

© И. А. Тихонович,
Н. А. Проворов

ВНИИ сельскохозяйственной
микробиологии, Санкт-Петербург,
Пушкин

ЭПИГЕНЕТИКА ЭКОЛОГИЧЕСКИХ НИШ

✿ Развитие симбиозов обеспечивает формирование надорганизменных систем наследственности (симбиогеномов), возникающих в процессе совместных адаптаций партнеров к неблагоприятным условиям внешней среды. На примере симбиозов, позволяющих растениям и микроорганизмам совместно преодолевать дефицит основных биогенных элементов (углерода, азота, фосфора), а также действия биотических и абиотических стрессов, показано, что симбиоз включает не только формирование *de novo* (эпигенез) экологических ниш для размещения микросимбионтов, но и оперативные перестройки кодирующих их систем наследственности в зависимости от свойств микросимбионтов и от условий среды. Происходящее при этом развитие может быть описано в терминах эпигенетики тогда, когда микросимбионты, проникнув в новые ниши, включаются в репродуктивный цикл хозяина, обеспечивая стабильное поддержание новых адаптаций в ряду поколений: вновь сформированный симбиогеном приобретает свойства системы наследования благоприобретенных признаков.

✿ **Ключевые слова:** эпигенез; симбиогенез; эпигенетика; экологические ниши; растительно-микробные взаимодействия; N₂-фиксирующие клубеньки бобовых растений; арбускулярная микориза; ризосферные рост-стимулирующие бактерии; спорыньевые грибы; наследование благоприобретенных признаков.

Поступила в редакцию 21.05.2010.
Принята к публикации 03.11.2010.

ВВЕДЕНИЕ

Постоянно расширяющийся интерес к проблеме реализации генетической информации привел к появлению представлений, которые уточняют центральную догму молекулярной биологии (Инге-Вечтомов, 2003), и ко все более частому обращению к проблемам эпигенетики, которая изучает феномен наследования новых признаков, возникающих без изменений первичной структуры генов (Чураев, 2006). Эти проблемы обусловлены тем, что на пути от гена к признаку лежит целый ряд матричных процессов, отличающихся определенной неоднозначностью, так сказать «живущих своею жизнью». Поэтому не удивительно, что они вносят весомый вклад в фенотип, заставляя нас обсуждать явления, которые не находят достаточно полного объяснения в рамках представлений классической генетики.

Необходимость развития эпигенетики первым отметил Т. Морган (цит. по: Корочкин, 2006), который подчеркивал необходимость объяснить, каким образом клетки, имеющие одинаковый набор генов, в онтогенезе многоклеточного организма специализируются в разных направлениях. При этом Т. Морган допускал, что в ходе онтогенеза и сами гены могут претерпевать направленные изменения. Таким образом, первые причины, породившие необходимость эпигенетических построений, были связаны с развитием и дифференцировкой клеток в онтогенезе. Не случайно термин «эпигенетика» появился на основе ранее существовавшего термина «эпигенез».

Основоположник учения об эпигенезе К. Вольф (C. Wolff, 1759; цит. по К. Ф. Вольф, 1950) приводил много примеров из жизни растений, свидетельствующих о появлении в их онтогенезе новых приспособительных признаков. Однако ему далеко не всегда удавалось четко показать, что имеет место развитие *de novo*: часто для новых органов и тканей выявлялись зачатки, что не соответствовало строгому определению эпигенеза. Очевидно, что для обоснования теории эпигенеза необходимы такие модели, в которых процесс развития стартовал бы «с нуля», и в которых можно четко указать внешние причины, его вызывающие. Это и по сей день довольно сложная задача, и представляется, что для понимания сущности эпигенетики необходимо более глубоко проанализировать методические проблемы, которые К. Вольф пытался решить более двухсот пятидесяти лет назад.

Действительно, если изменение способа реализации наследственной информации предопределено самой этой информацией, записанной в геноме, то тогда эпигенетические феномены становятся предметом обычного генолиза (с поправкой на неоднозначность матричных процессов). Например, при заселении корней некоторые бактерии меняют свои свойства и приобретают способность к колонизации ризосферы, наследуемую в ряду поколений (Lugtenberg et al., 2004). Это обеспечивается запуском системы генов, вызывающей повышенную мутабельность за счет изменения системы репарации, что приводит к появлению и последующему отбору конкурентоспособных генотипов.

Другое дело, если в терминах эпигенетики описываются феномены ответа на воздействия внешней среды возникновением новых адаптаций, и это свя-

зано с адекватным и наследуемым изменением не только структурного, но и функционального состояния гена, что позволяет нам подойти к проблеме наследования благоприобретенных признаков. Было бы очень заманчиво обнаружить механизм такого наследования и овладеть им. Однако для того, чтобы это стало возможным, необходимо решить вопрос о том, насколько предопределены изменения организма, а значит и его генетической информации или же способов ее реализации. Можно поставить вопрос и по-иному: какие адаптационные возможности на изменения среды заранее «заготовлены» у организма, а какие признаки он может развить самостоятельно уже в данном поколении? При этом под предопределенностью (преформированностью) понимается не само существование организма или его генома, а именно наличие особых эпигенетических программ.

Уже сам К. Вольф (1950) признавал, что развитие *de novo* происходит под влиянием как внутренних, так и внешних причин, и именно внешние причины являются наиболее важными для создания экспериментальных моделей эпигенеза. Эти модели должны удовлетворять следующим требованиям: новые адаптации возникают заново и не имеют зачатков в смысле отсутствия зародышевой формы, а процесс появления адаптаций индуцируется под воздействием определенных внешних факторов. Таким требованиям в наилучшей мере удовлетворяют новообразования, складывающиеся у растений при симбиотических отношениях с микроорганизмами. В связи с заданными вопросами представляется интересным рассмотреть в качестве модели эпигенетических изменений процессы образования растениями новых ниш, заселяемых микроорганизмами — донорами полезных для хозяина функций.

