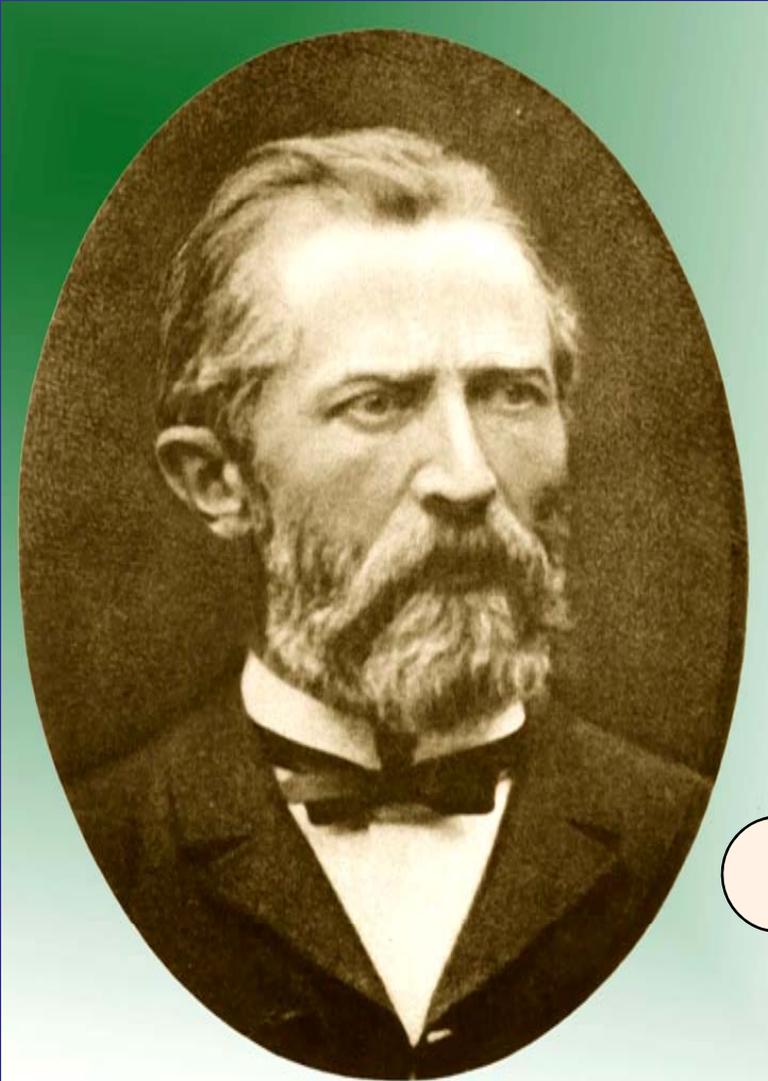


**Микробно-растительные
симбиозы как
эволюционный
континуум**

БАРИ

АНТОН де



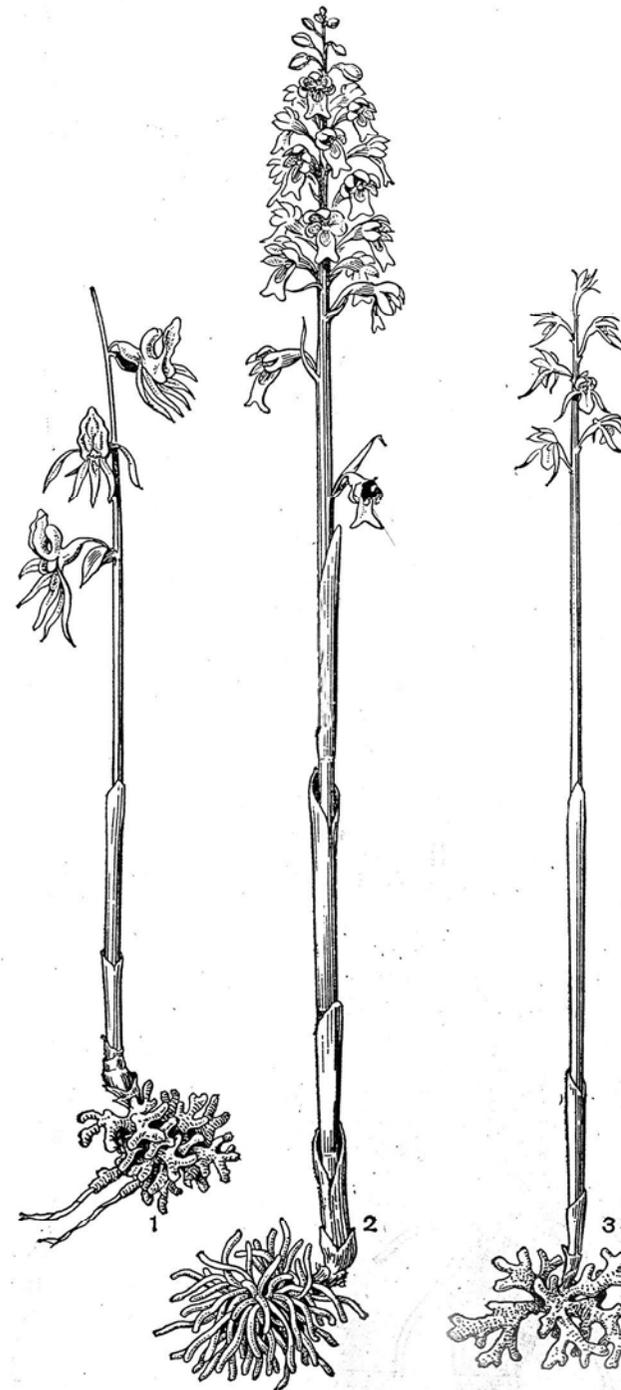
*Симбиоз
(συμβίωσις)
совместная жизнь
разноименных
организмов
1879*

Мутуалистические симбиозы растений и микроорганизмов

Микро-симбионты	Типы симбиоза	
	Трофические	Защитные
Грибы	<u>Микоризы</u> (арбускулярная, эктомикориза, орхидная)	<u>Эндофитные системы</u> (спорыньевые грибы, р-эндофиты)
		<u>Эпифитные ассоциации</u> (<i>Cordyceps</i> , <i>Trichoderma</i>)
Бактерии	<u>N₂-фиксирующие эндосимбиозы</u> (ризобии, <i>Frankia</i> , <i>Nostoc</i>)	<u>Эндофитные системы</u> (<i>Clavibacter</i>)
	<u>Эндофитные системы</u> (<i>Azoarcus</i> , <i>Acetobacter</i>)	
	<u>Ризосферные ассоциации</u> (<i>Azospirillum</i> , <i>Flavobacterium</i> , фосфатные бактерии)	<u>Ризосферные ассоциации</u> (<i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Serratia</i>)

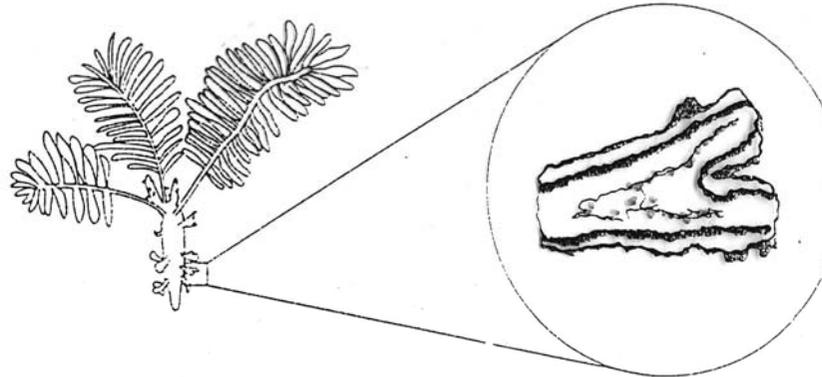
Микогетеротрофные (орхидные) растения с модифицированной (редуцированной) корневой системой

- 1 – надбородник безлистный (*Epipogium aphyllum*) с разветвленным корневищем и подземными столонами;
- 2 – гнездовка обыкновенная (*Neottia nidus-avis*) с подземным корневищем и толстыми корнями;
- 3 – ладьян трёхнадрезный (*Corallorhiza trifida*) с коралловидным корневищем



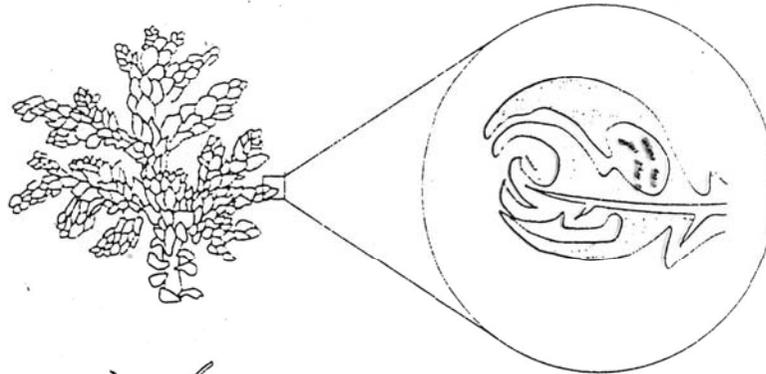
Симбиозы растений с азотфиксирующими цианобактериями (*Nostoc*, *Anabaena*)

Голосемянные
(*Cycas*)



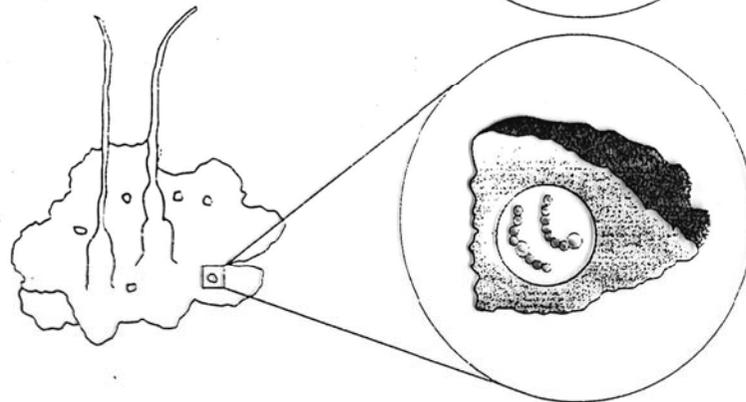
Коралловидные
корни

Папоротники
(*Azolla*)



