

© Н. А. Проворов,  
Н. И. Воробьев

Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии, Санкт-Петербург

✿ **У  $N_2$ -фиксирующих симбионтов бобовых растений (ризобий) эволюция полезных для хозяина («альтруистических») признаков происходит в популяциях, колонизирующих субклеточные компартменты клубеньков (инфекционные нити, симбиосомы). Эти компартменты возникают в результате коэволюции партнеров, которая связана с усложнением трофических и регуляторных взаимодействий, определяющих экологическую эффективность симбиоза. Их анализ позволяет изучать соотношение механизмов адаптивной и прогрессивной эволюции симбиоза, которое остается неясным для свободноживущих организмов.**

✿ **Ключевые слова:** растительно-микробные взаимодействия; симбиотическая фиксация  $N_2$ ; бобовые растения; клубеньковые бактерии (ризобии); макро- и микроэволюция (прогрессивная и адаптивная эволюция); эффективность, специфичность и целостность симбиоза.

## АДАПТИВНАЯ И ПРОГРЕССИВНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНОГО СИМБИОЗА

### 1. ВВЕДЕНИЕ

Симбиотические системы — удобные модели для изучения закономерностей прогрессивной и адаптивной эволюции, соотношение которых остается неясным для сингулярных (состоящих из изогенных клеток, которые возникают в результате делений зиготы) организмов. Введя термины «макроэволюция» и «микроэволюция», Ю. А. Филипченко (Filipchenko, 1927) отметил, что их генетические механизмы различаются, так как макроэволюционные преобразования не являются результатом естественного отбора. По мнению Л. С. Берга (1977), эволюционная роль отбора ограничена элиминацией нежизнеспособных продуктов «ногогенеза», приводящего к образованию новых биологических форм, но не имеющего адаптивной направленности. Однако Э. Майр (Mayr, 1973) и Н. В. Тимофеев-Ресовский с соавторами (1977) сводили прогрессивную эволюцию к накоплению адаптивно значимых «малых изменений» организации, подхватываемых отбором.

Преодоление этих противоречий стало возможным благодаря изучению симбиотических моделей, в первую очередь, растительно-микробных систем. Их образование является высокоэффективным способом адаптации растений к неблагоприятным экологическим условиям, включая дефицит питания (симбиозы с  $N_2$ -фиксирующими бактериями и микоризными грибами), атаки патогенов или фитофагов (ризосферные и эндофитные ассоциации с микробами, продуцирующими антибиотики или токсины), а также к абиотическим стрессам, включая засуху, повышенную температуру и засоление (Rodriguez et al., 2009; Tikhonovich, Provorov, 2011). Прогрессивная эволюция симбиоза (возникновение новых структур, функций и кодирующих их генных систем) наиболее ярко выражена при мутуалистических отношениях партнеров, которые следуют по эволюционному пути «факультативные → экологически облигатные → генетически облигатные симбиозы» (Tikhonovich, Provorov, 2009; Margulis, 2010). При реализации этого пути у бактериальных симбионтов растений и животных возникают новые типы генома: многокомпонентный у экологически облигатных симбионтов, редуцированный у генетически облигатных симбионтов, рудиментарный у клеточных органелл (Margulis, Sagan, 2002; van Ham et al., 2003; Young et al., 2006; Проворов, 2005).

Возникновение новых форм симбиотической организации является результатом ко-эволюции партнеров, связанной с перекрестными селективными давлениями, которые их популяции оказывают друг на друга (Janzen, 1980). В системах мутуализма партнеры часто реализуют адаптивно парадоксальную («не-дарвиновскую») стратегию эволюции, которая была обозначена как реципрокный или межвидовой альтруизм (Frank, 1994). Он основан на приобретении организмами признаков, имеющих адаптивную ценность не для своего непосредственного обладателя (который может утрачивать жизнеспособность, как это показано для бактериоидов в клубеньках ряда бобовых: Brewin, 2004), а для партнера по симбиозу (Bronstein, 2009; Provorov, Vorobyov, 2009).

Азотфиксирующий бобово-ризобияльный симбиоз (БРС) позволяет детально анализировать ко-эволюционные процессы, которые хорошо документированы морфо-физиологическими, молекулярно-генетическими и экологическими данными. Ко-эволюция партнеров БРС доступна для эк-

Поступила в редакцию 22.11.2012  
Принята к публикации 07.12.2012

спериментального и математического моделирования, которое позволяет не только изучать действие микроэволюционных факторов, но и оценивать адаптивные эффекты макро-эволюционных преобразований надвидовых систем (Provorov, Vorobyov, 2010a; Проворов, Воробьев, 2012b). Многие гены бобовых, контролирующие БРС, вовлечены в развитие арбускулярной микоризы, эндوفитных и ризосферных ассоциаций, а также фитопаразитарных систем (Parniske, 2008; Shtark et al., 2010), показывая возможность экстраполяции знаний об эволюции БРС на широкий круг надвидовых комплексов.

В нашей статье рассмотрены факторы прогрессивной эволюции БРС, выявляемые путем анализа взаимосвязи между селективными процессами, происходящими в эндосимбиотических популяциях ризобий, и развитием субклеточных компартментов (симбиосом, инфекционных нитей) — экологических ниш для этих популяций. Показано, что повышение  $N_2$ -фиксирующей активности микросимбионтов растений, которое происходит при филиациях ризосферных и эндوفитных бактерий в клубенькообразующие формы, является результатом группового (междемового, родственного) отбора в пользу признаков мутуализма, индуцируемого в эндосимбиотических популяциях. Моделирование обратных связей, которые складываются между партнерами в ходе развития БРС, открывает возможность для количественной оценки адаптивных эффектов макроэволюционных событий, то есть для анализа прогрессивной эволюции симбиоза как продолжения его адаптивной эволюции.

## 2. ПРОГРЕССИВНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ СИМБИОЗА

Эволюционная история БРС началась 60–70 млн лет назад с ризосферных и эндوفитных ассоциаций, которые предки бобовых (обладавшие генетически детерминированными «пре-диспозициями» к приобретению программ клубенькообразования: Markmann, Parniske, 2008), формировали с почвенными азотфиксирующими бактериями. Способность к эндосимбиозу с одноклеточными гетеротрофными азотфиксаторами, каковыми являются ризобии, — уникальное свойство бобовых. Поскольку отправной точкой эволюции БРС может считаться колонизация бактериями поверхностей растительных клеток, логично предположить, что важные предиспозиции (преадаптации) бобовых к эндосимбиозу были связаны со структурой клеточных стенок и внеклеточного матрикса. Факторами этих преадаптаций могли послужить АGRP-экстенсины — гликопротеины, уникальные для бобовых и вовлеченные в различные инфекционные процессы (Brewin, 2004).

