СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ БИОЛОГИЯ, 2015, том 50, № 3, с. 323-331

Разнообразие и эволюция микробно-растительных систем

УДК 631.461.51:575:576.6 doi: 10.15389/agrobiology.2015.3.323rus

АДАПТИВНАЯ МАКРОЭВОЛЮЦИЯ БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА*

Н.А. ПРОВОРОВ

Бобово-ризобиальный симбиоз (БРС) представляет собой уникальную модель эволюционной биологии, которая позволяет изучать соотношение адаптивной и прогрессивной эволюции в биосистемах, образуемых прокариотами и эукариотами. Макроэволюция БРС заключается в становлении системы компартментов для хостинга микросимбионтов, которые активируют развитие N_2-фиксирующих клубеньков специальными сигналами — липохитоолигосахаридными Nod-факторами. Эволюция БРС разделена на ряд этапов, связанных со становлением эндофитных клубеньковых ассоциаций (анцестральные формы ризобий, сохранившие характерную для их предков способность фиксировать CO_2 и N_2 в чистой культуре, занимают межклеточные пространства клубеньков); примитивного субклеточного симбиоза (ризобии, утратившие способность фиксировать CO_2, располагаются в инфекционных нитях, не проникая в растительные клетки); внутриклеточного мутуализма (ризобии, проникшие в растительные клетки, образуют неспециализированные симбиосомы, где фиксируют N_2, сохраняя репродуктивную активность); симбиоза альтруистического типа (ризобии в специализированных симбиосомах дифференцируются в бактероиды, которые необратимо утрачивают репродуктивную активность, что обеспечивает резкое повышение интенсивности N_2-фиксации). Эта эволюция происходит под действием индуцируемого в эндосимбиотических популяциях ризобий отбора, который может быть индивидуальным (дарвиновский, частотно-зависимый) или групповым (междемовый, родственный) в зависимости от структуры микробных популяций, определяемой механизмами инфицирования растений-хозяев. Под действием этого отбора возрастает сложность организации и целостность БРС, которые служат критериями его эволюционного прогресса, а также экологическая эффективность БРС — его влияние на репродуктивную активность партнеров. При этом взаимодействия бактерий и растений эволюционируют от плейотропного симбиоза (подвижное равновесие отношений мутуализма и антагонизма) к взаимной эксплуатации партнеров (их эквивалентный обмен продуктами N_2-фиксации и фотосинтеза) и далее к высокоэффективному мутуализму альтруистического типа (высокая интенсивность симбиотрофного питания растений азотом представляет собой следствие утраты жизнеспособности бактероидами). Характеристика процессов макро- и микроэволюции симбиоза открывает широкие перспективы для конструирования высокоэффективных форм БРС, включая создание «альтруистических» штаммов ризобий (у которых повышенная симбиотическая эффективность сочетается со сниженной выживаемостью вне растений), а также комбинирование альтернативных программ развития эффективного симбиоза (затратная и экономная), независимо возникших в разных группах бобовых.

Ключевые слова: микробно-растительный симбиоз, эволюция, адаптация, естественный отбор, генетическое конструирование.

Использование симбиотических моделей открывает широкие возможности для разработки ключевых проблем эволюционной биологии, включая соотношение прогрессивной и адаптивной эволюции (макро- и микроэволюции) организмов. Взгляды на это соотношение варьируют от полного сведения макроэволюционных преобразований к действию естественного отбора (1, 2) до отрицания причинно-следственных связей между макро- и микроэволюцией (3, 4). Энергичную попытку примирить эти взгляды предпринял И.И. Шмальгаузен (5, 6) на основе концепции целостности, которая рассматривалась как критерий эволюционного прогресса организмов и в то же время как показатель их приспособленности к среде. Однако признание основным фактором эволюции целостности стабилизирующего отбора (5) привело эту концепцию к противоречию, поскольку возникновение новых структур и функций симбиоза невозможно без дви-

* Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 14-26-00094.

жущего отбора (7).