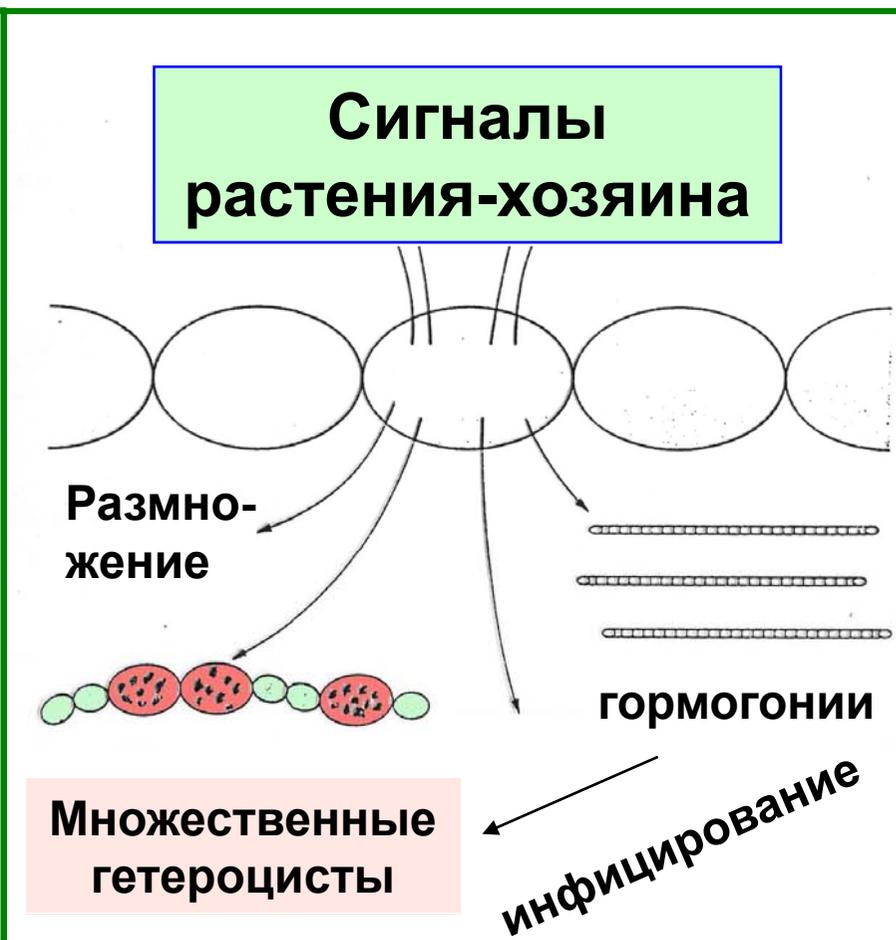
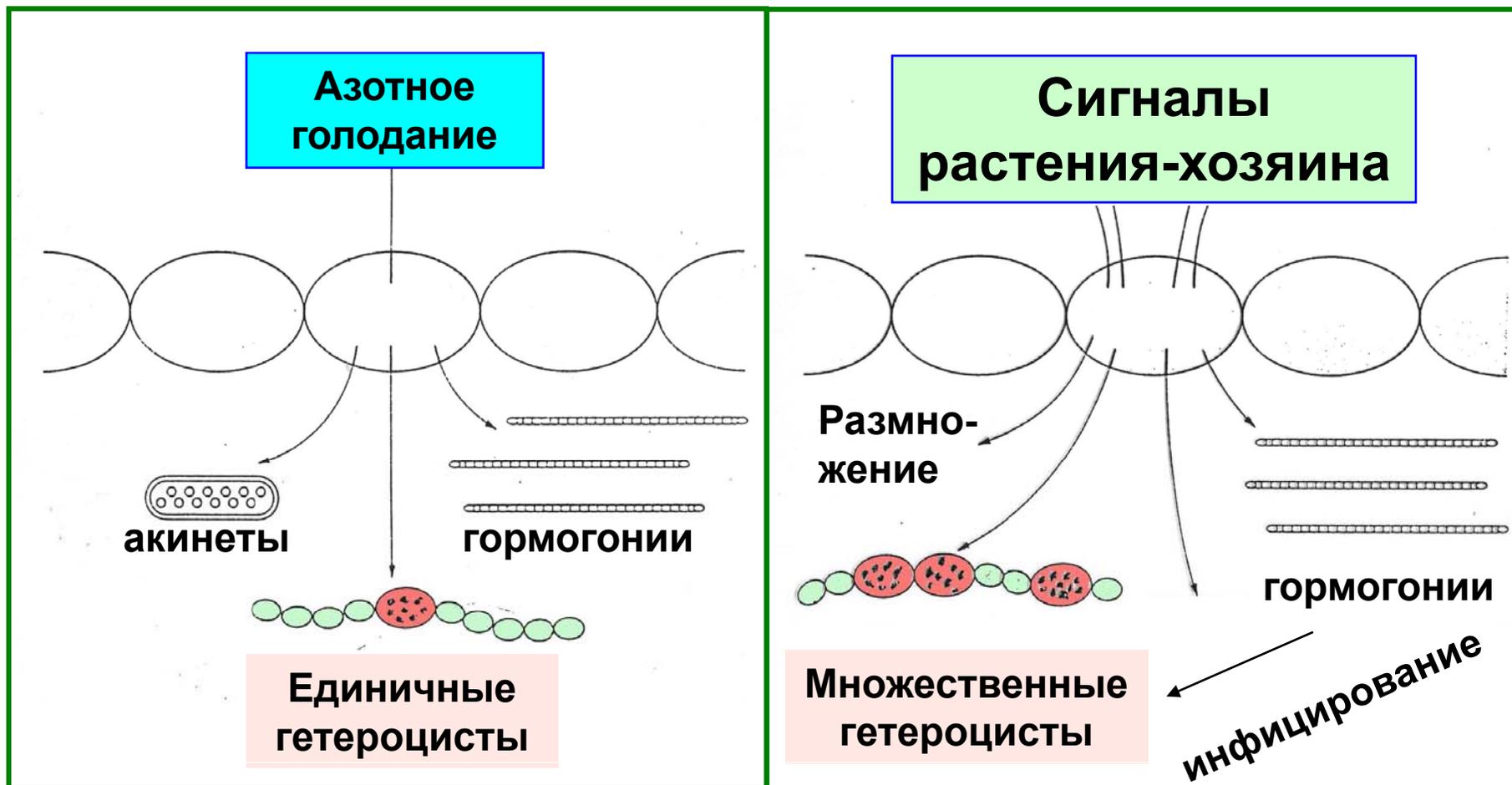
Листья

Печеночники
(*Anthoceros*)

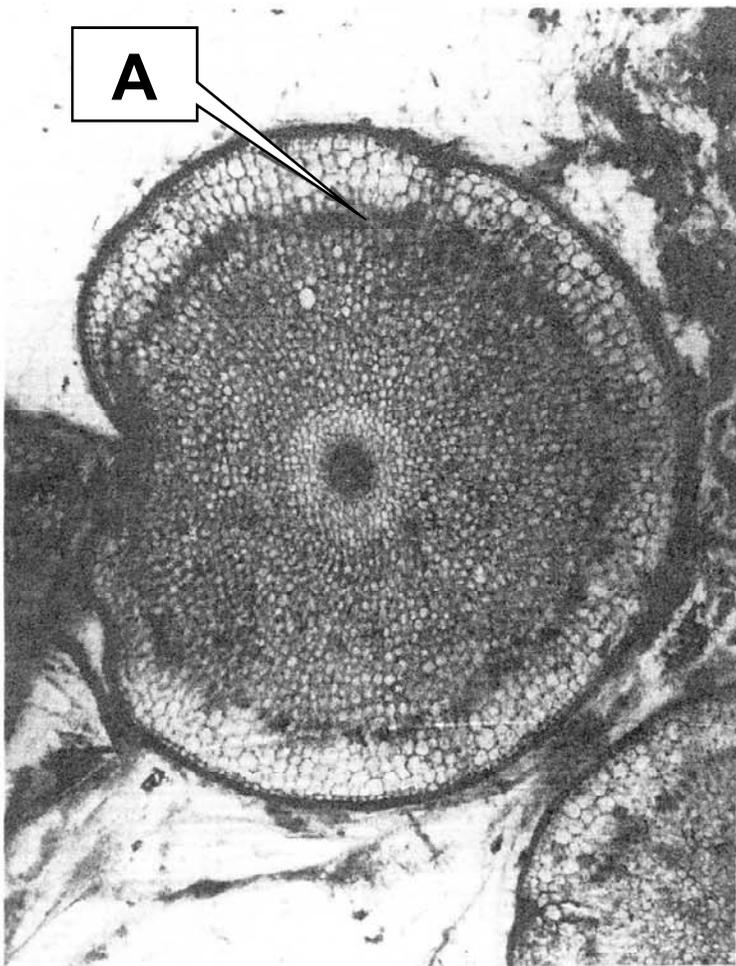


Полости в
талломе

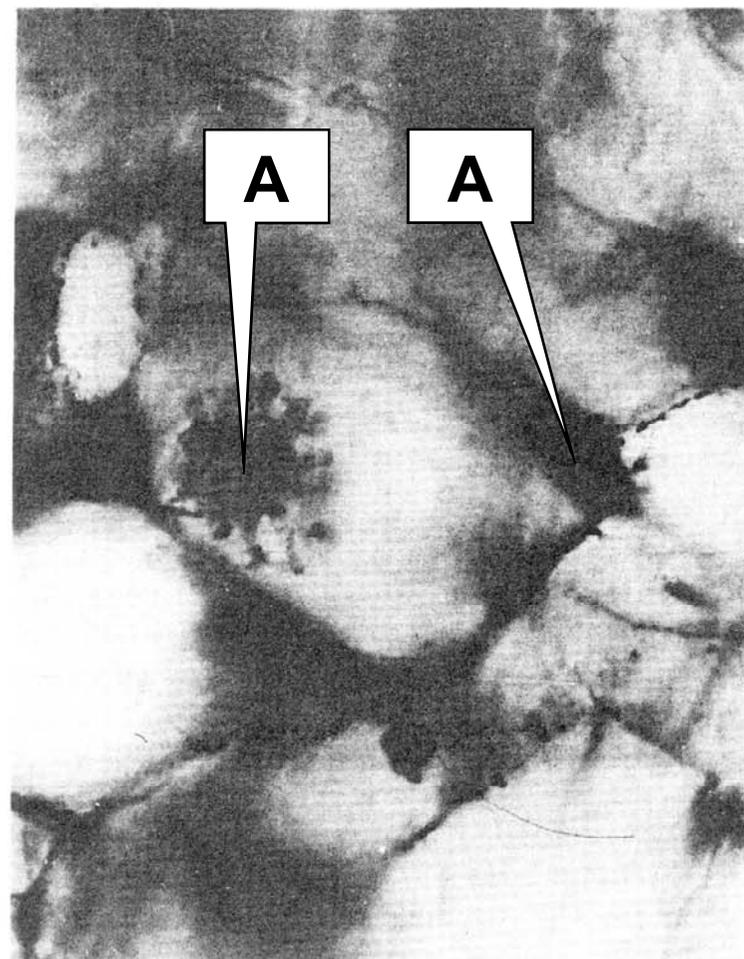
Клеточная дифференцировка азотфиксирующих цианобактерий



