

根瘤菌共生结瘤基因的分子遗传学研究进展^①

樊妙姬 陈丽梅 马庆生

(广西大学生物技术与糖业工程学院, 南宁 530005)

The Advance in Molecular Genetic of *Rhizobium* Symbiotic Nodulation Genes

FAN Miaoji CHEN Limei MA Qingsheng

(College of Biotechnology and Sugar-Industry, Guangxi University, Nanning 530005)

根瘤菌是一类能与豆科植物共生结瘤固氮的土壤微生物, 它属于根瘤菌科 (Rhizobiaceae), 该科包含有 4 个属: *Rhizobium*、*Bradyrhizobium*、*Sinorhizobium* 和 *Azorhizobium*^[1]。根瘤菌与豆科植物间形成特殊的共生体系, 可以固定大量的氮供植物生长。共生结瘤过程涉及根瘤菌与寄主植物间的信息物质传递。从发现根瘤菌至今的一百多年以来, 通过人们的不懈努力, 已在根瘤菌中定位了几十个与共生结瘤有关的基因, 并对其产物的生物化学结构、功能等进行了深入研究, 特别是近年来根瘤菌共生结瘤基因的分子生物学研究的迅速发展, 取得了许多成果, 本文将简介之。

1 根瘤菌的结瘤(*nod*、*nol*、*noe*)基因

根瘤菌可根据其生长速度不同, 分为快生型, 如快生型大豆根瘤菌、豌豆根瘤菌、三叶草根瘤菌、苜蓿根瘤菌、菜豆根瘤菌; 慢生型如慢生型大豆根瘤菌、羽扇豆根瘤菌等。根瘤菌的寄主范围有互接种族的不同, 这不仅与根瘤菌自身, 也与寄主植物的基因型等有关。快生型和慢生型根瘤菌的结瘤基因在基因组中的位置不同, 快生型根瘤菌的结瘤基因存在方式较复杂, 随菌株不同而异, 但一般认为其结瘤基因簇位于巨型质粒上; 而慢生型根瘤菌的结瘤基因簇则位于染色体上。

已经确定了超过 50 个结瘤基因, 命名了 *nodA* 至 *nodX*, 因此, 又继续用 *nol* 和 *noe* 表示结瘤基因 (即 *nol* 和 *noe* 也表示结瘤基因)。这些基因在不同的菌株中排列顺序和所处的基因簇均不一样^[2, 3, 4]。根据不同的结瘤基因突变体对结瘤过程的影响, 可将结瘤基因分为 3 类, 一是共同结瘤基因, 如 *nodABDIJ*, 由于共同结瘤基因突变或缺失造成根瘤菌丧失结瘤的功能, 可由种间的共同结瘤基因互补得以恢复。*nodABC* 产生使根毛变形的物质, 并参与植物早期结瘤素的表达。大多数根瘤菌的 *nodABC* 处于同一操纵子中, *nodIJ* 一般位于 *nodC* 的下游, *nodIJ* 突变在 *R. leguminosarum* 中表现结瘤推迟。*nodABDIJ* 在 4 个根瘤菌属中均有, 认为这 4 个属的起源是相同的。二是寄主专一性基因, 如 *nodEFL*、*nodMNT*、*nodO*, 这类基因的突变一般仅会导致延迟结瘤和结瘤量少, 或者寄主范围发生变化, 不同种的根瘤菌间碱基同源性差, 其突变体不能被种间互补。第三类是结瘤的调节基因, 主要是 *nodD* 基因, 过去将其归为共同结瘤基因, 因为 4 个属的根瘤菌中均具有 *nodD* 基因, 且具有一定的同源性, 但不同的菌株的 *nodD* 的拷贝数不同。*nodD* 基因编码正向转录调节蛋白质, 是一种其他 *nod* 基因表达所必需的蛋白质。在豌豆根瘤菌中 *nodD* 又受其自身负反馈调节, N. dD 蛋白可与 *nod box* DNA 形成专一的核酸-蛋白质复合物^[5], 说明它是一个能结合 DNA 的转录激活因子^[6]。