Бобово-ризобиальный симбиоз (БРС) представляет собой уникальную модель для анализа соотношения макро- и микроэволюционных процессов, которые привели к возрастанию, во-первых, организованности клубеньков и целостности надвидовой системы (переход от межклеточного к внутриклеточному симбиозу, контролируемому системой обратных связей между корневыми клубеньками и надземными органами растений, а также между бактериальными и растительными клетками); во-вторых, экологической эффективности симбиоза — его влияния на репродуктивную активность партнеров, определяемую интенсивностью фиксации N_2 и сопряженными с ней метаболическими процессами (энергоснабжение нитрогеназного комплекса, ассимиляция продуктов N_2-фиксации) (7). В нашей статье рассмотрен магистральный путь макроэволюции БРС как становления системы субклеточных компартментов, в которых осуществляется хостинг микробных популяций и создаются условия для действия в них особых форм отбора, обеспечивающих повышение интенсивности N_2-фиксации. Изучение эволюции эффективного симбиоза необходимо для разработки программ конструирования симбиосистем, направленного на повышение вклада биологического азота в земледелие.

Структурная интеграция партнеров: от межклеточного к внутриклеточному симбиозу. На основе анализа широкого круга экспериментальных и математических моделей может быть предложена интегральная схема эволюции БРС, включающая четыре этапа (рис. 1).

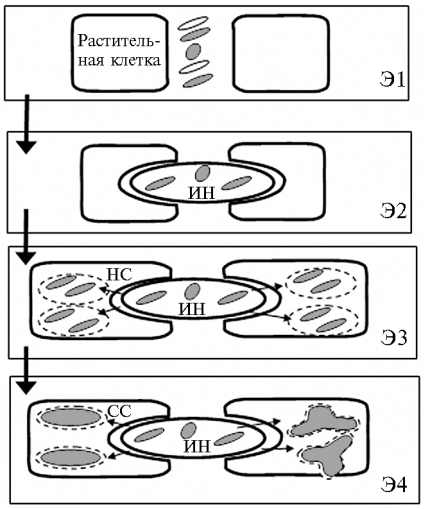

Рис. 1. Основные этапы прогрессивной эволюции бобово-ризобиального симбиоза.

Э1 — анцестральный межклеточный симбиоз: характеризуется образованием смешанных эндосимбиотических популяций, состоящих из фиксирующих и не фиксирующих N_2 штаммов ризобий (обозначены серыми и белыми овалами, соответственно).

Э2 — примитивный внеклеточный мутуализм: бактерии образуют клональные популяции благодаря неполному эндоцитозу единичных бактерий клетками эпидермиса с образованием инфекционных нитей (ИН), в которых ризобии сохраняют внеклеточное расположение.

Э3 — внутриклеточный мутуализм: мало дифференцированные бактероиды, сохранившие репродуктивную активность, фиксируют N_2 в неспециализированных симбиосомах (НС), которые формируются благодаря эндоцитозу ризобий клетками центральной зоны клубенька.

Э4 — симбиоз альтруистического типа: необратимо дифференцированные бактероиды, не способные к размножению и резко изменившие морфологию, фиксируют N_2 в специализированных симбиосомах (СС).

На первом этапе (Э1) из ризосферных и эндофитных ассоциаций растений с почвенными диазотрофами возникли анцестральные формы БРС, которые развиваются на основе «примитивной» инокуляции растений бактериями через разрывы эпидермиса (возникающие при пораниениях или при росте боковых корней), приводящей к формированию смешанных эндосимбиотических популяций, в которых только часть штаммов («истинные мутуалисты») способна фиксировать азот in planta. Анцестральные клубеньковые симбиозы могли возникнуть из ризосферных ассоциаций, образуемых бактериями, родственными *Azospirillum*, которые на-

ряду с фиксацией N_2 активно продуцируют ауксины, усиливающие рост корней, а также их ассимиляторную и секреторную функции. Именно эти эффекты лежат в основе фитостимулирующей активности азоспирилл при заселении ими корневых поверхностей (8). Однако при заселении псевдоклубеньков, возникающих на корнях злаков (пшеница, кукуруза) при воздействии ауксин-подобного гербицида 2,4-D, у бактерий активируется фиксация N_2, которая становится основным фактором питания растений (9).

Продуктом первого этапа этой эволюции следует считать анцестральные штаммы *Bradyrhizobium* (BTAi1, ORS278), которые родственны почвенным и ризосферным диазотрофам родов *Rhodopseudomonas* и *Azospirillum*, а также проявляют способность к фототрофному росту ex planta (10). Отсутствие у анцестральных ризобий способности синтезировать липохитоолигосахаридные Nod-факторы, характерные для большинства ризобий и обеспечивающие регулярное образование клубеньков, позволяет считать зависимость данных бактерий от хозяев факультативной, а образуемую микробно-растительную систему относить к числу «плейотропных симбиозов», характеризуемых подвижным равновесием мутуалистических и антагонистических отношений партнеров (11). Индукция этими бактериями развития у растений клубеньков осуществляется цитокинин-подобными сигналами, что отличает анцестральные ризобии от азоспирилл, активирующих развитие и секреторную активность корней ауксинами.

