припиняється додаванням НАДН чи фериціаніду [17]. У бобових характер змін нітратредуктазної активності внаслідок дії водного стресу пов'язаний з особливостями формування симбіотичних відносин між рослинами та

ризобіями. Застосування лектину сумісно з активним штамом ризобій зменшує інгібувальний вплив нестачі вологи на активність НР у листках рослин сої [18], а передпосівна обробка лектином насіння люцерни підвищує нітратредуктазну активність у стеблах і листках рослин за недостатнього водозабезпечення [19]. Під впливом сольового стресу активність ферменту теж знижується, але цей ефект можна ослабити внесенням високих доз неорганічного азоту чи використанням цитокінінів [20—22]. Виявлено чутливість нітратредуктазної активності до температурного стресу, при цьому зазначено, що в разі застосування молібдену його негативний ефект зменшується [23, 24]. Отже, регуляція НР — досить складний процес і відбувається як на рівні транскрипції, так і на посттранскрипційному рівні, при цьому її експресія індукується нітратами, а активність визначається умовами навколишнього середовища [25—27].

Нітрати в рослинах асимілюються як у надземній частині, так і в коренях. Різні рослини відрізняються за розподілом активності НР по органах. Більше того, відмінності за цим показником виявлено у представників однієї родини чи навіть виду. Так, показано контрастність стосовно розподілу нітратредуктази в рослинах звичайної та лімської квасолі. Найвищий рівень НР активності у квасолі звичайної був у листках, найнижчий — у коренях і бульбочках, що характерно і для інших видів триби Phaseoleae. І навпаки, лімська квасоля мала найвищий рівень НР активності в бульбочках, а в листках цей показник упродовж розвитку рослин постійно знижувався. Порізному реагували рослини і на зростаючі дози азоту. На основі отриманих результатів автори дійшли висновку про наявність у різних органах певних ізоформ НР (конститутивної чи індуцибельної), відмінних за чутливістю до нітратів [28]. Різні моделі нітратредуктазної активності, що визначались сортовими особливостями, виявлено в арахісу: у сорту Tegua активність НР у бульбочках була вищою, ніж у листках і коренях, тоді як у сорту Utre відмінностей за цим показником у різних органах не виявлено [29].

Бобові в процесі взаємодії з ризобіями і формування спеціалізованих симбіотичних структур — бульбочок набувають здатності до фіксації молекулярного азоту атмосфери. При цьому в бульбочках може відновлюватись і екзогенний нітратний азот [30, 31]. Нітратредуктазна активність у цих органах виявлена в більшості бобових рослин [31, 32].

Ризобії та бактероїди можуть містити асиміляторні й дисиміляторні (дихальні) НР, які каталізують відновлення нітратів до нітритів. У бульбочках гороху і квасолі нітратредуктазну активність виявлено лише в цитозольній фракції, тоді як у вигни, сої та люцерни — як у бактероїдах, так і в цитозолі [31].

Дослідження внеску цитозольної та бактероїдної НР до загальної НР бульбочок показали, що в утворенні більшості нітритів бульбочками сої бере участь бактероїдний фермент [33, 34], який за своїми функціями є дисиміляторним і відрізняється від рослинного за фізіологічним значенням і властивостями. За результатами досліджень з міченим $^{15}NO_3^-$ автори праць [35—37] установили, що

^{15}N може залучатися до складу аміносполук у бульбочках in vivo. Проте пізніше було виявлено [38, 39], що метаболізм нітратів здебільшого відбувається у зовнішньому кортексі бульбочок сої і нормально не відбувається в інфікованій тканині бактероїдів.

Зазначено [40], що бульбочки мають найменшу нітратвідновлювальну ємність порівняно з іншими органами рослини. Внаслідок цього НР інфікованої зони, що має високу потенційну активність, є субстратлімітованою. Більшість нітрату, що надійшов у бульбочку, зосереджується в її корі. Однак невисокий рівень потенційної НР цієї зони повністю не забезпечує реалізацію нітратвідновлювальної активності бульбочки. Низький нітратний статус бульбочки і невисока реальна активність НР в обох тканинних зонах, на думку авторів, свідчить про наявність структурних чи метаболічних бар'єрів, що обмежують доступ нітрату в бульбочку. На рівні цілої рослини активність асиміляції азоту в різних органах визначає векторність транспорту асимілятів у рослині. В складній системі конкурентних взаємовідносин головний азотасимілювальний орган можна розглядати як основну вуглецьатрагувальну зону рослини. За симбіотичного типу азотного живлення і засвоєння $^{14}CO_2$ листком сої середнього ярусу атрагувальний стосовно фотоасимілятів потенціал азотасимілювальних органів можна подати таким спадним рядом: бульбочки > корені > верхні листки > нижні листки. За наявності в середовищі нітрату головним чинником, що лімітує метаболічний потенціал нативної бульбочки, є зниження надходження в бульбочку фотоасимілятів унаслідок підвищення атрагувального і нітратвідновлювального потенціалів інших органів, головно коренів і листків.

Отже, бульбочкові бактерії можуть використовувати генетично зумовлені ферментні системи відновлення NO_3^- і N_2 залежно від екзогенних чи ендогенних умов. Так, в умовах достатнього забезпечення рослин екзогенним нітратним азотом ферментні системи ризобій здатні переходити від засвоєння N_2 до утилізації NO_3^- чи функціонувати одночасно [28]. Відновлювати екзогенний нітратний азот за цих умов може як рослина, так і ризобії, а нітрогеназа може інгібуватися [30, 41]. Наявність у бактероїдах бульбочок двох систем відновлення азоту свідчить, очевидно, про тонку регуляцію рослиною-хазяїном механізмів утилізації азоту.

До початку 1970-х років нітрогеназу й НР вивчали незалежно одну від одної, проте з появою робіт про наявність загального кофактора в молібденовмісних ферментах звернули увагу на їх подібність. Питання про взаємодію нітрогенази і НР надзвичайно широке, воно починається з тонких відмінностей структури молібдокофакторів зазначених ферментів та умов їх синтезу й функціонування в клітинах і закінчується пошуком найефективнішого режиму живлення бобових рослин, оскільки від своєчасного перемикання з азотфіксації на використання нітрату і навпаки практично залежить азотне живлення вільноіснуючих і симбіотичних азотфіксаторів, а відтак — їх внесок в азотний баланс ґрунту та урожай бобових [42].

У багатьох дослідженнях зазначались відносини конкурентного

характеру між цими ферментами. Серед можливих пунктів конкуренції визначають відновлені піридиннуклеотиди, які в клітині є донорами електронів, від безперервного потоку яких залежить функціонування обох ферментів [43]. Швидке зниження чи повне інгібування процесу засвоєння молекулярного азоту при перенесенні бобової рослини на середовище з нітратами пояснюють також використанням фотоасимілятів, які надходять у бульбочку переважно для асиміляції нітратів [44—46]. Водночас зазначалось, що нестача вуглеводів може спричинити втрату активності нітрогенази лише на ранніх стадіях нітратіндукованого старіння бульбочок [47].