Арбускулярная микориза в ризоидах риниофитов

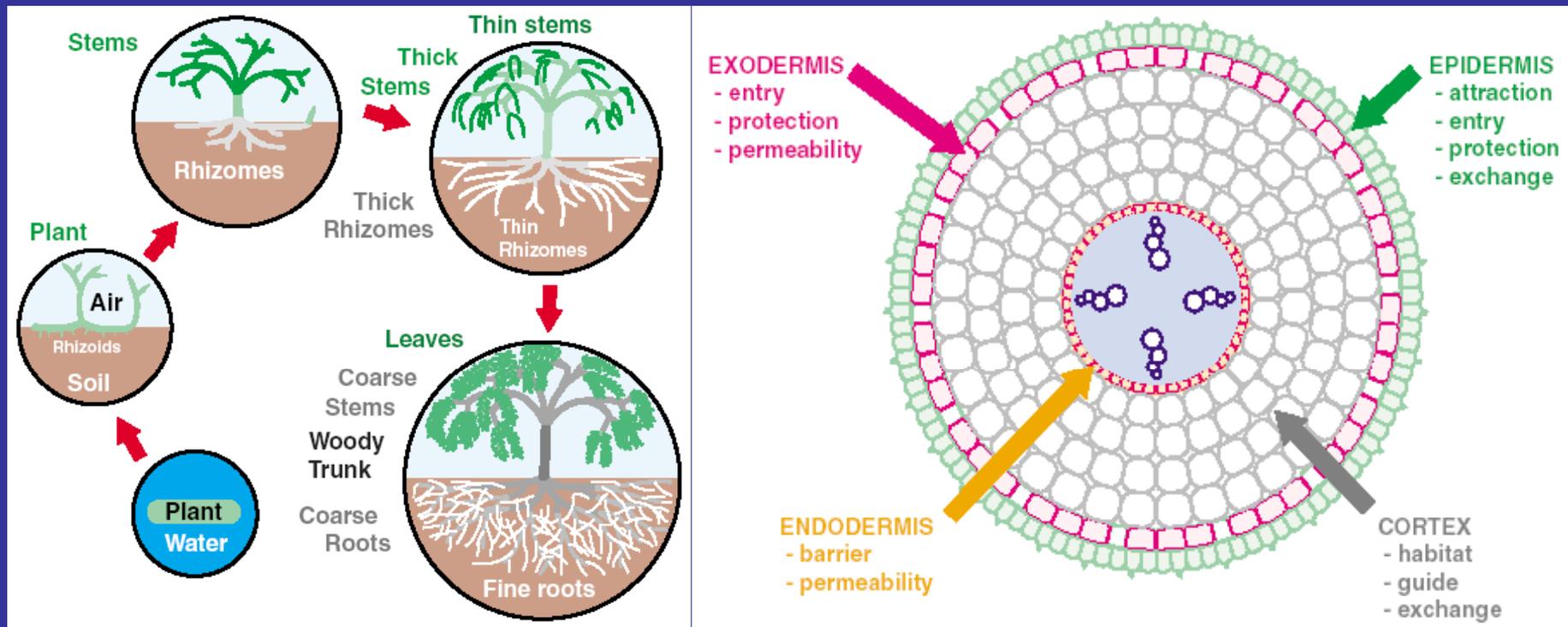


Поперечный срез ризоида



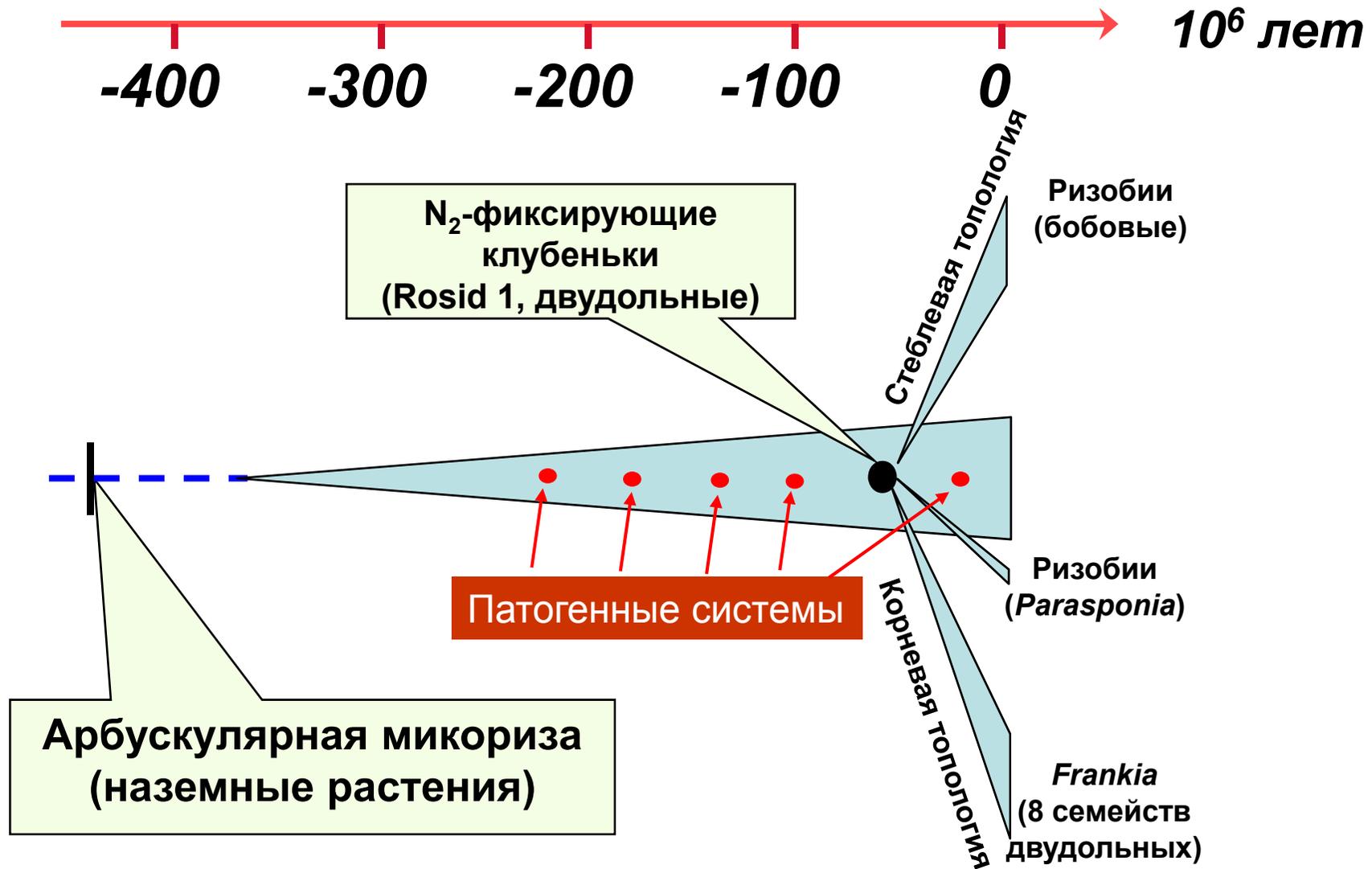
Клетки ризоида с арбускулами (А)

Эволюция подземных органов растений – структурно-функциональной основы симбиоза с микроорганизмами



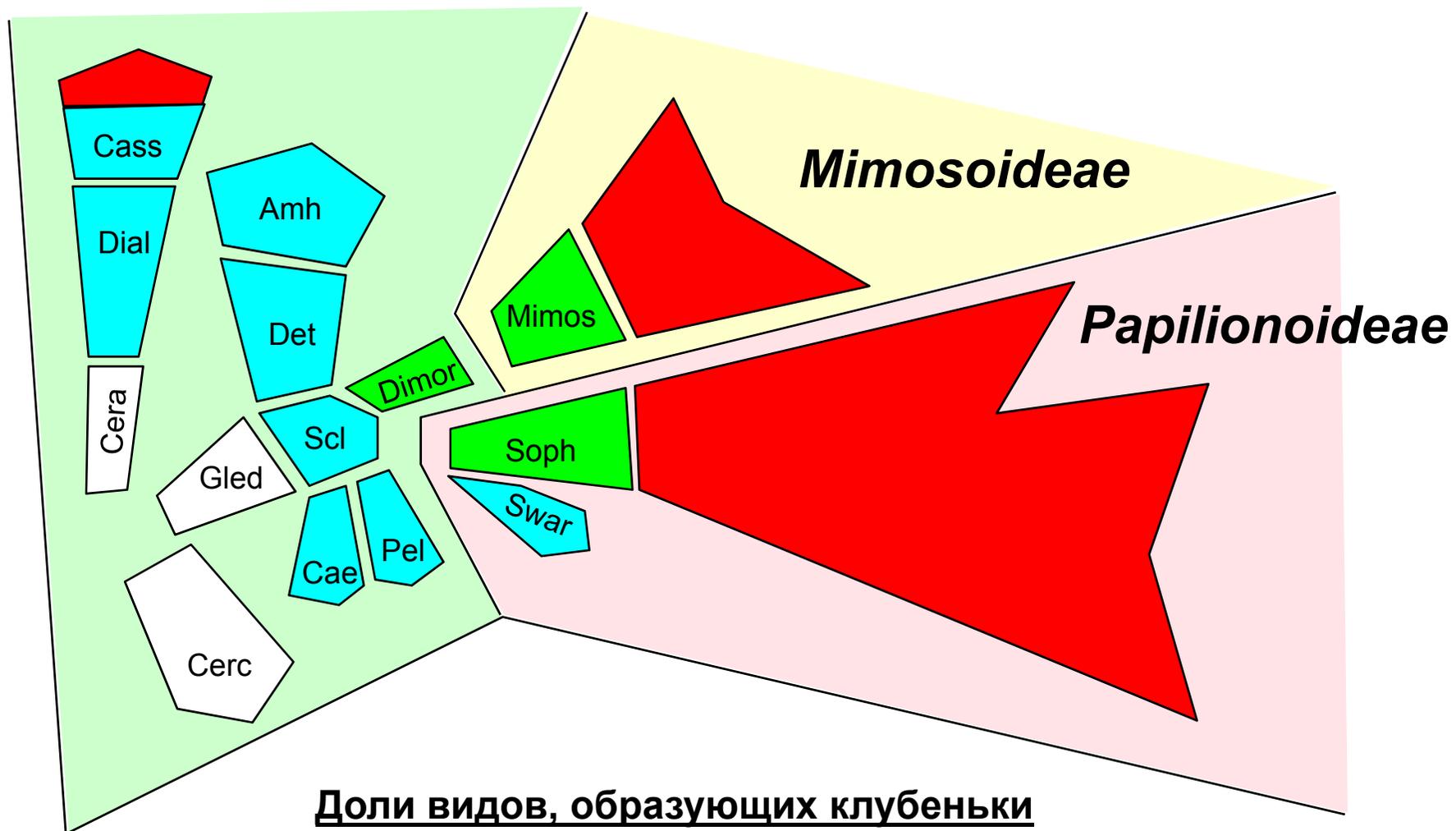
Brundrett, 2002 (New Phytologist, 154: 275–304)

Эволюционные взаимосвязи различных типов микробно-растительного симбиоза



Эволюция способности к образованию клубеньков у бобовых растений

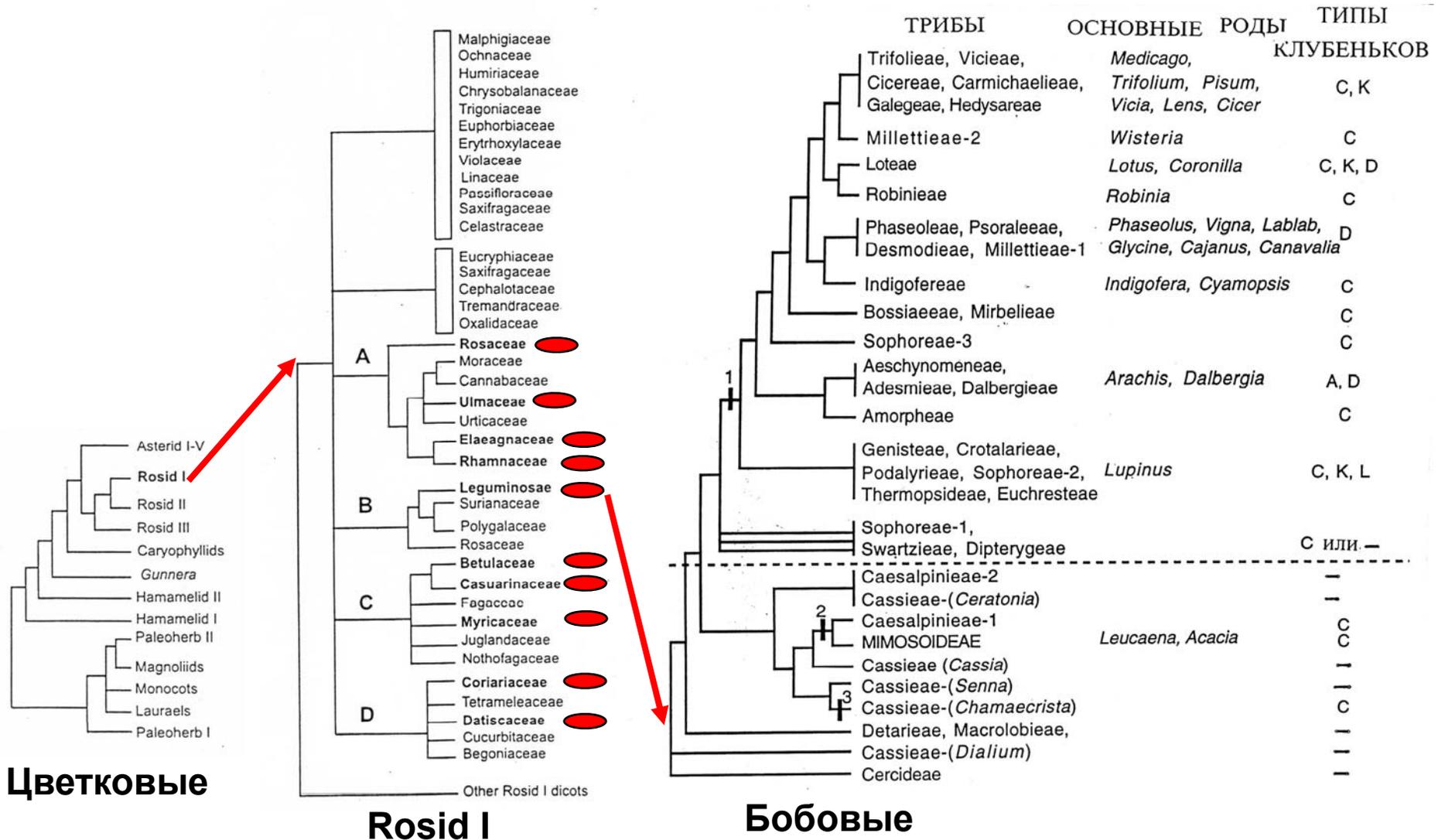
Caesalpinioideae



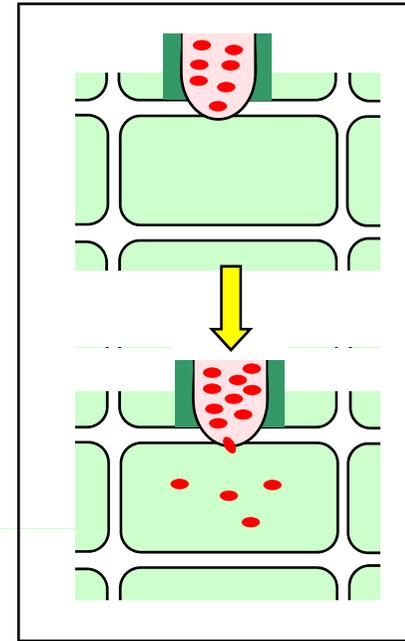
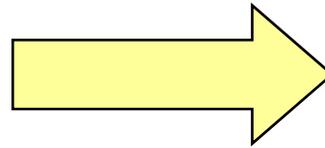
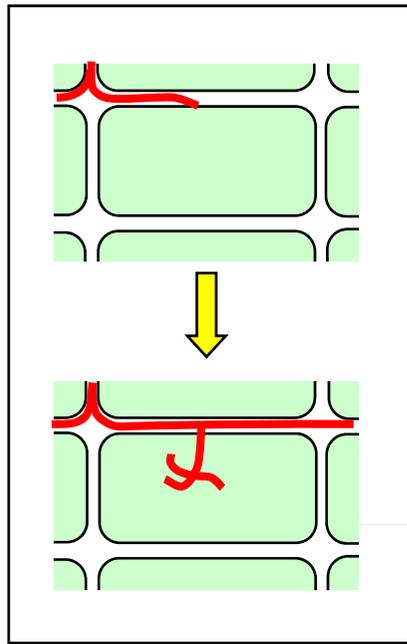
Доли видов, образующих клубеньки