Учитывая смешанный характер эндосимбиотических микробных популяций в образуемых анцестральными ризобиями клубеньках, логично предположить, что эволюция симбиотической N_2-фиксации в данной системе происходит главным образом под действием индивидуального (дарвиновского) отбора. Он поддерживает способность бактерий фиксировать N_2 в условиях in planta, которые, в отличие от экохимических условий почвы, характеризуются низкой концентрацией O_2 и повышенной концентрацией азотных соединений. Для поддержания высокой нитрогеназной активности в этих условиях, ингибирующих фиксацию N_2 свободноживущими диазотрофами, бактерии приобрели систему *fix*-генов, выявленных как у анцестральных брадиризобий, так и у азоспирилл и обеспечивающих регуляцию нитрогеназной активности in planta (12). Низкий уровень специализации брадиризобий к симбиозу доказывается и «унитарной» организацией их геномов (они содержат только один постоянный генофор — хромосому), хотя их размеры существенно выше, чем у вероятных предков (*Rhodopseudomonas*), что отражает возникновение новых генных систем симбиоза (рис. 2).

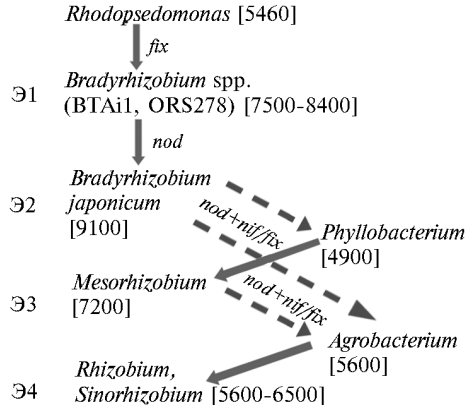

Рис. 2. Возникновение различных форм ризобий на последовательных этапах эволюции симбиоза (Э1-Э4 см. рис. 1). Эволюция ризобий основана на трансформациях почвенных (*Rhodoseudomonas*) либо ассоциированных с растениями (*Phyllobacterium*, *Agrobacterium*) бактерий в клубеньковые N_2-фиксаторы — ризобии (сплошные стрелки) в сочетании с горизонтальным переносом систем *sym*-генов (пунктирные стрелки), включая *nif*-, *fix*- и *nod*-регулоны (*fix*-регулоны сформировались при трансформации *Rhodopseudomonas* в *Bradyrhizobium* spp., *nod*-регулоны — при трансформации *Bradyrhizobium* spp. в *B. japonicum*). В квадратных скобках указаны размеры геномов (т.п.н.) у типовых штаммов (трансформация различных бактерий в ризобии сопровождается увеличением их геномов).

На следующем этапе эволюции БРС (Э2) возник принципиально новый механизм инокуляции клубеньков, связанный с приобретением бактериями синтеза Nod-факторов. Специфичный для симбиоза путь проникновения ризобий в корень, открываемый этими сигналами, определяется активным поглощением микробных клеток или микроколоний деформированными («скрученными») корневыми волосками посредством механизма, сходного с эндоцитозом. Образуемые в корневых волосках тубулярные структуры — инфекционные нити (ИН) — обеспечивают активное и в то же время строго контролируемое хозяином размножение бактерий и их интродукцию в центральную часть клубенька, где создаются оптимальные условия для симбиотической N_2-фиксации. Благодаря этому механизму структуры эндосимбиотических популяций ризобий приобретают клональный характер, что обусловливает действие междемового отбора, объектом которого являются не отдельные микробные клетки, а внутриклубеньковые клоны, различающиеся по активности N_2-фиксации.