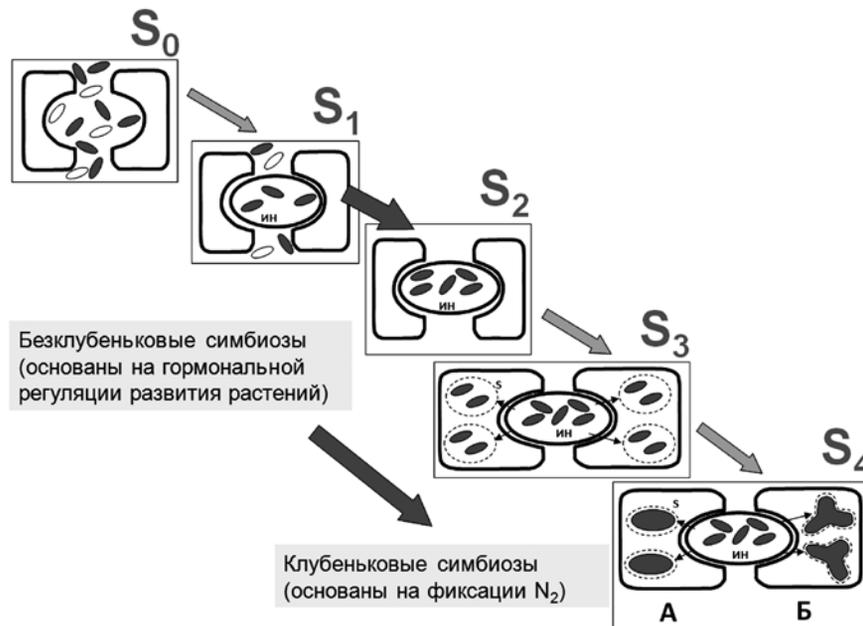
Дальнейшая эволюция БРС привела к его широкой диверсификации в отношении способности формировать клубеньки (известны безклубеньковые формы симбиоза; Bryan et al., 1996), локализации азотфиксирующих клеток ризобий, бактериоидов, в растительных тканях (внут-

ри- или внеклеточная) и уровня дифференцировки бактериоидов (обратимая, необратимая) (Sprunt, 2001, 2007; Provorov, Vorobyov, 2010a).

Ключевой стадией эволюции БРС стало приобретение ризобиями способности к синтезу липо-хито-олигосахаридных Nod-факторов (НФ) — сигналов, которые индуцируют образование клубеньковых примордиев в коре корня благодаря изменению баланса цитокининов и ауксинов (Wang et al., 2012). НФ сходны с Мус-факторами, которые продуцируют грибы арбускулярной микоризы (АМ) — древнейшего (возник более 450 млн лет назад) симбиоза, формируемого 80–90 % наземных растений (Maillet et al., 2011). Поскольку образование хитин-подобных молекул не характерно для  $\alpha$ - и  $\beta$ -протеобактерий, к которым относятся ризобии, представляется вероятным, что синтез НФ возник у них на основе латерального переноса от грибов некоторых генов, участвующих в метаболизме хитин-подобных веществ. Однако основная часть системы синтеза НФ сформировалась благодаря реорганизациям собственных генов бактерий в *nod*-опероны, активируемые растениями (Provorov, 1998; Krishnan, Chronis, 2008). Близость некоторых ризобий к бактериальным сателлитам АМ-грибов (*Gigaspora*, *Glomus*), колонизирующим поверхность гиф или их цитоплазму, позволяет предположить, что ризобии возникли из этих сателлитов, способных стимулировать инфекционность грибов, в том числе и с помощью полученных от них генов (Shtark et al., 2010).

Эволюционно значимым результатом действия НФ является формирование внутри- и внеклеточных компартментов для размещения  $N_2$ -фиксирующих бактерий. На ранних стадиях развития клубеньков в корневых волосках закладываются инфекционные нити (ИН), в которые ризобии попадают посредством эндоцитоза (Brewin, 2004). Приобретение этих внеклеточных компартментов определяет переход от неорганизованных инфекций корня через разрывы эпидермиса, в которые могут проникать различные представители ризосферной микрофлоры, к организованным инфекциям единичными клетками или микроколониями специфичных штаммов ризобий (Sprunt, 2001). Второй тип инфекции минимизирует антагонизм партнеров: ограничение бактериального инокулюма стенками ИН обеспечивает быстрое продвижение микробной популяции в ткани растения при сохранении им генетического гомеостаза. Развитие ИН в тканях клубенька создает условия для следующего этапа НФ-зависимого эндоцитоза: бактерии переходят в растительные клетки через особые участки ИН (инфекционные капли), инициируя формирование внутриклеточных симбиосом (Shtark et al., 2010).

Исходя из данных о прогрессивной эволюции БРС (суммированы в обзорах: Sprunt, 2001, 2007; Provorov, Vorobyov, 2010a), мы представили ее обобщенный путь, который включает три основные филиации (рис. 1): 1) от примитивного проникновения ризобий через раз-



**Рис. 1.** Прогрессивная эволюция бобово-ризобияльного симбиоза.  $S_0$ : бактерии (представлены овалами) проникают в корни растений через разрывы эпидермиса и локализуются в межклеточных пространствах кортекса, где происходит фиксация  $N_2$  (смешанные инфекции).  $S_1$ : бактерии локализуются как в межклеточных пространствах, так и в инфекционных нитях (ИН), определяя комбинированную (смешанная + клональная) инфекцию корней.  $S_2$ : бактерии локализуются только в ИН (где происходят  $N_2$ -фиксация), обеспечивая клональную инфекцию корней.  $S_3$ :  $N_2$ -фиксирующие бактерии (бактероиды) находятся в неспециализированных (мультибактериальных) симбиосомах, S (перибактероидные мембраны показаны пунктирными линиями, переход ризобий в растительные клетки — маленькими стрелками).  $S_4$ : необратимо дифференцированные бактероиды (А — веретеновидные у люцерны, Б — разветвленные у гороха) располагаются в специализированных (моно-бактериальных) симбиосомах

рывы эпидермиса к эволюционно продвинутому проникновению через корневые волоски ( $S_0 \rightarrow S_1 \rightarrow S_2$ ); 2) от внеклеточного поддержания  $N_2$ -фиксирующих бактерий в ИН (которые в этом случае называют «фиксационными нитями») к их внутриклеточному поддержанию в симбиосомах ( $S_2 \rightarrow S_3$ ); 3) от неспециализированных мультибактериальных симбиозом к специализированным монобактериальным симбиозом, в которых необратимо дифференцированные бактероиды развивают чрезвычайно высокую нитрогеназную активность ( $S_3 \rightarrow S_4$ ).

Филогенетические данные показывают, что стадии 1 и 2 осуществлялись параллельно во всех трех подсемействах бобовых, Fabaceae (Caesalpinioideae, Mimosoideae, Papilionoideae), тогда как стадия 3 ограничена симбиотически специализированными мотыльковыми «галегоидного» комплекса (включая трибы Galegae, Trifolieae и Viciaeae; Яковлев, 1991; Doyle et al., 2000) и арахисом (триба Aeschynomeneae). «Галегоидные» бобовые способны блокировать деление бактерий и вызывать необратимую дифференцировку бактероидов с помощью клубенек-специфичных цистеин-богатых NCR-белков, сходных с факторами защиты растений от патогенов (Mergaert et al., 2006). У мутанта *dnf1-1 Medicago truncatula* произошло

нарушение клубенек-специфичного компонента сигнального пептидазного комплекса, в результате чего связывание NCR-белков с бактероидами и их дифференцировка нарушены (van de Velde et al., 2010).