Нітрогеназа і НР — молібденовмісні ферменти. Тому на середовищах, збіднених на молібден, теж виявляють своєрідну конкуренцію за цей елемент між зазначеними ферментами [48]. На середовищі з достатнім вмістом молібдену одночасно зростала активність обох ферментів. Доведено, що подібна конкуренція за молібден між нітрогеназою і НР відбувається в бактероїдах бульбочок, а також між нітрогеназою бульбочок і НР листків рослин [49]. При цьому «пік» конкуренції в люпину жовтого досягається у період бутонізації, коли в бульбочках інтенсивно синтезуються нітрогеназа і феродоксинзалежна НР, а в листках — НАДН-залежна нітратредуктаза. За нестачі молібдену в середовищі у фазу бутонізації в бульбочках і листках різко знижується активність НР у результаті «перехоплення» нітрогеназою наявного молібдену. Оскільки синтез останньої залежить від наявності молібдену, дефіцит його у цій фазі може призвести до утворення ослабленого апарату симбіотичної азотфіксації [50], тому підживлення рослин молібденом забезпечує максимальну стимуляцію нітрогеназної і нітратредуктазної активностей [51, 52]. Активна НР, яка може конкурувати з нітрогеназою бульбочок за продукти фотосинтезу, молібден чи відновлені форми піридиннуклеотидів, міститься в листках, стеблах і коренях бобових рослин [49].

Польські дослідники [53], у свою чергу, висунули дві гіпотези щодо прямого зв'язку активності НР та інгібування нітрогенази в бульбочках за наявності нітратів. Перша пояснює зниження азотфіксації як ефект конкурування за відновлювальний потенціал між нітрогеназою та НР, друга — про інгібування нітрогенази нітритами, що генеруються бактероїдною НР.

Відомо, що головним чинником, який впливає на нітрогеназну активність, є концентрація вільного кисню всередині бульбочки [54]. Наявність кисню в інфікованій зоні кореневих бульбочок контролюється рослиною-хазяїном [55, 56], що зумовлено наявністю леггемоглобіну та опору газової дифузії [57—59].

Стосовно припущення, що зниження нітрогеназної активності за наявності нітратів спричинене акумуляцією токсичних нітритів — продуктів функціонування НР, то воно було спростоване експериментально. Так, показано [38, 39, 41], що процес накопичення нітритів всередині бактероїдів строго лімітований. Наявність нітритредуктазної активності забезпечує короткотривалу акумуляцію нітритів всередині бульбочки в незначній кількості [41]. Це підтвер-

дили й інші дослідники [60], які продемонстрували, що добавляння нітрату приводить до підвищення активності НР й одночасного істотного зростання нітритредуктазної активності у бактероїдній фракції. Більш того, нітритредуктазна активність може перевищувати нітратредуктазну й ефективно запобігати накопиченню нітритів всередині бульбочки.

Висловлено думку [45], що функціонування нітрогенази і НР швидше комплементарне, ніж конкурентне: іони NO_3^- і NH_4^+ інгібують азотфіксацію через регуляторну систему, пов'язану з рівнем у рослині розчинного азоту. В окремих публікаціях показано посилення азотфіксації внаслідок наявності в бактероїдах активної НР та існування симбіотичних асоціацій, в яких функціонування НР комплементарне функціонуванню нітрогенази через здатність бактероїдів до дисиміляторного відновлення нітратів [60]. Порівняння різних параметрів, пов'язаних з азотфіксацією (маса рослин, вміст загального азоту в стеблах, питома і загальна нітрогеназні активності), показало їх високу позитивну кореляцію із активністю НР [59], що підтвердило припущення про функціональну комплементарність цих ферментів. Водночас виявлено тенденцію до підвищення нітратредуктазної активності у форм гороху з низьким рівнем азотфіксації і до її зниження — у форм із високою азотфіксацією [61], тобто в цьому разі спостерігається деякий компенсаторний ефект взаємодії двох систем асиміляції неорганічного азоту в рослині.

Більшість бобових відповідає на наявність нітратів у середовищі втратою вмісту білка і маси сухої речовини бульбочок [62]. Однак активна НР може змінювати масштаби цього процесу. Показано [60], що в деяких штамів *Rhizobium* наявність нітратів не чинить негативного впливу на процес бульбочкоутворення. В результаті дослідження трьох штамів *Bradyrhizobium* sp. (Lupinus), що відрізнялися за НР активністю (перший штам мав конститутивну НР, другий — індуцибельну, а третій — не виявляв НР активності), було продемонстровано, що штами з індуцибельною і конститутивною нітратредуктазними активностями могли інфікувати корені навіть за порівняно високих (12 мМ) концентрацій нітратів, тоді як NR^--штам повністю втрачав здатність формувати бульбочки. Більш того, за концентрації нітратів 1–2 мМ штами з НР активністю інфікували корені ефективніше, ніж за відсутності нітратів. Отже, показано можливість формування симбіотичних асоціацій, в яких наявність нітратів не інгібує нодуляцію. В описаному експерименті маса бульбочок, сформованих штамами з НР активністю, була вищою, ніж утворених NR^--ризобіями. Цей ефект позитивно корелював із вмістом азоту в стеблах рослин.

При розгляді впливу нітратів на активність нітрогенази слід пам'ятати, що NO_3^--іони не спричинюють деградації нітрогенази, а її репресія є зворотним процесом. Більшість ензимних протеїнів залишаються незмінними впродовж 8 діб після добавляння нітратів, така ж картина спостерігається навіть упродовж наступних 20 діб [63]. Отже, ні наявність нітратів у середовищі, ні підвищення опору дифузії кисню не веде до постійного інгібування нітрогенази — її активність

відновлюється після видалення нітратів із середовища [44, 62].

З урахуванням результатів окремих досліджень, в яких виявлено істотну кореляцію між нітратредуктазною і нітрогеназною активностями у бульбочкових бактеріях сої [64] і люцерни [65], було висунуто припущення про можливість оцінювання в культурі перспективності ризобій за показником активності НР. Проте детальніше вивчення даного питання з використанням великої кількості об'єктів спростувало цю гіпотезу — експериментально було підтверджено неможливість використання показників специфічної активності НР як швидкого фізіологічного тесту для добору високоефективних штамів. Так, у ризобій сої не виявлено кореляції між активністю НР у бактероїдах і ацетиленвідновлювальною активністю коренів із бульбочками [66]. У результаті перевірки 48 мутантів ризобій вигни теж було спростовано припущення про прямий зв'язок між двома ферментами і зазначено, що активність нітрогенази чутливіша до нітритів, а не до нітратів [67]. Вивченням активності «асиміляторної» та «дисиміляторної» нітратредуктаз у 41 штаму бактерій люцерни, різних за активністю симбіотичної азотфіксації, не виявлено істотної кореляції між активностями обох ферментів та урожаєм маси сухої речовини люцерни [68].

