



# ГЕНЕТИКА ПОПУЛЯЦИИ И ЭВОЛЮЦИЯ

*Статья посвящена памяти  
Елены Михайловны Лучниковой,  
которая внесла большой вклад  
в изучение частот-зависимого отбора*

© Н.И. Воробьев,  
Н.А. Проворов  
Всероссийский НИИ сельско-  
хозяйственной микробиологии  
Россельхозакадемии,  
Санкт-Петербург

## ДЕЙСТВИЕ ДАРВИНОВСКОГО И ЧАСТОТ-ЗАВИСИМОГО ОТБОРА ПРИ ФОРМИРОВАНИИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПОПУЛЯЦИИ В СИСТЕМЕ «ХОЗЯИН-СРЕДА»

✿ Предложена методика создания математических моделей для анализа сбалансированного полиморфизма, возникающего в популяции ризобий благодаря действию Дарвиновского и частот-зависимого отбора. Анализ модели показал, что факторами, определяющими полиморфизм, являются не только давления этих форм отбора, но и отношения емкостей экологических ниш, занимаемых бактериями в системе «растение—почва». Модель может быть использована для анализа селективных процессов в различных симбиотических системах, а также для прогнозирования последствий выпуска в окружающую среду генетически модифицированных растительных симбионтов.

✿ **Ключевые слова:** симбиоз; популяционная генетика; микроэволюция; Дарвиновский отбор; частот-зависимый отбор; сбалансированный полиморфизм; экологические ниши; клубеньковые бактерии (ризобии); клубеньки; генетическая безопасность

### ВВЕДЕНИЕ

Бактерии, образующие симбиозы с растениями или животными, характеризуются повышенной, по сравнению со свободноживущими бактериями, генетической пластичностью и скоростью эволюции [4, 31, 32]. Основная причина этого — флуктуации пространственной и генетической структуры их популяций, которые постоянно происходят в системах «хозяин—среда» и усиливают действие естественного отбора. Например, экологический полиморфизм микробных популяций (стабильный баланс симбиотически активных и асимбиотических штаммов) связан с периодической сменой направления индивидуального (Дарвиновского) отбора. Он поддерживает вирулентные штаммы при конкуренции за инфицирование хозяина, но не поддерживает во внешней среде, где селективными преимуществами часто обладают мутанты, повышенная адаптивность которых обусловлена утратой вирулентности.

Ключевую роль в эволюции симбиотических отношений играет частот-зависимый отбор (ЧЗО), направленный на поддержание редких генотипов [1]. В патосистемах, контролируемых по схеме «ген-на-ген», ЧЗО обычно связан с тем, что у хозяина отсутствует устойчивость против редко встречающихся генов вирулентности патогена [16, 24, 25, 29]. По мере возрастания их частот, происходит утрата часто встречающихся генов вирулентности, которые, в свою очередь, становятся объектами ЧЗО. Этот отбор выявлен также в популяциях вирусов [15] и бактериальных патогенов беспозвоночных [11], однако его действие в популяциях микробов, образующих со своими хозяевами мутуалистические симбиозы, изучено мало.

Одной из наиболее удобных моделей популяционной генетики симбиоза являются клубеньковые бактерии (ризобии) — факультативные азотфиксирующие симбионты растений [31, 32]. Ранее мы показали [2, 3, 5, 22], что в популяциях ризобий ЧЗО действует при конкуренции за образование клубеньков. Он проявляется в форме нелинейного преобразования частот конкурирующих штаммов при колонизации хозяина: их соотношение в клубеньках пропорционально соотношению в инокуляте, возведенному в степень «а» ( $0 < a < 1$ ; [8]). С помощью специально построенной математической модели мы показали, что при реально допустимых параметрах микробно-растительной системы ЧЗО обеспечивает размножение

очень редких генотипов ризобий (частоты менее  $10^{-19}$ ), что может быть причиной аномально высокой гетерогенности популяций, а также формирования их панмиктической структуры путем поддержания редких рекомбинантов [2, 3, 22]. Последний эффект играет ключевую роль в становлении симбиоза, так как большинство ризобий лишено способности к эффективной гибридизации, и однако их эволюция в значительной степени определяется горизонтальным переносом генов [21].

Целью настоящей работы является анализ взаимодействия ЧЗО с Дарвиновским отбором, баланс которых обеспечивает поддержание штаммов ризобий, обладающих низкой выживаемостью во внешней среде. Анализ условий закрепления таких штаммов в популяции представляет большой интерес, поскольку среди них активные азотфиксаторы встречаются чаще, чем среди штаммов с высокой выживаемостью вне хозяина.

### МИКРОЭВОЛЮЦИОННЫЙ ЦИКЛ

При построении модели мы считаем, что микроэволюция ризобий состоит из серии циклов, каждый из которых включает циркуляцию бактерий в системе экологических ниш «почва→ризосфера→клубеньки→почва» (рис. 1). Развитие субпопуляций во временных нишах (ризосфера, клубеньки) включает два процесса: инокуляцию (осуществляемую бактериями из ранее существовавших ниш) и колонизацию (последующее размножение бактерий инокулята до максимального уровня или емкости ниши: R — для ризосферы, N — для клубеньков). При этом почва является постоянной нишей, в которой численность бактерий никогда не опускается ниже ее емкости, равной S.

Пусть популяция ризобий состоит из родителя (P) и его мутанта (M), обладающего измененной приспособленностью в одной или нескольких нишах. Генетическая структура популяции характеризуется соотношением численностей M и P, изменения которого связаны с отбором или с мутациями. Хотя в реальных системах эти факторы действуют во всех нишах, мы примем, что в ризосфере и клубеньках происходит положительный отбор (дифференциальное размножение генотипов), а в почве — отрицательный отбор (дифференциальное отмирание генотипов) и мутации. Эти допущения основаны на относительной бедности почвы питательными веществами, которая ограничивает размножение бактерий и тем более — поддержание избытка бактерий, освобождаемых при отмирании клубеньков [12], а также повышает частоты мутаций [30]. Для моделирования переходных процессов в почвенной, ризосферной и клубеньковой субпопуляциях мы используем логистические уравнения [20, 27, 28], модифицированные для популяции из двух штаммов с ограниченной общей численностью [17].

