

© И. А. Тихонович,
Н. А. Проворов

Всероссийский НИИ сельско-
хозяйственной микробиологии
Россельхозакадемии

✿ Предложена методология изучения изменчивости и наследственности в надорганизменных системах различной сложности — от двухкомпонентных симбиозов микроорганизмов с растениями или животными до эндосимбиотических и почвенных микробных сообществ. Подходы, основанные на симбиогенетике и метагеномике, могут быть использованы для формирования высокопродуктивных экологически устойчивых агроценозов, основанных на замене агрохимикатов (минеральные удобрения, пестициды) микробными препаратами. Подчеркнута возможность использования природных аналогов агроценозов для формирования моделей, позволяющих проводить направленное конструирование и повышение продуктивности экологически устойчивых сельскохозяйственных систем.

✿ **Ключевые слова:** симбиогенетика; матегеномика; агроценозы; микробные сообщества; эволюция симбиоза; надорганизменные генетические системы; микробно-растительные взаимодействия; симбиотическая азотфиксация.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ КОНСТРУИРОВАНИЯ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИ УСТОЙЧИВЫХ АГРОЦЕНОЗОВ

ВВЕДЕНИЕ

Агроценоз — многокомпонентная биосистема, продуктивность и экологическая устойчивость которой основаны на интеграции наследственных факторов разных организмов. Она состоит из подсистем симбиотического и биоценотического типов, в которых ключевые адаптивные функции культивируемых человеком растений и животных могут выполняться благодаря их интеграции с микроорганизмами (бактериями, археями, грибами, простейшими), основанной на комплементарности наследственной информации взаимодействующих организмов. Изучение надорганизменных генетических систем чрезвычайно актуально для создания современных экологически безопасных, ресурсосберегающих агроценозов, в которых антропогенная нагрузка на окружающую среду сведена к минимуму.

СИМБИОГЕНЕТИКА И АНАЛИЗ НАДОРГАНИЗМЕННЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ СИСТЕМ

Генетически наиболее изучены двухкомпонентные микробно-растительные симбиозы, которые играют ключевую роль в питании растений, их защите от патогенов и растительноядных животных, а также в адаптации к стрессам и регуляции развития (Тихонович, Проворов, 2003, 2009). На основе анализа азотфиксирующих клубеньковых симбиозов, арбускулярной микоризы, ризосферных и эндофитных ассоциаций разработаны принципы симбиогенетики, изучающей особенности проявления законов изменчивости и наследственности в надорганизменных комплексах (Тихонович, Проворов, 2003). Основной объект ее изучения — *симбиогеном* — совокупность генов партнеров, определяющих фенотип и адаптивные возможности надорганизменной системы. Ключевые функции симбиогенома (сигнальные взаимодействия партнеров, формирование объединенных метаболических путей, развитие новых тканевых и клеточных структур) доступны для детального генетического анализа, результаты которого позволяют рассматривать симбиогеном как близкий аналог генома свободноживущего (унитарного) организма. Практическим результатом изучения симбиогеномов является создание и реализация селекционных, генно-инженерных и биотехнологических программ по повышению продуктивности и экологической устойчивости различных типов растительно-микробных симбиозов (Sessitsch et al., 2002; Тихонович, Проворов, 2007).

МИКРОБИОМЫ — МНОГОКОМПОНЕНТНЫЕ СИМБИОТИЧЕСКИЕ КОМПЛЕКСЫ

В настоящее время большое внимание исследователей привлекают *микробиомы* — многокомпонентные симбиотические комплексы, образуемые микроорганизмами внутри или на поверхности растений или животных. Понятие микробиома, впервые предложенное Дж. Ледербергом в отношении кишечной микрофлоры человека (Lederberg, McCray, 2001), может быть с полным основанием применено и к другим многокомпонентным симбиозам, образуемым микроорганизмами с растениями и животными. Так, микро-

Поступила в редакцию 22.09.2010.
Принята к публикации 11.08.2011.

биомы растений представлены полифункциональными эндифитными и эпифитными (ризосферными) сообществами (Higa, Paug, 1994). Таксономически они весьма разнородны (включают представителей всех основных групп грибов, бактерий и архей) и выполняют широкий спектр полезных для хозяина функций, в том числе фиксацию N_2 , мобилизацию нерастворимых почвенных фосфатов, биоконтроль различных антагонистов (фитопатогенов, животные-фитофаги), деструкцию ксенобиотиков, синтез биологически активных веществ и регуляторных факторов. Весьма важна роль микробиомов как источников микробных генотипов для эволюции специализированных двухкомпонентных симбиозов, например, азотфиксирующих клубеньков бобовых (Проворов, 2009).