Сходный фенотип был выявлен у мутанта *sym31* гороха посевного (*Pisum sativum*), симбиозомы которого содержат группы недифференцированных бактероидов, окруженные едиными мембранами (Borisov et al., 1997). У этого мутанта число культивируемых бактерий, выделяемых из клубеньков, повышено в 60 раз по сравнению с растениями дикого типа, что говорит о сохранении бактероидами репродуктивной активности (Tsyganov et al., 2003). В клубеньках другого мутанта гороха, *sym40*, вблизи недифференцированных бактероидов, сохраняющих способность к размножению в симбиосомах, происходит активное выделение перекиси водорода (Цыганова и др., 2009), которое можно рассматривать в качестве менее специализированного и более древнего, по сравнению с NCR-белками, механизма контроля над размножением микросимбионтов.

Важно отметить, что дифференцировка бактероидов находится под контролем не только растений, но и бактерий, гены которых необходимы для формирования структур  $N_2$ -фиксирующего симбиоза. У ризобий люцерны (*Sinorhizobium meliloti*) образование бактероидов зави-

сит от гена *basA*, который обеспечивает сохранение целостности клеточных мембран после воздействия на них растительных NCR-белков (Капукапан et al., 2010), а также от гена *minE*, регулирующего клеточный цикл (Cheng et al., 2007).

### 3. КОНТРОЛЬ НАД ПОВЕДЕНИЕМ ЭНДОСИМБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ

Эволюция мутуалистических (полезных для хозяина) свойств бактерий происходит благодаря направленным перестройкам их эндосимбиотических популяций: благодаря контролю над развитием клубеньков растение организует эволюцию полезных для себя микросимбионтов (Progovov, Vorobyov, 2009). Действительно, в ходе развития клубеньков находящиеся в них популяции ризобий приобретают пространственные и генетические структуры, которые обеспечивают партнерам максимальный экологический выигрыш от  $N_2$ -фиксации. У бобовых, инфицируемых через корневые волоски, эти популяции характеризуются высокой клональностью, которая обуславливает активное снабжение углеродом  $N_2$ -фиксирующих бактерий, в пользу которых действует групповой (междемовый) отбор. Он сопровождается отбором против не фиксирующих  $N_2$  «симбионтов-обманщиков», проигрывающих активным  $N_2$ -фиксаторам в конкуренции за продукты растительного фотосинтеза. Этот отбор, изученный с помощью методики создания безазотной атмосферы (20 %  $O_2$  + 80 %  $Ar$ ) вокруг отдельных клубеньков (Denison, Kiers, 2004a, 2004b), обусловлен ограничением питания неактивных  $N_2$ -фиксаторов, а также защитными реакциями хозяина.

Поскольку популяция ризобий в каждом клубеньке представляет собой потомство одной или нескольких клеток, исходно инфицировавших корень, эти бактерии могут рассматриваться как «колониальные эндофиты», проявляющие свойства многоклеточных организмов (Brewin, 1991). Правомерность этой аналогии доказывает то, что в недетерминированных клубеньках «галегоидных» бобовых  $N_2$ -фиксирующие клоны ризобий разделены на доноров и реципиентов альтруизма, представленных неспособными к размножению бактериоидами (в симбиосомах) и изогенными им клетками, сохранившими способность к размножению (в ИН), соответственно. Этот фенотипический (эпигенетический) диморфизм стимулирует родственный отбор в пользу  $N_2$ -фиксирующих клонов, которые вне растения обладают более низкой выживаемостью, чем не фиксирующие  $N_2$  клоны (Progovov, Vorobyov, 2009). Необратимо дифференцированные бактериоиды в недетерминированных клубеньках «галегоидов» обладают двумя важными свойствами: а) в несколько раз превосходят по удельной нитрогеназной активности недифференцированные бактериоиды, образуемые ризобиями в детерминированных клубеньках бобовых из триб Phaseoleae и Loteae; б) не накапливают

запасных соединений (крахмал, гликоген) в связи с полным расходом получаемого от растений углерода на фиксацию  $N_2$  (Oono et al., 2009).

Дополнительным фактором, усиливающим отбор ризобий в пользу активной симбиотической  $N_2$ -фиксации, может быть их переход из ИН в межклетники базальной зоны стареющего клубенька, где происходит интенсивная пролиферация бактерий, питающихся разрушенными растительными клетками (Timmers et al., 2000). Кроме того, у 10–14 % штаммов *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* и *S. meliloti* в бактериоидах происходит синтез ризопина (L-3-O-метил-сциллоинозамина), усваиваемого только теми штаммами, которые способны к его синтезу (Heinrich et al., 2001). Поэтому потребление ризопина бактериями в ИН и ризосфере расширяет возможности для альтруистических взаимодействий между необратимо дифференцированными бактериоидами и изогенными им клетками ризобий, сохраняющими жизнеспособность.

Итак, цитологические и молекулярно-генетические данные показывают, что благодаря компартиментализации эндосимбиотических популяций ризобий в них индуцируется групповой (междивовой, родственной) отбор в пользу симбиотических  $N_2$ -фиксаторов, эволюцию которых невозможно объяснить только на основе индивидуального (Дарвиновского) отбора. Возникающие при этом взаимные адаптации партнеров являются результатом сопряженного развития и функционирования их клеток. Например, снижение численности внутриклубенькового клона, определяемое блокировкой репродукции бактериоидов защитными факторами хозяина, может быть компенсировано повышением нитрогеназной активности бактериоидов, вызывающим усиленный приток углерода в клубеньки (Udvardi, Kahn, 1992). Он обеспечивает пролиферацию недифференцированных бактерий в ИН, повышая приспособленность  $N_2$ -азотфиксирующего «колониального эндофита» (Brewin, 1991) как биологической единицы, сходной с многоклеточным организмом. Важность его образования очевидна из того, что наиболее широко (с точки зрения таксономии хозяев) распространенными  $N_2$ -фиксирующими симбионтами растений являются многоклеточные бактерии, *Frankia* и *Nostoc* (Franche et al., 2009).

### 4. ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ, ЦЕЛОСТНОСТИ И СПЕЦИФИЧНОСТИ СИМБИОЗА

Выше мы показали, что на ризобии, колонизирующие внутриклубеньковые компартменты, действует групповой отбор в пользу высокой  $N_2$ -фиксирующей активности. Он определяет взаимосвязь прогрессивной (связанной со становлением новых субклеточных ниш для поддержания бактерий) и адаптивной (связанной с повышением приспособленности партнеров) эволюции симбиоза.