Пусть  $t$ -й цикл включает 4 этапа, на каждом из которых генетическая структура популяции (соотношение M : P) меняется под действием мутационного давления или различных форм отбора (формулы, описывающие давление этих факторов, представлены в табл. 1 и 2, а последовательность их действия иллюстрирует рис. 1).

1-й этап. Популяция находится в почвенной нише, где ее численность постоянна (S), а структура меняется только под действием мутационного давления  $P \rightarrow M$  (обратное мутирование не рассматривается), характеризуемого коэффициентом  $M_i$  (Приложение 1, формула 1.1).

Таблица 1

Скорости изменения популяционной структуры ризобий при возникновении мутантов с повышенной или сниженной приспособленностью\*

q ( $\times 10^{-9}$ )	T <sub>1</sub>	T <sub>99</sub>	L <sub>N</sub> **	T <sub>1</sub>	T <sub>99</sub>	L <sub>R</sub> **	T <sub>1</sub>	T <sub>99</sub>	a**	T <sub>1</sub>	T <sub>99</sub>
Мутант с повышенной приспособленностью (v = 0,95; ω = 0,95; w = 1,05)											
0,001	320	14	5	32	17	100	2	13	0,90	41	15
0,01	57	14	10	17	15	10	2	11	0,85	15	14
0,1	11	14	50	4	14	1	3	12	0,80	6	14
1*	2	14	100*	2	14	0,1*	2	14	0,75*	2	14
10	1	13	500	1	13	0,01	2	14	0,70	1	13
Мутант со сниженной приспособленностью (v = 1,05; ω = 1,05; w = 0,95)											
0,001	321	26	5	33	30	100	3	33	0,90	41	61
0,01	57	26	10	18	28	10	3	27	0,85	15	44
0,1	11	26	50	4	26	1	3	26	0,80	6	33
1*	2	26	100*	2	26	0,1*	2	26	0,75*	2	26
10	1	26	500	1	26	0,01	2	26	0,70	1	21

Примечание: \*T<sub>1</sub> — число циклов, необходимое для закрепления M — занятия им хотя бы одной клубеньковой вакансии, T<sub>99</sub> — число циклов, необходимое для фиксации M — достижения им 99 % от своей предельной численности (считая от момента закрепления). Математические выражения параметров даны в Приложении 1 (эффект варьирования каждого из параметров рассматривали при фиксированных значениях других параметров, представленных в рамке);

\*\* — Варьирование изучали при q =  $10^{-9}$ .

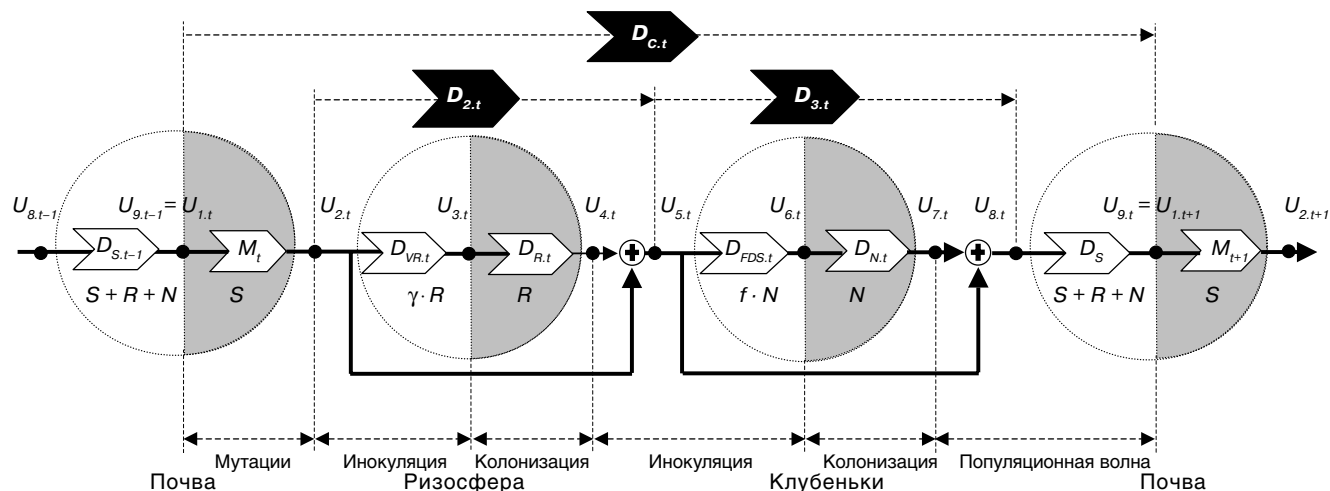


Рис. 1. Схематическое представление  $t$ -го микрорволюционного цикла:

$U_{...}$  — соотношения численностей мутанта и родителя;  $D_{...}$  — относительные сдвиги этих соотношений, характеризующие давления отбора ( $M_{...}$  — мутационное давление) внутри экологических ниш (белые стрелки) или по всей системе (черные стрелки);  $S, R, N$  — емкости почвенной, ризосферной и клубеньковой ниш;  $\oplus$  — суммация численностей бактерий после размножения во временных нишах (остальные параметры представлены в Приложении 1).