На этом этапе эволюции БРС ризобии утрачивают способность к фотосинтезу, что делает их зависимость от симбиоза экологически облигатной в связи с переходом к питанию С-соединениями, поставляемыми хозяином. Однако локализация бактерий в клубеньках при этом остается внеклеточной (13): ризобии ограничены в своем распространении ИН, в которых осуществляется как репродукция, связанная с индивидуальной адаптацией бактерий к выживанию в системе «растение—почва» (основана на использовании продуктов фотосинтеза для увеличения численности популяции), так и симбиотическая N_2-фиксация, связанная с кооперативной адаптацией бактерий и растений (основана на продуцировании бактериями аммония, передаваемого хозяевам). Структурная разграниченность микробных и растительных клеток затрудняет их метаболические взаимодействия, которые сводятся к обмену С- и N-метаболитами: отношения партнеров в этом случае могут быть квалифицированы как «взаимная эксплуатация», при которой эффективность симбиотрофного питания растений азотом остается невысокой.

Важно отметить, что механизмы эволюции генных систем симбиоза на этапе Э2 не ограничены внутригеномными перестройками (на основе которых *nod*- и *nif/fix*-регулоны ризобий возникли из генов, ранее выполнявших не связанные друг с другом функции), они включали и горизонтальный перенос генов. На его основе ризобии приобрели, в частности, ген *nodA*, кодирующий ключевую стадию синтеза Nod-фактора — присоединение ацильной группы к олигохитиновой цепи (14). Учитывая, что донорами симбиотически значимых генов в эволюции ризобий могли быть грамположительные бактерии или микоризные грибы, логично предположить, что важный механизм этой эволюции — частотно-зависимый отбор, который был описан нами ранее при помощи математического моделирования эволюции симбиоза как фактор закрепления в системе продуктов редких генетических событий (15).

Следующим этапом эволюции (Э3) стало приобретение партнерами способности к внутриклеточному симбиозу, связанному с переходом бактерий из ИН в цитоплазму растительных клеток и с образованием симбиосом, окруженных растительными мембранами — производными эндоплазматического ретикулюма и аппарата Гольджи. Этот процесс сходен с эндоцитозом и контролируется бактериальными Nod-факторами. Структурная интеграция клеток партнеров создала условия для их тесной мета-

болической кооперации — образования межорганизменных путей азотно-углеродного обмена. На этом этапе эволюции симбиосистемы произошло разделение бактериальной популяции на внутриклеточную (в симбиосомах) и внеклеточную (в ИН) субпопуляции: первая выполняет функции, связанные с кооперативной адаптацией партнеров, а вторая субпопуляция — функции индивидуальной адаптации.

Важно отметить, что экологическая эффективность симбиоза на этом этапе существенно повысилась для обоих партнеров благодаря интенсивной фиксации N_2, что создало основу для действия отбора на уровне всей симбиосистемы — холобионта (16). На уровне бактериальной популяции при этом наблюдается усиление межгруппового отбора в пользу азотфиксирующих (Fix^+) клонов, основанного на увеличении потока продуктов фотосинтеза в активно фиксирующие N_2 клубеньки, а также на «санкциях» против бактерий, находящихся в Fix^- клубеньках (ограничение питания, защитные реакции).

Молекулярные механизмы эволюции БРС на этапе Э3 дополняются интенсивным переносом системы *sym*-генов (*nod*- и *nif/fix*-регулоны) из «первичных» ризобий (*Bradyrhizobium*) в эпифитные (*Phyllobacterium*) или фитопатогенные (*Agrobacterium*) бактерии, который привел к появлению «вторичных» ризобий (*Mesorhizobium, Rhizobium, Sinorhizobium*) (рис. 2). Именно с этим переносом может быть связан переход *sym*-генов в состав мобильных элементов (геномные острова *Mesorhizobium*, *Sym*-плазмиды *Rhizobium* и *Sinorhizobium*), который не характерен для *Bradyrhizobium*. Возникавшие при этом виды ризобий либо приобретали узкую хозяйскую специфичность (*R. leguminosarum, S. meliloti*), либо сохраняли широкую специфичность, типичную для предковых форм (*R. tropici*, *S. fredii*).

Функциональная интеграция партнеров: затратная и экономная стратегии эффективного симбиоза. Становление внутриклеточного бобово-ризобиального симбиоза открыло широкие возможности для его эволюции на повышение эффективности N_2-фиксации. Одна из ее стратегий, реализованная на 4-м этапе формирования симбиотических компартментов (Э4, см. рис. 1), основана на дифференцировке «вторичных» ризобий (*Rhizobium, Sinorhizobium*) в не способные к размножению бактероиды, которые развивают аномально высокую нитрогеназную активность благодаря репрессии большинства функций свободноживущих клеток. Со стороны растений эта дифференцировка контролируется *NCR*-генами, кодирующими цистеин-богатые белки (17), со стороны бактерий — генами *bacA* и *minE*, кодирующими компоненты клеточной стенки, которая структурно изменена у бактероидов (18, 19).