ЭКОЛОГИЧЕСКИ ОБЛИГАТНЫЕ СИМБИОЗЫ И НАДОРГАНИЗМЕННЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ

Рассмотрим три различных типа взаимодействия микроорганизмов и растений. Первый из них — это ассоциативное взаимодействие, которое реализуется посредством заселения поверхности корней полезными формами бактерий, называемых PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), обеспечивающих растению ряд важных функций: оптимизацию питания, контроль над развитием патогенов, стимуляцию развития и ассимиляционной активности корней. При этом у растений не возникает новых видимых структур, и бактерии заселяют преимущественно те зоны корня, где происходит интенсивное выделение экссудатов (Кравченко и др., 2004).

Следующий симбиоз — развитие в корнях арбускулярной микоризы при взаимодействии с гломусовыми грибами, которые обеспечивают растению активное использование трофических ресурсов почвы, главным образом нерастворимых фосфатов. Хотя проникновение в корень и развитие арбускул — основных симбиотичес-

ких органов гриба, находится под жестким контролем растения (Genre, Bonfante, 2005), возможность такого симбиоза зависит от наличия фосфора: развития не происходит, если в почве много растворимых фосфатов или же их вообще нет. В обоих случаях микориза не нужна растению, и развитие корней не предусматривает эпигенеза симбиотических структур.

И наконец, третий, наиболее изученный тип симбиоза — это азотфиксирующий симбиоз клубеньковых бактерий и бобовых растений. Для их взаимодействия необходимы два условия — дефицит почвенного азота и наличие специфических бактериальных штаммов (Тихонович, Проворов, 2009). Важно отметить, что микоризный и клубеньковый симбиозы возникают только тогда, когда это необходимо растению, их возникновение четко детерминировано и они не развиваются в отсутствие условий, определяющих необходимость взаимодействия партнеров. Поэтому нам представляется целесообразным именовать процесс возникновения адаптаций данного типа «симбиогенез» (эпигенез симбиотических признаков), подчеркивая его преддетерминированный характер на уровне организма. Еще более четко это развитие проявляется на клеточном и молекулярном уровнях, где можно видеть, что симбиогенез сопровождается формированием единой генетической системы микросимбионта и хозяина.

Недавно мы (Tikhonovich, Provorov, 2009) сформулировали положение, справедливое для многих типов симбиоза, о его существовании в качестве единой, надорганизменной генетической системы — симбиогенома. Результатом ее работы является развитие новых адаптаций — в первую очередь тех, которыми партнеры не обладали до объединения. При этом вклады партнеров в генетический контроль симбиотических новообразований могут считаться равнозначными — мутации любого из партнеров прерывают симбиогенез, а фенотипы, возникающие при изменениях генов хозяина или микросимбионта, оказываются очень сходными. Для обозначения совокупности методов изучения симбиогенома нами введено понятие «симбиогенетики» (Тихонович, Проворов, 2003), которое подчеркивает, что закономерности развития симбиоза могут быть охарактеризованы в рамках классического генолиза.

В одном из обзоров Р. Н. Чураевым (2006) отмечено, что «эпигеном называется наследственная единица, имеющая не менее двух режимов функционирования подчиненных ей генов». Семантически «эпи» означает «над», что указывает на конвергенцию понятий симбиогенеза и эпигенеза: в этом смысле эпигенетика близка к симбиогенетике, которая изучает надорганизменные генные системы. В симбиозе мы наблюдаем функциональную интеграцию наследственных факторов партнеров, причем в этом случае единицей наследственности является как минимум пара взаимодействующих генов от микро- и макросимбионта, работающих в единой надорганизменной системе наследственности. Возникший симбиогеном

стабильно воспроизводится (наследуется) в ряду клеточных делений, приводящих к формированию экологических ниш, которые подробно изучены на молекулярно-генетическом и цитологическом уровнях (Brewin, 2004).

Начинается развитие клубенькового симбиоза с того, что бактерии узнают и воспринимают первоначальные, конститутивно выделяемые корнями сигналы (флавоноиды, бетаины) и в ответ начинают продуцировать Nod-фактор, который и запускает программу развития. Этот фактор представляет собой олигомер хитина, декорированный по многим участкам, причем данный декор контролируется генами бактерий, определяя их специфичность по отношению к растению-хозяину. Nod-фактор воспринимается рецепторными киназами растений, содержащими внеклеточные домены с несколькими LysM мотивами, характерными для ферментов, разрушающих олигосахариды. Воздействуя на LysM-содержащий рецептор, Nod-фактор, согласно терминологии В. В. Сусллова и Н. А. Колчанова (2009), активирует соответствующую генную сеть. С точки зрения предопределенности развития эта система может считаться новой в том смысле, что вне симбиотического взаимодействия она не может возникнуть, так как ни у одного из партнеров нет полного набора генов, необходимого для симбиоза: симбиогеном будет сформирован *de novo* из генов растений и бактерий. Вместе с тем, у обоих симбионтов имеются специфические гены, участвующие во взаимодействии, и именно поэтому бобовые растения и клубеньковые бактерии в принципе способны (преадаптированы) к симбиозу.

Переход растения в новое, симбиотическое состояние с целью получения дополнительных адаптаций в целом соответствует положению, которое развивает В. А. Драгавцев (2004), полагая, что онтогенез растений может идти разными путями, то есть с участием различных групп генов, в зависимости от сигнала, полученного из внешней среды в определенный момент развития. Действительно, в зависимости от наличия в среде либо азота и фосфора, либо клубеньковых бактерий и микоризных грибов, растения осуществляют или симбиотрофное, или автотрофное питание этими элементами. Таким образом, в случае симбиоза мы имеем закладку в корнях органов, которые не имеют никаких начальных структур для развития новых экологических ниш, и более того полной генетической информацией, необходимой для создания новой адаптации, не владеет ни один из партнеров.