2-й этап. Численность бактерий в системе возрастает благодаря развитию ризосферной субпопуляции. Оно включает: 1) формирование инокулюма с численностью клеток  $\gamma \cdot R$  ( $0 < \gamma < 1$ ); 2) колонизацию ризосферы, при которой происходит дифференциальное размножение бактерий инокулюма и их общая численность достигает  $R$ . Оба процесса определяются Дарвиновским отбором, давления которого описывают величины  $D_{VR,t}$  и  $D_{R,t}$  (Приложение 1, формулы 1.2 и 1.3), причем приспособленность  $M$  характеризуется его относительной, по сравнению с  $R$ , скоростью размножения ( $v$ ).

Интегральное изменение популяционной структуры по всей системе (с учетом почвенной субпопуляции, структура которой на данном этапе не меняется) описывается величиной суммарного давления отбора  $D_{2,t}$  (Приложение 2, формула 2.1).

3-й этап. Численность бактерий в системе продолжает возрастать благодаря развитию клубеньковой субпопуляции. Поскольку в каждом клубеньке обычно содержится достаточно многочисленный клон ризобий, возникший в результате размножения единичной клетки из инокулюма, а число ризобий в почве и ризосфере (которые формируют инокулюм) многократно превосходит число клубеньков, для моделирования инокуляции клубеньковой ниши целесообразно использовать стохастическую модель.

Для ее построения мы предположили, что растения предоставляют бактериям фиксированное число клубеньковых вакансий, равное  $f \cdot N$  ( $0 < f < 1$ ), каждая из которых заполняется единичной клеткой, выбираемой из почвы или ризосферы по схеме Бернулли. В соответствии с данными опытов [8], этот процесс сопровождается нелинейным преобразованием частот  $M$  и  $R$ , зави-

сящим от ЧЗО, давление которого выражается величиной  $D_{FDS,t}$  (Приложение 1, формула 1.4). Мы считали, что  $M$  попадает в клубеньковую нишу на первом микрорволюционном цикле, для которого интегрированная (по всем предыдущим циклам) вероятность заполнения  $M$  хотя бы одной вакансии превысит 0,95. Этот подход позволил нам изучить возможность закрепления в клубеньковой нише  $M$ , обладающих сколь угодно низкой выживаемостью *ex planta*, тогда как в рамках детерминистической модели процесса конкуренции [2] такая возможность резко ограничена.

После формирования инокулюма численность бактерий в клубеньковой нише возрастает от величины  $f \cdot N$  до  $N$ , и этот переходный процесс описывается логистическими уравнениями. При этом в клубеньковой субпопуляции действует Дарвиновский отбор, давление которого выражается величиной  $D_{N,t}$  (Приложение 1, формула 1.5), и приспособленность  $M$  характеризуется его относительной, по сравнению с  $R$ , скоростью размножения ( $\omega$ ).

Интегральное изменение популяционной структуры по всей системе (с учетом почвенной и ризосферной субпопуляций, структуры которых на данном этапе не меняются) описывается величиной суммарного давления отбора  $D_{3,t}$  (Приложение 2, формула 2.2).

4-й этап. Симбиотическое взаимодействие завершается, и все бактерии, находящиеся в ризосфере и клубеньках, переходят в почву. В ней образуется временный избыток клеток — популяционная волна [6] с амплитудой  $L = (R + N) : S$ . Восстановление равновесной численности ризобий в почве есть результат переходного процесса, при котором общая численность бактерий снижается от величины  $R + N + S$  до  $S$ . При этом

осуществляется дифференциальное отмирание  $M$  и  $P$  под контролем Дарвиновского отбора, давление которого равно  $D_{s,t}$  (Приложение 1, формула 1.6), и приспособленность  $M$  характеризуется его относительной, по сравнению с  $P$ , скоростью отмирания ( $w$ ).

### СБАЛАНСИРОВАННЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ В МИКРОБНОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Итогом действия ЧЗО является сбалансированный полиморфизм, связанный с размножением редких генотипов, в том числе и тех, которые обладают низкой приспособленностью и вытесняются из популяции Дарвиновским отбором. Для того, чтобы изучить действие этих форм отбора на бактерии в системе «хозяин—среда», мы использовали параметр  $D_{C,t}$ , который характеризует суммарный сдвиг соотношения численностей  $M$  и  $P$  по всему циклу и равен произведению интегральных сдвигов данного соотношения по всем этапам цикла (Приложение 2, формула 2.3). Очевидно, что равновесие в популяции ризобий достигается тогда, когда ее генетическая структура (соотношение  $M : P$ ) в конце цикла оказывается такой же, какой она была в его начале. При  $t \rightarrow \infty$ , наблюдается  $D_{C,t} \rightarrow 1$ , то есть условие достижения сбалансированного полиморфизма может быть представлено как:

$$D_{C,\infty} = M_{\infty} \cdot D_{2,\infty} \cdot D_{3,\infty} \cdot D_{S,\infty} = 1 \quad (1)$$

Поскольку при реально допустимых частотах мутирования имеем  $M_{\infty} \cong 1$ , это условие может быть упрощено:

$$D_{2,\infty} \cdot D_{3,\infty} \cdot D_{S,\infty} \cong 1 \quad (2)$$

Построенная модель позволила изучать динамику частоты  $M$  в популяции, которую определяли на момент

начала каждого цикла ( $s_t$ ). При этом нас интересовал конечный результат микроэволюции системы — предельная частота  $M$  ( $s_{\infty}$ ), а также скорость микроэволюции, которую мы связали с числом циклов, необходимых для: а) закрепления  $M$  в клубеньковой нише ( $T_1$ ); б) фиксации  $M$ , которую мы связали с достижением им 99% от своей предельной частоты ( $T_{99}$ ).

Как и следовало ожидать, структура равновесной популяции зависит главным образом от баланса между Дарвиновским отбором (давление которого определяет приспособленность  $M$ , характеризуют величины  $v$ ,  $w$  и  $w$  — относительные скорости изменения численностей  $M$  и  $P$  в ризосферной, клубеньковой и почвенной субпопуляциях) и ЧЗО (давление которого зависит главным образом от величины коэффициента «а» в нелинейной модели конкуренции за образование клубеньков: Приложение 1, формула 1.4).