^①广西区科委青年基金和广西区教委资助项目。

从八十年代初期开始至今, 已克隆了与结瘤有关的许多基因, 对其中一些基因的结构、功能等进行了研究(见表 1)^(2, 3, 4)。但许多的结瘤基因的表达、调控、功能及其之间的相互作用和它们是如何参与植物的结瘤有关过程的等均有待于进一步研究 *nol* 及 *noe* 系列的尚不清楚, 从略。

2 结瘤基因的表达调控

在所有的根瘤菌中 *nod* 基因的调控是相似的, 它们的调控包含 3 个因素: 一是 trans-acting 调节子 N. dD 蛋白起的转录激活作用; 二是 N. dD 蛋白结合到存在广泛的同源序列的启动子上即 *nod box* 上; 三是通过 N. dD 蛋白激活的 *nod* 基因的转录需要有豆科植物根分泌的植物信号分子如黄酮类物质或具苯环的化合物的存在。

在至今所检测的所有根瘤菌中均存在 *nodD* 基因, 在一些菌株中只有一个拷贝, 如 *R. leguminosarum* 和 *R. trifolii*; 而另一些菌株则为 2 或 3 个拷贝, 如 *R. meliloti*, *R. phaseol*, *R. fredii* 和 *B. japonicum*。在 *R. loti* 则已发现了 4 个拷贝的 *nodD* 基因⁽⁷⁾。*nodD* 基因的拷贝数甚至在一个种内也会发生变化。只有单拷贝 *nodD* 基因的菌株 *nodD* 突变会产生 Nod⁻Hac⁻表型; 而多拷贝 *nodD* 基因的菌株中, 一个拷贝的 *nodD* 基因突变影响的表型效应根据菌株和寄主植物的不同而不同, 如在苜蓿根瘤菌中, 其 1 个或 2 个拷贝的 *nodD* 失活, 引起在 *Medicago sativa* 上结瘤延迟, 只有 3 个拷贝的 *nodD* 均突变才表现出 Nod⁻表型, 由此说明所有 3 个 *nodD* 基因在其寄主植物结瘤时均有作用。苜蓿根瘤菌对另一些寄主如 *Melilotus albus* 则有 2 个 *nodD* (即 *nodD1* 和 *nodD3*) 就足够了。3 个不同的 *nodD* 的突变, 其不同的 N. dD 蛋白与不同的植物渗出液结合时表现出不同的程度, 说明每个 *nodD* 对不同的植物表现出不同的程度。某些菌株的 *nodD* 基因的一些点突变可使之扩大寄主范围, 如将 *Rhizobium* sp. NGR234 菌株的 *nodD1* 基因转入 *R. meliloti* 后, 可在 *Siratro* 上结瘤。

nodD 基因与原核生物调节基因 *LysR* 簇基因具有同源性⁽¹⁰⁾。与 *LysR* 蛋白相似, N. dD 也是 N-末端含有 helix-turn-helix 修饰的 DNA 结合蛋白⁽¹¹⁾。N. dD 蛋白可结合到 *nod* 操纵子上游启动子区的保守序列 *nod box* 上, *nod box* 最先在 *R. meliloti* 中发现, 为 47bp 的保守序列⁽¹²⁾。苜蓿根瘤菌的 *nod box* 突变则表现出位于下游的基因失活。*nod box* 在 *nod* 操纵子的协调表达中起正向调节序列的作用。在 *Azorhizobium caulinodans* 和 *B. japonicum* 中, 发现同源性更差的 *nod box*, 并发现了新的更短的共同序列⁽¹³⁾ 也在通过 *LysR* 蛋白调节的基因的启动子中存在。而且长的 *nod box* 也含有这些短序列的重复, 这种重复现象也在多拷贝的 *nodD* 类型菌株中存在。*nodD* 对 *nod* 基因的转录激活需要有植物浸出液的存在⁽¹⁴⁾。植物浸出液中的植物信号分子是一些黄酮类物质, 这类 *nod* 基因诱导物在浓度低至 10⁻⁹ 摩尔/升就能起作用⁽¹⁵⁾。