БИОГЕНЕЗ СИМБИОСОМ

В процессе образования бобовыми растениями клубеньков наблюдается ряд клеточных и молекулярных процессов, которые вполне соответствуют представлениям эпигенетики. Действительно, в подходящей среде обитания для старта развития клубеньков достаточно совместимой бактерии, продуцирующей специфичный для данного вида бобовых Nod-фактор. Прикрепление

бактерий к кончику корневого волоска вызывает цепь событий, которые морфологически проявляются в его деформации и одновременной индукции делений кортикальных клеток корня (Brewin, 2004). Для доставки бактерий в его кортекс формируется инфекционная нить — тубулярная структура, которая содержит делящиеся бактериальные клетки. Инфекционная нить проникает в кортекс, где встречается с клетками вновь образованной меристемы (примордия) будущего клубенька, которые она инфицирует путем эндоцитоза. Затем в клетках растения формируются симбиосомы, где находятся бактериоиды, которые способны фиксировать N_2 и значительно отличаются от свободноживущих бактерий по ряду характеристик, в том числе и амплификацией генома. Бактериоид не делится и является тупиковой ветвью симбиогенеза, в связи с чем данную программу развития можно обозначить как стратегию управления судьбой бактериальной клетки, осуществляемого растением.

В работах лаборатории, руководимой А. Ю. Борисовым, детально изучен характер генетического контроля над развитием клубеньков и построена наиболее полная на сегодняшний день схема последовательной работы генов, контролирующих этот процесс (Borisov et al., 2003; Shtark et al., 2010). С использованием методов гибридологического анализа, в частности, путем объединения разных рецессивных мутаций по клубенькообразованию в одном растительном генотипе, нам удалось определить точную последовательность работы более чем 40 генетических факторов. Они оказались регуляторами, контролирующими работу многих сотен симбиотических генов не только у растений, но также и у бактерий (Voroshilova et al., 2009).

Важно подчеркнуть, что бактериальные гены также могут выступать в роли регуляторов эпигенеза, осуществляемого хозяином. Например, в промоторах растительных генов нодулинов (белки, специфически экспрессирующиеся в клубеньке) обнаружены последовательности, способные связываться с белками бактерий, в результате чего меняется уровень экспрессии генов хозяина (de Bruijn et al., 1994). В результате этого полученный от бактерий сигнал может многократно усиливаться, вовлекая в работу все новые гены растений. В частности, активаторы транскрипции, работающие «ниже по течению» от рецептора Nod-факторов, способны регулировать экспрессию нодулинов, например, клубенек-специфичных изоферментов метаболизма азота и углерода.

ПРОГРАММЫ РАЗВИТИЯ КЛУБЕНЬКА

Одновременно с формированием симбиосом на корнях бобовых развиваются новые органы — клубеньки, среди которых наиболее изучены два типа — детерминированный и недетерминированный. Различие между ними заключается в локализации возникающего *de novo* примордия, в стабильности поддержании меристем и в тканевой структуре, определяющей форму клубеньков. При

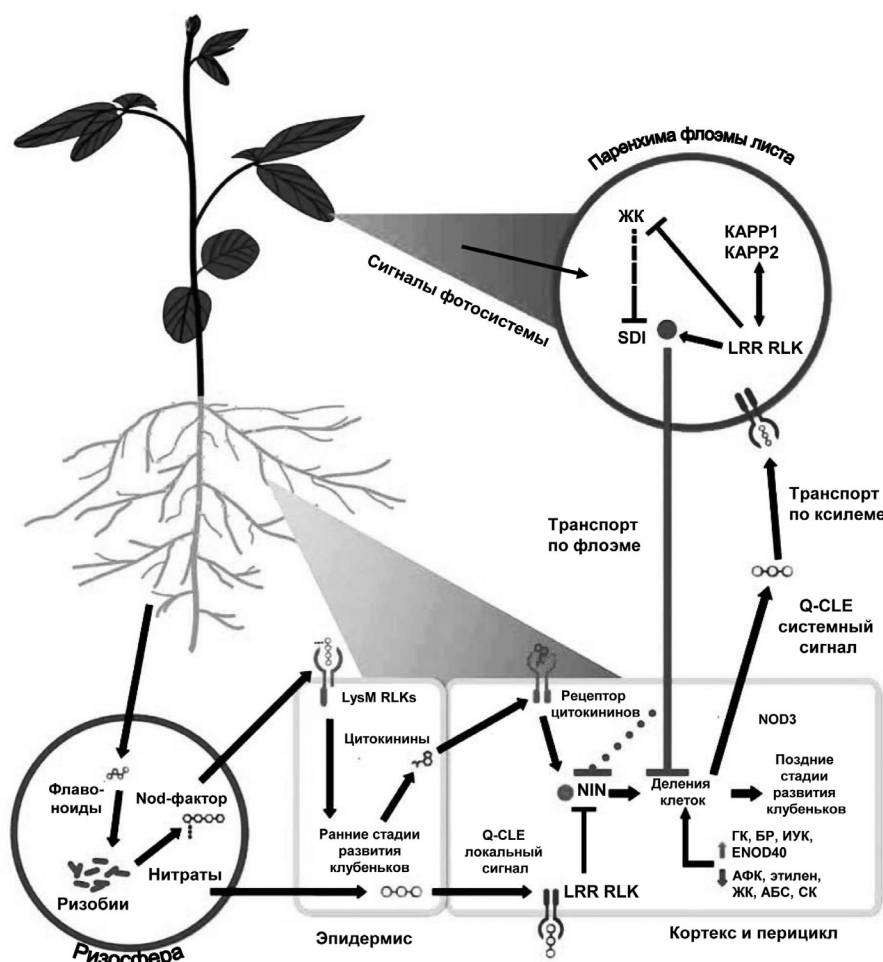


Рис. 1. Системная регуляция бобово-ризобияльного симбиоза (Ferguson et al., 2010; с изменениями).