Для  $M$ , обладающих повышенной приспособленностью во всех нишах, выполняется соотношение  $0,5 < s_{\infty} < 1$ , а для  $M$  со сниженной приспособленностью — соотношение  $0 < s_{\infty} < 0,5$ . Возрастание давления ЧЗО ( $D_{FDS,\infty}$ ), связанное с уменьшением  $a$  ( $a \rightarrow 0$ ), повышает величину  $s_{\infty}$  для  $M$  со сниженной приспособленностью, но снижает эту величину для  $M$  с повышенной приспособленностью (рис. 2А). Если ЧЗО отсутствует ( $a = 1$ ;  $D_{FDS,\infty} = 1$ ), то  $M$  с повышенной приспособленностью вытесняет родителя, а  $M$  со сниженной приспособленностью элиминируется из популяции.

Скорость микроэволюции зависит от частоты мутирования  $P \rightarrow M$ , клубеньковой компоненты популяционной волны, давления ЧЗО (возрастание  $L_N$  или  $q$ , а также снижение «а» ускоряют закрепление  $M$ ) и от при-

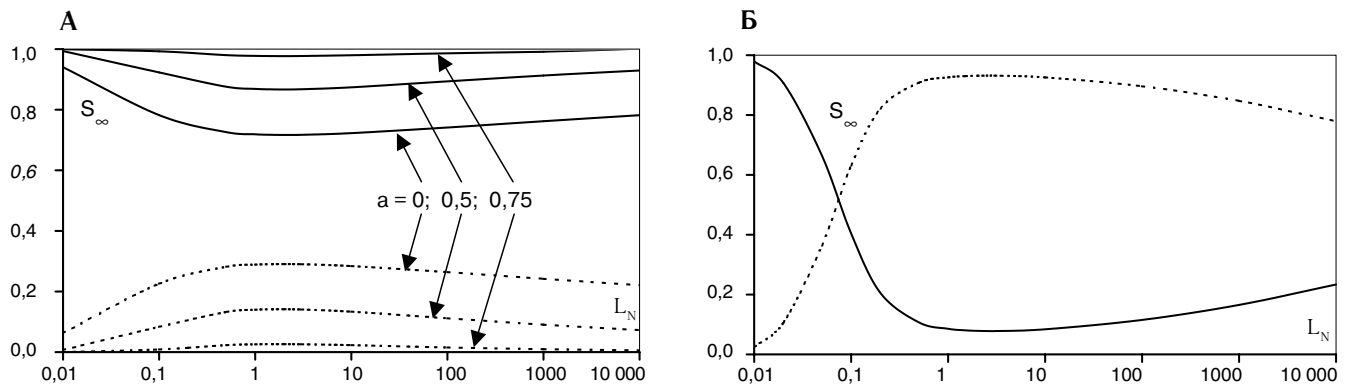


Рис. 2. Зависимость конечного уровня численности мутанта ( $s_{\infty}$ ) от амплитуды клубеньковой составляющей популяционной волны ( $L_N$ ) (величины основных параметров приведены в табл. 1):

А: сплошная линия — мутант с повышенной приспособленностью во всех нишах, прерывистая линия — мутант с пониженной приспособленностью во всех нишах (при различных величинах параметра «а» из формулы 1.4, Приложение 1);

Б: прерывистая линия — мутант с повышенной приспособленностью *in planta* ( $w = 0,95$ ) но с пониженной приспособленностью *ex planta* ( $w = 1,05$ ,  $v = 1,05$ ); сплошная линия — мутант с пониженной приспособленностью *in planta* ( $w = 1,05$ ) но с повышенной приспособленностью *ex planta* ( $w = 1,05$ ,  $v = 0,95$ ).

способленности  $M$  (при ее повышении предельная численность  $M$  достигается быстрее, чем при ее снижении) (табл. 1).

Анализ модели позволил нам обнаружить нестандартный эффект — зависимость конечной структуры популяции от соотношения емкостей почвенной и клубеньковой ниш, которое характеризуется амплитудой популяционной волны  $L_N$ . При этом была выявлена важная закономерность: для мутантов, у которых приспособленность во всех нишах изменена одинаковым образом (повышена или понижена), величины  $s_{\infty}$ , наиболее близкие к 0,5, достигаются при  $L_N = 0,5-2,0$  (рис. 2А). Из этого вытекает, что наиболее разнообразная популяция формируется в том случае, если ризобии с равной эффективностью колонизируют почву и клубеньки, тогда как предпочтение одной из этих ниш вызывает снижение полиморфизма. При возрастании  $L_N$  мутанты с повышенной приспособленностью проявляют тенденцию к вытеснению родителя, а мутанты со сниженной приспособленностью — к элиминации из системы.

Особый интерес представляет изучение динамики  $M$ , у которых приспособленность снижена *ex planta* (в почве и ризосфере), но повышена *in planta* (в клубеньках). Такие  $M$  могут рассматриваться как примеры штаммов, обладающих высокой азотфиксирующей активностью, которые быстро размножаются в клубеньках (куда растение активно поставляет углеводы), но часто обладают сниженной выживаемостью вне растения [13, 18].

Мы показали, что для таких  $M$  величина  $s_{\infty}$  может быть, в зависимости от  $L_N$ , как больше, так и меньше 0,5 (рис. 2Б). Это означает, что при определенных соотношениях емкостей почвенной и клубеньковой ниш, в системе «хозяин—среда» обеспечивается поддержание и даже преобладание генотипов, у которых высокая азотфиксирующая активность сопровождается низкой выживаемостью во внешней среде. Для  $M$  с противоположным изменением приспособленности (повышена *ex planta*, но снижена *in planta*) зависимость  $s_{\infty}$  от  $L_N$  носит обратный характер.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Широкое распространение ЧЗО в популяциях свободноживущих и симбиотических организмов позволяет рассматривать его как ключевой механизм поддержания в них сбалансированного полиморфизма [1]. Мы показали, что благодаря действию ЧЗО в популяции ризобий могут закрепляться штаммы, обладающие сниженной выживаемостью во внешней среде. Предложенная модель позволяет анализировать: а) механизмы эволюции самих ризобий, б) популяционную динамику других типов симбиотических микроор-

ганизмов, в) последствия выпуска в почву генетически модифицированных растительных симбионтов.