Rhizobium sp. NGR234 的 *nodD1* 突变后不能在 *Siratro* 上结瘤, *R. meliloti* 的 *nodD1* 基因不能恢复前者的功能。同样, 三叶草根瘤菌的 *nodD* 基因突变也不能由 *R. meliloti* 的 *nodD1* 基因互补恢复其在红三叶草上的结瘤能力。同时 *R. meliloti* 的 *nodD1* 对 *Siratro* 和三叶草植物的浸出液是不起反应的。不同的 *nodD* 基因在转入相同的首宿根瘤菌菌株, 但其 *nodD* 却被不同结构的黄酮类物质所诱导。说明不同的 N. dD 蛋白对不同的专一性诱导物起作用。某种特殊的黄酮类物质与 N. dD 蛋白相互作用后形成其他 *nod* 基因的正向转录激活子, 诱导 Nod 因子的产生, 而反过来被植物识别, 产生一系列共生结瘤反应⁽¹⁶⁾。因此 N. dD 与植物信号分子结合与否就控制了 *nod* 基因的表达与否, 从而控制寄主专一性⁽¹⁷⁾。寄主范围广泛的 N. dD 蛋白能与许多种类的化合物结合, 其中不仅包括 3 个环的化合物, 还有一些单环的芳香族化合物如香草醛 (3-甲氧基-4-羟基苯甲酸) 等。寄主范围相对窄的根瘤菌的 N. dD 蛋白则仅能与较少种类的黄酮类物质结合。另一方面, 在植物的根毛区可测得 *nodD* 基因表达水平很高, 而在根尖其表达受抑制, 说明对 N. dD 有激活和抑制作用的诱导物的数量或比例在根的不同区和时间是不同的。在 cv. *Saxa* 幼苗的根际供应黄酮类物质: 异甘草根糖精宁 (isoliquiritigenin), 在幼苗根部形成更多的根瘤⁽¹⁸⁾。因此, 认为植物也许在根瘤形成过程中具有控制 *nod* 基因激活的作用⁽¹⁹⁾。

表 1 根瘤菌结瘤基因及其功能^(2~4)