LysM RLKs — рецептор-подобные киназы с доменами, связывающими олигохитиновые остатки; Q-CLE — сигнальные белки; LRR RLK — рецептор-подобная киназа с лейцин-богатыми повторами (узнает сигнальные факторы белковой природы); NIN — белок, активирующий развитие клубеньков при азотном голодании (структурно сходен с белком Mid *Chlamydomonas*, активирующим гаметогенез на безазотной среде); NOD3 — нодулин (клубенек-специфичный белок), накапливающимся в паренхиме клубенька; ENOD40 — нодулин, регулирующий баланс ауксинов и цитокининов при развитии клубенька; ГК — гибберелловая кислота; БР — брассиностероиды; ИУК — индоллил-уксусная кислота; АФК — активные формы кислорода; ЖК — жасмоновая кислота; АБС — абсцизовая кислота; СК — салициловая кислота; SDI — сигнальный фактор, синтезируемый в листьях и мигрирующий в корень, где он подавляет образование клубенькового примордия; KAPP1, KAPP2 — фосфорилазы белков, связанные с киназами

развитии недетерминированных клубеньков первые клеточные деления происходят антиклинально во внутреннем кортексе корня, после чего начинаются периклинальные деления в эндодермисе. Таким образом формируется новая меристема, которая постоянно функционирует, в результате чего клубеньки приобретают вытянутую форму, и в их структуре наблюдается четко выраженный градиент (гистологическая зональность): апикально расположенная меристема, следующая за ней зона инфицирования, зона активно фиксирующей азот бактериоидов и, наконец, базально расположенная зона старения.

Детерминированные клубеньки имеют округлую форму, в развитых клубеньках этого типа отсутствует меристема, в связи с чем не наблюдается градиента гистологической структуры. Первые деления клеток при

формировании клубенькового примордия происходят во внешнем слое кортекса. Возникшие клубеньки функционируют несколько недель и отмирают, а им на смену на молодых частях корня формируются новые клубеньки.

При развитии обоих типов клубеньков индукция новых меристем тесно связана с процессом проникновения бактерий во внутреннюю часть корня. Согласно современным представлениям (Ferguson et al., 2010), передача сигнала из эпидермиса в кортекс происходит посредством цитокининов и приводит к активации соответствующих рецепторов в клетках кортекса и периккла. Образование новых меристем связано с экспрессией нодулина ENOD40, локальным подавлением синтеза этилена и с поступлением в корни из листьев по сосудистой системе сигнала неизвестной пока природы (рис. 1).

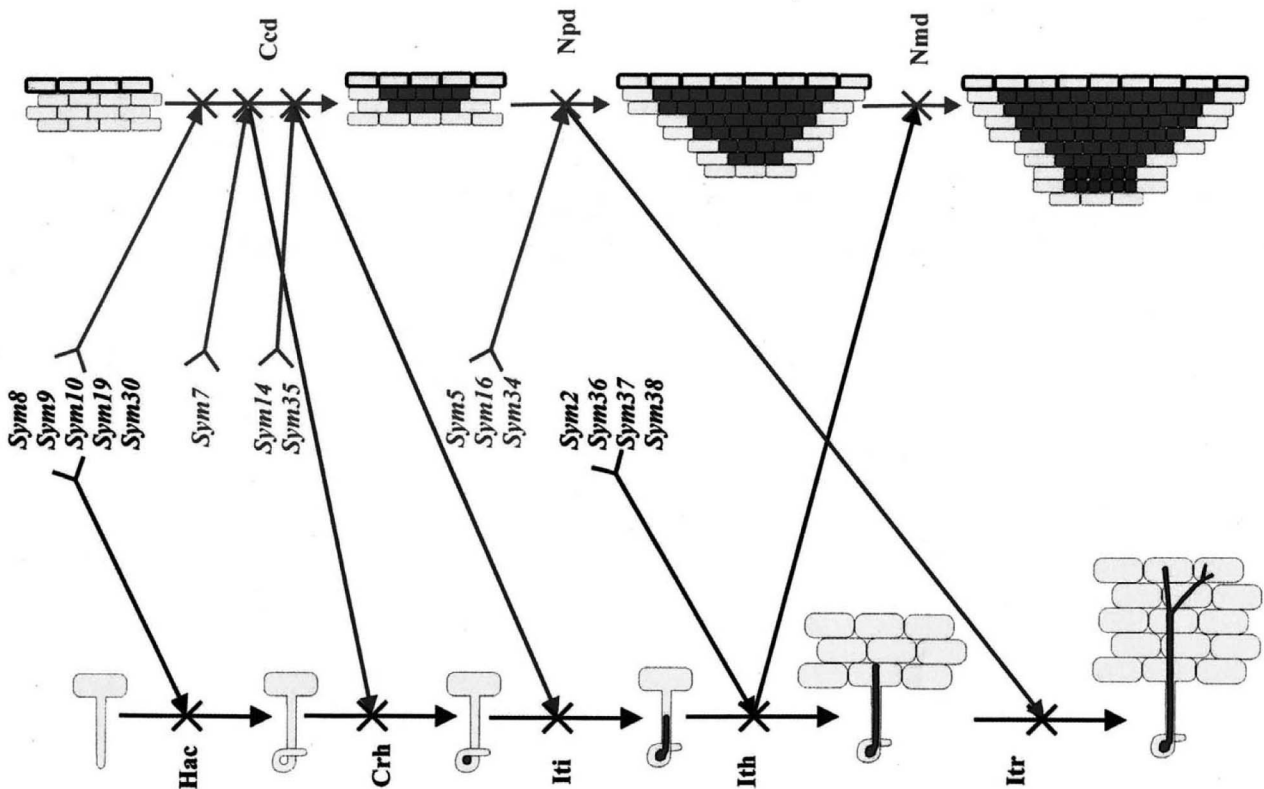


Рис. 2. Последовательность действия генов бобовых при развитии клубенька (по: Tsyganov et al., 2002).