Действие ЧЗО позволяет объяснить многие особенности популяций ризобий, выявленные при анализе их генетической структуры, в первую очередь — аномально высокий уровень изменчивости. Показано [4], что индекс гетерогенности Нея [19], полученный при анализе изоферментного состава, для ризобий (*Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Bradyrhizobium*) равен в среднем 0,59; для специализированных патогенов животных и человека (*Bordetella*, *Borrelia*, *Erysipelotrix*, *Haemophilus*, *Helicobacter*, *Listeria*, *Mycobacterium*, *Neisseria*, *Staphylococcus*) — 0,45, а для энтеробактерий — лишь 0,37. Более того, в популяциях ризобий часто поддерживаются штаммы, чувствительные к эдафическим стрессам. При изучении ризобий сои и люцерны показано, что в кислых почвах (рН = 4,5–5,5) широко распространены рН-чувствительные штаммы, среди которых активные азотфиксаторы встречаются чаще, чем среди устойчивых штаммов [13]. Логично предположить, что способность осуществлять ЧЗО возникла в ходе коэволюции партнеров на поддержание мутуализма в условиях стресса. В этой связи важно отметить, что параметр симбиотической системы, определяющий давление ЧЗО (коэффициент нелинейного преобразования «а» из формулы 1.4, Приложение 1) зависит от сорта хозяина более существенно, чем от бактериального штамма [8, 9].

Механизмы действия ЧЗО в популяциях ризобий неясны, хотя анализ литературы позволяет обсуждать его связь с контактными (адсорбция клеток на поверхности корней) и с дистантными (синтез Nod-факторов) факторами взаимодействия партнеров [5]. В любом случае, ЧЗО индуцируется в системе симбиоза и обеспечивает полиморфизм ризобий по способности адаптироваться в различных нишах, включая сохранение симбиотически активных, но плохо выживающих *ex planta* генотипов. Связь ЧЗО с эндосимбиотической стадией жизненного цикла очевидна из того факта, что у ризосферных бактерий, лишенных специальных механизмов для проникновения в корни, при ассоциативном взаимодействии с хозяином популяционное разнообразие снижается в связи с размножением в прикорневой зоне ограниченного спектра штаммов, эффективно усваивающих экссудаты хозяина [26].

Созданная нами модель основана на свойствах ризобий, которые являются общими для многих симбионтов высших организмов. К числу этих свойств относятся: регулярная смена ниш в системе «хозяин—среда»; разделение процесса занятия каждой ниши на инокуляцию и колонизацию; периодический выход из организма хозяина во внешнюю среду, вызывающий обострение конкуренции среди свободноживущих бактерий. Поэтому очевидно, что предложенная нами методика

построения модели может быть применена для широкого круга симбиотических и ассоциативных систем, хотя некоторые ее элементы могут быть модифицированы с учетом особенностей каждой системы. Например, при инфицировании хозяина не отдельными клетками, а их группами (проникновение цианобактерий в кораллоподобные корни саговников или в листовые железы *Gunnera*) этот процесс может быть описан с использованием не стохастических, а более простых детерминистических подходов. При моделировании популяционной динамики агробактерий следует учитывать появление генетически измененных вариантов не только в почве, но и в организме хозяина, где могут индуцироваться мутации [10] или перенос генов [7].

Предложенная методика моделирования может быть использована для оценки рисков, связанных с интродукцией в агроценозы генетически модифицированных растительных симбионтов. Распространение новых конструкций, содержащих гены симбиоза, среди местных микроорганизмов может привести к возникновению рекомбинантов с непредсказуемыми свойствами [23]. Для повышения безопасности выпуска в среду модифицированных штаммов ризобий предлагалось снижать их рекомбинационную активность (например, при инактивации гена *recA*) или же выживаемость почве (при введении суицидных факторов) [14, 23]. Анализ нашей модели показал, что эти меры будут эффективными лишь в сочетании со снижением давления ЧЗО, который вызывает размножение в системе редких генотипов. В случае ризобий, это может быть достигнуто путем подбора растений-хозяев, при конкуренции за которые давление ЧЗО незначительно. Более радикальный подход заключается в регуляции циклического процесса микроэволюции бактерий в микробно-растительной системе, например, при использовании севооборотов, «разрывающих» этот процесс.

Работа поддержана грантами РФФИ (03-04-49555), CRDF (ST-012-0).