Реакції, що відбуваються за участю НР, відіграють істотну роль у підтриманні нітратного гомеостазу в рослинних клітинах [69—71], що важливо як для ефективного засвоєння нітратів, так і для нітратного сигналінгу [70, 72, 73]. Нітрати і продукти їх перетворень є не лише субстратами різноманітних реакцій азотного обміну, а й регуляторами процесів, безпосередньо не пов'язаних із засвоєнням азоту [74]. Так, показано, що в арабідопсису більш як 1000 генів експресуються у відповідь на нітрати [75] і тим самим визначають особливості морфогенезу та продукційного процесу рослин. При цьому роль нітрату як потужного сигнального агента виявляється на етапах його сенсингу, поглинання, транспорту і запасання в різних клітинах, тканинах та органах рослин, а також регуляції загального метаболізму.

На сьогодні загальновизнаним є факт, що НР відіграє важливу роль у продукуванні NO, хоча механізм його утворення в рослинах de novo досі є об'єктом полеміки [76—79]. Починаючи з 1998 р., коли вперше було виявлено важливу роль монооксиду азоту в рослинному організмі [80, 81], інтенсивно досліджуються його функції [82—84]. На сьогодні відомо, що NO залучений у регуляцію важливих фізіологічних процесів рослин, таких як ріст, розвиток, диференціація тканин, метаболізм, старіння листків, закривання продихів, відповідь на біотичні й абіотичні стреси, захисні механізми і взаємодія рослина—патоген, що останнім часом активно обговорюються [85—89].

Продукування NO у бобово-ризобіальному симбіозі підтверджено в низці досліджень. Так, упродовж кількох годин після інфікування *Mesorhizobium loti* та *Sinorhizobium meliloti* монооксид азоту виявляли в коренях відповідно лядвенцю і люцерни посівної [90, 91]. Він брав участь у контрольованому ауксином формуванні бульбочок у

люцерни посівної та люцерни усіченої [92]. NO утворювався у функціонуючих бульбочках у системах люцерна усічена—*S. meliloti* [93], а також у зрілих бульбочках симбіозу соя—*B. japonicum* в умовах затоплення [94, 95]. Широку модуляцію NO-чутливих генів виявлено в процесі становлення функціонуючих бульбочок, що вказує на можливий внесок NO у їх метаболізм [96]. Більш того, показано, що леггемоглобін (гемопротеїн, що забезпечує потік кисню до бактероїдів у мікроаерофільних умовах бульбочки) є скавенджером NO [97], що підтверджує участь цього гемопротеїду в захисті нітрогенази від інгібування монооксидом азоту [98—100]. Виявлено, що NO індукує експресію несимбіотичних генів гемоглобіну в лядвенцю [90] та надекспресію генів гемоглобіну класу 1, здатних посилювати симбіотичну азотфіксувальну активність у системах лядвенець—*M. loti* [99]. Так само й бульбочки люцерни посівної чи усіченої, утворені штамом *S. meliloti*, дефектним за флавогемоглобіном Hmp, що зменшує кількість NO, виявляли знижену ефективність азотфіксації [101].

Дедалі більше доказів з'являється на користь думки про критичну роль взаємодії активних форм кисню і NO у процесах упізнавання, сигналінгу та захисту упродовж перших етапів симбіотичних асоціацій між двома партнерами [102]. Як активні форми кисню, так і NO накопичуються в коренях і бульбочках, що ростуть, відповідно до конкретних просторово-часових моделей, і регулюють експресію численних генів, які керують розвитком і створенням зрілих бульбочок. У кількох оглядах підкреслено різні функції цих молекул в азотфіксувальному симбіозі залежно від бактеріального чи рослинного їх походження [102—105].

Досі остаточно не з'ясовано походження NO у симбіотичних бульбочках. У бактерій основним шляхом продукування монооксиду азоту є процес денітрифікації [106], що дало підставу припустити: він може бути джерелом цієї сполуки і в симбіотичних бульбочках. Справді, було виявлено, що головним джерелом продукування NO у бульбочках сої в умовах затоплення є периплазматичні нітрат- і нітритредуктази *B. japonicum* [95]. Застосування інгібіторів ферментів теж підтвердило, що HP разом із ензимами, подібними на NO-синтазу, є головними шляхами утворення NO на ранніх етапах взаємодії рослин і бульбочкових бактерій [107].

Із використанням фармакологічних і генетичних підходів вивчали джерела NO в бульбочках у симбіозі люцерна усічена—*S. meliloti* в умовах нормального забезпечення киснем та гіпоксії [108]. Виявлено, що продукування NO у бульбочках стимулюється нітратами й нітритами і пригнічується інгібітором HP, вольфрамом. За отриманими результатами дійшли висновку, що і рослинна, і бактеріальна HP, а також електронтранспортний ланцюг залучені в синтез NO. Автори припустили існування NO_3^-—NO дихального процесу в бульбочках, що може відігравати роль у підтриманні енергетичного статусу в умовах нестачі кисню.

Що стосується механізму синтезу NO за участю HP, то цікавим є нещодавно опублікований огляд [109], в якому автори детально проаналізували наявні на сьогодні результати дослідження ролі HP у

синтезі NO і дійшли висновку, що НР включається у продукування монооксиду азоту як компонент комплексу NR:NOFNiR разом з іншим молібдоензимом — так званою NO-формувальною нітритредуктазою (NOFNiR). При цьому має значення не молібденовмісний центр НР, а електронтранспортний ланцюг від НАД(Ф)Н до гему. Отже, саме комплекс NR:NOFNiR, на думку авторів, є основною системою продукування монооксиду азоту в умовах стандартного фототрофного росту рослин при надходженні кисню. Крім того, було продемонстровано роль НР у підтриманні гомеостазу NO внаслідок постачання електронів від НАД(Ф)Н через домен діафораза/дегідрогеназа до гемоглобіну THB1, який утилізує NO за рахунок діоксигеназної активності [1].

Значний інтерес дослідників до питань, пов'язаних із будовою та функціонуванням НР, зумовлений насамперед визначальним впливом процесу засвоєння нітратів на ріст і продуктивність рослин. Водночас речовини, що утворюються за участю НР, зокрема NO, є важливими компонентами сигнальних і метаболічних процесів у рослинному організмі.

З метою підвищення ефективності використання нітратного азоту для синтезу азотовмісних сполук і поліпшення урожайності, а також для зниження накопичення в рослинах потенційно небезпечних для людини нітратів доцільні проведення молекулярно-генетичних досліджень, пов'язаних з впливом на регуляторні гени, залучені в синтез НР, а також пошук сполук-регуляторів, що посилюють дію генетичної системи синтезу ферменту. Для підвищення каталітичної активності НР у рослинних тканинах перспективними є розробка способів введення в геном рослин генів із бактеріальних клітин, які кодують активніші форми НР, та оптимізація структури ферменту заміною окремих нуклеотидів у структурних генах НР для синтезу видозміненого білка з підвищеною каталітичною активністю.