На этой основе в эндосимбиотических микробных популяциях могут возникать отношения биологического альтруизма (его доноры — нежизнеспособные бактероиды в симбиосомах, а реципиенты — жизнеспособные бактерии в ИН), поддерживаемого родственным отбором (20). Участие в этих отношениях хозяина в качестве посредника при передаче альтруистических эффектов от их доноров к реципиентами позволило нам (21) квалифицировать организацию системы как межвидовой альтруизм, который реализуется благодаря глубокой интеграции партнеров, основанной на перекрестной регуляции генов симбиоза.

Несмотря на приобретение ризобиями новых симбиотических признаков, их хозяева, включая эволюционно продвинутые бобовые галегоидного комплекса (трибы *Galegeae*, *Trifolieae*, *Vicieae*), сохранили исходные черты организации клубеньков: недетерминированный рост (определяе-

мый стабильными апикальными меристемами) и амидный путь ассимиляции азота (с участием глутаминсинтетазы, глутаматсинтазы и аспарагинсинтетазы; образующиеся при этом транспортные формы азота — глутамин и аспарагин содержат 1 атом N на 2-3 атома C). Новизна возникшей при этом организации клубеньков касается симбиосом: они стали одноклеточными (содержат по 1 бактероиду); пространство между бактероидом и симбиосомной мембраной резко редуцировано, что обеспечило тесный метаболический контакт партнеров.

Альтернативная стратегия эволюции высокоэффективного симбиоза связана с усложнением ассимиляции клубеньками фиксированного азота (его транспортными формами являются уреиды — аллантоин и аллантоиновая кислота, в которых соотношение N:C близко к 1), а также с утратой ими способности к недетерминированному росту, требующему больших затрат энергии. Эта стратегия характерна для бобовых трибы *Phaseoleae*, у которых находящиеся в многоклеточных симбиосомах бактероиды сохраняют способность к размножению. Очевидно, что описанная стратегия направлена на максимально экономное использование растениями N_2-фиксирующего потенциала ризобий, тогда как «затратная» стратегия основана на интенсификации N_2-фиксации, сопряженной с большим расходом энергии.

Многие галегоидные бобовые, реализующие затратную стратегию симбиоза, являются многолетниками, и их клубеньки могут функционировать в течение нескольких сезонов, причем в осенне-зимний период они переключаются на выполнение запасающей функции, что было показано для *Lathyrus maritimus* (22). В то же время экономная стратегия симбиоза осуществляется однолетниками, для которых выполнение клубеньками запасающей функции не характерно. У лядвенцев (*Lotus* spp.) детерминированный морфотип клубеньков сочетается с амидным усвоением фиксированного азота (23), показывая, что становление этого морфотипа могло предшествовать становлению уреидного метаболизма клубеньков.

Таким образом, N_2-фиксирующий бобово-ризобиальный симбиоз служит удобной моделью для разработки ряда проблем эволюционной биологии, включая дискуссионный вопрос о соотношении процессов адаптивной и прогрессивной эволюции. В основе эволюции БРС, как и большинства симбиозов про- и эукариот, лежит становление системы субклеточных компартментов (ИН, симбиосомы), предоставляемых хозяевами для хостинга микроорганизмов. Ризобии, находясь в этих компартментах, становятся объектами действия специфичных для симбиоза форм отбора, в результате которого повышается структурно-функциональная сложность и целостность надвидовой системы, а также ее адаптивный потенциал. Важно отметить, что это повышение происходит под действием движущего отбора, который и обеспечивает сопряжение процессов адаптивной и прогрессивной эволюции симбиосистем.