**Рис. 2.** Бобово-ризобияльная система, полиморфная по специфичности взаимодействия партнеров. Система включает два генотипа растений (Г1, Г2) и три генотипа бактерий-мутуалистов: «специфичные» (М1, М2), «неспецифичный» (М3) в отношении способности фиксировать  $N_2$  при симбиозе с растениями. В системе реализуются три уровня  $N_2$ -фиксирующей активности: высокий ( $Fix^{++}$ ) для взаимодействий М1–Г1 и М2–Г2 (жирные линии); средний ( $Fix^+$ ) для взаимодействий М3–Г1 и М3–Г2 (тонкие линии); низкий ( $Fix^{-/+}$ ) для взаимодействий М1–Г2 и М2–Г1 (пунктирные линии). Соотношение уровней нитрогеназной активности для разных фенотипов,  $Fix^{++}:Fix^+:Fix^{-/+}$  равно 3:2:1. Соответствие этих фенотипов мутуалистическим, комменсальным и антагонистическим отношениям показано путем корреляционного анализа генотипических частот партнеров (разд. 4)

Поскольку макроэволюционные процессы недоступны для наблюдения и экспериментального анализа, мы применили для их изучения методы математического моделирования. В качестве показателя адаптивной ценности симбиоза была использована экологическая приспособленность (репродуктивная активность) партнеров, которая контролируется естественным отбором, действующим на индивидуальном и групповом уровнях. Для характеристики прогрессивной эволюции симбиоза мы использовали показатели его генотипической специфичности (приуроченности к определенным комбинациям растений и бактерий) и функциональной целостности (сопряженной изменчивости симбиотических признаков) (Provorov, Vorobyov, 2012).

Генотипическая специфичность симбиоза может быть использована как индикатор его эволюционного прогресса, поскольку узкая специфичность типична для «галегоидных» бобовых (включая роды *Medicago*, *Pisum*, *Trifolium*, *Vicia*): они формируют дискретные группы перекрестной инокуляции (Проворов, 1992) и обладают весьма сложной структурой клубеньков, тогда как их примитивная структура обычно сочетается с широкой специфичностью (Sprunt, 2007). Микросимбионты

«галегоидных» бобовых (*Rhizobium leguminosarum*, *Sinorhizobium meliloti*) имеют особые системы контроля симбиотической специфичности, представленные генами *nodEF*. Они кодируют синтез полиненасыщенных жирных кислот, присоединение которых к НФ обеспечивает инфицирование ризобиями строго определенных растений (Wang et al., 2012).

Использование функциональной целостности в качестве показателя эволюционного прогресса было предложено ранее для сингулярных организмов, целостность которых определяют путем корреляционного или ковариационного анализа различных морфофизиологических признаков (Шмальгаузен, 1983). Выявляемое таким образом повышение интегрированности организмов отражает не только их переход на новый уровень сложности, но и возрастание их адаптивного потенциала (Воробьева, 2006). Аналогичный подход был использован для моделирования эволюции многоклеточности, описанной путем ковариационного анализа приспособленности клеточных индивидов, которые объединяются в цельный организм, представляющий новую единицу отбора (Michod, Roze, 1997). В многоклеточных организмах целостность поддерживается иммунными и гормональными система-

ми, играющими важную роль также и в развитии растительно-микробных и животнов-микробных симбиозов (Stougaard, 2001; Tort et al., 2003; Kalevitch et al., 2004), показывая общность механизмов, обеспечивающих целостность симбиосистем и сингулярных организмов.

Для описания эволюции БРС мы (Provorov, Vorobyov, 2000, 2006, 2008, 2010b) представили ее как циклический (рекуррентный) процесс, каждый цикл которого включает: 1) инокуляцию симбиотических (клубеньковых) ниш конкурирующими бактериальными генотипами; 2) колонизацию бактериями симбиотических ниш (развитие бактериального инокулюма *in planta*), которые формируются растениями; 3) переход бактерий в почву, вызывающий дифференциальное отмирание различных генотипов. Для анализа эволюции симбиотической специфичности мы сформировали систему (рис. 2), состоящую из диморфной популяции растений (генотипы Г1, Г2) и низкополиморфной популяции бактерий, которая содержит два типа мутуалистов: «специфичные» (М1, М2), у которых активность  $N_2$ -фиксации зависит от генотипа хозяина, и «неспецифичный» (М3), который одинаково активно фиксирует  $N_2$  в симбиозе с обоими хозяевами.

Эффективность мутуалистического симбиоза (ЭМС) определяли как отношение количества семян, образуемых при инокуляции растений полиморфной популяцией бактерий, к максимально возможному количеству семян, которые были бы образованы при инокуляции каждого генотипа растений только специфичным по отношению к нему симбионтом (Г1–М1, Г2–М2). Для описания эволюционного процесса мы использовали 45 базовых системных параметров, характеризующих объемы симбиотических и почвенных ниш, интенсивность конкуренции бактерий за инокуляцию различных ниш, а также скорости размножения и отмирания бактерий в этих нишах (Provorov, Vorobyov, 2010b).

Ранее при анализе параллельного генетического варьирования бобовых и ризобий выяснилось, что повышение эффективности симбиоза тесно связано с возрастанием его специфичности (Проворов, Тихонович, 2003).

Компьютерные эксперименты показали, что эта связь определяется повышенной интенсивностью отбора в пользу специфичных мутуалистов М1 и М2 по сравнению с неспецифичным мутуалистом М3 (Проворов, Воробьев, 2010). Более того, мутуализм оказался эволюционно стабильным только в специфичных комбинациях партнеров (Г1–М1, Г2–М2), для которых корреляции их генотипических частот всегда положительны ( $r = +0,57... +0,62$ ;  $P_0 < 0,01$ ). В неспецифичных комбинациях данные корреляции либо отрицательны ( $r = -0,58... -0,66$ ;  $P_0 < 0,01$  для Г1–М2, Г2–М1), либо недостоверны ( $r = -0,42... +0,03$  для Г1–М3, Г2–М3), показывая эволюционную нестабильность мутуализма, проявляющего тенденцию к трансформации в комменсализм или антагонизм (Provorov, Vorobyov, 2012). Давления отбора (рассчитанные на основе сдвигов генотипических частот, вызванных флуктуациями системных параметров) в пользу специфичных мутуалистов М1 и М2 составляют 0,019–0,037, существенно превышая давления в пользу неспецифичного мутуалиста М3 (0,003–0,008). Поэтому для анализа соотношения адаптивной и прогрессивной эволюции симбиоза ее необходимо изучать именно в специфичных генотипических комбинациях партнеров.

Для моделирования макроэволюции симбиоза мы ввели в исходную схему развития БРС ( $S_0$ , характеризующую смешанной инокуляцией клубеньковых ниш всеми штаммами ризобий) серию тест-изменений, которые представляют переходы от смешанного к клональному инфицированию растений, а также от внеклеточного к внутриклеточному поддержанию  $N_2$ -фиксирующих бактериоидов (Воробьев, Проворов, 2010). С помощью этих тест-изменений мы дали математическое описание процессов, представленных на рисунке 1, и показали, что прогрессивная эволюция симбиоза, осуществляемая одним из растительных генотипов (Г1), приводит к повышению его экологической приспособленности (частоты в системе), сопровождаемой возрастанием приспособленности его специфичного симбионта, М1 (табл. 1).