### Литература

1. Лучникова Е.М. Роль частотозависимого отбора в микроэволюции и экологические предпосылки его возникновения // Проблемы новейшей истории эволюционного учения. — Л.: Наука, 1981. — С. 95–114.
2. Проворов Н.А., Воробьев Н.И. // Генетика. — 1998. — Т. 34, № 12. — С. 1704–1711.
3. Проворов Н.А., Воробьев Н.И. // Генетика. — 1998. — Т. 34, № 12. — С. 1712–1719.
4. Проворов Н.А. // Журн. общ. биол. — 2000. — Т. 61, № 3. — С. 229–257.
5. Проворов Н.А., Воробьев Н.И. // Генетика. — 2003. — Т. 39, № 12. — С. 1594–1605.
6. Тимофеев-Ресовский Н.В., Воронцов Н.Н., Яблоков А.В. Краткий очерк теории эволюции. — М.: Наука, 1977. — 301 с.
7. Фарранд С.К. Конъюгативные плазмиды и их перенос // Rhizobiaceae. Молекулярная биология бактерий, взаимодействующих с растениями / Под ред. Спайнк Г., Кондорози А., Хукас П. — СПб.: Бионт, 2002. — С. 225–258.
8. Amarger N., Lobreau J.P. // Appl. Environ. Microbiol. — 1982. — Vol. 44, N 3. — P. 583–588.
9. Beattie G.A., Clayton M.C., Handelsman J. // Appl. Environ. Microbiol. — 1989. — Vol. 55, N 11. — P. 2755–2761.
10. Belanger C., Canfield M.L., Moore L.W., et al. // J. Bacteriol. — 1995. — Vol. 177. — P. 3752–3757.
11. Carius H.J., Little T.J., Ebert D. // Evolution. — 2001. — Vol. 55. — P. 1136–1145.
12. de Bruijn F.J., Davey M.E., Berges H. et al. Genetics and genomics of nutrient deprivation-induced, microaerobic and symbiotic gene expression in *Sinorhizobium meliloti* // Tikhonovich I.A., Lugtenberg B.J.J., Provorov N.A. (Eds.), Proc. 11-th Intern. Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions. IS-MPMI. — St.-Petersburg, Russia, 2004. — С. 405–410.
13. Del Papa M.F., Balague L.J., Sowinski S.C. et al. // Appl. Environ. Microbiol. — 1999. — Vol. 65, N 4. — P. 1420–1427.
14. Dresing U., Hagen M., Selbitschka W., et al. // FEMS Microb. Ecol. — 1998. — Vol. 27. — P. 327–338.
15. Elena S.F., Miralles R., Moya A. // Evolution. — 1997. — Vol. 51, N 3. — P. 984–987.
16. Frank S.A. // Trends in Genetics. — 1992. — Vol. 8. — P. 213–219.
17. Kubitschek H.E. Operation of selection pressure on microbial populations // Evolution in the Microbial World. — Cambridge: Cambridge University Press, 1974. — P. 105–130.
18. Leung K., Strain S.R., de Bruijn F.J., et al. // Appl. Environ. Microbiol. — 1994. — Vol. 60. — P. 416–426.
19. Nei M. // Genetics. — 1978. — Vol. 89. — P. 583–590.
20. Panikov N.S. Microbial growth kinetics. — London, Glasgow: Chapman & Hall, 1995.
21. Provorov N.A. // Symbiosis. — 1998. — Vol. 24. — P. 337–367.
22. Provorov N.A., Vorobyov N.I. // J. Theor. Biol. — 2000. — Vol. 205, N 1. — P. 105–119.
23. Puhler A., Dresing U., Keller M. et al. Field release experiments using *Sinorhizobium meliloti* strains tagged with a luciferase gene // Tikhonovich I.A., Lugtenberg B.J.J., Provorov N.A. (Eds.): Proc. 11-th Intern. Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions. IS-MPMI. — St.-Petersburg, Russia, 2004. — P. 575–578.
24. Purrington C.B. // Curr. Opin. Plant. Biol. — 2000. — Vol. 3. — P. 305–308.
25. Rausher M.D. // Nature. — 2001. — Vol. 411. — P. 857–864.
26. Schloter M., Leuhn M., Heulin T., et al. // FEMS Microb. Rev. — 2000. — Vol. 24. — P. 647–660.
27. Simkins S., Alexander M. // Appl. Environ. Microbiol. — 1984. — Vol. 47. — P. 1299–1306.
28. Smeth I., Bernaerts K., Sun J. et al. // Biotechnology and Bioengineering. — 2002. — Vol. 80. — P. 195–200.
29. Thompson J.N., Burdon J. // Nature. — 1992. — Vol. 360. — P. 121–125.
30. Vellai T., Kovacz A.T., Kovacz G., et al. // Proc. Roy. Soc. Lond. B. — 1999. — Vol. 266, N 1432. — P. 1953–1958.
31. Young J.P.W. Molecular population genetics and evolution of rhizobia // The Nitrogen Fixation and its Research in China. Hong G.F. (Ed.). — Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, 1992. — P. 366–381.
32. Young J.P.W. The population genetics of bacteria // Hopwood D.A., Chater K.F. (Eds.), Genetics of Bacterial Diversity. — London: Academic Press, 1989. — P. 417–438.

Математические выражения для микроэволюционных факторов, реорганизующих популяцию ризобий в различных нишах системы «растение–почва»