Результатом действия этого отбора служит повышение эффективности симбиоза в ходе реализации двух стратегий его эволюции — затратной и экономной. Затратная стратегия основана на эволюции микробного компонента — резком повышении нитрогеназной активности необратимо дифференцированных бактероидов, сопряженном с сужением специфичности взаимодействия партнеров. Эта эволюция сочеталась с сохранением исходных свойств клубеньков: недетерминированной структуры и амидной ассимиляции продуктов N_2-фиксации, сходной с ассимиляцией азотных соединений почвы. Экономная стратегия основана на сохранении относи-

тельно невысокой нитрогеназной активности, характерной для структурно не дифференцированных бактероидов. В этом случае симбиотическая эффективность повышалась благодаря эволюции растительного компонента — приобретению детерминированной структуры клубеньков и «уреидной» ассимиляции азота, что привело к существенному снижению затрат углерода и энергии на симбиоз.

Выяснение путей и механизмов адаптивной макроэволюции БРС — важное условие для разработки методов конструирования хозяйственно-ценных симбиозов. Одним из его направлений может быть получение штаммов ризобий, не только «настроенных» на совместную с растениями адаптацию к внешней среде, но и проявляющих по отношению к ним признаки альтруизма, поскольку у этих штаммов снижена способность к индивидуальным адаптациям. Такие биотехнологически ценные штаммы можно получать при инактивации негативных регуляторов симбиоза (*eff*-генов), которая приводит к повышению симбиотической активности, но снижает способность бактерий адаптироваться к условиям почвы (24).

Максимальное проявление симбиотического потенциала генетически сконструированных штаммов возможно лишь в сочетании со специально созданными симбиотрофными формами растений, которые могут быть получены с помощью как традиционных генетико-селекционных, так и новых биоинженерных подходов. К числу первых может быть отнесена селекция растений по активности нитрогеназы (25) или клубенек-специфичных изоферментов C- и N-метаболизма (26). К числу вторых относится перенос генов клубенькообразования в небобовые (например, злаковые) растения, а также комбинирование генетических факторов развития затратного и экономного симбиоза (27). Комплексное использование этих подходов позволит создавать новые симбиосистемы, в которых высокая N_2-фиксирующая активность бактерий сочетается с оптимальными режимами энергоснабжения симбиоза и ассимиляции азота, максимально полно вовлекаемого в формирование урожая растений.

Итак, для эволюции бобово-ризобиального симбиоза характерно закономерное повышение структурно-функциональной организованности (становление системы межклеточных, а затем и внутриклеточных компартментов для хостинга микросимбионтов), которое сопряжено с действием специфичных для симбиоза форм отбора и обеспечивает высокую экологическую эффективность взаимодействия партнеров. Реализуемый таким образом сценарий адаптивной макроэволюции включает переходы симбиоза от плейотропного взаимодействия партнеров (подвижное равновесие отношений мутуализма и антагонизма) к их взаимной эксплуатации (эквивалентный обмен бактерий и растений продуктами N_2-фиксации и фотосинтеза) и к мутуализму альтруистического типа (повышение интенсивности симбитрофного питания растений азотом вследствие утраты жизнеспособности бактероидами). В эволюционной перспективе такой сценарий создает условия для перехода партнеров к генетически (строго) облигатным формам мутуализма, в которых геномы микросимбионтов претерпевают глубокую редукцию и объединение с геномами хозяев, обеспечивая трансформацию бактерий в постоянные клеточные органеллы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Майр Э. Зоологический вид и эволюция. М., 1968.
2. Тимофеев-Ресовский Н.В., Воронцов Н.Н., Яблоков А.В. Краткий очерк