基因	突变株表型	存在及同源性	功能
<i>nodA</i>	Nod ⁻ Hac ⁻	普遍存在于根瘤菌, 功能互补	乙酰转移酶, 参与结瘤因子的非还原端的 N-取代过程
<i>nodB</i>	同上	同上	脱酰基酶, 参与结瘤因子的葡糖寡聚糖骨架的合成
<i>nodC</i>		同上	聚乙酰氨基葡糖合成酶, 催化 N-乙酰-D-氨基葡糖残基间的 β -1, 4 键, 合成聚乙酰氨基葡糖低聚体的骨架
<i>nodD</i>	Nod ⁻ (为单拷贝), Nod ^{del} (为多拷贝)	存在所有的根瘤菌, 能在相关种间互补, 寄主范围发生变化	转录 <i>nod</i> 基因的激活因子, 与激活蛋白质 <i>LysR</i> 相类似
<i>nodE</i> (<i>hsnB</i>)	Nod ^{del} , 寄主范围 发生变化	<i>R. meliloti</i> , <i>R. leguminosarum</i> bvs. <i>viciae</i> 和 <i>trifolii</i> , 没有功能互补	β -酮脂酰基合成酶 (缩合酶、柠檬酸合酶) 在合成结瘤因子的酰基链中起作用, 与寄主专一性有关
<i>nodF</i> (<i>hsnA</i>)	Nod ^{del}	同上	酰基载体蛋白 (CAP), 参与合成结瘤因子脂酰链, 与寄主专一性有关
<i>nodG</i> (<i>hsnC</i>)	Nod ^{del}	<i>R. meliloti</i>	核糖醇或葡萄糖脱氢酶, 认为它在修饰结瘤因子脂酰侧链中起作用, 与寄主专一性有关
<i>nodH</i> (<i>hsnD</i>)	Nod ^{del}	<i>R. meliloti</i>	磺基转移酶, 参与结瘤因子合成中含硫基团的转移, 引起首宿特殊的结瘤因子产生, 与寄主专一性有关
<i>nodI</i>	Nod ^{del} , Nod ⁺	<i>R. leguminosarum</i> bvs. <i>viciae</i> 和 <i>trifolii</i> <i>R. meliloti</i> , <i>B. japonicum</i>	ATP 结合蛋白质, 与 <i>nod J</i> 一起构成转运系统
<i>nodJ</i>	Nod ^{del}	<i>R. leguminosarum</i> bvs. <i>viciae</i> 和 <i>trifolii</i>	膜蛋白, 与 <i>nod I</i> 一起构成膜转运系统
<i>nodK</i>		<i>B. sp.</i> (<i>Parasponia</i>)	尚不清楚
<i>nodL</i>	Nod ⁻ Hac ⁻	<i>R. leguminosarum</i> bvs. <i>viciae</i> 和 <i>trifolii</i>	乙酰转移酶, 在 6-O-乙酰化结瘤因子形成中起作用
<i>nodM</i>	Nod ^{del} , Had ⁻ Nod ⁺ , Nod ⁺⁺ 于一些寄主	<i>R. meliloti</i> , <i>R. leguminosarum</i> bvs. <i>viciae</i> 和 <i>trifolii</i>	葡糖胺 (氨基葡糖) 合成酶, 它对合成结瘤因子的糖基亚单位中起作用
<i>nodN</i>	Nod ^{del} , Had ⁻	<i>R. meliloti</i> , <i>R. leguminosarum</i> bvs. <i>viciae</i> 和 <i>trifolii</i>	参与结瘤因子的产生过程
<i>nodO</i>		<i>R. leguminosarum</i> bvs. <i>viciae</i> 和 <i>trifolii</i>	Ca ²⁺ 结合蛋白, 与溶血因子 (HlyA) 和相关的转运蛋白类似, 可能在根瘤菌-豆科植物相互作用的早期起作用
<i>nodP</i>	Nod ^{del}	<i>R. meliloti</i> , <i>R. tropici</i>	ATP 硫酸化酶, 参与结瘤因子还原端 O-取代作用
<i>nodQ</i>	扩大寄主范围	同上	ATP 硫酸化酶和 APS 激酶, 参与结瘤因子还原端 O-取代作用
<i>nodR</i>		<i>R. meliloti</i>	位于染色体上, 功能尚不清楚
<i>nodS</i>		<i>B. japonicum</i> , <i>R. tropici</i> , <i>R. etli</i> , <i>R. fredii</i> , <i>A. caulinodans</i> , <i>R. sp.</i> NGR234	S-腺苷甲硫氨酸甲基转移酶, 参与结瘤因子还原端的 N-取代作用
<i>nodT</i>	Nod ⁺ 在 <i>T. subterraneum</i> Nod ^{del}	<i>R. leguminosarum</i> bvs. <i>viciae</i> 和 <i>trifolii</i>	与寄主专一性有关, 是一种膜蛋白
<i>nodU</i>		同 <i>nodS</i>	尚不清楚
<i>nodV</i>	Nod ⁻ 在 mungbean, cowpea 和 siratro	<i>B. japonicum</i>	双组份调控系统: 感受子蛋白, 转录激活子蛋白
<i>nodW</i>	Nod ^{del} 在大豆	<i>B. japonicum</i>	双组份调控系统的激活子蛋白, 可能调节一个或一些尚未知晓的基因
<i>nodX</i>	Nod ⁻ 在阿富汗豌豆	<i>R. leguminosarum</i>	乙酰转移酶, 与结瘤因子还原端 O-取代作用有关, 与寄主专一性有关
<i>nodY</i>	Nod ⁻ 在 siratro, Nod ⁺ 在大豆	<i>B. japonicum</i>	尚不清楚
<i>nodZ</i>		<i>B. japonicum</i> , <i>A. caulinodans</i>	岩藻糖转移酶, 与寄主专一性有关