Филогения цветковых растений, образующих азотфиксирующие клубеньки



Эволюция внутриклеточных симбиотических компартментов

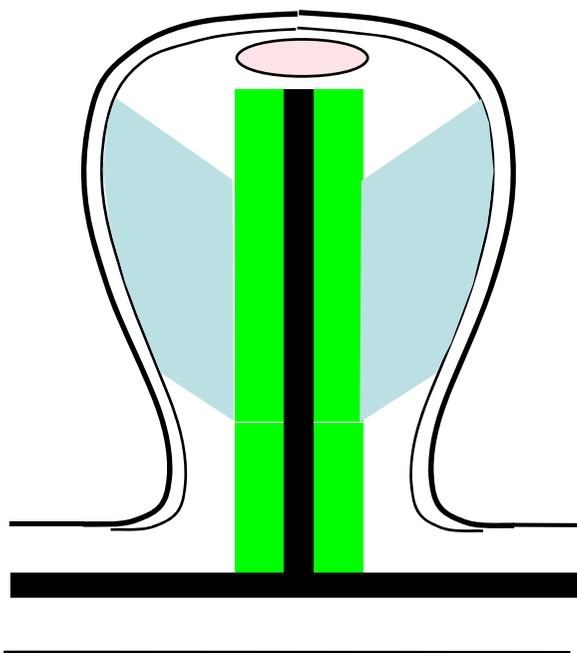


Полуавтономные
(арбускулы,
везикулы *Frankia*,
фиксационные нити бобовых)

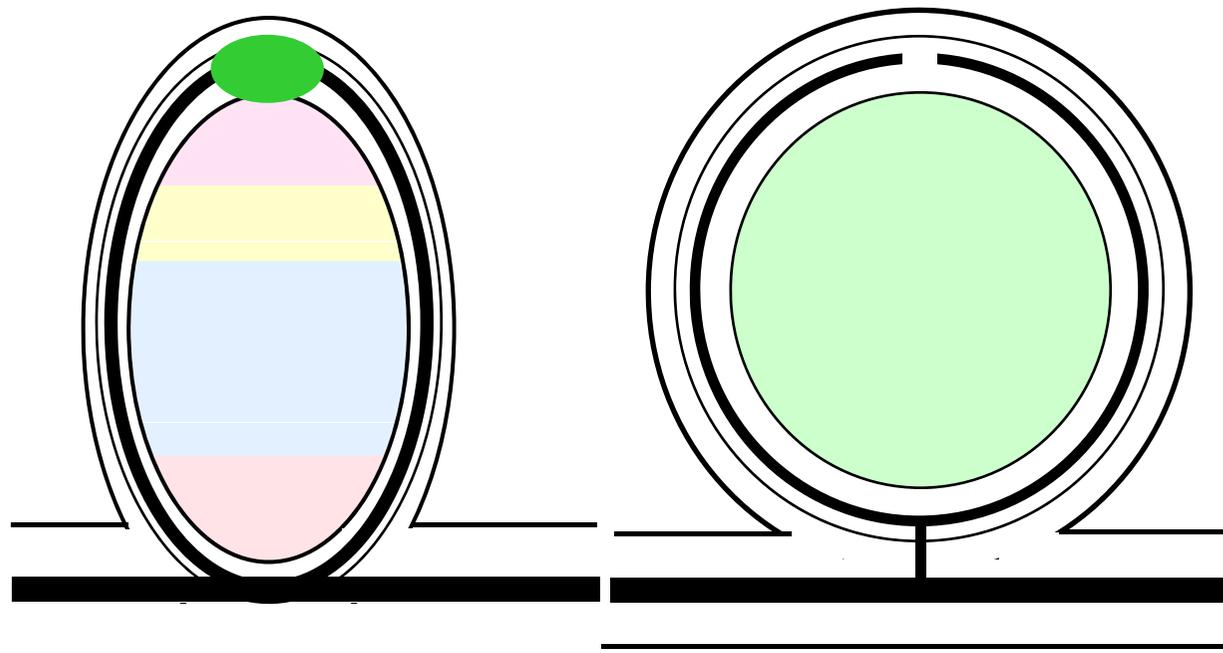
Автономные
(симбиосомы
бобовых)

Типы азотфиксирующих клубеньков

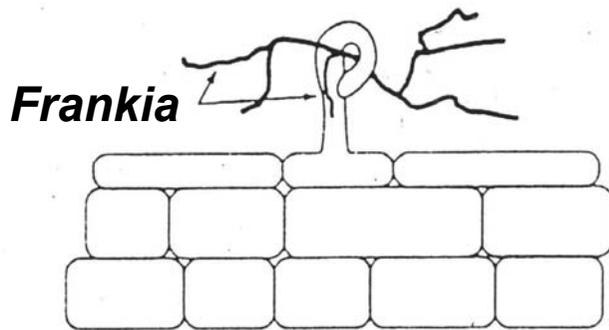
Небобовые растения
(корневой тип)



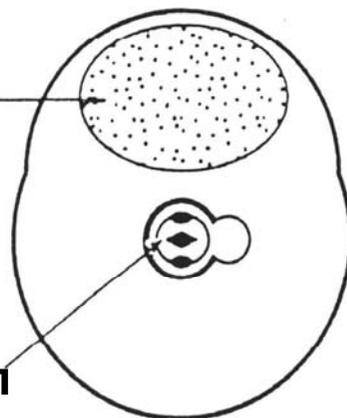
Бобовые растения (стеблевой тип)