Хорошо изученный пример микробиома животных — микробиота рубца жвачных, основная функция которой заключается в усвоении растительной пищи (Шевелев и др., 2005). Ее важность очевидна из того, что позвоночные, как и подавляющее большинство беспозвоночных, лишены собственных целлюлаз и других ферментов для деструкции растительных полимеров, в связи с чем растительность как ключевой этап круговорота веществ и энергии в биосфере, имеет симбиотическую природу. Кроме того, важными функциями микрофлоры рубца являются: рециклизация азотных шлаков хозяина, синтез белка, а также поддержание высокого иммунного статуса хозяина. В состав кишечной микрофлоры насекомых-фитофагов, например термитов, могут входить активные N_2 -фиксаторы, что позволяет хозяину питаться химически чистой целлюлозой (Noda et al., 2002). Важно подчеркнуть, что по объему закодированной наследственной информации микробиомы растений и животных многократно превосходят своих хозяев, резко повышая их адаптивный потенциал. Симбиотическая стратегия приобретения новых функций генетически весьма экономична: для ее реализации хозяину достаточно обеспечить формирование экологических ниш для микросимбионтов, для чего могут быть использованы универсальные гены, задействованные при построении разнообразных симбиозов. Так, у растений выявлены универсальные *Sym*-гены, которые участвуют в развитии азотфиксирующих клубеньков, арбускулярной микоризы (АМ), а также в формировании ассоциаций с рост-стимулирующими ризосферными бактериями и в защите от корневых патогенов (Sanchez et al., 2005; Parniske, 2008).

МЕТАГЕНОМ ПОЧВЫ КАК ОСНОВА ФОРМИРОВАНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКИ УСТОЙЧИВОГО БИОЦЕНОЗА

Менее изучен, хотя и наиболее богат генетическими потенциалами метагеном почвы (совокупный геном обитающих в ней микроорганизмов): он определяет ее хи-

мический состав, структуру и плодородие, а также служит резервуаром генетических ресурсов для эволюции микроорганизмов, взаимодействующих с растениями и животными, входящими в состав биоценоза (Higa, Paug, 1994). Разработанные к настоящему времени методы метагеномики позволяют проводить структурно-функциональный анализ почвенных микробных консорциев и выявлять некультивируемые формы, составляющие более 90% почвенной микробиоты, а также производить поиск новых экологически значимых и хозяйственно ценных форм. Эти методы позволяют не только характеризовать пул нуклеиновых кислот, содержащихся в живых и мертвых микроорганизмах, а также в окружающей их среде, но и определять их функциональное состояние, изучая состав РНК (транскриптом), и таким образом анализировать экспрессию метагенома. Одним из факторов его целостности является активная циркуляция в микробных сообществах экологически значимых генов, которая делает необходимой оценку эколого-генетических последствий биоинженерных трансформаций сельскохозяйственных организмов (Dillon, Dillon, 2004).

ПРИРОДНЫЕ МОДЕЛИ ЭКОЛОГИЧЕСКИ УСТОЙЧИВОГО АГРОЦЕНОЗА

Для разработки методологии переноса знаний о естественных эволюционных процессах в сферы селекции, генной инженерии и биотехнологии большой интерес представляет изучение природных аналогов экологически устойчивых агроценозов. К числу таких аналогов относятся «грибные сады» муравьев-листорезов (Mueller et al., 2004). Культивируемые муравьями (*Acromyrmex*, *Atta*) агариковые грибы-базидиомицеты (*Lepiotaceae: Agaricales*) переносятся самкой-основательницей колонии в глоточном кармане, что обеспечивает вертикальную передачу гриба в поколениях муравьев-хозяев. Участники этой симбиосистемы, эволюционный возраст которой оценивают в 50 млн лет, глубоко специализированы друг к другу и отдельно существовать не могут: агариковые грибы, утратившие половой процесс, развиваются только при содействии муравьев, для которых эти грибы являются единственно возможным источником питания. Однако стабильность данной системы нарушается, если в грибном саду поселяются несъедобные для муравьев аскомицеты (*Escovopsis*), которые вытесняют агариковые грибы, что ставит колонию перед угрозой вымирания. Для биоконтроля этих паразитов муравьи используют актиномицетов (*Streptomyces*) — продуцентов антибиотиков, которые содержатся на теле рабочих особей. Изучение генетики отношений участников этих природных агроценозов, а также их физиологии и адаптивных функций позволит формировать модели экологически устойчивых сельскохозяйственных систем, которые необходимы для их направленного конструирования и повышения продуктивности.