黄酮类物质是与 *nodD* 基因直接相互作用的。对 *nodD* 的点突变及杂种 *nodD* 基因的分析结果表明, N. dD 蛋白间的 C-末端比 N-末端的同源性差, C-末端决定了黄酮类物质的专一性, 而且其 C-末端中具有与动物的类固醇受体同源的片段, 认为动物类固醇的结合位点与黄酮类物质结合 N. dD 的位点是共同的进化位点⁽¹¹⁾。黄酮类物质和 N. dD 蛋白均被发现定位在细胞膜上, 认为 N. dD 与黄酮类物质的结合发生于细胞质膜上, 结果 N. dD 蛋白形态发生变化, 成为可以激活 *nod* 基因转录的形式, 从而使 *nod* 基因转录得以进行。

syrM 基因是另一类 *LysR* 族基因, 它既受 *nodD2* 和 *nodD3* 控制, 又起到激活 *nodD2* 和 *nodD3* 基因的表达的作用, 而 *nodD3* 转而又促进 *syrM* 的表达。携带 *nodD3* 和 *syrM* 的多拷贝质粒的菌株可以在甚至没有植物诱导物的情况下诱导 *nod* 基因高水平的表达^(20, 21)。*syrM* 也调节胞外多糖 (EPS) 合成过程中起作用的 *exo* 基因的表达。*syrM* 能协同调节 EPS 和结瘤因子的代谢, EPS 和结瘤因子在根瘤菌侵染过程中起作用, 而 *syrM* 的转录是由 *nodD2* 和 *nodD3* 控制的, *nodD2* 和 *nodD3* 又由黄酮类物质所激活, 因此专一性的植物诱导物能够影响 EPS 和结瘤因子的合成。苜蓿根瘤菌中发现了 *nolR* 基因, 它是 *nod* 基因表达的阻遏子, 这种阻遏子结合到 *nodD1* 和 *nodD2* 启动子上, 通过抑制 *nodD1* 和 *nodD2* 的转录, 从而调节可诱导的 *nod* 基因的表达(见图 1)。

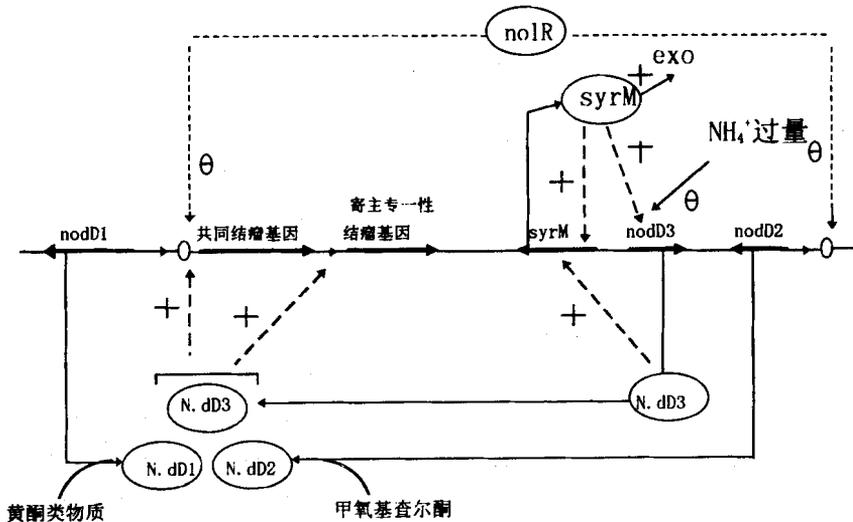


图 1 苜蓿根瘤菌基因的调节模型⁽²⁰⁾

黑色三角形代表 *nod* boxes; 圆圈表示阻遏物结合位点。

在大豆根瘤菌中, *nodVW* 突变菌株在大豆上可结瘤, 但失去了在 cowpea、mungbean 和 Siratro 上的结瘤能力⁽²²⁾。*nodV* 和 *nodW* 的氨基酸顺序表明它们是属于双组份调控系统的蛋白⁽²²⁾。认为 *nodV* 基因产物是膜受体, 与植物信号分子发生反应; *nodW* 是调节子, 调控结瘤过程中的一个或几个基因⁽²²⁾。另一个基因 *nolA* 是大豆基因型特异结瘤基因, 其序列相似于转录调节蛋白 MerR 的 N 末端⁽²³⁾, 认为其产物是一种调节蛋白。在 *R. fredii* USDA257 菌株有控制大豆品种专一性结瘤的基因族 *nolX*、*nolW*、*nolBTUV*, 其中只有 *nolW* 的表达不依赖黄酮类物质的存在和 *nodD1* 的表达, 而 *nolW* 与 *nolB* 是相邻而转录方向相反基因, 两者的表达调控区仅位于两者间的 109bp 的片段上⁽²⁴⁾。*nod* 基因的表达调控是相当复杂的, 不仅与根瘤菌本身的基因有关, 也与植物的基因表达有关。人们普遍认为 *nodD* 基因的调节作用是比较重要的。