Таблица 1

#### Эффективность и целостность бобово-ризобияльных систем, обладающих различными схемами развития

Схемы развития симбиоза *	Частоты		Индексы ФИС ( $I_p$ ) **	Повышение ЭМС (%) по сравнению со схемой $S_0$ ***
	Г1	М1		
$S_0$ (растения колонизируются всеми штаммами бактерий)	0,50	0,244	0,216	0
$S_1$ (блокирована колонизация растений штаммом Р)	0,58	0,301	0,245	+20
$S_2$ (блокирована колонизация растений штаммами Р и М2)	0,68	0,438	0,899	+39
$S_3$ (скорость размножения штаммов М1 и М3 повышена на 50 %)	0,74	0,450	0,935	+65
$S_4$ (азотфиксирующая активность штаммов М1 и М3 повышена на 50 %)	0,84	0,554	0,977	+160

\* Эволюция программ развития симбиоза (рис. 1) ограничена генотипом Г1, для генотипа Г2 развитие всегда происходит по схеме  $S_0$ . Для моделирования эволюции использована система, представленная на рисунке 2 (штамм Р образует с обоими растительными генотипами не фиксирующие азот клубеньки). \*\* Индексы функциональной интегрированности симбиоза, ФИС ( $I_p$ ) рассчитывали путем факторного анализа ковариации генотипических частот партнеров (Provorov, Vorobyov, 2010b); при максимальной интегрированности  $I_p = 1$ ; при ее отсутствии  $I_p = 0$ . \*\*\* Эффективность мутуалистического симбиоза (ЭМС) для растительного генотипа Г1 определяли как повышение его семенной продуктивности, достигаемое в результате симбиотического взаимодействия

Для анализа функциональной интегрированности симбиоза (ФИС) мы разработали алгоритм компьютерных экспериментов, который включает: 1) введение в систему малых ( $\pm 1\%$ ) изменений 45 базовых параметров, моделирующих влияние флуктуаций средовых факторов на генетическую структуру системы; 2) определение сдвигов частот каждого растительного или бактериального генотипа под действием этих флуктуаций; 3) вычисление индексов ФИС ( $0 \leq I_n \leq 1$ ) путем факторного анализа ковариации генотипических частот партнеров.

Использование этого алгоритма показало, что при прохождении симбиосистемой рассмотренного выше эволюционного пути (рис. 1) индексы ЭМС и ФИС возрастают параллельно, однако их динамика существенно различается (табл. 1). Резкое увеличение ФИС наблюдали при переходе  $S_1 \rightarrow S_2$ , который соответствует становлению клонального типа инфицирования клубеньков. Это возрастание ФИС было предпосылкой для повышения ЭМС, которое наиболее выражено при переходе к необратимой дифференцировке бактериоидов (схема  $S_4$ ). Наиболее адаптивно значимыми являются переходы  $S_1 \rightarrow S_2$  и  $S_3 \rightarrow S_4$ , при которых прибавки частот Г1 и М1 максимальны (табл. 1). Эти частоты достоверно коррелируют между собой ( $r = +0,989$ ;  $P_0 < 0,01$ ), а также с индексами ФИС и ЭМС ( $r = +0,906... + 0,943$ ;  $P_0 < 0,05$ ), тогда как корреляция этих индексов недостоверна ( $r = +0,734$ ;  $P_0 > 0,05$ ).

Различная динамика функциональной интегрированности и экологической эффективности симбиоза может отражать наличие в его эволюции двух фаз, которые соответствуют безклубеньковой и клубеньковой формам БРС (Vryan et al., 1996; Проворов, Воробьев, 2012 а; рис. 1), основанным на регуляторных (синтез гормонов) и трофических ( $N_2$ -фиксация) взаимодействиях соответственно. Поскольку главной функцией регуляторных форм растительно-микробного симбиоза обычно является адаптация к абиотическим стрессам (Rodriguez et al., 2009; Dodd et al., 2010), логично предположить, что эволюция БРС под действием этих стрессов сопровождалась повышением целостности симбиоза.

## 5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Соотношение механизмов адаптивной и прогрессивной эволюции (микро- и макроэволюции) продолжает оставаться одной из наиболее дискуссионных проблем эволюционной биологии (Назаров, 2005; Попов, 2005). Тезис о том, что прогрессивная эволюция может быть сведена к контролируемому отбором накоплению малых, адаптивно значимых наследственных изменений (Майр, 1970; Тиморфеев-Ресовский и др., 1977), представляется в настоящее время сомнительным даже последовательным сторонникам дарвинизма, которые

признают, что действие отбора не создает предпосылок для повышения уровня биологической организации (Иорданский, 2010).

Продуктивной попыткой установить связь между прогрессивной и адаптивной эволюцией явилась предложенная И.И. Шмальгаузенем (1982, 1983) концепция целостности организмов, рассматриваемой как показатель их эволюционного прогресса и одновременно как мера их адаптивного потенциала. Однако и эта концепция не свободна от противоречий. Основное из них — сведение эволюции на повышение целостности к действию стабилизирующего отбора, который, очевидно, не может способствовать становлению эволюционных новаций.

Выход из этих противоречий дает использование симбиотических моделей, поскольку симбиоз представляет собой способ экологической адаптации, достигаемой путем приобретения новой морфофизиологической организации (de Vary, 1879). Оно приводит к возрастанию целостности надвидовой системы, происходящему под давлением движущего отбора (Проворов, Воробьев, 2012а). В настоящей статье мы показали, что связь адаптивной и прогрессивной эволюции симбиоза может быть представлена как параллельное возрастание экологической эффективности и функциональной целостности надвидовой системы, а также генотипической специфичности взаимодействия партнеров. На модели БРС выявляется прямая связь между развитием у растений новых субклеточных компарментов для размещения бактерий (которое определяет целостность симбиоза) и индукцией в их популяциях селективных давлений, направленных на повышение  $N_2$ -фиксирующей активности (определяют эффективность симбиоза).

Аналогичный подход может быть использован для широкого круга симбиозов, образуемых микроорганизмами с растениями и животными, которые развивают специальные органы (клубеньки бобовых, рубец и кишечник животных, мицетома тлей, трофосомы погонофор) для поддержания эндосимбионтов (Douglas, 1994; Seckbach, 2002). Они образуют в симбиотических органах многочисленные, метаболически активные и глубоко структурированные популяции, которые эволюционируют под действием трофических и регуляторных связей с хозяином. Для изучения этой эволюции необходимо проанализировать взаимосвязь между развитием компарментов, которые хозяин предоставляет для хостинга симбиотических микробов, с изменениями их популяционных структур, определяемых специфичными для симбиоза формами отбора.