Нас — деформация (скручивание) корневых волосков, Crh — колонизация ризобиями корневых волосков, Iti, Ith, Itr — последовательные стадии формирования инфекционных нитей, Ccd — индукция деления кортикальных клеток, Npd — развитие клубеньковых примордиев, Nmd — развитие клубеньковой меристемы

Поскольку мутации по генам, вовлеченным в первую программу, влияют и на образование меристем, очевидно, что полной программы «индукция клубеньковых меристем» у растений не существует, и мы имеем дело с непрерывным процессом эпигенеза этой программы при взаимодействии растений с бактериями.

Путем мутационного анализа было показано, что проникновение бактерий внутрь корня и органогенез клубенька — это события, связанные общностью контролирующих их генов, но различающиеся характером их регуляции (Tsyganov et al., 2002; Voroshilova et al., 2009). Действительно, индукция клубенькообразования имеет тканевую специфику, и известны мутанты растений, которые характеризуются спонтанным образованием меристем и формированием клубенькоподобных структур, не содержащих бактерии (Tirichine et al., 2006), а также мутанты, у которых бактериальная инфекция не сопровождается развитием клубеньков (Murray et al., 2007).

И наконец, чрезвычайно важным является то, что порядок работы одних и тех же генов в программах инфицирования и гистогенеза клубенька различен. Данное различие было впервые отмечено при фенотипической характеристике мутантов по клубенькообразованию, что позволило вычлнить ряд элементарных стадий развития клубеньковых структур (рис. 2). Выявленные при этом

схемы распространения симбиотических сигналов хорошо объясняют различный порядок действия генов при инфицировании клубеньков и их гистогенезе. Существенно то, что различный порядок работы генов в программах симбиоза сохраняется в ряду делений растительных клеток, то есть молекулярные различия этих программ носят выраженную эпигенетическую природу.

УНИВЕРСАЛЬНОСТЬ ГЕННЫХ СИСТЕМ СИМБИОЗА

Одним из наиболее впечатляющих событий в изучении симбиогенетики явилось установление общности растительных генов, контролирующих различные типы симбиозов с микроорганизмами (Provorov et al., 2002). Первыми были получены данные о том, что у бобовых многие мутанты по клубенькообразованию неспособны формировать и микоризный симбиоз. Это позволило разделить процесс микоризации на элементарные стадии, соответствующие фенотипам возникающих мутантов. Например, было показано, что мутанты гороха (*Pisum sativum*) с нарушением поздних стадий клубенькообразования могут иметь измененную динамику развития инфицирующих грибных гифов и арбускул. У мутанта *sym33* количество этих структур снижено,

однако эффективность симбиоза (интенсивность ассимиляции фосфата, продуктивность инокулированных растений) не изменена, так же как и у мутанта *sym40*, который характеризуется повышенным количеством инфицирующих гифов, а также ускорением процессов развития и деградации арбускул (Тихонович и др., 2005).

Сопоставляя стадии развития клубеньков и АМ, нарушенные у одних и тех же мутантов гороха, можно констатировать, что порядок работы генов хозяина при развитии этих симбиозов совпадает лишь частично. Этот факт позволяет поставить вопрос о механизмах вовлечения одного и того растительного гена в развитие либо клубеньков, либо АМ в условиях тройного симбиоза, который складывается при одновременной инокуляции растений ризобиями и гломусовыми грибами. Эти механизмы могут быть связаны со структурой промоторной зоны: у кормовых бобов (*Vicia faba*) усиление синтеза леггемоглобина, кодируемого геном *VjLb29*, выявлено в клетках и клубеньков, содержащих азотфиксирующие ризобии, и микоризованного кортекса, несущих арбускулы. Однако во втором случае активация гена требует присутствия в промоторе специального элемента из 85 пар оснований, который не является необходимым для активации *VjLb29* в инфицированных ризобиями клетках клубенька (Küster et al., 2007).

Как уже отмечалось, для растений важным симбиотическим партнером могут быть рост-стимулирующие ризосферные бактерии (PGPR). Хотя реализуемые ими механизмы ускорения роста весьма разнообразны, генетическая программа для размещения PGPR в нишах прикорневой зоны в значительной степени перекрывается с программами развития клубеньков и микоризы. Ризосферные ассоциации не имеют четко выраженных морфологических стадий, и поэтому возможности анализа генов растений, контролирующего ассоциативный симбиоз, весьма ограничены. Тем не менее, в лаборатории, руководимой В. Джаннинази-Пирсон, с помощью методов сравнительной транскриптомики было показано, что в ассоциативном симбиозе активны гены кальций-кальмодулин-зависимой киназы (DMI3), которые являются абсолютно необходимыми и для клубенькового, и для микоризного симбиозов (Sanchez et al., 2005). Мутанты по данному гену, не способные формировать микоризу и клубеньки, четко отличаются от дикого типа по транскрипционному профилю генов, активированных при инокуляции *Glomus* и ризобиями. После воздействия ризобактериями (*Pseudomonas fluorescens*) была отмечена активация многих генов, имевшая место для микоризного и азотфиксирующего симбиоза, однако профиль их активности в гораздо большей степени соответствовал профилю, выявленному для микориз. Вероятно, это связано с тем, что клубеньковый симбиоз эволюционировал на основе ранее существовавшей микоризы, и поэтому реакция растений на ассоциативные бактерии ближе к

древнему микоризному симбиозу. Важно отметить, что мутант по гену *DMI3* также проявляет специфические профили активности в ответ на инокуляцию PGPR, указывающие на то, что процесс образования ассоциативной системы у мутантов останавливается.