У розрізі практики сільськогосподарського виробництва для запобігання накопиченню в рослинах великої кількості нітратів важливо розробити технології вирощування рослин, які б забезпечували контроль та оптимальне їх живлення макро- й мікроелементами. Так, відомо, що низькі концентрації нітратів сприяють формуванню симбіозу [31, 110], а характер впливу цих сполук на азотфіксувальні системи бобових рослин залежить від цілої низки чинників, зокрема виду і сорту рослини [111], а також штаму ризобій [112]. Тому необхідною є селекція стійких до підвищених доз азоту штамів бульбочкових бактерій і сортів рослин та ефективне поєднання симбіонтів із метою створення високопродуктивних за тих чи інших умов вирощування азотфіксувальних систем. Генотипну варіабельність за стійкістю до нітратів [113] можна використовувати і для добору бобових із підвищеною здатністю до засвоєння нітратів у поєднанні з мінімальним впливом на фіксацію молекулярного азоту для ослабення процесу підкислення ґрунтів у агроекосистемах, основою яких є ці рослини.

REFERENCES

1. Chamizo-Ampudia, A., Sanz-Luque, E., Llamas, A., Galvan, A. & Fernandes, E. (2017). Nitrate reductase regulates plant nitric oxide homeostasis. Trends Plant Sci., 22, pp. 163-174. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.12.001
2. Crawford, N.M. & Glass, A.D. (1998). Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants. Trends Plant Sci., 3, pp. 389-395. http://dx.doi.org/10.1016/S1360-1385(98)013119
3. Broadley, M., Brown, P., Buerkert, A., Cakmak, I., Cooper, J., Eichert, T., Engels, C., Fernandez, V., Kirkby, E. & George, E. (2012). Marschner's mineral nutrition of higher plants. Cambridge: Academic Press.
4. Beatty, P.H., Klein, M.S., Fischer, J.J., Lewis, I.A., Muench, D.G. & Good, A.G. (2016). Understanding plant nitrogen metabolism through metabolomics and computational approaches. Plants-Basel, 5(4), p. 39. https://doi.org/10.3390/plants5040039
5. Xu, G., Fan, X. & Miller, A.J. (2012). Plant nitrogen assimilation and use efficiency. Annu. Rev. Plant Biol., 63, pp. 153-182. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105532
6. Campbell, W.H. (1999). Nitrate reductase structure, functioning and regulation: bridging and gap between biochemistry and physiology. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 50, pp. 277-303. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.277
7. Tischner, R. (2000). Nitrate uptake and reduction in higher and lower plants. Plant, Cell Environ., 23, pp. 1005-1024. https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2000.00595.x
8. Stцhr, C. & Ullrich, W.R. (2002). Generation and possible roles of NO in plant roots and their apoplastic space. J. Exp. Bot., 53, pp. 2293-2303. https://doi.org/10.1093/jxb/erf110
9. Forde, B.G. (2002). Local and long-range signaling pathways regulating plant responses to nitrate. Annu. Rev. Plant Biol., 53, pp. 203-224. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.53.100301.135256
10. Xiong, J., Fu, G., Yang, Y., Zhu, Ch. & Tao, L. (2012). Tungstate: is it really a specific nitrate reductase inhibitor in plant nitric oxide research? J. Exp. Bot., 63, pp. 33-41. https:// doi.org/10.1093/jxb/err268
11. Saroop, S., Thaker, V.S., Chanda, S.V. & Singh, Y.D. (1998). Light and nitrate induction of nitrate reductase in kinetin- and gibberellic acid-treated mustard cotyledons. Acta Physiol. Plant., 20, pp. 359-362. https://doi.org/10.1007/s11738-998-0020-6
12. Arora, V., Ghosh, M.K., Singh, P. & Gangopadhyay, G. (2018). Light regulation of nitrate reductase gene expression and enzyme activity in the leaves of mulberry. Indian J. Biochem. Biophys., 55, pp. 62-66.
13. Tischner, R., Peuke, A., Godbold, D.L., Feig, R., Merg, G. & Huttermann, A. (1988). The effect of NO-fumigation on aseptically grown spruce seedlings. J. Plant Physiol., 133, pp. 243-246. https://doi.org/10.1016/S0176-1617(88)80145-7
14. Hufton, C.A., Besford, R.T. & Wellburn, A.R. (1996). Effects of NO (+ NO_2) pollution on growth, nitrate reductase activities and associated protein contents in glasshouse lettuce grown hydroponically in winter with CO_2 enrichment. New Phytol., 133, No. 3, pp. 495-501. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1996.tb01917.x
15. Weber, P., Thoene, B. & Rennenberg, H. (1998). Absorption of atmospheric NO_2 by spruce (Picea abies) trees. III. Interaction with nitrate reductase activity in the needles and phloem transport. Bot. Acta, 111, pp. 377-382. https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1998.tb00722.x
16. Foyer, C.H., Valadier, M.H., Migge, A. & Becker, T.W. (1998). Drought-induced effects on nitrate reductase activity and mRNA and on the coordination of nitrogen and carbon metabolism in maize leaves. Plant Physiol., 117, No. 1, pp. 283-292. https://doi.org/10.1104/pp.117.1.283
17. Munjal, N., Sawhney, S.K. & Sawhney, V. (1997). Activation of nitrate reductase in extracts of water stressed wheat. Phytochemistry, 45, pp. 659-665. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00058-7
18. Kots, S.Ya., Veselovska, L.I. & Mykhalkiv, L.M. (2014). The nitrate reductase activity in the leaves of soybean inoculated with Bradyrhizobium japonicum under different water supply and lectin application. Nauk. zap. Ternop. nats. ped. un-tu. Ser. Biol., 60, No. 3, pp. 114-117 [in Ukrainian].