**ЕСТЕСТВЕННАЯ И ИСКУССТВЕННАЯ
ЭВОЛЮЦИЯ НАДОРГАНИЗМЕННЫХ ГЕННЫХ
СИСТЕМ**

В настоящее время генетика выходит на новый этап изучения изменчивости и наследственности, связанный с анализом их реализации в надвидовых системах. В эволюции этих систем можно проследить тенденцию к повышению специфичности взаимодействия партнеров, которое сопровождается сужением круга взаимодействующих организмов. Действительно, наиболее сложные по составу метагеномы почвы являются открытыми системами: для презентации в них новых компонентов принципиальные ограничения отсутствуют, хотя новые формы приживаются в почвенных сообществах далеко не всегда (Андронов и др., 2009). Гораздо более специфичен состав микробиомов растений и животных, так как для проникновения в них микроорганизмы должны преодолевать структурные и защитные барьеры хозяина. Тем не менее, микробиомы достаточно разнообразны по составу — они насчитывают сотни видов, часто представляющих разные царства организмов (в рубце жвачных обитают бактерии, археи, простейшие и одноклеточные грибы). Наиболее специфичны двухкомпонентные микробно-растительные симбиозы: их образованию предшествует сложное многоэтапное сигнальное взаимодействие, в ходе которого чужеродный микроорганизм узнается или отвергается хозяином.

Широчайшее распространение в природе имеют симбиозы про- и эукариот, поскольку для последних состояние симбиоза с микроорганизмами является нормой. Более того, сам эукариотический тип клеточной организации имеет симбиогенное происхождение: в соответствии с теорией серийных эндосимбиозов (Маргулис, 1983) он возник в результате объединения архей с различными (аэробными, фототрофными) формами бактерий. Геномы эукариот имеют химерную природу (они состоят на 70–80 % из генов архей, на 20–30 % из генов бактерий) и в связи с этим обладают высоким потенциалом ассимиляции новой генетической информации.

Возникновение эукариотической клетки открыло широкие возможности для дальнейшей симбиогенной эволюции, так как у эукариот многие биохимические функции оказались утраченными. В то же время, потенциальная способность к поддержанию микросимбионтов у эукариот усилилась (в связи с формированием внутриклеточных компартментов — потенциальных ниш для микроорганизмов), в связи с чем в эволюции всех основных групп эукариот наблюдается приобретение новых функций путем симбиозов с прокариотами. При становлении у эукариот многоклеточности объем и разнообразие доступных для микроорганизмов ниш еще более возросли за счет внутренних полостей и межклеточных пространств.

Особая стратегия эволюции симбиоза связана с действием антропогенных факторов, в первую очередь — с сельскохозяйственной деятельностью человека. При окультуривании и селекции растений и животных симбиотические функции оказались в значительной степени утраченными (Проворов, 1996; Проворов, Тихонович, 2003). Их восстановление возможно с использованием подходов симбиогенетики и метагеномики: конструирование и культивирование комплексов, образуемых сельскохозяйственными растениями и животными с микроорганизмами — одна из основных задач фундаментальной и прикладной биологии XXI века. Ее реализация соответствует представлениям Н. И. Вавилова (1987) о селекции как эволюции направляемой человеком. Действительно, возрастание объема наследственной информации, ее мобильности и функциональной активности — это результаты эволюционных процессов, которые происходят в надорганизменных комплексах и приводят к появлению новых генов и их интеграции в геномы различных компонентов сообщества, делая эти гены достоянием надорганизменной системы как единого целого.

Работа поддержана Минобрнауки РФ, Госконтракт № 16.552.11.7047.