На основании этих представлений было сформулировано понятие «симбиотического острова» — группы функционально взаимосвязанных генов, вовлеченных в симбиотические отношения (Shtark et al., 2010). Помимо важного теоретического значения, изучение подобных островов имеет и четко выраженный практический интерес: селекция растений на повышение эффективности взаимодействия с одним из микросимбионтов ведет к улучшению общего симбиотического потенциала. Данная ситуация хорошо описывается положением Л. И. Корочкина (2006) о том, что клетка, получая различные сигналы, обладает способностью выбора программы, в которой ей, а точнее ее генам, наиболее целесообразно участвовать.

Таким образом, при эпигенезе симбиотических ниш, при взаимодействии растений с разными микробными партнерами, работает одна и та же система генов. Однако характер их экспрессии, а возможно и выполняемые функции существенно различаются, что открывает возможности для приобретения геномной системой симбиоза (симбиогеномом) статуса эпигенома, стабильно сохраняющего свой функциональный режим.

НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИЗНАКОВ, ПРИБРЕТЕННЫХ ПРИ СИМБИОЗЕ: ОТ ЭПИГЕНЕЗА К ЭПИГЕНЕТИКЕ

Итак, адаптация к неблагоприятным условиям среды у высших организмов, в первую очередь, у растений, часто происходит путем симбиозов, большинство из которых является экологически облигатными: они необходимы только в определенных условиях, и именно эти условия являются индуцирующими для симбиогенеза. Образование симбиозов данного типа обычно подразумевает приобретение из внешней среды и размещение в особых симбиотических нишах микроорганизмов — носителей новых признаков и, соответственно, кодирующих эти признаки генов. При этом *de novo* возникают не только специфичные для симбиоза структуры и функции, но и сама система наследственности, которая их кодирует, то есть феномен симбиогенеза является предпосылкой для осуществления эпигенетических процессов, связанных с наследованием адаптаций, приобретенных под влиянием внешних условий.

При рассмотрении эпигенетических понятий возникает достаточно много казусов, которые как будто не укладываются в классическую схему наследования. Так, Б. Ф. Чадов (2006) полагает, что передача по наследству функциональных состояний родительского генома может послужить основанием для серьезного рассмотрения идеи наследования благоприобретенных признаков.

Развитие симбиотических адаптаций у растений дает интересные примеры в этом отношении. Действительно, в присутствии азота у растения не возникают клубеньки, однако при дефиците азота они появляются, знаменуя «благоприобретение» признака. Если дефицит азота будут испытывать и последующие поколения растений, то формально мы будем наблюдать наследование клубенькообразования: воспроизведение растением симбиотического фенотипа «требует» соответствующих условий внешней среды. Ясно, что данный пример никак не подтверждает представления о неограниченном изменении наследственности под влиянием внешних факторов, насаждение которого в 30–50-е годы прошлого века нанесло огромный урон отечественной биологии. Однако он показывает возможность направленного, адаптивного изменения системы наследственности в том случае, если ее существование опосредовано экологически значимым взаимодействием организмов.

Действительно, генетические механизмы адаптации, связанные с образованием симбиоза, не ограничиваются эпигенезом, индуцированным определенными средовыми факторами: системы факультативного и экологически облигатного симбиоза имеют тенденцию эволюционировать в направлении генетической облигатности, то есть строгой обязательности для каждого из партнеров. Молекулярные механизмы этой эволюции, основанной на генетической редукции (утрате жизненно важных генов) микросимбионтов, а возможно и их хозяев, подробно описаны в литературе, например, на моделях взаимодействия насекомых с внутриклеточными симбионтами *Buchnera* и *Wolbachia* (Morgan, 2002). Однако и у растений, для которых подобные симбиозы мало характерны, наблюдается процесс, который соответствует представлениям о реализации предполагаемого эпигенетикой феномена наследования благоприобретенных признаков. К их числу относится вертикальное наследование защитных симбионтов растений, относящихся к спорыньевым грибам. Эти симбионты синтезируют мощные токсины, которые делают растения несъедобными для животных-фитофагов, причем одни из спорыньевых грибов совмещают эту полезную для хозяина функцию с проявлением различных фитопатогенных эффектов, а другие — являются «строгими» мутуалистами (Schardl et al., 2004).

Например, гриб *Neotyphodium*, попадая в организм растения (обычно злакового), проявляет себя как бессимптомный эндофит, присутствие которого в межклеточных пространствах может быть выявлено только с помощью микроскопического анализа или же благодаря специально введенным в гриб генетическим меткам. Этому симбионту растение «разрешает» проникать в семена (где гриб располагается в алейроновом слое), благодаря чему эндофит передается в дочерние растения с вероятностью, близкой к 100%. Таким образом,

растение не только «благоприобретает» полезный признак (биоконтроль животных-фитофагов) вместе с микробом-носителем кодирующей его наследственной информации (которого размещает в специально приготовленных эндосимбиотических нишах), но и организует наследование этого благоприобретенного признака, которое уже не зависит от того, подвергается ли растение атаке фитофага.