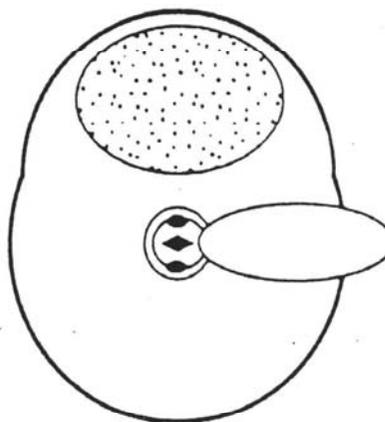
Развитие актиноризного симбиоза



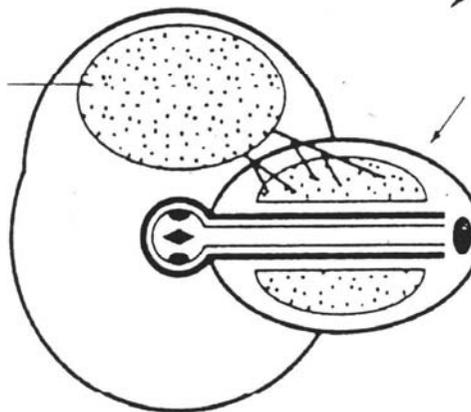
Предклубенек



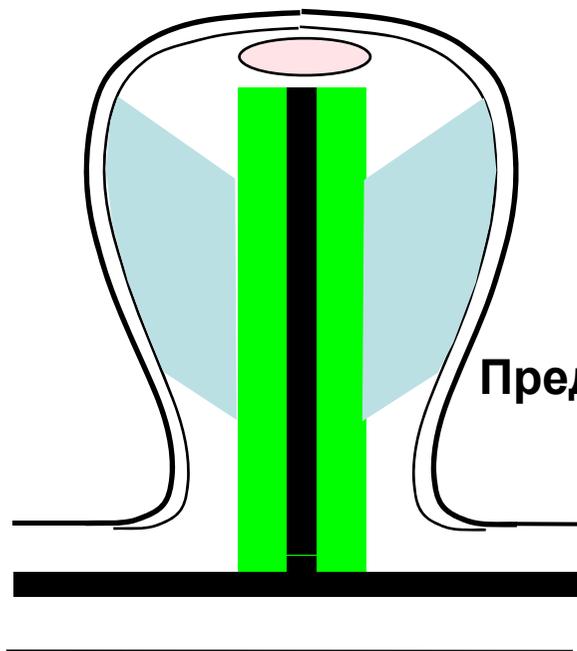
Перицикл



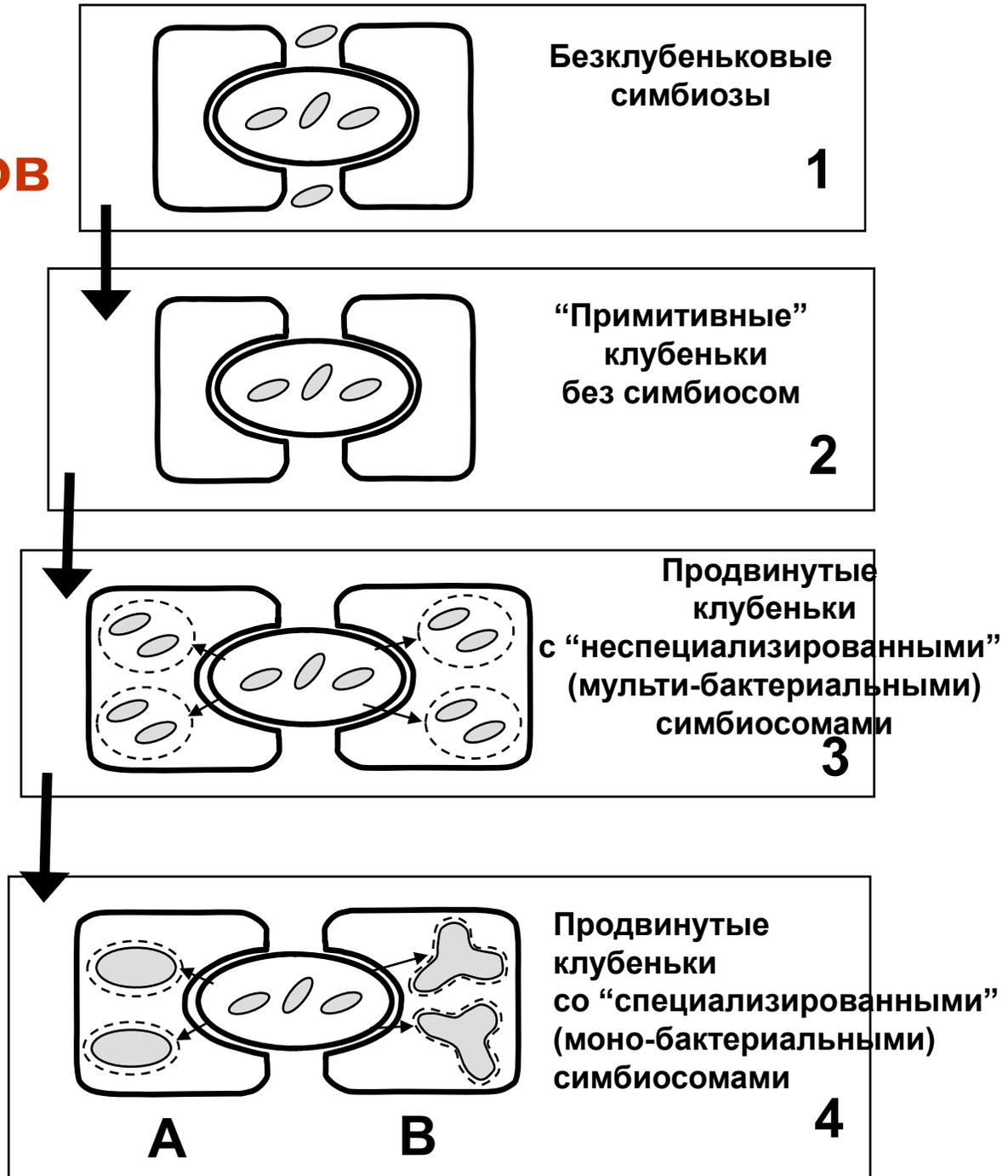
Предклубенек



Клубенек



Эволюция типов азот-фиксирующих клубеньков у бобовых



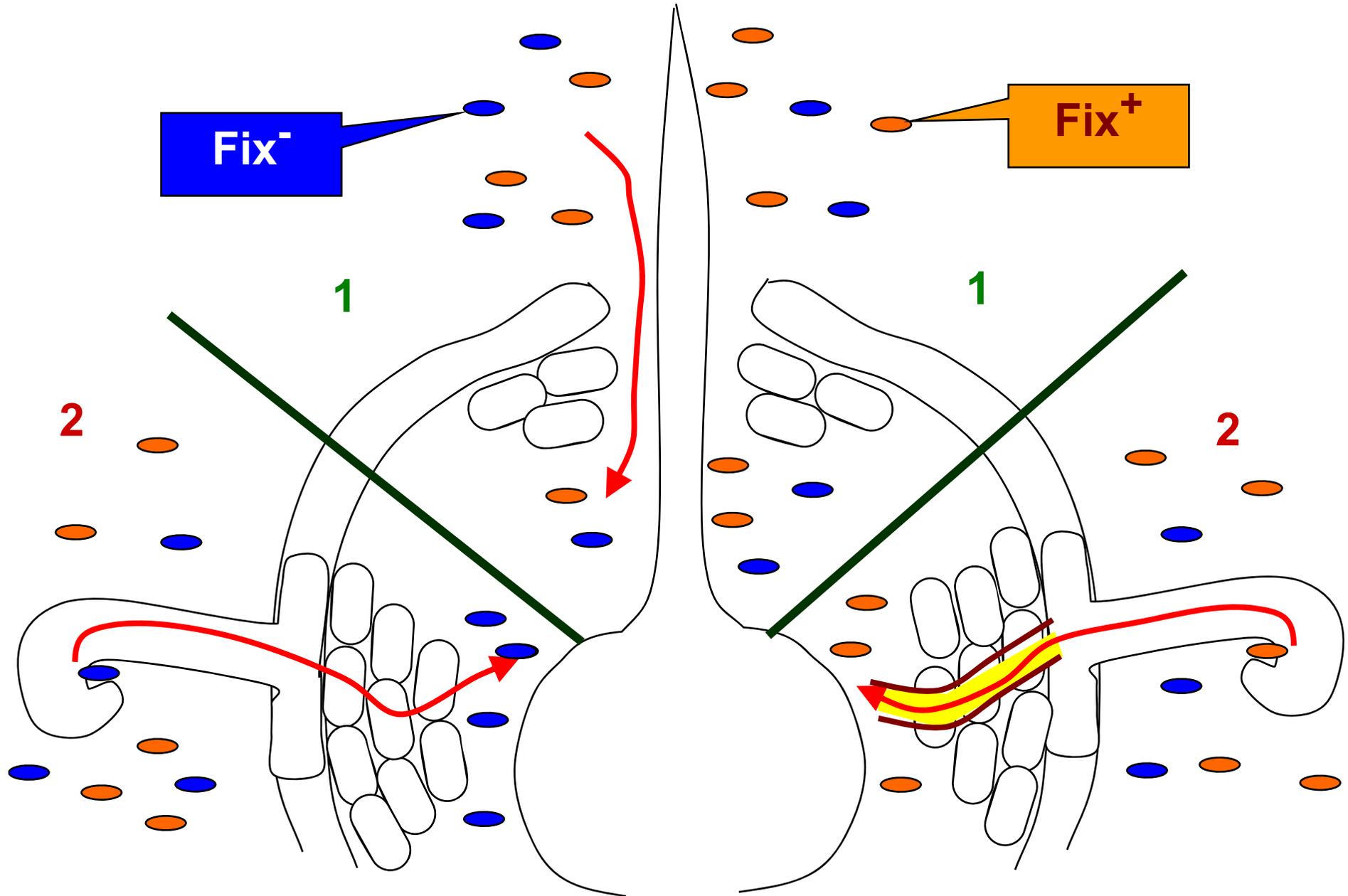
Генетическая реконструкция процессов эволюции азотфиксирующих симбиозов

Характеристики морфотипа	Мутанты бобовых	Дикорастущие формы
Бактерии не делятся в симбиосомах, бактериоды глубоко дифференцированы	“дикий тип”	<i>Pisum, Trifolium, Medicago</i>
Бактерии делятся в симбиосомах, бактериоды слабо дифференцированы	Bad ⁻	<i>Glycine, Phaseolus, Vigna</i>
Инфекционные нити формируются, эндоцитоз отсутствует	Bar ⁻	<i>Cassia Andira</i>
Клубеньки отсутствуют, бактерии в межклетниках или в клетках	Nod-Itf ⁺	<i>Gleditsia, Ceratonia, Cercis</i>
<u>Клубеньки с корневой топологией</u> (центральный проводящий пучок)	Pvb ⁻	<i>Parasponia</i> (небобовое) актиноризные растения

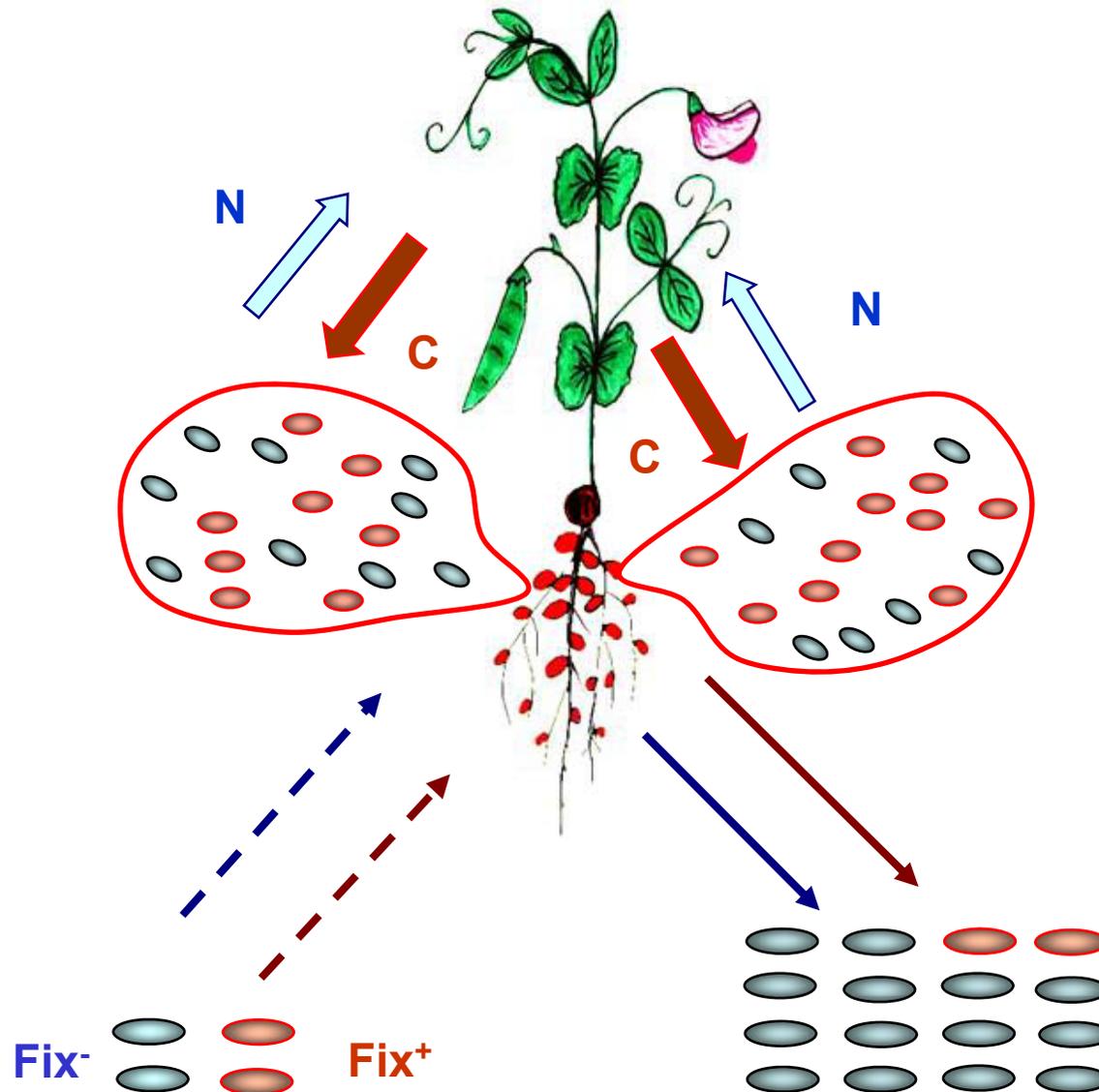
Различные типы инфицирования ризобиями клубеньков бобовых:

1 – смешанное (через разрывы эпидермиса)

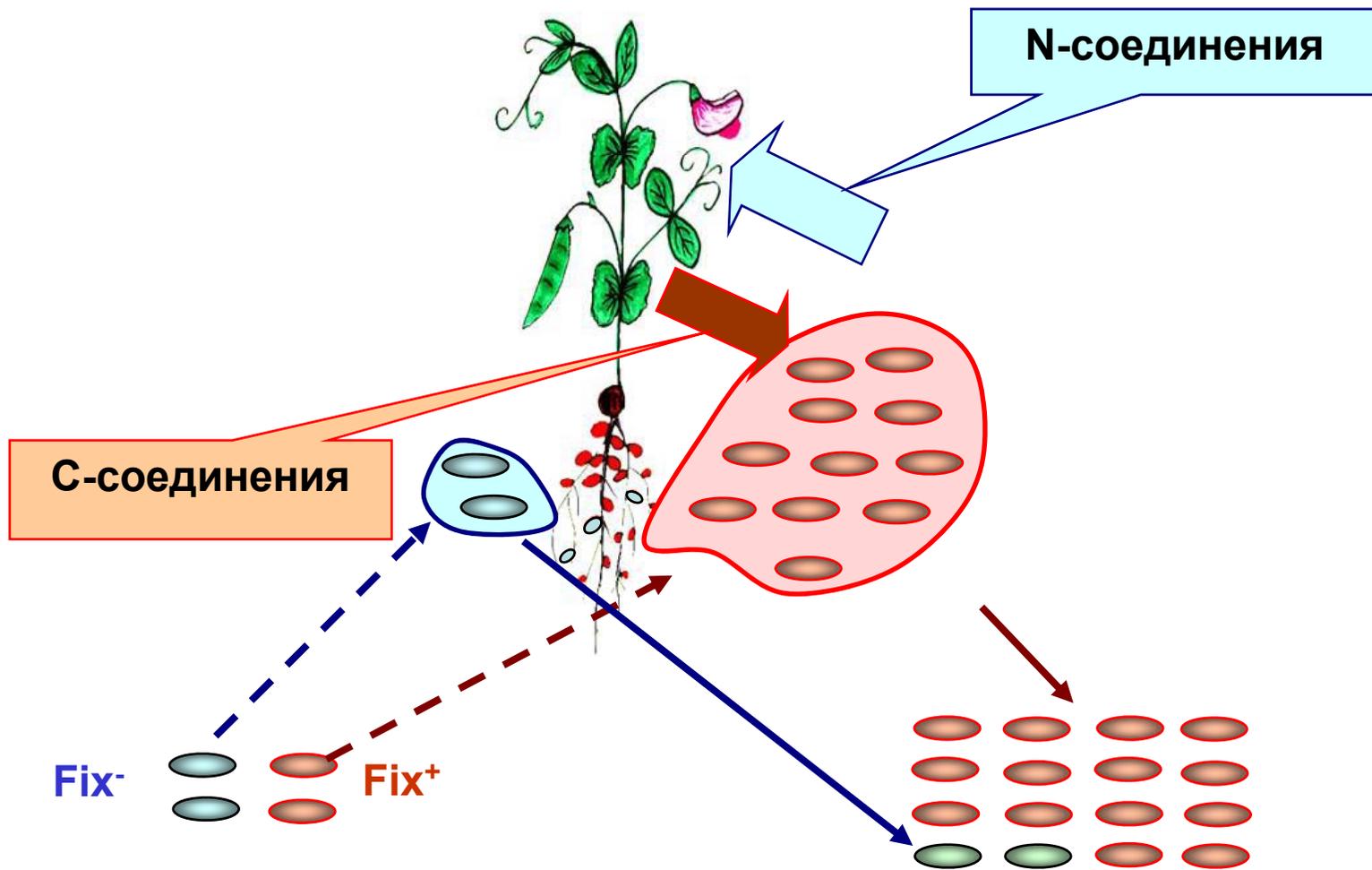
2 – клональное (через корневые волоски)