3 结瘤因子

结瘤因子又称胞外结瘤因子, 它在根瘤菌结瘤的初始阶段起着十分重要的作用。提纯的 Nod 因子在浓度低

至 10^{-12} mol/L 时也能引起根毛变形⁽²⁵⁾。最先从苜蓿根瘤菌中分离到结瘤因子⁽²⁶⁾, 于 1990 年分析了其主要结构⁽²⁷⁾, 随后分析了许多根瘤菌结瘤因子⁽²⁸⁾。苜蓿根瘤菌的结瘤因子是由 4 或 5 个 β -1, 4-氨基葡萄糖组成葡萄糖寡聚糖骨架, 在非还原端上含有 C16 不饱和脂肪酸, 其上具有酰胺基团; 在还原端有磺基基团。所有的结瘤因子均是具有 β -1, 4-N-乙酰-D-葡萄糖胺的骨架, 长度为 3-6 个糖单位。非还原端糖基上在 C2 位置上连接着脂肪酸。不同的结瘤因子其脂肪酸的结构是不同的, 在非还原端和还原端是的基因取代也不同⁽²⁹⁾。结瘤因子是由根瘤菌产生的, *nod* 基因决定着 Nod 因子的结构。但在游离的根瘤菌细胞中是不产生 Nod 因子的, 其产生还需要 *nodD* 基因产物和寄主植物的黄酮类物质的存在。遗传学和生物化学的研究表明: Nod 因子的骨架的合成是由 *nodA*, *nodB*, *nodC* 基因产物催化的。NodC 是聚乙酰氨基葡萄糖合成酶, 催化合成聚乙酰氨基葡萄糖低聚体的骨架。而 NodB 为脱酰基酶, 催化聚乙酰氨基葡萄糖低聚体的非还原端的糖基脱去酰基, 接着 NodA 将脂肪酸转移到这个位置上⁽³⁰⁾。NodA 为乙酰转移酶。其他的 Nod 蛋白参与这种聚乙酰氨基葡萄糖低聚体的修饰^(4, 29, 31)。

寄主专一性 *nod* 基因产物参与胞外结瘤因子的修饰。在 *R. leguminosarum* *bv. viciae* 的 *nodE* 基因是与寄主专一性有关的基因, 其基因产物参与结瘤因子中高度不饱和 C18: 4 脂肪酰胺部分的合成⁽³²⁾。而在 *R. leguminosarum* *bv. trifolii* 中 *nodE* 参与 Nod 因子的 C20: 2, C20: 3, C20: 2 或 C18: 3 的脂肪酸链的合成⁽³³⁾。*R. leguminosarum* *bv. viciae* 的 *nodX* 基因决定着扩大该菌株的寄主专一性到野生阿富汉豌豆品种上, 将 *nodX* 转移到一个缺少 *nodX* 的 *R. leguminosarum* *bv. viciae* 菌株, 结果其产生的结瘤因子在还原端的糖基上多了 O-乙酰基团, *nodX* 编码乙酰转移酶⁽³⁴⁾。*R. meliloti* 的 *nodH* 编码磺基转移酶, 参与结瘤因子合成中的含硫基团的转移⁽³⁵⁾, 从而使菌株产生的胞外结瘤因子具有苜蓿专一性。*R. meliloti* 的 *nodPQ* 基因也决定寄主专一性, 它们的基因产物是 ATP 硫酸化酶和 APS 激酶, 与合成结瘤因子的含硫基团有关, 从而产生特异的结瘤因子, 保持对寄主的专一性。