19. Mykhalkiv, L.M. (2015). The influence of lectin on nitrogen fixation activity and nitrate reduction in alfalfa plants inoculated with rhizobia under different water supply. Fiziol. rast. genet., 47, No. 5, pp. 440-446 [in Ukrainian].
20. Khan, M.G., Silberbush, M. & Lips, S.H. (1995). Physiological studies on salinity and nitrogen interaction in alfalfa plants: III. Nitrate reductase activity. J. Plant Nutr., 8, No. 11, pp. 2495-2500. https:// doi.org/10.1080/01904169509365079
21. Khan, M.G. & Srivastava, H.S. (1998). Changes in growth and nitrogen assimilation in maize plants induced by NaCl and growth regulators. Biol. Plant., 41, pp. 93-99. https:// doi.org/10.1023/A:1001768601359
22. Toselli, M., Flore, J.A., Marangoni, B. & Masia, A. (1999). Effects of root-zone temperature on nitrogen accumulation by nonbearing apple trees. J. Hortic. Sci. Biotech., 74, pp. 118-124. https://doi.org/10.1080/14620316.1999.11511083
23. Stoyanov, I., Atanasova, L. & Ginina, D. (1994). Effect of some cytokinins on maize nitrate reductase activity at salinity. Bulg. J. Plant Physiol., 20, pp. 5-10.
24. Wang, Z.Y., Tang, Y.L. & Zhang, F.S. (1999). Effect of molybdenum on growth and nitrate reductase activity of winter wheat seedlings as influenced by temperature and nitrogen treatments. J. Plant Nutr., 1999, 22, pp. 387-395. https:// doi.org/10.1080/01904169909365636
25. Kaiser, W.M., Weiner, H. & Huber, S.C. (1999). Nitrate reductase in higher plants: a case study for transduction of environmental stimuli into control of catalytic activity. Physiol. Plant., 105, pp. 385-390. https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1999. 105225.x
26. Kaiser, W.M. & Huber, S.C. (2001). Post-translational regulation of nitrate reductase: mechanism, physiological relevance and environmental triggers. J. Exp. Bot., 52, pp. 1981-1989. https://doi.org/10.1093/jexbot/52.363.1981
27. Kots, S.Ya., Morgun, V.V., Patyka, V.F., Datsenko, V.K., Krugova, E.D., Kyrychenko, E.V., Melnykova, N.N. & Mykhalkiv, L.M. (2010). Biological nitrogen fixation. Vol. 1. Kyiv: Logos [in Russian].
28. Silveira, J.A.G., Matos, J.C.S., Cecatto, V.M., Viegas, R.A. & Oliveira, J.T.A. (2001). Nitrate reductase activity, distribution, and response to nitrate in two contrasting Phaseolus species inoculated with Rhizobium spp. Environ. Exp. Bot., 46, pp. 37-46. https://doi.org/10.1016/S0098-8472(01)00082-X
29. Delfini, R., Belgoff, C., Fernandez, E., Fabra, A. & Castro, S. (2010). Symbiotic nitrogen fixation and nitrate reduction in the peanut cultivars with different growth habit and branching pattern structures. Plant Growth Regul., 61, pp. 153-159. https:// doi.org/10.1007/s10725-010-9461-1
30. Caba, J.M., Lluch, C., Hervas, A. & Ligero, F. (1990). Nitrate metabolism in roots and nodules of Vicea faba in response to exogenous nitrate. Physiol. Plant., 79, pp. 531-539. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1990.tb02114.x
31. Becana, M. & Sprent, J. (1987). Nitrogen fixation and nitrate reduction in the root nodules of legumes. Physiol. Plant., 70, pp. 757-765. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1987.tb04335.x
32. Aparicio-Tejo, P. & Sanchez-Diaz, M. (1982). Nodule and leaf nitrate reductase and nitrogen fixation in Medicago sativa L. under warer stress. Plant Physiol., 69, pp. 479-482. https://doi.org/10.1104/pp.69.2.479
33. Hunter, W.J. (1983). Soybean root and nodule nitrate reductase. Physiol. Plant., 59, pp. 471-475. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1983.tb04232.x
34. Stephens, B.D. & Neyra, C.A. (1983). Nitrate and nitrite reduction in relation to nitrogenase activity in soybean nodules and Rhizobium japonicum bacteroids. Plant Physiol., 71, pp. 731-735. https://doi.org/10.1104/pp.71.4.731
35. Randall, D.D., Russell, W.J. & Johnson, D.R. (1978). Nodule nitrate reductase as a source of reduced nitrogen in soybean, Glycine max. Physiol. Plant., 44, pp. 325-328. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1978.tb01631.x
36. Oyhama, T. & Kumazawa, K. (1979). Assimilation and transport of nitrogenous compounds originated from N_2 fixation and $^{15}NO_3^-$ absorption. Soil Sci. Plant Nutr., 2, pp. 9-19. https://doi.org/10.1080/00380768.1979.10433141
37. Vance, C.P. & Heichel, G. (1981). Nitrate assimilation during vegetative regrowth of alfalfa. Plant Physiol., 68, pp. 1052-1056. doi: https: // doi.org/10.1104/pp.68.5.1052

38. Sprent, J.I., Giannakis, C. & Wallace, W. (1987). Transport of nitrate and calcium into legume root nodules. J. Exp. Bot., 38, No. 192, pp. 1121-1128. https://doi.org/10.1093/jxb/38.7.1121
39. Giannakis, C., Nicholas, D.J.D. & Wallace, W. (1988). Utilization of nitrate by bacteroids of Bradyrhizobium japonicum in the soybean root nodule. Planta, 174, pp. 51-58. https://doi.org/10.1007/BF00394873
40. Chechetka, S.A., Piskorskaya, V.P., Bruskova, R.K., Troitskaya, G.N. & Izmailov, S.F. (1998). Partitioning of ^{14}C-photoassimilates in soybean plants assimilating of symbiotic and nitrate nitrogen. Fiziologiya rasteniy, 45, No. 2, pp. 241-247 [in Russian].
41. Becana, M., Minchin, F.R. & Sprent, J.I. (1989). Short-term inhibition of legume N_2 fixation by nitrate. Nitrate effects on nitrate reductase activities of bacteroids and nodule cytosol. Planta, 180, pp. 40-45. https://doi.org/10.1007/BF02411409
42. Lvov, N.P., Burihanov, Sh.S. & Kretovich, B.L. (1980). The relationship of nitrogenase and nitrate reductase in nitrogen-fixing cells. Prikladnaya biohimiya i mikrobiologiya, XVI(6), pp. 805 [in Russian].
43. Dubrovo, P.N., Ilyasova, V.B., Shirinskaya, M.G., & Yagodin, B.A. (1979). Nitrogen fixing activity of lupine nodules and the content of pyridine nucleotides in them. Fiziologiya rasteniy, 26, No. 3, pp. 599-605 [in Russian].
44. Noel, K.D., Carneol, M. & Brill, W.J. (1982). Nodule protein synthesis and nitrogenase activity of soybeans exposed to fixed nitrogen. Plant Physiol., 70, pp. 1236-1241. https://doi.org/10.1104/pp.70.5.1236
45. Silsbury, J.H., Catchpoole, D.W. & Wallace, W. (1986). Effect of nitrate and ammonium on nitrogenase (C_2H_2-reduction) activity of swards of subterranean clover Trifolium subterraneum L. Austral. J. Plant Physiol., 13, pp. 257-273. https://doi.org/10.1071/PP9860257
46. Yadav, V.K., Prakash, S. & Kapoor, H.C. (1987). Interaction between nitrate and nitrogen fixation and possible role of indole acetic acid in its regulation in bengal gram (Cicer arietinum) root nodules. Indian J. Exp. Biol., 25, pp. 385-388.
47. Carrol, B.J. & Gresshoff, P.M. (1983). Nitrate inhibition of nodulation and nitrogen fixation in white clower. Z. Pflanzenphysiol, 110, pp. 77-88. https://doi.org/10.1016/S0044-328X(83)80218-9
48. Tatarova, N.K., Lvov, N.P. & Shugaev, N.I. (1976). On the ratio of nitrogenase and nitrate reductase in the cell of nitrobacter. Izv. Timiryazev. s.-h. akad., 3. pp. 24-29 [in Russian].
49. Lvov, N.P. (1989). Molybdenum in the nitrogen assimilation in plants and microorganisms: 43-e Bakhovskoe chtenie. Moscov: Nauka [in Russian].
50. Lvov, N.P., Zabolotnyy, A.I. & Savchenkova, L.M. (1987). Effect and aftereffect of molybdenum on yellow lupine: physiological and biochemical substantiation. Agrohimiya, 11, pp. 89-97 [in Russian].
51. Vahaniya, N.A., Abashidze, N.D. & Nutsubidze, N.N. (1987). Short-term effect of nitrate and molybdate on nitrogenase activity and nitrate assimilation in the bacteroid of bean nodules. Fiziologiya i biohimiya kult. rasteniy, 19, No. 3, pp. 220-226 [in Russian].
52. Fedorova, E.E. & Patatuyeva, Yu.A. (1984). Ultrastructure and nitrogen-fixing activity of red clover nodules under molybdenum application. Fiziologiya rasteniy, 31, No. 6, pp. 1121-1126 [in Russian].
53. Lucinski, R., Polcyn, W. & Ratajczak, L. (2002). Nitrate reduction and nitrogen fixation in symbiotic association Rhizobium-legumes. Acta Biochim. Pol., 49, No. 2, pp. 537-546.
54. Layzell, D.B. & Hunt, S. (1990). Oxygen and the regulation of nitrogen fixation in legume nodule. Physiol. Plant., 80, pp. 322-327. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1990.tb04414.x
55. Ianetta, P.P.M., de Lorenzo, C., James, E.K., Fernбndez-Pascual, M., Sprent, J.I., Lucas, M.M., Witty, J.F., de Felipr, M.R. & Minchin, F.R. (1993). Oxygen diffusion in lupine nodules. I. Visualisation of diffusion barrier operation. J. Exp. Bot., 44, No. 26, pp. 1461-1467. https://doi.org/10.1093/jxb/44.9.1461
56. Minchin, F.R. (1997). Regulation of oxygen diffusion in legume nodules. Soil Biol. Biochem., 29, pp. 881-888. https://doi.org/10.1016/S0038-0717(96)00204-0
57. Becana, M. & Klucas, R.V. (1992). Oxidation and reduction of leghemoglobin in root nodules of leguminous plants. Plant Physiol., 98, pp. 1217-1221. https://doi.org/10.1104/pp.98.4.1217