Однако эта программа ни в коем случае не реализуется, если микросимбионт имеет какие-либо неблагоприятные для хозяина свойства. Например, близкие к *Neotyphodium* грибы рода *Epichloë* помимо синтеза защитных токсинов проявляют мягкие патогенные эффекты, известные как чехловидная болезнь злаков: гриб прорастает на поверхности стеблей и листьев, образуя наружный мицелий, что подавляет образование соцветий, хотя усиливает вегетативный рост. Эти грибы, хотя и могут распространяться в растениях системно, в семена не попадают и не наследуются. Еще более строго растение контролирует спорынью (*Claviceps*) — симбионта, который совмещает токсичность для поедающих растения животных с жестким патогенным эффектом — разрушением инфицированных завязей (Tudzynski, Scheffer, 2004). Хотя распространение этого гриба приурочено к генеративным органам растений, его вертикальное наследование хозяином полностью исключено.

Эти примеры наглядно показывают, что эпигенез экологических ниш, осуществляемый организмом-хозяином, дает ему возможность направленно приобретать полезные симбиотические свойства вместе с их носителями — микроорганизмами. Возможность наследования новых признаков — это также функция эндосимбиотических ниш, которая заложена в программах их развития. Принципиальным является то, что такая эпигенетическая стратегия реализуется хозяином лишь в том случае, если вновь приобретенный микробный партнер является для хозяина строгим мутуалистом.

Таким образом, микробно-растительные системы дают нам уникальные модели для изучения процессов, имеющих эпигенетическую направленность. О том, насколько широки возможности для осуществления подобных процессов при симбиозе, свидетельствует тот факт, что растения стабильно поддерживают в своих тканях чрезвычайно разнообразные эндосимбиотические сообщества, которые насчитывают сотни видов таксономически разнородных бактерий и грибов (Rosenblueth, Martinez-Romero, 2006). Потенциальная возможность наследования через семена для многих из них вполне реальна. Более того, многие симбиотические бактерии способны передавать через системы секреции 3-го и 4-го типов широкий круг макромолекул, включая белки и нуклеиновые кислоты, в растительные клетки, которые затем мо-

гут давать начало генеративным меристемам. Вполне возможно, что именно в таких системах могут происходить нарушения «неписанной догмы Херши» (цит. по: Чураев, 2006), ограничивающей феномен наследственности информацией, записанной в последовательностях ДНК. Все это не может не стимулировать интерес широкого круга биологов к исследованию межорганизменных взаимодействий, которое способно дать нам ключи не только к расширению имеющихся представлений о механизмах наследственности, но и к формулированию принципиально новых генетических проблем, решение которых станет задачей будущих поколений исследователей.

Работа поддержана грантами РФФИ (09-04-00907а, 09-04-91007-АНФ_а, 09-04-92865-НИСИ_а, 10-04-01146-а), РФФИ-NWO(047.018.001), НИШ-3440.2010.4 и Госконтрактами (02.740.11.0276, 02.740.11.0698).

Литература

1. Вольф К. Ф., 1950. Теория зарождения / под ред. Е. Н. Павловского и А. Е. Гайсиновича. Москва: Изд-во АН СССР, «Классики науки». С. 9–211.
2. Драгавцев В. А., 2004. О «пропастях» между генетикой и селекцией и путях их преодоления // Вестн. Саратовского госагроуниверситета им. Н. И. Вавилова. № 1. С. 10–15.
3. Инге-Вечтомов С. Г., 2003. Матричный принцип в биологии (прошлое, настоящее, будущее) // Эколог. генет. Т. 1. С. 6–15.
4. Корочкин Л. И., 2006. Что такое эпигенетика? // Генетика. Т. 42. № 9. С. 1156–1164.
5. Кравченко Л. В., Азарова Т. С., Макарова Н. М., Тихонович И. А., 2004. Роль триптофана в корневых экзометаболитах для фитостимулирующей активности ризобактерий // Микробиология. Т. 73. № 2. С. 195–198.
6. Суслов В. В., Колчанов Н. А., 2009. Дарвиновская эволюция и регуляторные генетические системы // Информационный Вестник ВОГиС. Т. 13. № 2. С. 410–439.
7. Тихонович И. А., Борисов А. Ю., Цыганов В. Е. и др., 2005. Интеграция генетических систем растений и микроорганизмов при симбиозе // Усп. соврем. биол. Т. 125. № 3. С. 227–238.
8. Тихонович И. А., Проворов Н. А., 2009. Симбиозы растений и микроорганизмов: молекулярная генетика агроэcosystem будущего. Санкт-Петербург: Изд-во СПбГУ, 210 с.
9. Чадов Б. Ф., 2006. Новый этап в развитии генетики и термин «эпигенетика» // Генетика. Т. 42. № 9. С. 1261–1275.
10. Чураев Р. Н., 2006. Эпигенетика: генные и эпигенные сети в онто- и филогенезе // Генетика. Т. 42. № 9. С. 1276–1296.
11. Borisov A. Y., Madsen L. H., Tsyganov V. E. et al., 2003. The *Sym35* gene required for root nodule development in pea is an ortholog of *Nin* from *Lotus japonicus* // Plant Physiol. Vol. 131. P. 1009–1017.
12. Brevin N. J., 2004. Plant cell wall remodeling in the *Rhizobium*-legume symbiosis // Crit. Rev. Plant Sci. Vol. 23. P. 1–24.
13. de Bruijn F., Chen R., Fujimoto S. Y. et al., 1994. Regulation of nodulin gene expression // Plant and Soil. Vol. 161. P. 59–68.
14. Ferguson B. J., Indrasumunar A., Hayashi S. et al., 2010. Molecular analysis of legume nodule development and autoregulation // J. Integrat. Plant Biol. Vol. 52. P. 61–76.
15. Genre A., Bonfante P., 2005. Building a mycorrhizal cell: how to reach compatibility between plants and arbuscular mycorrhizal fungi // J. Plant Interact. Vol. 1. P. 3–13.
16. Küster H., Vieweg M. F., Manthey K. et al., 2007. Identification and expression regulation of symbiotically activated legume genes // Phytochemistry. Vol. 68. P. 8–18.
17. Lugtenberg B. J. J., Bloemberg G. V., Bolwerk A. et al., 2004. Microbial control of tomato foot and root rot // Biology of Plant-Microbe Interactions / Eds. I. A. Tikhonovich et al. St.-Petersburg: Biont. Vol. 4. P. 305–309.
18. Moran N. A., 2002. Genome evolution in symbiotic bacteria // ASM News. Vol. 68. P. 499–505.
19. Murray J. D., Karas B. J., Sato S. et al., 2007. A cytokinin perception mutant colonized by *Rhizobium* in the absence of nodule organogenesis // Science. Vol. 315. P. 101–104.
20. Provorov N. A., Borisov A. Y., Tikhonovich I. A., 2002. Developmental genetics and evolution of symbiotic structures in nitrogen-fixing nodules and arbuscular mycorrhizal symbiosis // J. Theor. Biol. Vol. 214. N 2. P. 215–232.
21. Rosenblueth M., Martinez-Romero E., 2006. Bacterial endophytes and their interactions with hosts // Molec. Plant-Microbe Interact. Vol. 19. P. 827–837.
22. Sanchez L., Weidmann S., Arnould C. et al., 2005. *Pseudomonas fluorescens* and *Glomus mosseae* trigger DMI3-dependent activation of genes related to a signal transduction pathway in roots of *Medicago truncatula* // Plant Physiol. Vol. 139. P. 1065–1077.
23. Schardl C. L., Leuchtman A., Spiering M. J., 2004. Symbioses of grasses with seedborne fungal endophytes // Annu. Rev. Plant Biol. Vol. 55. P. 315–340.
24. Shtark O. Y., Borisov A. Y., Zhukov V. A. et al., 2010. Intimate associations of beneficial soil microbes with the host plants // Soil Microbiology and Sustainable Crop Production / Eds. G. R. Dixon, E. L. Tilston. Springer Science + Business Media B. V., Dordrecht: The Netherlands. P. 119–196.
25. Tikhonovich I. A., Provorov N. A., 2009. From plant-microbe interactions to symbiogenetics: a universal paradigm for the interspecies genetic integration // Ann. Appl. Biol. Vol. 154. P. 341–350.
26. Tirichine L., Imaizumi-Anraku H., Yoshida S. et al., 2006. Deregulation of a Ca^{2+} /calmodulin-dependent kinase leads to spontaneous nodule development // Nature. Vol. 441. P. 1153–1156.
27. Tsyganov V. E., Voroshilova V. A., Priefer U. B. et al., 2002. Genetic dissection of the initiation of the infection process and nodule tissue development in the *Rhizobium*-pea (*Pisum sativum* L.) symbiosis // Annals of Botany. Vol. 89. P. 357–366.
28. Tudzynski P., Scheffer J., 2004. *Claviceps purpurea*: molecular aspects of a unique pathogenic lifestyle // Molec. Plant Pathol. Vol. 5. P. 377–388.