Факторы	Номера формул	Формулы, описывающие действия факторов на соотношение мутанта (М) и родителя (Р) на <i>t</i> -м микроэволюционном цикле*	Биологическое значение параметров*
Мутационный процесс в почве	1.1	$M_t = \frac{U_{2,t}}{U_{1,t}} = \frac{U_{1,t} + q}{(1-q) \cdot U_{1,t}}$ , где $U_{1,t} = Q_{M1,t} : Q_{P1,t}$ — отношение М : Р в начале мутационного процесса, а $U_{2,t} = Q_{M2,t} : Q_{P2,t}$ — в конце мутационного процесса	$q$ — доля клеток Р, которые мутировали в М; $Q_{M1,t}$ и $Q_{P1,t}$ — численности М и Р в начале, $Q_{M2,t}$ и $Q_{P2,t}$ — в конце мутационного процесса
Дарвиновский отбор при инокуляции ризосферы	1.2	$D_{VR,t} = U_{3,t} : U_{2,t} = \frac{x_t}{(\gamma \cdot R - x_t) \cdot U_{2,t}}$ , где $U_{3,t} = Q_{M3,t} : Q_{P3,t}$ — отношение М : Р в конце инокуляции; $x_t = \text{INT} \left( \gamma \cdot R \cdot \frac{U_{2,t}}{1 + U_{2,t}} \right)$ — функция, выделяющая целую часть числа	$R$ — емкость ризосферной ниши; $\gamma \cdot R$ — размер инокулюма; $\gamma$ — константа ( $\gamma \cdot R < S$ ; $\gamma < 1$ ); $S$ — емкость почвенной ниши; $Q_{M3,t}$ и $Q_{P3,t}$ — численности М и Р в конце инокуляции
Дарвиновский отбор при колонизации ризосферы	1.3	$D_{R,t} = U_{4,t} : U_{3,t} = g_{M,t}^{1-v}$ , где $U_{4,t}$ — отношение М : Р в конце колонизации; $g_{M,t} = \frac{Q_{M4,t}}{x_t} = \left( \frac{Q_{P4,t}}{\gamma \cdot R - x_t} \right)^{1/v}$ ; $x_t \cdot g_{M,t} + (\gamma \cdot R - x_t) \cdot g_{M,t}^v = R$ ; $\begin{cases} \frac{d \left( \frac{Q_{M,2}}{R} \right)}{d\tau} = \mu_{M,R} \cdot \left( 1 - \frac{Q_{P,2} + Q_{M,2}}{R} \right) \cdot \frac{Q_{M,2}}{R} \\ \frac{d \left( \frac{Q_{P,2}}{R} \right)}{d\tau} = \mu_{P,R} \cdot \left( 1 - \frac{Q_{P,2} + Q_{M,2}}{R} \right) \cdot \frac{Q_{P,2}}{R} \end{cases}$	$Q_{M,2}$ и $Q_{P,2}$ — мгновенные численности М и Р $\tau$ — момент времени в переходном процессе); $Q_{M4,t}$ и $Q_{P4,t}$ — их численности в конце колонизации; $\mu_{M,R}$ и $\mu_{P,R}$ — их специфические скорости размножения; $v = \mu_{P,S} : \mu_{M,S}$ (приспособленность М при $v > 1$ ниже, а при $v < 1$ — выше, чем у Р); $g_{M,t}$ — отношение численностей М в конце и начале колонизации
Частот-зависимый отбор при инокуляции клубеньков	1.4	$D_{FDS,t} = U_{6,t} : U_{5,t} = \frac{y_t}{(f \cdot N - y_t) \cdot U_{5,t}}$ , где $U_{5,t}$ — соотношение суммарных численностей М : Р в почве и ризосфере в начале инокуляции (вычисления представлены в Приложении 2); $U_{6,t} = Q_{M6,t} : Q_{P6,t}$ — соотношение количеств клубеньковых вакансий, занятых М и Р к концу инокуляции. В соответствии со схемой Бернулли, вероятность занятия М каждой клубеньковой вакансии на <i>t</i> -м цикле ( $\theta_t$ ) равна: $\theta_t = \frac{c \cdot U_{5,t}^a}{1 + c \cdot U_{5,t}^a}$ Вероятность занятия М различных количеств клубеньковых вакансий на циклах 1... <i>t</i> распределена по биномиальному закону. Вероятность того, что М не займет ни одной вакансии равна: $P_{N,t} = \prod_{j=1}^t (1 - \theta_j)^{f \cdot N} \cong e^{-\tilde{y}_t}$ , где $\tilde{y}_t$ — математическое ожидание числа вакансий, занятых М на циклах $j = 1 \dots t$ : $\tilde{y}_t = f \cdot N \cdot \sum_{j=1}^t \theta_j$ . С возрастанием номера цикла, $P_{N,t}$ монотонно снижается до 0. При $P_{N,t} > 0,05$ , все вакансии занимает Р. Закрепление М в клубеньковой нише происходит на первом цикле, для которого $P_{N,t} \leq 0,05$ (его номер обозначен $T_1$ ). Число вакансий, занятых М ( $Q_{M6,t}$ ) определяли как: $\begin{cases} 0 & \text{при } t < T_1 \\ y_t = \text{INT}(\tilde{y}_t) \geq 3 & \text{при } t = T_1 \\ \text{INT}(\tilde{y}_t) - \text{INT}(\tilde{y}_{t-1}) & \text{при } t > T_1. \end{cases}$	$a, c$ — коэффициенты модели конкуренции за образование клубеньков ( $0 < a < 1$ ); $Q_{M6,t}$ и $Q_{P6,t}$ — численности М и Р в конце инокуляции; $N$ — емкость клубеньковой ниши; $f$ — константа ( $f \ll 1$ ; $f \cdot N \ll R + S$ )