58. Parsons, R. & Day, D.A. (1990). Mechanisms of soybean nodule adaptation to different oxygen pressures. Plant Cell Environ., 13, pp. 501-512. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1990.tb01066.x
59. Chamber-Perez, M.A., Camacho-Martinez, M. & Soriano-Niebla, J. (1997). Nitrate-reductase activities of Bradyrhizobium spp. in tropical legumes: Effects of nitrate on O_2 diffusion in nodules and carbon costs of N_2 fixation. Plant Physiol., 150, pp. 92-96. https://doi.org/10.1016/S0176-1617(97)80186-1
60. Serrano, A. & Chamber, M. (1990). Nitrate reduction in Bradyrhizobium sp. (Lupinus) strains and its effect on their symbiosis with Lupinus luteus. J. Plant Physiol., 136, pp. 240-246. https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81673-1
61. Sidorova, K.K., Godovikova, V.A. & Stolyarova, S.N. (1988). Investigation of nitrogenase and nitrate reductase activity in pea mutants. Genetika, 24, No. 1, pp. 136-140 [in Russian].
62. Arrese-Igor, C., Garcia-Plazaola, J.I., Hernandez, A. & Aparicio-Tejao, P.M. (1990). Effect of low nitrate supply to nodulated lucerne on time course of activities of enzymes involved in inorganic nitrogen metabolism. Physiol. Plant., 80, pp. 185-190. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1990.tb04394.x
63. Arrese-Igor, C., Minchin, F.R., Gordon, A.J. & Nath, A.K. (1997). Possible causes of the physiological decline in soybean nitrogen fixation in the presence of nitrate. J. Exp. Bot., 48, pp. 905-913. doi: https://doi.org/10.1093/jxb/48.4.905
64. Cheniae, G. & Evans, H.J. (1960). Physiological studies on nodule-nitrate reductase. Plant Physiol., 35, pp. 454-462. https://doi.org/10.1104/pp.35.4.454
65. Kondorosi, A., Barabas, T., Svab, Z., Orosz, L., Sik, T. & Hotchkiss, R.D. (1973). Evidence for common genetic determinants of nitrogenase andnitrate reductase in Rhizobium meliloti. Nat. New Biol., 246, pp. 153-154. https://doi.org/10.1038/newbio246153a0
66. Streeter, J.G. & Devine, P.J. (1983). Evaluation of nitrate reductase activity in Rhizobium japonicum. Appl. Environ. Microbiol., 46, pp. 521-524.
67. Pagan, J.D., Scowcroft, W.R., Dudman, W.F. & Gibson, A.H. (1977). Nitrogen fixation in nitrate reductase-deficient mutantas of cultured rhizobia. J. Bacteriol., 129, No. 2, pp. 718-723.
68. Antoun, H., Bordeleau, L.M., Prevost, D. & Lachance, R.A. (1980). Absence of a correlation between nitrate reductase and symbiotic nitrogen fixation efficiency in Rhizobium meliloti. Can. J. Plant Sci., 60, No. 1, pp. 209-212. https://doi.org/10.4141/cjps80-028
69. Cookson, S.J., Williams, L.E. & Miller, A.J. (2005). Light-dark changes in cytosolic nitrate pools depend on nitrate reductase activity in Arabidopsis leaf cells. Plant Physiol., 138, pp. 1097-1105. https://doi.org/10.1104/pp.105.062349
70. Miller, A.J. & Smith, S.J. (2008). Cytosolic nitrate ion homeostasis: Could it have a role in sensing nitrogen status? Ann. Bot., 101, pp. 485-489. https://doi.org/10.1093/aob/mcm313
71. Fan, X., Gordon-Weeks, R., Shen, Q. & Miller, A.J. (2006). Glutamine transport and feedback regulation of nitrate reductase activity in barley roots leads to changes in cytosolic nitrate pools. J. Exp. Bot., 57, No. 6, pp. 1333-1340. https://doi.org/10.1093/jxb/erj110
72. Miller, A.J., Fan, X., Orsel, M., Smith, S.J. & Wells, D.M. (2007). Nitrate transport and signalling. J. Exp. Bot., 58, pp. 2297-2306. doi: http://dx.doi.org/10.1093/jxb/erm066
73. Fany, A., Foyer, C.H. & Gupta, K.J. (2018). Nitrate, NO and ROS signaling in stem cell homeostasis. Trends Plant Sci., 23, pp. 1041-1044. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.09.010
74. Izmailov, S.F., Nikitin, A.V. & Rodionov, V.A. (2018). Nitrate signaling in plants: introduction to the problem. Russ. J. Plant Physiol., 65, pp. 477-489. https://doi.org/10.1134/S1021443718040027
75. Wang, R., Okamoto, M., Xing, X. & Crawford, N.M. (2003). Microarray analysis of the nitrate response in Arabidopsis roots and shoots reveals over 1,000 rapidly responding genes and new linkages to glucose, trehalose-6-phosphate, iron, and sulfate metabolism. Plant Physiol., 132, pp. 556-567. https://doi.org/10.1104/pp.103.021253