Моделирование развития клубеньков бобовых показало, что генетическая и эпигенетическая дифференцировка ризобияльных популяций в компартаментах, предоставляемых хозяином, обеспечивает ризобиям популяционную структуру, оптимальную для активной фиксации  $N_2$

Таблица 2

**Эволюционные последствия становления клональной структуры бактериальных популяций в эндосимбиотических компартментах**

Реорганизации популяционных структур	Компартменты, содержащие ризобии	Механизмы усиления N <sub>2</sub> -фиксации в	
		Онтогенезе симбиоза	Эволюции симбиоза
Генетические: преимущественное размножение Fix <sup>+</sup> -генотипов (относительно Fix <sup>-</sup> -генотипов)	Инфекционные нити (внеклеточные)	Распределение C-соединений в Fix <sup>+</sup> -клубеньки; «санкции» против бактерий в Fix <sup>-</sup> -клубеньках	Междемовый отбор (основан на конкуренции между Fix <sup>+</sup> и Fix <sup>-</sup> -генотипами за C-соединения)
Эпигенетические: индуцируемая хозяином дифференцировка клеток Fix <sup>+</sup> -генотипов в неспособные к размножению бактериоиды	Симбиосомы (внутриклеточные)	Усиление потока C-соединений в Fix <sup>+</sup> -клубеньки, вызванное резко повышенной нитрогеназной активностью бактериоидов	Родственный отбор (основан на альтруизме бактериоидов по отношению к не фиксирующим N <sub>2</sub> бактериям)

(табл. 2). Эта дифференцировка стимулирует эволюцию ризобий благодаря: 1) изменению состава популяций в пользу N<sub>2</sub>-фиксирующих штаммов (повышение клональности популяций, обеспечивающей активное размножение N<sub>2</sub>-фиксаторов); 2) разделению N<sub>2</sub>-фиксирующих клонов на доноров альтруизма (необратимо дифференцированные бактериоиды, которые обладают чрезвычайно высокой нитрогеназной активностью) и реципиентов альтруизма (недифференцированные ризобии, которые не фиксируют N<sub>2</sub>, однако потребляют поставляемые хозяином питательные вещества, обеспечивая высокую приспособленность всего клубенькового клона).

Итак, высокая целостность симбиоза, определяющая его эффективность и специфичность, выявляется на двух уровнях: а) эндосимбиотических микробных популяций, которые можно рассматривать как колониальных эндосимбиотиков (Brewin, 1991), эволюционирующих под действием группового отбора; б) надвидовых комплексов, обладающих объединенными системами наследственности — симбиогеномами (Тихонович, Проворов, 2012). Дальнейший анализ взаимосвязи прогрессивной и адаптивной эволюции БРС может проводиться в нескольких направлениях.

Одно из них заключается в изучении специфичных для симбиоза форм отбора, действующих в популяции организмов-хозяев. Представляется необходимым выяснить, чем отличается отбор растений на повышение эффективности симбиоза с микроорганизмами (которое тесно связано с эволюцией новых тканевых и клеточных структур) от отбора на устойчивость к абиотическим стрессам (которая обычно ограничена физиологическими адаптациями). Решение этого вопроса позволит сопоставить механизмы и эволюционные последствия отбора, действующего на внутривидовом уровне (в популяциях сингулярных организмов) и на уровне симбиотических систем («холобионтов»; Zilber-Rosenberg, Rosenberg, 2008), среди которых наиболее изученными являются растительно-микробные комплексы.

Другое перспективное направление исследований заключается в анализе влияния специфичного для симбиоза группового отбора на геномную организацию

бактерий, которая резко различается у симбиотических форм и их свободноживущих аналогов. Большой интерес представляет связь между действием на бактерии группового отбора и их переходом от «колийной» (характерной для свободноживущих форм) организации генома к его многокомпонентной организации, характерной для экологически облигатных симбионтов, включая ризобий (Downie, Young, 2001).

Еще более интригующим является вопрос об эволюционной роли индуцируемых хозяином фенотипических (эпигенетических) изменений микроорганизмов. Особый интерес представляет изучение возможности наследования полезных для хозяина фенотипов, приобретаемых ризобиями под действием растительных сигналов (интенсивная фиксация N<sub>2</sub> *in planta*, необратимая дифференцировка бактериоидов). Эпигенетическое наследование было выявлено в чистых культурах *Bacillus subtilis*: оказалось, что метаболические различия, возникающие в популяции, могут поддерживаться в ряду клеточных поколений, вызывая споруляцию некоторых клеток, тогда как другие клетки сохраняют способность к делению (Veening et al., 2008). Логично предположить, что именно специфичные для симбиоза генетические и эпигенетические механизмы микроэволюции (табл. 2) определяют становление надвидовых систем наследственности, хологеномов (Zilber-Rosenberg, Rosenberg, 2008) или симбиогеномов (Тихонович, Проворов, 2012), представляющих собой продукты интеграции неродственных организмов.

#### **Благодарности**

Работа поддержана грантами РФФИ (12-04-00409 а), Президента РФ НШ-16.120.11.337 и Госконтрактами Минобрнауки РФ (16.552.11.7085, 8056).

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Берг Л. С., 1977. Труды по теории эволюции. Л.: Наука. 438 с.
2. Воробьев Н. И., Проворов Н. А., 2010. Моделирование эволюции бобово-ризобияльного симбиоза