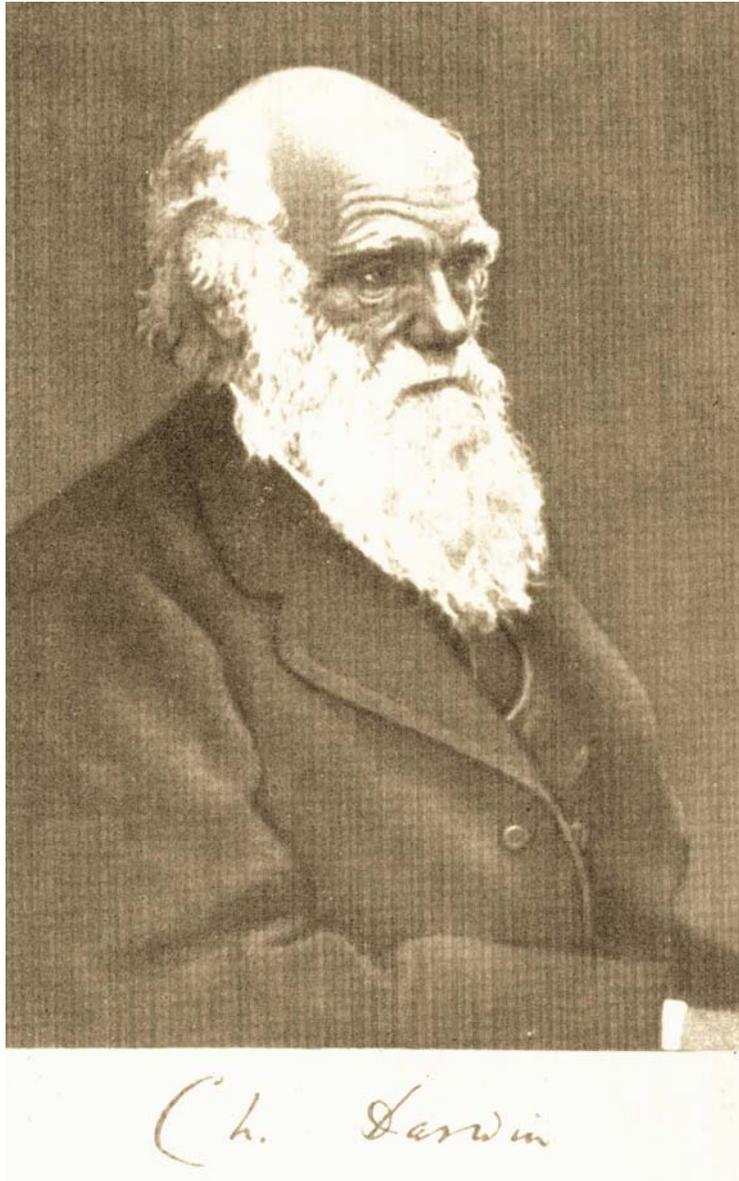


Неэффективная азотфиксации при смешанной структуре эндосимбиотической популяции ризобий



Эффективная азотфиксации при клональной структуре эндосимбиотической популяции ризобий





Естественный отбор не может произвести у одного вида чего-нибудь такого, что служило бы исключительно на пользу или во вред другому виду.

Ч. Дарвин, “Происхождение видов...”

Why should a symbiont benefit its host if it could gain immediate advantage by injuring it?

J. Maynard Smith, 1989.

Ризобии фиксируют азот только в клубеньках, превращаясь в нежизнеспособные бактериоиды

Биологический альтруизм – внутривидовое взаимодействие организмов, повышающее жизнеспособность одного из них за счет ее снижения у другого



Haldane, 1932

Отбор
родичей



$$k \cdot b > c$$

$$k \leq 0.5$$



Hamilton, 1964

b – экологический выигрыш реципиентов альтруизма

c – экологический проигрыш доноров альтруизма

k – родство доноров и реципиентов

Эволюция ризобий: повышение специализации к симбиозу и эффективности фиксации N₂

Ризосферные и эндофитные N₂-фиксаторы
(*Azospirillum*, *Burkholderia*, *Herbaspirillum*)

Формирование генных систем синтеза Nod-фактора (*nod/nol/noe*)

Прямые филиации

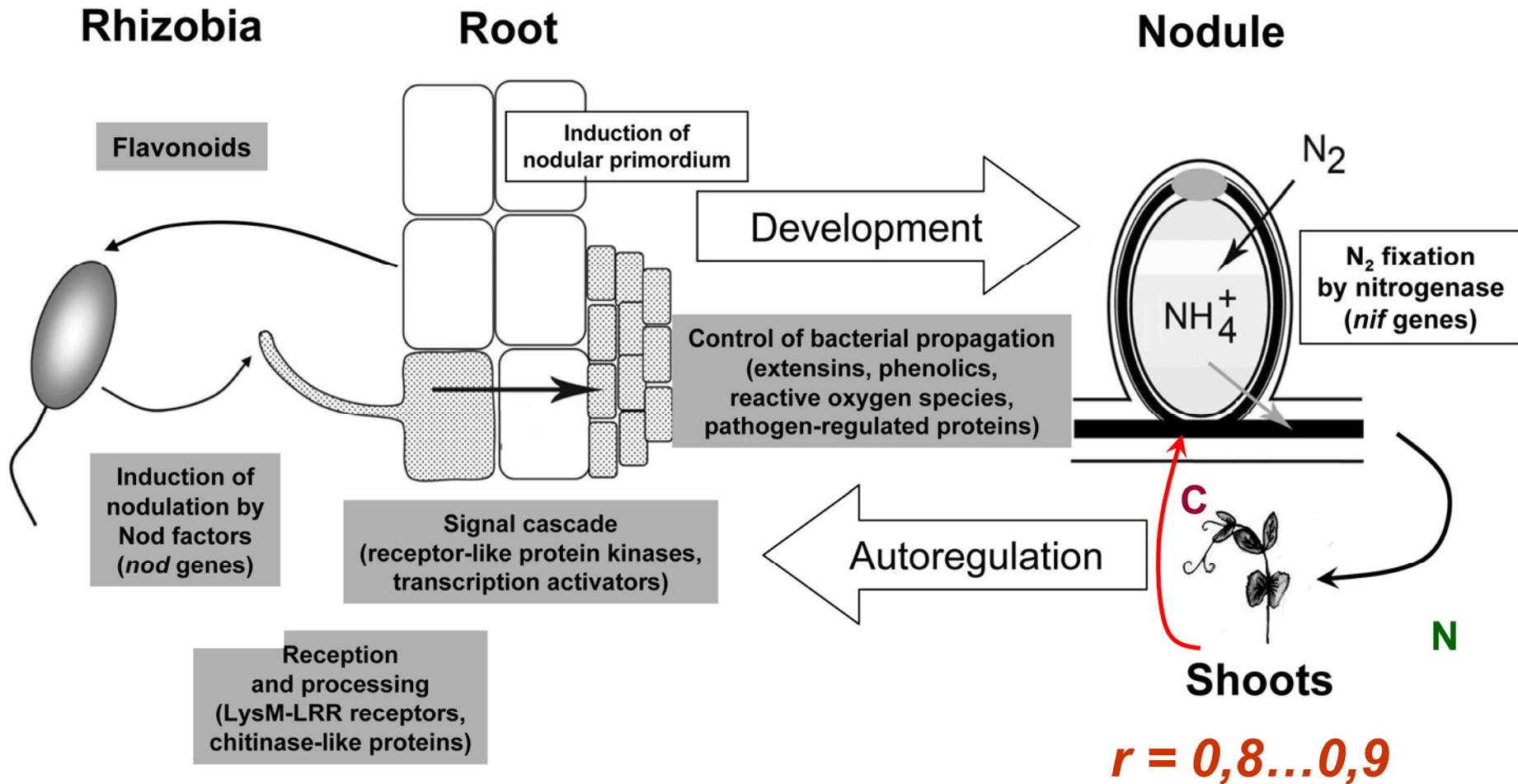
Ризобии “первого эволюционного уровня”
(Fix⁺ *in planta* и *ex planta*)
Azorhizobium, *Bradyrhizobium*

Формирование мобильных элементов генома
(*nod/nol/noe* + *nif/fix*)

Горизонтальный перенос генов

Ризобии “второго эволюционного уровня”
(Fix⁺ *in planta*, но Fix⁻ *ex planta*)
Rhizobium, *Sinorhizobium*

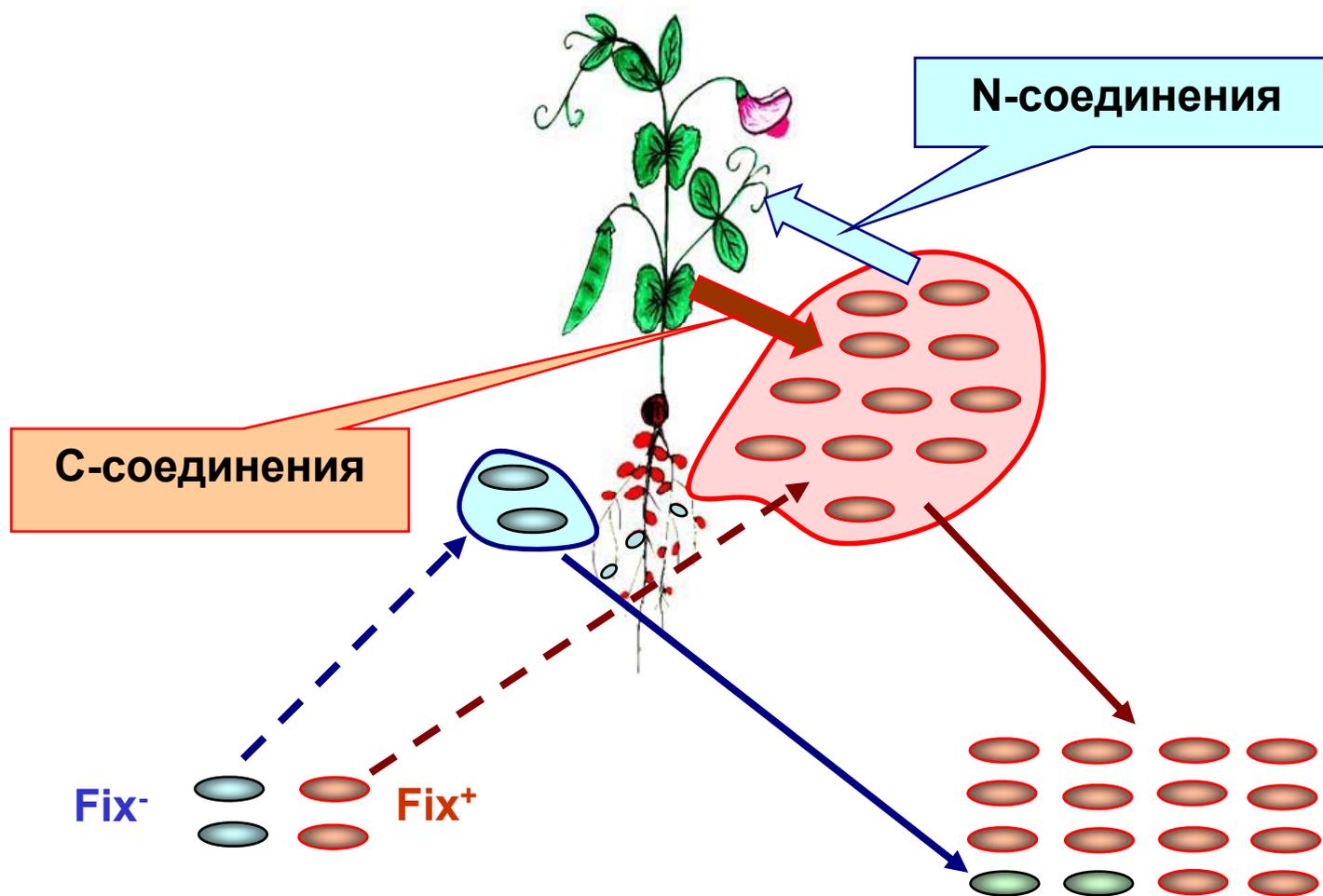
Обратные связи партнеров, определяющие эволюцию симбиоза