Литература

1. Андронов Е. Е., Петрова С. Н, Чижевская Е. П., Коростик Е. В., Ахтемова Г. А., Пинаев А. Г., 2009. Влияние генетически модифицированного штамма *Sinorhizobium meliloti* АСН-5 на структуру почвенного сообщества микроорганизмов // Микробиология. Т. 78. № 4. С. 1–10.
2. Вавилов Н. И. 1987. Селекция как наука // Вавилов Н. И. Теоретические основы селекции. М.: Наука, С. 28–39.
3. Маргулис Л., 1983. Роль симбиоза в эволюции клетки. М.: Мир, 351 с.
4. Проворов Н. А., 1996. Соотношение симбиотрофного и автотрофного питания азотом у бобовых растений: генетико-селекционные аспекты // Физиол. растений. Т. 43. № 1. С. 127–135.
5. Проворов Н. А., 2009. Растительно-микробные симбиозы как эволюционный континуум // Журн. общей биологии. Т. 70. № 1. С. 10–34.
6. Проворов Н. А., Тихонович И. А., 2003. Эколого-генетические принципы селекции растений на повышение эффективности взаимодействия с микроорганизмами // С.-х. биол. № 3. С. 11–25.
7. Тихонович И. А., Проворов Н. А., 2003. Симбиогенетика микробно-растительных взаимодействий // Экологич. генетика. Т. 1. № 0. С. 36–46.
8. Тихонович И. А., Проворов Н. А. 2007. Кооперация растений и микроорганизмов: новые подходы к конструированию экологически устойчивых агросистем. // Успехи соврем. биол. Т. 127. № 4. С. 339–357.

9. Тихонович И. А., Проворов Н. А., 2009. Симбиозы растений и микроорганизмов: молекулярная генетика агроэкосистем будущего. Санкт-Петербург, Изд-во СПбГУ. 210 с.
10. Шевелев Н. С., Грушкин А. Г., Тараканов Б. В., 2005. Физиологическая роль микробиоты в рубцовом пищеварении // С.-х. биология. № 6. С. 9–13.
11. Dillon R. J., Dillon V. M., 2004. The gut bacteria of insects: non-pathogenic interactions // Annu. Rev. Entomol. Vol. 49. P. 71–92.
12. Higa T., Parr J. F., 1994. Beneficial and effective microorganisms for a sustainable agriculture and environment // Intern. Nature Farming Research center, Atami, Japan. P. 1–16.
13. Lederberg J., McCray A. T., 2001. “Ome sweet” omics — a genealogical treasury of words // Scientist. Vol. 15. P. 8.
14. Mueller U. G., Poulin J., Adams R. M. M., 2004. Symbiont choice in a fungus-growing ant (*Attini*, *Formicidae*) // Behavior. Ecol. Vol. 15. N 2. P. 357–364.
15. Noda S., Ohkuma M., Kudo T., 2002. Nitrogen fixation genes expressed in the symbiotic microbial community in the gut termite *Coptotermis formosanus* // Microb. Environ. Vol. 17. N 3. P. 139–143.
16. Parniske M., 2008. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses // Nature Rev. Microbiol. Vol. 6. P. 763–775.
17. Sanchez L., Weidmann S., Arnould C., Bernard A. R., Gianinazzi S. Gianinazzi-Pearson V., 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.
18. Sessitsch A., Howieson J. G., Perret X., Antoun H., Martinez-Romero E., 2002. Advances in *Rhizobium* research // Crit. Rev. Plant Sci. Vol. 21. P. 323–378.

THE MOLECULAR BASIS FOR CONSTRUCTION OF HIGHLY PRODUCTIVE ECOLOGICALLY SUSTAINABLE AGROCENOSSES

Tikhonovich I. A., Provorov N. A.

✿ **SUMMARY:** The methodology is suggested for analyzing the variability and heredity in super-organism genetic systems of different complexity ranging from two-component plant-microbe and animal-microbe symbiosis to the endosymbiotic and soil microbial communities. The approaches based on symbiogenetics and metagenomics may be used for development of highly-productive ecologically sustainable agroecosystems based on the substitution of agrochemicals (mineral fertilizers, pesticides) by the microbial preparations. A possibility is emphasized to use the natural analogs of agroecosystems for development of models to implement the directed construction and improvement of productivity in the sustainable agricultural systems.

✿ **KEY WORDS:** symbiogenetics; metagenomics; agroecosystems; microbial communities; evolution of symbioses; super-organism genetic systems; microbe-plant interactions; symbiotic N₂-fixation.

✿ Информация об авторах

Тихонович Игорь Анатольевич — д. б. н., профессор, директор института. ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии РАСХН. Россия, 196608, Санкт-Петербург, Пушкин-8, шоссе Подбельского, д. 3. E-mail: ARRIAM2008@yandex.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 A. — Dr. Sci., Professor, Director of the Institute. All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology. Podbelsky chaussee 3, St. Petersburg, Pushkin 8, 196608, Russia. E-mail: ARRIAM2008@yandex.ru.

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