- на повышение функциональной интегрированности партнеров и экологической эффективности их взаимодействия // Экол. генетика. Т. 8. № 3. С. 16–26.
3. Воробьева Е.И., 2006. Проблема целостности организма и ее перспектива // Изв. РАН. Сер. Биол. № 5. С. 530–540.
  4. Иорданский Н.Н., 2010. Чарлз Дарвин и проблема эволюционного прогресса // Журн. общей биологии. Т. 71. № 6. С. 488–496.
  5. Майр Э., 1973. Популяции, виды и эволюция. М.: Мир. 460 с.
  6. Назаров В.И., 2005. Эволюция не по Дарвину. М.: КомКнига. 520 с.
  7. Попов И.Ю., 2005. Ортогенез против дарвинизма. СПб.: Изд-во СПбГУ. 207 с.
  8. Проворов Н.А., 1992. Взаимосвязь между таксономией бобовых и специфичностью их взаимодействия с клубеньковыми бактериями // Ботанич. журн. Т. 77. № 8. С. 21–32.
  9. Проворов Н.А., 2005. Молекулярные основы симбиогенной эволюции: от свободноживущих бактерий к органеллам // Журн. общей биологии. Т. 66. № 5. С. 371–388.
  10. Проворов Н.А., Воробьев Н.И., 2010. Роль горизонтального переноса генов в эволюции клубеньковых бактерий, направляемой растением-хозяином // Успехи соврем. биол. Т. 130. № 4. С. 336–345.
  11. Проворов Н.А., Воробьев Н.И., 2012 а. Коэволюция партнеров и целостность симбиотических систем // Журн. общей биологии. Т. 73. № 1. С. 21–36.
  12. Проворов Н.А., Воробьев Н.И., 2012 б. Генетические основы эволюции растительно-микробного симбиоза. Под ред. И.А. Тихоновича. СПб.: Информ-Навигатор. 400 с.
  13. Проворов Н.А., Тихонович И.А., 2003. Эколого-генетические принципы селекции растений на повышение эффективности взаимодействия с микроорганизмами // С.-х. биология. № 3. С. 11–25.
  14. Тимофеев-Ресовский Н.В., Воронцов Н.Н., Яблоков А.В., 1977. Краткий очерк теории эволюции. 2-е издание. М.: Наука. 300 с.
  15. Тихонович И.А., Проворов Н.А., 2012. Развитие подходов симбиогенетики для изучения изменчивости и наследственности надвидовых систем // Генетика. Т. 48. № 4. С. 437–450.
  16. Цыганова А.В., Цыганов В.Е., Борисов А.Ю. и др., 2009. Сравнительный цитохимический анализ распределения перекиси водорода в клубеньках мутанта гороха SGEFix<sup>-1</sup> (sym40) и исходной линии SGE // Экол. генетика. Т. 7. С. 3–9.
  17. Шмальгаузен И.И., 1982. Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии. М.: Наука. 383 с.
  18. Шмальгаузен И.И., 1983. Пути и закономерности эволюционного процесса. М.: Наука. 359 с.
  19. Яковлев Г.П., 1991. Бобовые земного шара. Л.: Наука. 192 с.
  20. Borisov A., Rozov S.M., Tsyganov V.E. et al., 1997. Sequential functioning of *Sym-13* and *Sym-31*, two genes affecting symbiosome development in root nodules of pea (*Pisum sativum* L.) // Mol. Gen. Genet. Vol. 254. P. 592–598.
  21. Brewin N.J., 1991. Development of the legume root nodule // Ann. Rev. Cell Biol. Vol. 7. P. 191–226.
  22. Brewin N.J., 2004. Plant cell wall remodeling in the *Rhizobium*-legume symbiosis // Crit. Rev. Plant Sci. Vol. 23. P. 1–24.
  23. Bronstein J.L., 2009. The evolution of facilitation and mutualism // J. Ecol. Vol. 97. P. 1160–1170.
  24. Bryan J.A., Berlyn G.P., Gordon J.C., 1996. Towards a new concept of the evolution of symbiotic nitrogen fixation in the Leguminosae // Plant and Soil. Vol. 186. P. 151–159.
  25. Cheng J., Sibley C.D., Zaheer R., Finan T.M., 2007. A *Sinorhizobium minE* mutant has an altered morphology and exhibits defects in legume symbiosis // Microbiology. Vol. 153. P. 375–387.
  26. de Bary A., 1879. Die Erscheinung der Symbiose. Strassburg: Verlag Von Karl J Trübner. 30 s.
  27. Denison R.F., Kiers E.T., 2004a. Lifestyle alternatives for rhizobia: mutualism, parasitism and foregoing symbiosis // FEMS Microbiol. Lett. Vol. 237. P. 187–193.
  28. Denison R.F., Kiers E.T., 2004b. Why are most rhizobia beneficial to their plant hosts, rather than parasitic? // Microbes and Infection. Vol. 6. P. 1235–1239.
  29. Dodd I.C., Zinovkina N.Y., Safronova V.I., Belimov A.A., 2010. Rhizobacterial mediation of plant hormone status // Ann. Appl. Biol. Vol. 157. P. 361–379.
  30. Douglas A.E., 1994. Symbiotic interactions. Oxford. Univ. Press: Oxford, New York, Toronto. 190 p.
  31. Downie J.A., Young J.P.W., 2001. The ABC of symbiosis // Nature. Vol. 412. P. 597–598.
  32. Doyle J.J., Chappill J.A., Bailey C.D., Kajita T., 2000. Towards a comprehensive phylogeny of legumes: evidence from *rbcL* sequences and non-molecular data // Advances in legume systematics / Eds. P.S. Herendeen, A. Bruneau. Roy. Bot. Gardens: Key. P. 1–20.
  33. Filipcenko J., 1927. Variabilität und Variation, Berlin, Bornträger.
  34. Franche C., Lindstrom K., Elmerich C., 2009. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants // Plant and Soil. Vol. 321. P. 35–59.
  35. Frank S.A., 1994. Genetics of mutualism: the evolution of altruism between species // J. Theor. Biol. Vol. 170. P. 393–400.
  36. Heinrich K., Ryder M.H., Murphy P.J., 2001. Early production of rhizopine in nodules induced by *Sinorhizobium meliloti* strain L5–30 // Can. J. Microbiol. Vol. 47. P. 165–171.