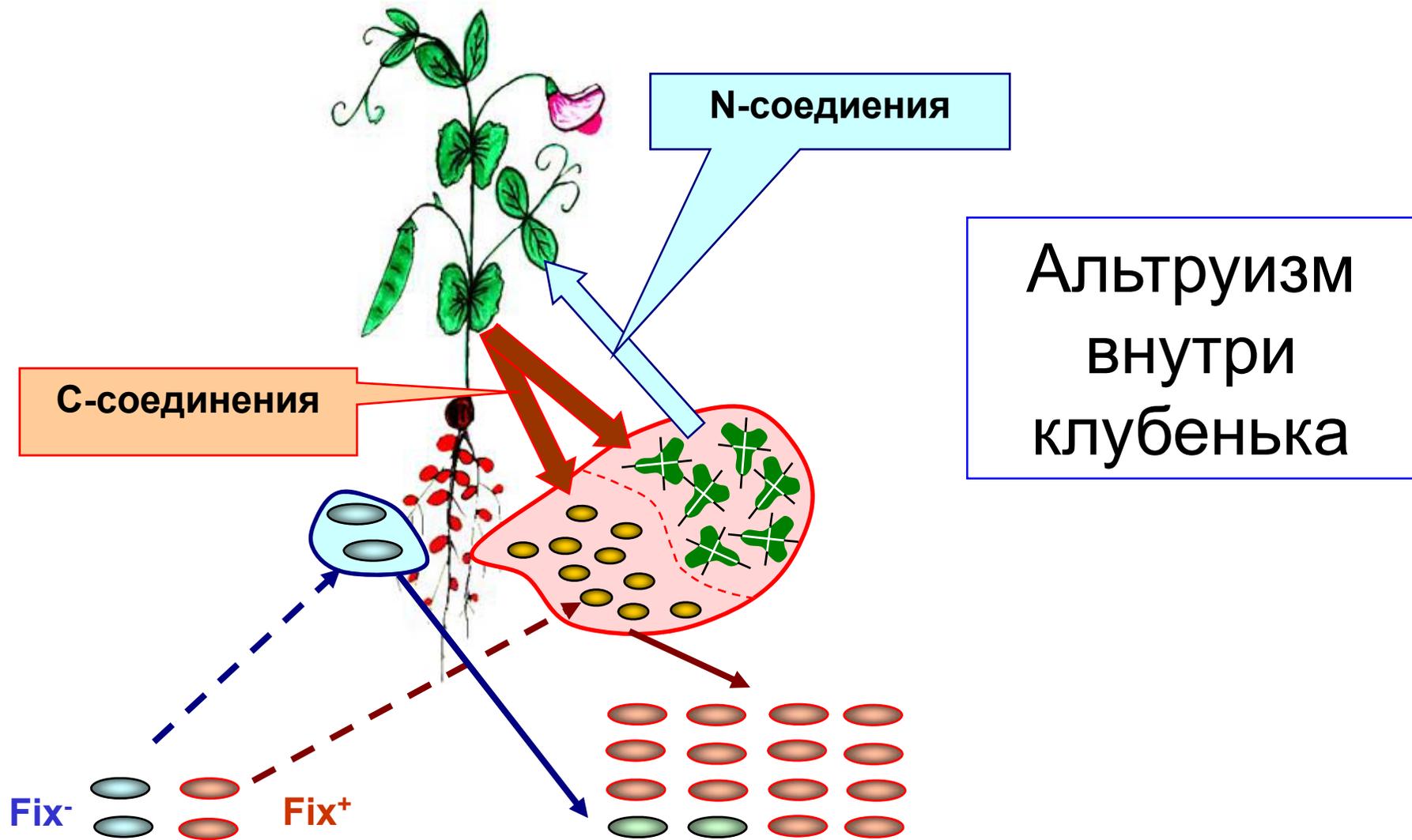
Отрицательные связи:
сходные с патогенезом