参 考 文 献

- Denarie J, Roche P. Molecular Signals in Plant-Microbe Communication. CRC Press, Boca Roton, Ann. Arber, London, 1992, 296~324
- Spaank H P. The Molecular Basis of Infection and Nodulation by Rhizobia: the Ins and Outs of Sympathogenesis. Annu. Rev. Phytopathol., 1995, 33: 345~368
- Denarie D, Debelle F. *Rhizobium* Lipo-chitoooligosaccharide Nodulation Factors: Signaling Molecules Mediating recognition and Morphogenesis. Annu. Rev. Biochem., 1996, 65: 305~335
- Kondorosi A, Kondorosi E, John M. The Role of Nodulation Genes in Bacterium-Plant Communication. Genetic Engineering Vol. 13, Shtlow J K eds, Plenum Press, New York, 1996, 115~136
- Hong G F, Burn J E, Johnston A W B. Evidence that DNA Involved in the Expression of Nodulation (*nod*) Genes in *Rhizobium* Binds to the Produce of the Regulation Gene *nodD*. Nucleic Acids Res., 1987, 15: 9677~9690
- Schiaman H R M, Okker R J H, Lugtenberg B J J. Regulation of Nodulation Genes Expression by *nodD* in *Rhizobium*. J. of Bacteriol., 1992, 5177~5182
- Scott D B, Young C A, Collins-Emerson J M. Novel and Complex Chromosomal Arrangement of *Rhizobium loti* Nodulation Genes. MPMI, 1996, 9(3): 187~197
- Fisher R F, Long S R. *Rhizobium*-Plant Signal Exchange. Nature, 1992, 357(25): 655~660
- Dockendorff T C, Sharma A J, Stacey G. Identification and Characterization of the *nolYZ* Genes of *Bradyrhizobium japonicum*. MPMI, 1994, 7(2): 173~180
- Henikoff S, Huaghn G W, Calvo J. A Large Family of Bacterial Activator Proteins. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1988, 85: 6602~6606
- Gyorgypal Z, Kiss G B, Kondorski A. Transduction of Plant Signal Molecules by the *Rhizobium nodD* Proteins. BioEssays, 1991, 13: 575~581
- Rostas K, Kondorosi E, Horvath B. Conservation and Extended Promoter Regions of Nodulation Genes in *Rhizobium*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1986, 83: 1757~1761
- Goethals K, Van Montagu M, Holsters M. Conserved Motifs in a Divergent *nod* box of *Azorhizobium caulinosans* ORS571 Reveal a Common Structure in Promoters Regulated by *Lys* R-type Proteins. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1992, 89: 1646~1650
- Le Strange K K, Bender G L, Djordjevic M A. The *Rhizobium* Strain NGR234 *nodD1* Gene Product