37. Janzen D.H., 1980. When is it coevolution? // Evolution. Vol. 34. P. 611–612.
38. Kalevitch M.V., Kefeli V.I., Borsari B. et al., 2004. Final version chemical signaling during organisms' growth and development // J. Cell. Molec. Biol. Vol. 3. P. 95–102.
39. Karunakaran R., Haag A.F., East A.K. et al., 2010. BacA is essential for bacteroid development in nodules of Galeoid, but not Phaseoloid legumes // J. Bacteriol. Vol. 192. P. 2920–2928.
40. Krishnan H.B., Chronis D., 2008. Functional *nodFE* genes are present in *Sinorhizobium* sp. strain MUS10, a symbiont of the tropical legume *Sesbania rostrata* // Appl. Environ. Microbiol. Vol. 74. P. 2921–2923.
41. Mailliet F., Poinso V., Andre O. et al., 2011. Fungal lipochitooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza // Nature. Vol. 469. P. 58–65.
42. Margulis L., 2010. Symbiogenesis. A new principle of evolution rediscovery of Boris Mikhaylovich Kozo-Polyansky (1890–1957) // Charles Darwin and modern biology / Ed. E.I. Kolchinsky. Nestor-Historia: St.-Petersburg, Russia. P. 34–48.
43. Margulis L., Sagan D., 2002. Acquiring genomes. A theory of the origins of species. Basic Books, New York.
44. Markmann K., Parniske M., 2008. Evolution of root endosymbiosis with bacteria: how novel are nodules? // Trends in Plant Sci. Vol. 14. P. 77–86.
45. Mergaert P., Uchiumi T., Alunni B. et al., 2006. Eukaryotic control on bacterial cell cycle and differentiation in the *Rhizobium*–legume symbiosis // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 103. P. 5230–5235.
46. Michod R.D., Roze D., 1997. Transitions in individuality // Proc. Roy. Soc. Lond. B. Vol. 264. P. 953–857.
47. Oono R., Denison R.F., Kiers E.T., 2009. Controlling the reproductive fate of rhizobia: how universal are legume sanctions? // New Phytol. Vol. 183. P. 967–979.
48. Parniske M., 2008. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses // Nature. Rev. Microbiol. Vol. 6. P. 763–775.
49. Provorov N.A., 1998. Coevolution of rhizobia with legumes: facts and hypotheses // Symbiosis. Vol. 24. P. 337–367.
50. Provorov N.A., Vorobyov N.I., 2000. Population genetics of rhizobia: construction and analysis of an “infection and release” model // J. Theor. Biol. Vol. 205. P. 105–119.
51. Provorov N.A., Vorobyov N.I., 2006. Interplay of Darwinian and frequency-dependent selection in the host-associated microbial populations // Theor. Popul. Biol. Vol. 70. P. 262–272.
52. Provorov N.A., Vorobyov N.I., 2008. Equilibrium between the “genuine mutualists” and “symbiotic cheaters” in the bacterial population co-evolving with plants in a facultative symbiosis // Theor. Popul. Biol. Vol. 74. P. 345–355.
53. Provorov N.A., Vorobyov N.I., 2009. Host plant as an organizer of microbial evolution in the beneficial symbioses // Phytochem. Rev. Vol. 8. P. 519–534.
54. Provorov N.A., Vorobyov N.I., 2010a. Evolutionary genetics of plant-microbe symbioses. Ed. by I.A. Tikhonovich. NOVA Sci. Publ.: New York. 290 p.
55. Provorov N.A., Vorobyov N.I., 2010b. Simulation of evolution implemented in the mutualistic symbioses towards enhancing their ecological efficiency, functional integrity and genotypic specificity // Theor. Popul. Biol. Vol. 78. P. 259–269.
56. Provorov N.A., Vorobyov N.I., 2012. Reconstruction of the adaptively advantages macro-evolutionary events in the mutualistic symbioses // Evolutionary Biology: Mechanisms and Trends / Ed. P. Pontarotti. Springer: Heidelberg, New York, Dordrecht, London. P. 169–188.
57. Rodriguez R.J., Freeman D.C., McArthur E.D. et al., 2009. Symbiotic regulation of plant growth, development and reproduction // Commun. Integrat. Biol. Vol. 2. P. 141–143.
58. Seckbach J., 2002. Symbiosis: mechanisms and model systems. Kluwer Acad. Publ.: Dordrecht, Boston, London. 800 p.
59. Shtark O.Y., Borisov A.Y., Zhukov V.A. et al., 2010. Intimate associations of beneficial soil microbes with host plants // Soil Microbiology and Sustainable Crop Production / Eds. R. Dixon, E. Tilston. Springer: Berlin, Heidelberg. P. 119–196.
60. Sprent J.I., 2001. Nodulation in legumes. Cromwell Press Ltd: Kew. 110 p.
61. Sprent J.I., 2007. Evolving ideas of legume evolution and diversity: a taxonomic perspective on the occurrence of nodulation // New Phytol. Vol. 174. P. 11–25.
62. Stougaard J., 2001. Genetics and genomics of root symbiosis // Curr. Opin. Plant Biol. Vol. 4. P. 328–335.
63. Tikhonovich I.A., Provorov N.A., 2009. From plant-microbe interactions to symbiogenetics: a universal paradigm for the inter-species genetic integration // Ann. Appl. Biol. Vol. 154. P. 341–350.
64. Tikhonovich I.A., Provorov N.A., 2011. Microbiology is the basis of sustainable agriculture: an opinion // Ann. Appl. Biol. Vol. 159. P. 155–168.
65. Timmers A.C.S., Soupene E., Auriac M.C. et al., 2000. Saprophytic intracellular rhizobia in alfalfa nodules // Mol. Plant-Microbe Interact. Vol. 13. P. 1204–1213.
66. Tort L., Balasch J.C., Mackenzie S., 2003. Fish immune system. The crossroads between innate and adaptive responses // Immunologia. Vol. 22. P. 277–286.
67. Tsyganov V.E., Voroshilova V.A., Herrera-Cervera J.A. et al., 2003. Developmental down-regulation of rhizobial genes as a function of symbiosome differentiation in symbiotic root nodules of *Pisum sativum* L. // New Phytol. Vol. 159. P. 521–530.

68. *Udvardi M.K., Kahn M.L.*, 1992. Evolution of the (*Brady*) *Rhizobium*-legume symbiosis: why do bacteria fix nitrogen? // *Symbiosis*. Vol. 14. P. 87–101.
69. *Van de Velde W., Zehirov G., Szatmari A.* et al., 2010. Plant peptides govern terminal differentiation of bacteria in symbiosis // *Science*. Vol. 327. P. 1122–1126.
70. *Van Ham R.C., Kamerbeek J., Palacios C.* et al., 2003. Reductive genome evolution in *Buchnera aphidicola* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 100. P. 581–586.
71. *Veening J.W., Stewart E.J., Berngruber T.W.* et al., 2008. Bet-hedging and epigenetic inheritance in bacterial cell development // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 105. P. 4393–4398.
72. *Wang D., Yang S., Tang F., Zhu H.*, 2012. Symbiosis specificity in the legume–rhizobial mutualism // *Cell. Microbiol.* Vol. 14. P. 334–342.
73. *Young J.P.W., Crossman L.C., Johnston A.W.B.* et al., 2006. The genome of *Rhizobium leguminosarum* has recognizable core and accessory components // *Genome Biol.* Vol. 7. P. 34.
74. *Zilber-Rosenberg I., Rosenberg E.*, 2008. Role of microorganisms in the evolution of animals and plants: the hologenome theory of evolution // *FEMS Microbiol. Rev.* Vol. 32. P. 723–735.

#### ADAPTIVE AND PROGRESSIVE EVOLUTION OF PLANT-MICROBE SYMBIOSIS

*Provorov N. A. , Vorobyev N. I.*

✿ **SUMMARY:** In  $N_2$ -fixing symbionts of leguminous plants (rhizobia) evolution of the host-beneficial (“altruistic”) traits occurs in populations colonizing the subcellular compartments in nodules (infection threads, symbiosomes). These compartments are developed as a result of partners’ coevolution related to complications of trophic and regulatory interactions elevating the ecological efficiency of symbiosis. Their analysis enables us to study correlations between genetic mechanisms of adaptive and progressive symbiosis evolution which remain obscure in free-living organisms.

✿ **KEY WORDS:** plant-microbe interactions; symbiotic  $N_2$ -fixation; leguminous plants; root nodule bacteria (rhizobium); macro- and microevolution (progressive and adaptive evolution); efficiency, specificity and integrity of symbiosis.

#### ✿ Информация об авторах

**Проворов Николай Александрович** — заместитель директора по научной работе, доктор биологических наук. Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии. 196608, Санкт-Петербург, Пушкин, ш. Подбельского д. 3. E-mail: provorov@newmail.ru.

**Воробьев Николай Иванович** — кандидат технических наук, руководитель группы биоинформатики и математического моделирования. Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии. 196608, Санкт-Петербург, Пушкин, ш. Подбельского д. 3. E-mail: vorobyov@arriam.spb.ru.

**Provorov Nikolay Aleksandrovich** — Deputy Director in Research, Doctor of Biological Sciences. All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology. Podbelskiy chausse, 3, Saint-Petersburg, Pushkin, 196608, Russia. E-mail: provorov@newmail.ru.

**Vorobyev Nikolay Ivanovich** — Candidate of Technical Sciences. Head of the Group of Bioinformatics and Mathematical Simulation. All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology. Podbelskiy chausse, 3, Saint-Petersburg, Pushkin, 196608, Russia. E-mail: vorobyov@arriam.spb.ru.