теории эволюции. М., 1977.
3. Филипченко Ю.А. Эволюционная идея в биологии: исторический обзор эволюционных учений XIX века. М., 1977.
4. Берг Л.С. Номогенез, или эволюция на основе закономерностей. В кн.: Труды по теории эволюции. Л., 1977: 95-338.
5. Шмальгаузен И.И. Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии. М., 1982.
6. Шмальгаузен И.И. Пути и закономерности эволюционного процесса. М., 1983.
7. Проворов Н.А., Воробьев Н.И. Коэволюция партнеров и целостность симбиотических систем. Журнал общей биологии, 2012, 73: 21-36.
8. Franche C., Lindström K., Elmerich C. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. Plant and Soil, 2009, 321: 35-59 (doi: 10.1007/s11104-008-9833-8).
9. Saikia S.P., Jain V., Khetarpal S., Aravind S. Dinitrogen fixation activity of *Azospirillum brasilense* in maize (*Zea mays*). Current Sci., 2007, 93: 1296-1300.
10. Giraud E., Moulin L., Vallenet D., Barbe V., Cytryn E., Avarre J.C., Jaubert M., Simon D., Cartieaux F., Prin Y., Bena G., Hannibal L., Fardoux J., Kojadinovic M., Vuillet L., Lajus A., Cruveiller S., Rouy Z., Mangenot S., Segurens B., Dossat C., Franck W.L., Chang W.S., Saunders E., Bruce D., Richardson P., Normand P., Dreyfus B., Pignol D., Stacey G., Emerich D., Verméglio A., Médigue C., Sadowsky M. Legume symbioses: absence of *nod* genes in photosynthetic bradyrhizobia. Science, 2007, 316: 1307-1312 (doi: 10.1126/science.1139548).
11. Schardl C.L., Leuchtmann A., Chung K.R., Penny D., Siegel M.R. Co-evolution by common descent of fungal symbionts (*Epichloë* spp.) and grass hosts. Mol. Biol. Evol., 1997, 14: 133-143.
12. Kaneko T., Minamisawa K., Isawa T., Nakatsukasa H., Mitsui H., Kawaharada Y., Nakamura Y., Watanabe A., Kawashima K., Ono A., Shimizu Y., Takahashi C., Minami C., Fujishiro T., Kohara M., Katoh M., Nakazaki N., Nakayama S., Yamada M., Tabata S., Sato S. Complete genomic structure of the cultivated rice endophyte *Azospirillum* sp. B510. DNA Res., 2010, 17: 37-50 (doi:10.1093/dnares/dsp026).
13. Brewin N.J. Plant cell wall remodeling in the *Rhizobium*-legume symbiosis. Crit. Rev. Plant. Sci., 2004, 23: 293-316 (doi: 10.1080/07352680490480734).
14. Hirsch A.M., Lum M.R., Downie J.A. What makes the rhizobia-legume symbiosis so special? Plant Physiol., 2001, 127: 1484-1492 (doi: 10.1104/pp.010866).
15. Воробьев Н.И., Проворов Н.А. Моделирование эволюции бобово-ризобиального симбиоза при мультиштаммовой конкуренции бактерий за инокуляцию симбиотических ниш. Экологическая генетика, 2008, 6: 3-11.
16. Zilber-Rosenberg I., Rosenberg E. Role of microorganisms in the evolution of animals and plants: the hologenome theory of evolution. FEMS Microbiol. Rev., 2008, 32: 723-735 (doi: 10.1111/j.1574-6976.2008.00123.x).
17. Van de Velde W., Zehirov G., Szatmari A., Debreczeny M., Ishihara H., Kevei Z., Farkas A., Mikulass K., Tiricz H., Satiat-Jeunemaotre B., Alunni B., Bourge M., Kucho K., Abe M., Kereszt A., Maroti G., Uchiumi T., Kondorosi E. Mergaert P. Plant peptides govern terminal differentiation of bacteria in symbiosis. Science, 2010, 327: 1122-1126 (doi: 10.1126/science.1184057).
18. Cheng J., Sibley C.D., Zaheer R., Finan T.M. A *Sinorhizobium meliloti minE* mutant has an altered morphology and exhibits defects in legume symbiosis. Microbiology, 2007, 153: 375-387 (doi: 10.1099/mic.0.2006/001362-0).
19. Ichige A., Walker G.C. Genetic analysis of the *Rhizobium meliloti bacA* gene: functional interchangeability with the *Escherichia coli sbmA* gene and phenotypes of mutants. J. Bacteriol., 1997, 179: 209-216.
20. Maynard Smith J. Group selection and kin selection. Nature, 1964, 201: 1145-1147.
21. Проворов Н.А., Воробьев Н.И. Эволюция полезных для растений признаков у азотфиксирующих бактерий: моделирование и конструирование систем межвидового альтруизма. Прикладная биохимия и микробиология, 2015, 51(4): 1-8 (doi: 10.7868/S0555109915040145).
22. Gurusamy C., Davis P.J., Bal A.K. Seasonal changes in perennial nodules of beach pea (*Lathyrus maritimus* [L.] Bigel.) with special reference to oleosomes. Int. J. Plant Sci., 2000, 161: 631-638.
23. Sprent J.I. Nodulation in Legumes. Kew Royal Botanical Gardens, 2001.
24. Проворов Н.А., Онищук О.П., Юргель С.Н., Курчак О.Н., Чижевская Е.П., Воробьев Н.И., Затовская Т.В., Симаров Б.В. Конструирование высокоэффективных симбиотических штаммов бактерий: эволюционные модели и генетические