76. Salgado, I., Martinez, M.C., Oliveira, H.C. & Frungillo, L. (2013). Nitric oxide signaling and homeostasis in plants: a focus on nitrate reductase and S-nitrosoglutatione reductase in stress-related responses. Braz. J. Bot., 36, pp. 89-98. https://doi.org/10.1007/s40415-013-0013-6
77. Besson-Bard, A., Pugin, A. & Wendehenne, D. (2008). New insights into nitric oxide signaling in plants. Annu Rev. Plant Biol., 59, pp. 21-39. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092830
78. Corpas, F.J., Palma, J.M., del Rio, L.A. & Barroso, J.B. (2009). Evidence supporting the existence of L-arginine-dependent nitric oxide synthase activity in plants. New Phytol., 184, pp. 9-14. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02989.x
79. Moreau, M., Lindermayr, C., Durner, J. & Klessig, D.F. (2010). NO synthesis and signaling in plants: where do we stand? Physiol. Plant., 138, pp. 372-383. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2009.01308.x.
80. Delledonne, M., Xia, Y., Dixon, R.A. & Lamb, C. (1998). Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. Nature, 394, pp. 585-588. https://doi.org/10.1038/29087
81. Durner, J., Wendehenne, D. & Klessig, D.F. (1998). Defence gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP and cyclic ADP-ribose. PNAS USA, 95, pp. 10328-10333. https://doi.org/10.1073/pnas.95.17.10328
82. Durner, J. & Klessing, D. (1999). Nitric oxide as a signal in plants. Curr. Opin. Plant Biol., 2, pp. 369-374. https://doi.org/10.1016/S1369-5266(99)00007-2
83. Grawford, N.M. & Guo, F.Q. (2005). New insights into nitric oxide metabolism and regulatory function. Trends Plant Sci., 10, pp. 195-200. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2005.02.008
84. Wilson, I.D., Neill, S.J. & Hancock, J.T. (2008). Nitric oxide synthesis and signaling in plant. Plant Cell Environ., 31, pp. 622-631. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01761.x
85. Wendehenne, D. & Hancock, J.T. (2011). New frontiers in nitric oxide biology in plant. Plant Sci., 181, No. 5, pp. 507-508. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.07.010
86. Corpas, F.J., Leterrier, M., Valderrama, R., Airaki, M., Chaki, M., Palma, J.M. & Barroso, J.B. (2011). Nitric oxide imbalance provokes a nitrosative response in plants under abiotic stress. Plant Sci, 181, No. 5, pp. 604-611. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.04.005
87. Mur, L.A., Prats, E., Pierre, S., Hall, M.A. & Hebelstrup, K.H. (2013). Integrating nitric oxide into salicylic acid and jasmonic acid/ethylene plant defense pathways. Front. Plant Sci., 4, pp. 215. https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00215
88. Santolini, J., Andre, F., Jeandroz, S. & Wendehenne, D. (2017). Nitric oxide synthase in plants: Where do we stand? Nitric Oxide, 63, pp. 30-38. https://doi.org/10.1016/j.niox.2016.09.005
89. Astier, J., Gross, I. & Durner, J. (2018). Nitric oxide production in plants: An update. J. Exp. Bot., 69, pp. 3401-3411. https://doi.org/10.1093/jxb/erx420
90. Shimoda, Y., Nagata, M., Suzuki, A., Abe, M., Sato, S., Kato, T., Tabata, S., Higashi, S. & Uchiumi, T. (2005). Symbiotic rhizobium and nitric oxide induce gene expression of non-symbiotic hemoglobin in Lotus japonicus. Plant Cell Physiol., 46, pp. 99-107. https://doi.org/10.1093/pci/pci001
91. Nagata, M., Murakami, E., Shimoda, Y., Shimoda-Sasakura, F., Kucho, K., Suzuki, A., Abe, M., Higashi, S. & Uchiumi, T. (2008). Expression of a class 1 hemoglobin gene and production of nitric oxide in response to symbiotic and pathogenic bacteria in Lotus japonicus. Mol. Plant-Microbe Interact., 21, No. 9, pp. 1175-1183. https://doi.org/10.1094/MPMI-21-9-1175
92. Pii, Y., Crimi, M., Cremonese, G., Spena, A. & Pandolfini, T. (2007). Auxin and nitric oxide control indeterminate nodule formation. BMC Plant Biol., 7, p. 21. https://doi.org/10.1186/1471-2229-7-21
93. Baudouin, E., Pieuchot, L., Engler, G., Pauly, N. & Puppo, A. (2006). Nitric oxide is formed in Medicago truncatula-Sinorhizobium meliloti functional nodules. Mol. Plant-Microbe Interact., 19, No. 9, pp. 970-975. https://doi.org/10.1094/MPMI-19-0970
94. Meakin, G.E., Bueno, E., Jepson, B., Bedmar, E.J., Richardson, D.J. & Delgado, M.J. (2007). The contribution of bacteroidal nitrate and nitrite reduction to the formation of

nitrosyl leghaemoglobin complexes in soybean root nodules. Microbiology, 153, pp. 411-419. https://doi.org/10.1099/mic.0.2006/000059-0