29. Voroshilova V. A., Demchenko K. N., Borisov A. Y. et al., 2009. Functioning of *Pisum sativum* genes *Sym33*, *Sym40* and *Sym41* with respect to coordinated infection thread and meristem development in symbiotic root nodules // *New Phytol.* Vol. 181. P.913–923.

EPIGENETICS OF ECOLOGICAL NICHES

Tikhonovich I. A., Provorov N. A.

✿ **SUMMARY:** The development of symbioses ensures formation of the super-organism systems for heredity (symbiogenomes) which represent the products of joint adaptations of partners towards an unfavorable environment. Using the examples of symbioses which enable plants and microorganisms to cooperatively overcome the limitations

in the major biogenic elements (C, N, P) or impacts of the biotic and abiotic stresses we demonstrate that symbiosis involves not only the *de novo* formation (epigenesis) by plant of the ecological niches for hosting the microsymbionts, but also the reorganizations of relevant genetic systems in accordance to the partners' genotypes and environmental conditions. A possibility to address the ongoing processes in terms of epigenetics is evident when the microsymbionts occurring in the novel niches are included into the host reproduction cycle ensuring a stable maintenance of novel adaptation in the next generations suggesting that the newly formed symbiogenome have acquired the properties of a system for inheritance of the newly acquired adaptive traits.

✿ **KEY WORDS:** epigenesis; symbiogenesis; epigenetics; plant-microbe interactions; N₂-fixing nodules of leguminous plants; arbuscular mycorrhiza; plant growth promoting rhizobacteria; ergot fungi; inheritance of the newly acquired adaptive traits.

✿ Информация об авторах

Тихонович Игорь Анатольевич — академик РАН, д. б. н., профессор директор. Государственное научное учреждение Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии, лаборатория генетики растительно-микробных взаимодействий. 196608, Санкт-Петербург, Пушкин 8, ш. Подбельского, д. 3. E-mail: arriam@arriam.spb.ru, contact@arriam.spb.ru

Проворов Николай Александрович — д. б. н., заместитель директора. Государственное научное учреждение Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии. Шоссе Подбельского, д. 3, Санкт-Петербург, Пушкин-8, 196608. E-mail: provorov@newmail.ru.

Tikhonovich Igor Anatolievich — full member of RAAS, doctor of biological sciences, professor, director. All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Podbelsky chausse 3, St.-Petersburg, Pushkin 8, 196608, Russia. E-mail: arriam@arriam.spb.ru, contact@arriam.spb.ru

Provorov Nikolay Alexandrovich — Doctor of Biological Sciences, Deputy Director. Russia Research Institute for Agricultural Microbiology. Podbelsky Chaussee 3, St. Petersburg, Pushkin 8, 196608, Russia. E-mail: provorov@newmail.ru.