подходы. Генетика, 2014, 50: 1273-1285 (doi: 10.7868/S0016675814110113).
25. Метлицкая Е.Н., Проворов Н.А., Симаров Б.В., Райг Х.А. Создание популяций козлятника восточного, различающихся интенсивностью развития и продуктивностью, путем селекции растений по нитрогеназной активности. Доклады РАСХН, 1995, 6: 7-9.
26. Barnes D.K., Heichel G.H., Vance C.P., Ellis W.R. A multiple-trait breeding program for improving the symbiosis for N_2 fixation between *Medicago sativa* L. and *Rhizobium meliloti*. Plant and Soil, 1984, 32: 303-314.
27. Проворов Н.А. Повышение эффективности симбиотической фиксации азота растениями: молекулярно-генетические подходы и эволюционные модели. Физиология растений, 2013, 60: 31-37 (doi: 10.7868/S0015330313010053).

ФГБНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии,
196608 Россия, г. Санкт-Петербург—Пушкин, ш. Подбельского, 3,
e-mail: provorov@newmail.ru

Поступила в редакцию 2 февраля 2015 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [*Agricultural Biology*], 2015, V. 50, № 3, pp. 323-331

ADAPTIVE MACROEVOLUTION OF LEGUME-RHIZOBIA SYMBIOSIS

N.A. Provorov

All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, Federal Agency of Scientific Organizations, 3, sh. Podbel'skogo, St. Petersburg, 196608 Russia, e-mail provorov@newmail.ru
Supported by Russian Science Foundation (project № 14-26-00094)
Received February 2, 2015 doi: 10.15389/agrobiology.2015.3.323eng

Abstract

Legume-rhizobia symbiosis (LRS) is considered as a unique model of evolutionary biology, which allows us to study the trade-off between the adaptive and progressive evolution in biological systems formed by prokaryotes and eukaryotes. Macroevolution of LRS results is establishing the compartments for hosting microsymbionts that activate the development of N_2-fixing nodules by special signals — lipo-chito-oligosaccharide Nod-factors. This evolution is dissected into a number of stages connected with the formation of: a) nodule endophytic associations (ancestral forms of rhizobia which retained the ability to fix CO_2 and N_2 in pure culture characteristic for their ancestors, occupy the intercellular spaces in nodules); b) primitive subcellular symbiosis (rhizobia which lost the ability to fix CO_2 are located in infection threads penetrating into plant cells); c) intracellular mutualism (rhizobia, penetrated the plant cells to form the non-specialized symbiosomes where fix N_2, maintaining the reproductive activity); d) symbiosis of altruistic type (rhizobia in specialized symbiosomes differentiate into bacteroids which irreversibly lost their reproductive activity providing a sharp increase in the N_2-fixation intensity). This evolution occurs under the influence of natural selection induced in endosymbiotic populations, which can be individual (Darwinian, frequency-dependent) or group (inter-deme, kin) depending on the structure of microbial populations defined by mechanisms of host infection. Under the influence of this selection, complexity of the organization and the integrity of the LRS are increased, which serve as criteria for its evolutionary progress, as well as ecological efficiency of symbiosis (its impact on the partners' productivity). This interaction between bacteria and plants has been evolved from pleiotropic symbioses (dynamic equilibrium between mutualism and antagonism) to the mutual partners' exploitation (their equivalent exchange by products of N_2 fixation and photosynthesis) and then to a highly-efficient mutualism of «altruistic» type (increased intensity of the symbiotrophic plant nutrition by nitrogen is the result of viability loss by bacteroids). Characteristics of macro- and microevolution of symbiosis opens the broad prospects for the construction of highly efficient forms of LRS, including the creation of «altruistic» rhizobia strains (in which an increased symbiotic efficiency is combined with a reduced survival outside plant) as well as a combination of alternative development programs for effective symbiosis (expensive and economical) independently arisen in different groups of legumes.

Keywords: microbe-plant symbiosis, evolution, adaptation, natural selection, genetic construction.

Научные собрания

МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
«МИКРОБНЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ»,
посвящена 50-летию образования Института (отдела) микробиологии НАН Беларуси

(7-11 сентября 2015 года, Институт микробиологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь)

Контакты и информация: microbio@mbio.bas-net.by