95. Sanchez, C., Gates, A.J., Meakin, G.E., Uchiumi, T., Girard, L., Richardson, D.J., Bedmar, E.J. & Delgado, M.J. (2010). Production of nitric oxide and nitrosylleghemoglobin complexes in soybean nodules in response to flooding. Mol. Plant-Microbe Interact., 23, No. 5, pp. 702-711. https://doi.org/10.1094/MPMI-23-5-0702
96. Ferrarini, A., de Stefano, M., Baudouin, E., Pucciariello, C., Polverari, A., Puppo, A. & Delledonne, M. (2008). Expression of Medicago truncatula genes responsive to nitric oxide in pathogenic and symbiotic conditions. Mol. Plant-Microbe Interact., 21, No. 6, pp. 781-790. https://doi.org/10.1094/MPMI-21-6-0781
97. Herold, S. & Puppo, A. (2005). Oxyleghemoglobin scavenges nitrogen monoxide and peroxynitrite: a possible role in functioning nodules? J. Biol. Inorg. Chem., 10, No. 8, pp. 935-945. https://doi.org/10.1007/s00775-005-0046-9
98. Trinchant, J.C. & Rigaud, J. (1982). Nitrite and nitric oxide as inhibitors of nitrogenase from soybean bacteroids. Appl. Environ. Microbiol., 44, No. 6, pp. 1385-1388.
99. Shimoda, Y., Shimoda-Sasakura, F., Kucho, K., Kanamori, N., Nagata, M., Suzuki, A., Abe, M., Higashi, S. & Uchiumi, T. (2009). Overexpression of class 1 plant hemoglobin genes enhances symbiotic nitrogen fixation activity between Mesorhizobium loti and Lotus japonicus. Plant J., 57, pp. 254-263. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03689.x.
100. Kato, K., Kanahama, K. & Kanayama, Y. (2010). Involvement of nitric oxide in the inhibition of nitrogenase activity by nitrate in Lotus root nodules. J. Plant Physiol., 167, pp. 238-241. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.08.006
101. Meilhoc, E., Cam, Y., Skapski, A. & Bruand, C. (2010). The response to nitric oxide of the nitrogen-fixing symbiont Sinorhizobium meliloti. Mol. Plant-Microbe Interact., 23, No. 6, pp. 748-759. https://doi.org/10.1094/MPMI-23-6-0748
102. Puppo, A., Pauly, N., Boscari, A., Mandon, K. & Brouquisse, R. (2013). Hydrogen peroxide and nitric oxide: key regulators of the Legume—Rhizobium and mycorrhizal symbioses. Antioxid. Redox Signal., 18, No. 16, pp. 2202-2219. https://doi.org/10.1089/ars.2012.5136
103. Boscari, A., Meilhoc, E., Castella, C., Bruand, C., Puppo, A. & Brouquisse, R. (2013). Which role for nitric oxide in symbiotic N_2-fixing nodules: toxic by-product or useful signaling/metabolic intermediate? Front. Plant Sci., 4, p. 384. https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00384
104. Hichri, I., Boscari, A., Castella, C., Rovere, M., Puppo, A. & Brouquisse, R. (2015). Nitric oxide: a multifaceted regulator of the nitrogen-fixing symbiosis. J. Exp. Bot., 66, pp. 2877-2887. https://doi.org/10.1093/jxb/erv051
105. de Bruij, F.J. (Ed.). (2015). Biological nitrogen fixation. New York: John Wiley & Sons, Inc. https://doi.org/10.1002/9781119053095.ch64
106. Zumft, W.G. (1997). Cell biology and molecular basis of denitrification. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 61, pp. 533-616.
107. Damiani, I., Pauly, N., Puppo, A., Brouquisse, R. & Boscari, A. (2016). Reactive oxygen species and nitric oxide control early steps of the Legume—Rhizobium symbiotic interaction. Front. Plant Sci., 7, pp. 454. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00454
108. Horchani, F., Prevot, M., Boscari, A., Evangelisti, E., Meilhoc, E., Bruand, C., Raymond, Ph., Boncompagni, E., Aschi-Smiti, S., Puppo, A. & Brouquisse, R. (2011). Both plant and bacterial nitrate reductases contribute to nitric oxide production in Medicago truncatula nitrogen-fixing nodules. Plant Physiol., 155, pp. 1023-1036. https:// doi.org/10.1104/pp.110.166140
109. Tejada-Jimenez, M., Llamas, A., Galvan, A. & Fernandez, E. (2019). Role of nitrate reductase in NO production in photosynthetic eucaryotes. Plants, 8, p. 56. https://doi.org/10.3390/plants8030056
110. Glyan'ko, A.K. & Mitanova, N.B. (2008). Physiological mechanisms of negative influence of high dozes of mineral nitrogen on legume-rhizobial symbiosis. Visnyk HNAU. Seriya Biologiya, 2, pp. 26-41 [in Russian].
111. Caba, M., Lluch, C. & Ligero, F. (1994). Genotypic variability of nitrogen metabolism enzymes in nodulated roots of Vicia faba. Soil Biol. Biochem., 26, pp. 785-789. https://doi.org/10.1016/0038-0717(94)90274-7

112. Hervas, A., Ligero, F. & Lluch, C. (1991). Nitrate reduction in pea plants: effects of nitrate application and Rhizobium strains. Soil Biol. Biochem., 23, pp. 695-699. https://doi.org/10.1016/0038-0717(91)90085-X
113. Harper, J.E. & Gibson, A.H. (1984). Differential nodulation tolerance to nitrate among legume species. Crop Sci., 24, No. 4, pp. 797-801. https://doi.org/10.2135/cropsci1984.0011183X002400040040x

Received 16.09.2019

НИТРАТРЕДУКТАЗА И ЕЕ РОЛЬ В БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОМ СИМБИОЗЕ

С.Я. Коць, Л.М. Михалкив

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

Представлен обзор отечественной и зарубежной литературы относительно строения нитратредуктазы, ее локализации и функционирования, в частности в бобово-ризобиальных симбиотических системах. Освещены вопросы, посвященные регуляции синтеза и активности данного фермента, показана их обусловленность факторами внешней среды и возможность снижения ингибирующего действия последних при использовании определенных приемов. Указано, что в корневых клубеньках бобовых, формирующихся в результате взаимодействия растений и ризобий, происходят процессы восстановления нитратного и молекулярного азота, в которых принимают участие соответственно нитратредуктаза и нитрогеназа. При наличии в симбиозе бобовое растение—клубеньковые бактерии активной системы фиксации атмосферного азота нитратредуктаза может по-разному взаимодействовать с нитрогеназой в зависимости от локализации и типа фермента, генетических особенностей симбионтов, условий культивирования бобовых. Рассмотрены гипотезы о возможных механизмах взаимодействия обоих ферментов, представлены данные о распределении нитратредуктазной активности в разных зонах клубенька. Раскрыта роль нитратредуктазы в азотном питании и формировании урожая растений. Отдельно освещено значение монооксида азота для растений и участие нитратредуктазы в его синтезе. Очерчены возможные пути оптимизации функционирования нитратредуктазы с целью повышения эффективности симбиоза и продуктивности растений.

Ключевые слова: нитратредуктаза, нитрогеназа, азотное питание растений, бобово-ризобиальный симбиоз, клубеньки, нитраты, монооксид азота, продуктивность.

NITRATE REDUCTASE AND ITS ROLE IN LEGUME-RHIZOBIA SYMBIOSIS

S.Ya. Kots, L.M. Mykhalkiv

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylkivska St., 03022, Kyiv, Ukraine
mykhalkiv.l@gmail.com

The structure, localization and functioning of nitrate reductase, in particular in legume-rhizobial symbiotic systems, are reviewed. The question of this enzyme synthesis and activity regulation is highlighted. The influence of environmental factors on these processes and the possibility to reduce their inhibitory effect by certain methods are shown. It is noted that in the root nodules of legumes formed as a result of the plant-rhizobia interaction the processes of reduction of nitrate and molecular nitrogen take place. The nitrate reductase and nitro-

genase, respectively, are participate in ones. At the presence of the active molecular nitrogen fixation system in the legume plant—nodule bacteria symbiosis, nitrate reductase can interact with nitrogenase differently, depending on the location and type of enzyme, genetic characteristics of symbionts, and cultivation conditions. Hypotheses on the possible mechanisms of this interaction are considered. The data about the distribution of nitrate reductase activity in different nodule zones are presented. The role of nitrate reductase in nitrogen nutrition and plant yield formation is disclosed. A separate place in the review is devoted to the question of the importance of nitric oxide for plants and the participation of nitrate reductase in its synthesis. Possible ways of nitrate reductase functioning optimization with the aim of increasing the efficiency of symbiosis and plant productivity are given.

Key words: nitrate reductase, nitrogenase, nitrogen nutrition of plants, legume-rhizobia symbiosis, nodules, nitrates, nitric oxide, productivity.