## ПРОДОЛЖЕНИЕ ПРИЛОЖЕНИЯ 1

Факторы	Номера формул	Формулы, описывающие действия факторов на соотношение мутанта (M) и родителя (P) на <i>t</i> -м микроэволюционном цикле*	Биологическое значение параметров*
Дарвиновский отбор при колонизации клубеньков	1.5	$D_{N,t} = U_{7,t} : U_{6,t} = h_{M,t}^{1-\omega}$ <p>где <math>U_{7,t} = Q_{M7,t} : Q_{P7,t}</math> — отношение M : P в конце колонизации</p> $h_{M,t} = \frac{Q_{M7,t}}{y_t} = \left( \frac{Q_{P7,t}}{f \cdot N - y_t} \right)^{1/\omega};$ $y_t \cdot h_{M,t} + (f \cdot N - y_t) \cdot h_{M,t}^\omega = N.$ $\left\{ \begin{aligned} \frac{d\left(\frac{Q_{M,3}}{N}\right)}{d\tau} &= \mu_{M,N} \cdot \left(1 - \frac{Q_{P,3} + Q_{M,3}}{N}\right) \cdot \frac{Q_{M,3}}{N} \\ \frac{d\left(\frac{Q_{P,3}}{N}\right)}{d\tau} &= \mu_{P,N} \cdot \left(1 - \frac{Q_{P,3} + Q_{M,3}}{N}\right) \cdot \frac{Q_{P,3}}{N} \end{aligned} \right.$	$Q_{M,3}$ и $Q_{P,3}$ — мгновенные численности M и P; $\mu_{M,N}$ , $\mu_{P,N}$ — специфические скорости их размножения; $\omega = \mu_{M,N} : \mu_{P,N}$ (приспособленность M при $\omega > 1$ ниже, а при $\omega < 1$ — выше, чем у P); $h_{M,t}$ — отношение численностей M в конце и начале колонизации; $Q_{M7,t}$ и $Q_{P7,t}$ — численности M и P в конце колонизации
Дарвиновский отбор в почве (при установлении равновесной численности бактерий после образования популяционной волны)	1.6	$D_{S,t} = U_{9,t} : U_{8,t} = e_{M,t}^{1-w}$ <p>где <math>U_{8,t}</math> — отношение M : P в начале, а <math>U_{9,t}</math> — конце отмирания бактерий (вычисление <math>U_{8,t}</math> представлено в Приложении 2)</p> $e_{M,t} = \frac{Q_{M9,t}}{Q_{M8,t}} = \left( \frac{Q_{P9,t}}{Q_{P8,t}} \right)^{1/w};$ $Q_{M8,t} \cdot e_{M,t} + [S \cdot (1+L) - Q_{M8,t}] \cdot e_{M,t}^w = S.$ $\left\{ \begin{aligned} \frac{d\left(\frac{Q_{M,4}}{S}\right)}{d\tau} &= \mu_{M,S} \cdot \left(1 - \frac{Q_{P,4} + Q_{M,4}}{S}\right) \cdot \frac{Q_{M,4}}{S} \\ \frac{d\left(\frac{Q_{P,4}}{S}\right)}{d\tau} &= \mu_{P,S} \cdot \left(1 - \frac{Q_{P,4} + Q_{M,4}}{S}\right) \cdot \frac{Q_{P,4}}{S} \end{aligned} \right.$	$Q_{M,4}$ и $Q_{P,4}$ — мгновенные численности M и P; $\mu_{M,S}$ , $\mu_{P,S}$ — специфические скорости их отмирания; $w = \mu_{P,N} : \mu_{M,N}$ (приспособленность M при $w > 1$ выше, чем у P, а при $w < 1$ — ниже, чем у P); $Q_{M8,t}$ и $Q_{P8,t}$ — численности M и P в начале, $Q_{M9,t}$ и $Q_{P9,t}$ — в конце отмирания бактерий; L — амплитуда популяционной волны ( $L = (R + N) : S$ ); $e_{M,t}$ — отношение численностей M в конце и начале отмирания

Примечание: \* — переменные величины обозначены курсивом.

## ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Математические выражения для суммарных давлений отбора на *t*-м микроэволюционном цикле

Этапы цикла	Номера формул	Формулы
2-й	2.1	$D_{2,t} = U_{5,t} : U_{2,t} = \frac{(1 + D_{VR,t} \cdot D_{R,t} \cdot U_{2,t}) + L_R \cdot D_{VR,t} \cdot D_{R,t} \cdot (1 + U_{2,t})}{(1 + D_{VR,t} \cdot D_{R,t} \cdot U_{2,t}) + L_R \cdot (1 + U_{2,t})},$ <p>где <math>U_{5,t} = \frac{Q_{M4,t} + Q_{M2,t}}{Q_{P4,t} + Q_{P2,t}} = \frac{U_{2,t} \cdot \frac{S}{1+U_{2,t}} + U_{4,t} \cdot \frac{R}{1+U_{4,t}}}{\frac{S}{1+U_{2,t}} + \frac{R}{1+U_{4,t}}}</math> — отношение M : P по всей системе в конце колонизации ризосферы</p>
3-й	2.2	$D_{3,t} = U_{8,t} : U_{5,t} = \frac{(1 + L_R) \cdot (1 + D_{FDS,t} \cdot D_{N,t} \cdot U_{5,t}) + L_N \cdot D_{FDS,t} \cdot D_{N,t} \cdot (1 + U_{5,t})}{(1 + L_R) \cdot (1 + D_{FDS,t} \cdot D_{N,t} \cdot U_{5,t}) + L_N \cdot (1 + U_{5,t})},$ <p>где <math>U_{8,t} = \frac{Q_{M8,t} : Q_{P8,t}}{Q_{P2,t} + Q_{M4,t} + Q_{M7,t}} = \frac{U_{5,t} \cdot \frac{1+L_R}{1+U_{5,t}} + U_{7,t} \cdot \frac{L_N}{1+U_{7,t}}}{\frac{1+L_R}{1+U_{5,t}} + \frac{L_N}{1+U_{7,t}}}</math> — отношение M : P по всей системе в конце колонизации клубеньков</p>
Весь цикл	2.3	$D_{C,t} = M_t \cdot D_{2,t} \cdot D_{3,t} \cdot D_{S,t}$

Примечание:  $L_R$  — ризосферная составляющая популяционной волны (амплитуда  $L_R = R : S$ ),  $L_N$  — клубеньковая составляющая популяционной волны (амплитуда  $L_N = N : S$ ); обозначения остальных параметров даны в Приложении 1.



**Interplay of Darwinian and frequency-dependent selection in the host-associated microbial population***Vorobyov N.I., Provorov N.A.*All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology,  
Saint-Petersburg

✿ **SUMMARY:** The method for mathematical simulation is suggested to analyze the balanced polymorphism in rhizobia population generated due to the interplay of Darwinian and frequency-dependent selection. Analysis of the model suggested that this polymorphism

is determined not only by the selection pressures but also by the capacities of ecological niches occupied by bacteria in the «plant-soil» system. The model may be used for analyzing the selective processes in various symbiotic systems and for predicting the consequences of releasing of genetically modified plant symbionts into environment.

✿ **KEY WORDS:** symbiosis; population genetics; microevolution; Darwinian selection; frequency-dependent selection; balanced polymorphism; ecological niches; root nodule bacteria (rhizobia); nodules; genetic safety