- Responds to Activation by the Simple Phenolic Compounds Vanillin and Isovanillin Present in Wheat Seeding Extracts. *J. Bacteriol.*, 1990, 3: 214~220
- 15 Maxwell C A, Hartwig U A, Joseph C M. A Chalcone and Two Related Flavonoids Released from Alfalfa Roots Induce *nod* Genes of *Rhizobium meliloti*. *Plant Physiol.*, 1989, 91: 842~847
- 16 Relic B, Perret X, Estrada-Garica M T. Nod-factor of *Rhizobium* are a Key to the Legume Door. *Mol. Microbiol.*, 1994, 13: 171~178
- 17 Fellay R, Rochepeau P, Relic B. Signals to and Emanating from Rhizotium Largly Control Symbiotic Specificity. Pathogenesis and Host Specificity in Plant Diseases. *Histopathological, Biochemical, Genetic and molecular Bases, Vol.1: Eukaryotes*, Singh U S, Singh R P, Kohmoto K. eds. Pergamon/ Elsevier Science Ltd., Oxford, 1995, pp. 199~220
- 18 Bolanos-Vasquez M C, Werner D. Effects of *Rhizobium tropici*, *R. etli* and *R. leguminosarum* *bv. phaseoli* on Nod Gene-Inducing Flavonoids in Root Exudates of *Phaseolus vulgaris*. *MPMI*, 1997, 10(3): 339~346
- 19 Heidstra R, Bisseling T. Nod Factor-Induced Host Responses and Mechanisms of Nod Factor Perception. *New Phytol.*, 1996, 133: 25~43
- 20 Kondorosi E, Buire M, Cren M. Involvement of the *syrM* and *nodD3* Genes of *Rhizobium meliloti* in *nod* Gene Activation and in Optimal Nodulation of the Plant Host. *Mol. Microbiol.*, 1991, 5: 3035~3048
- 21 Rushing B G, Yelton M M, Long S R. Genetic and Physical Analysis of the *nodD3* Region of *Rhizobium meliloti*. *Nucids Res.*, 1991, 19: 921~927
- 22 Gottfert M, Grob P, Hennecke H. Proposed Regulatory Pathway Encoded by the *nodV* and *nodW* Genes, Determinants of Host Specificity in *Bradyrhizobium japonicum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, 87: 2680~2684
- 23 Sadowsky M J, Cregan P B, Gottfer M. The *Bradyrhizobium japonicum nolA* Gene and its Involvement in the Genotype-Specific Nodulation of Soybeans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88: 637~641
- 24 Gu J, Balatti A P, Krishnan H B, Pueppke S G. Characterization of the Overlapping Promoters of *nolB* and *nolW*. Two Soybean Cultivar Specificity Genes from *Rhizobium fredii* Strain USDA257. *MPMI*, 1997, 10(1): 138~141
- 25 Heidstra R, Geurts R, Franssen H. Root Hair Deformation Activity of Nodulation Factors and their Fate on *vicia sativa*. *Plant Physiol.*, 1994, 105: 787~797
- 26 Lerouge P, Roche P, Faucher C, Maillet F, Truchet G. Symbiotic Host-specificity of *Rhizobium meliloti* is Determined by a Sulphated and Acylated Glucosamine Oligosaccharide. *Nitrogen Fixation: Achievements and Objectives*. Gresshoff P M, Roth L E, Stacey G Newton W E. eds. New York: Chapman and Hall, 1990
- 27 Lerouge P, Roche P, Prome J C, Faucher C, Vasse J. *Rhizobium meliloti* Nodulation Genes Specify the Production of an Alfalfa-specific Sulphated Oligosaccharide Signal. *Nature*, 1991, 344: 781~784
- 28 Denarie J, Cullimore J. Lipo-oligosaccharide Nodulation Factors: A New Class of Signaling Molecules Mediating Recognition and Morphogenesis. *Cell*, 1993, 74: 951~954
- 29 Heidstra R, Bisseling T. Nod Factor-induced Host Responses and Mechanisms of Nod Factor Perception. *New Phytol.*, 1996, 133: 25~43
- 30 Rohrig H, Schmidt J, Wieneke U. Biosynthesis of Lipooligosaccharide Nodulation Factors: *Rhizobium* NodA Protein is Involved in N-Acylation of the Chitooligosaccharide Backbone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994, 91: 3122~3126
- 31 Carlson R W, Price N P J, Stacey G. The Biosynthesis of *Rhizobial* Lipo-oligosaccharide Nodulation Signal Molecules. *MPMI*, 1995, 7: 684~695
- 32 Geiger O, Thomas-Oates J E, Glushka J. Phospholipids of *Rhizobium* Contain *nodE* Determined Highly Unsaturated Fatty Acid Moieties. *J. of Biological. Chemistry*, 1994, 269: 11090~11097
- 33 Spaink H P, Bloembergen G V, Van Brussel A N. Host Specificity of *Rhizobium leguminosarum* is Determined by the Hydrophobicity of Highly Unsaturated Fatty Acyl Moieties of the Nodulation Factor. *MPMI*, 1995, 8: 155~164
- 34 Firmin J L, Wolson K E, Carlson R W, Davies A E, Downie J A. Resistance to Nodulation of cv. Afghanistan Peas is Overcome by *nodX*, which Mediates an O-acetylation Factor. *Mol. Microbiol.*, 1993, 10: 351~360
- 35 Schultze M, Staehelin C, Rohrig H. *In vitro* Sulfotransferase Activity of *Rhizotium meliloti* *NodH* protein: Lipochitooligosaccharide Nodulation Signals are Sulfated after Synthesis of the Core Structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995, 92: 2706~2709