Положительные связи:
Специфичные для мутуализма

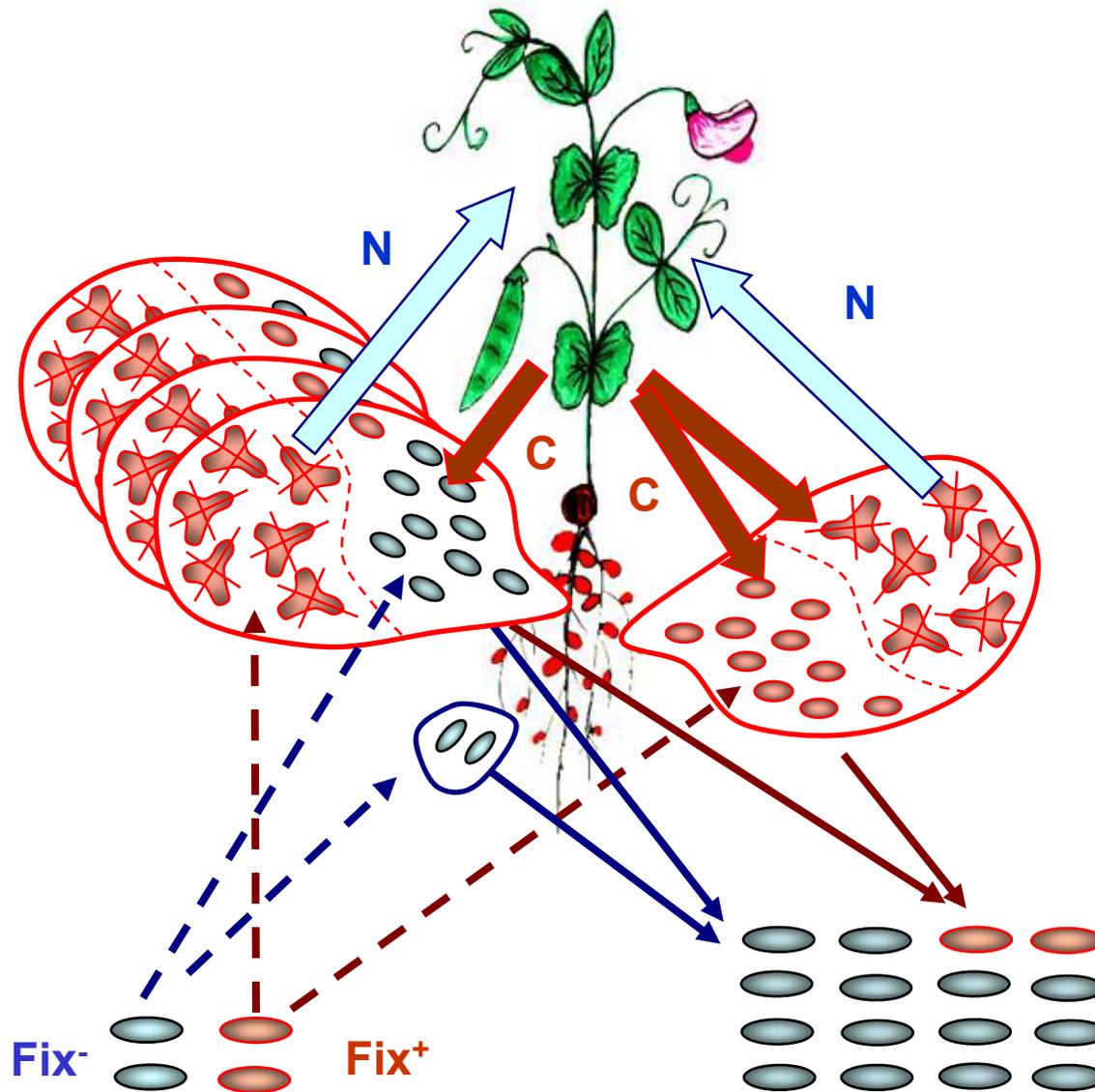
Межгрупповой отбор в системе симбиоза

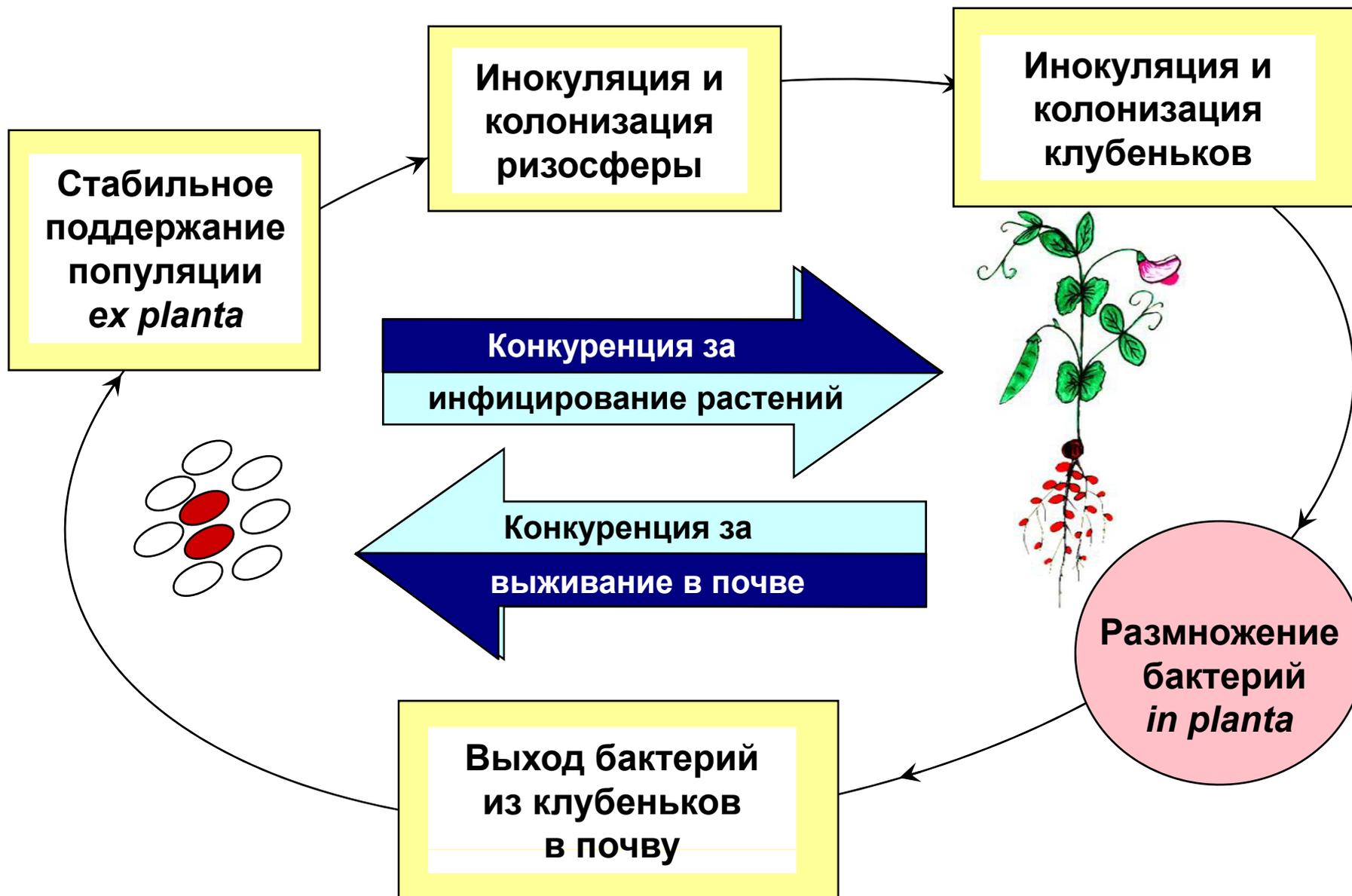


Отбор родичей в системе симбиоза

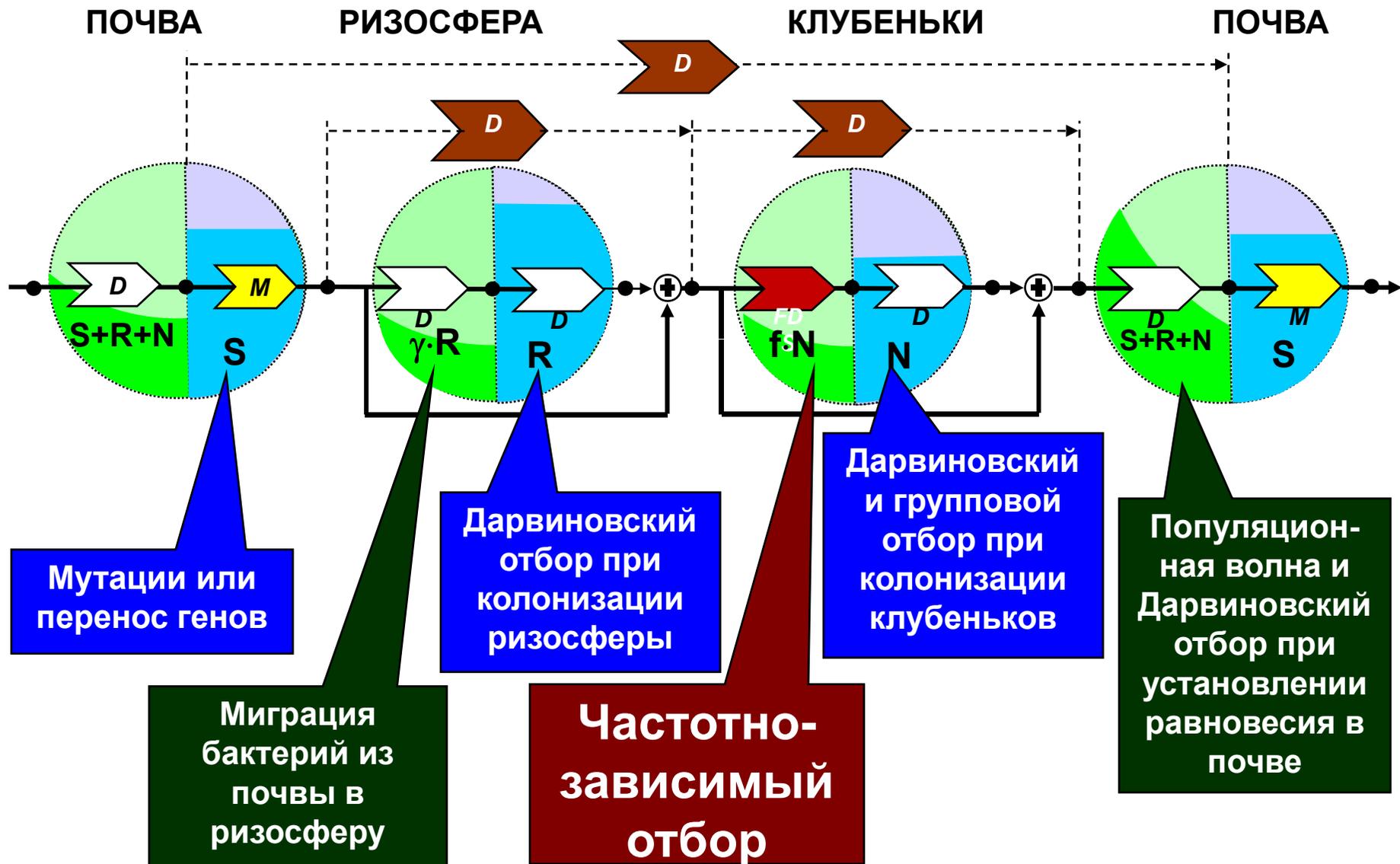


“Симбионты-обманщики” вытесняют “Истинных мутуалистов” при смешанном инфицировании клубеньков





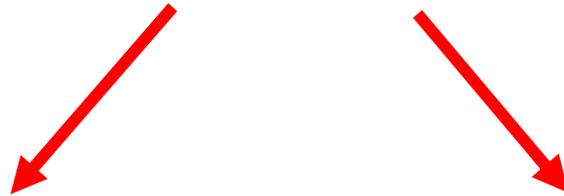
Микроэволюционные процессы при циркуляции бактерий в системе «растение-почва»



Связь эффективности и специфичности симбиоза *Rhizobium japonicum* с соей и люпином
(Доросинский, Лазарева, 1968. Микробиология: 37, 115-121)

Широко специфичные штаммы:

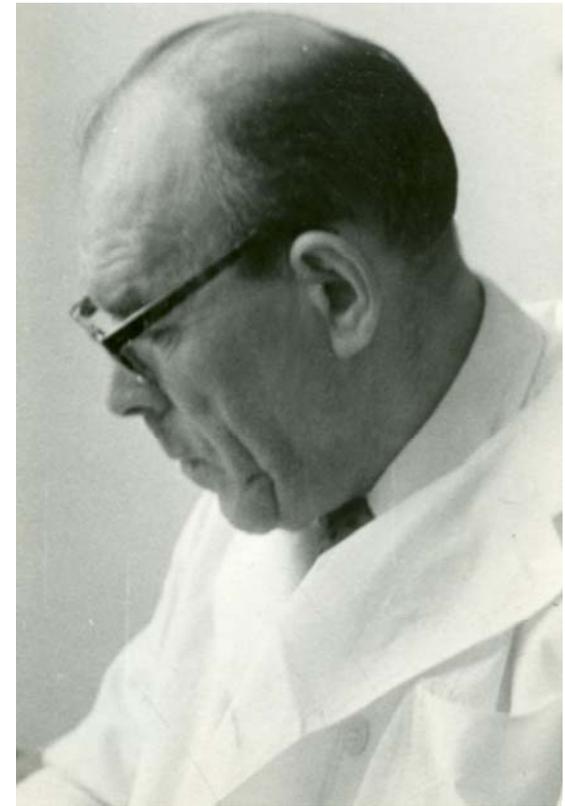
Fix^{+/-} на сое
Fix^{+/-} на люпине



Узко специфичные штаммы:

Fix⁺⁺ на сое
Fix⁻ на люпине

Fix⁻ на сое
Fix⁺⁺ на люпине



Л.М. Доросинский

Состав ко-эволюционной системы

Генотипы бактерий	Фиксация N ₂ с различными генотипами растений	
	Первый	Второй
Родитель: P	—	—
Мутанты: M1	+	—
M2	—	+
M3	+	+

Системные параметры, использованные для анализа микроэволюционных процессов (45)

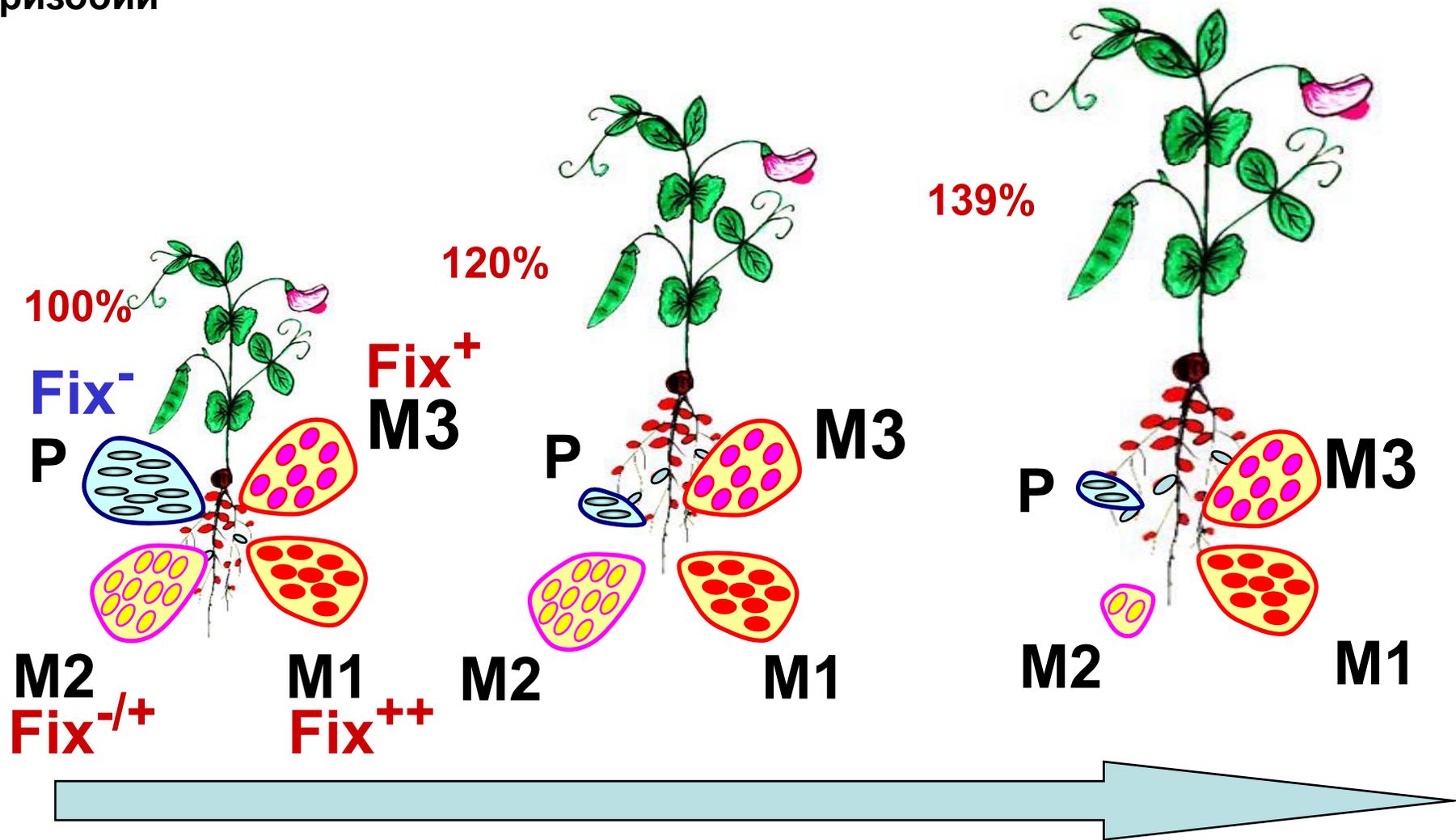
- **Частоты возникновения мутантов**
- **Индексы инокуляции бактериями ризосферных и клубеньковых ниш**
- **Скорости размножения (отмирания) бактерий в ризосферных, клубеньковых и почвенных нишах**
- **Объемы экологических ниш**
- **Коэффициенты азотфиксирующей активности**
- **Количества образуемых растениями семян**
- **Коэффициенты конкуренции в растительной популяции**

Интенсивность отбора (S_M) для бактерий-мутуалистов, различающихся по специфичности образования N_2 -фиксирующего симбиоза

Обратные связи, вызывающие отбор	Симбиотические системы	S_M для мутуалистов:	
		Специфичных (M1, M2)	Не специфичных (M3)
Метаболические	P+M1+M3, P+M2+M3	0.019-0.052	0.008
	P+M1+M2+M3	0.037	0.007
Популяционные	P+M1+M3, P+M2+M3	0.029-0.040	0
	P+M1+M2+M3	0.019-0.034	0.002-0.008

Генотипы бактерий	Фиксация N ₂ с различными генотипами растений	
	Первый (Г1)	Второй (Г2)
Родитель: Р	—	—
Мутанты: М1	++ (специфичный)	-/+ (анти-специфичный)
М2	-/+ (анти-специфичный)	++ (специфичный)
М3 (неспецифичный)	+	+

Возрастание эффективности симбиоза при ограничении колонизации клубеньков Г1 неактивным (P) и малоактивным (M2) штаммами ризобий



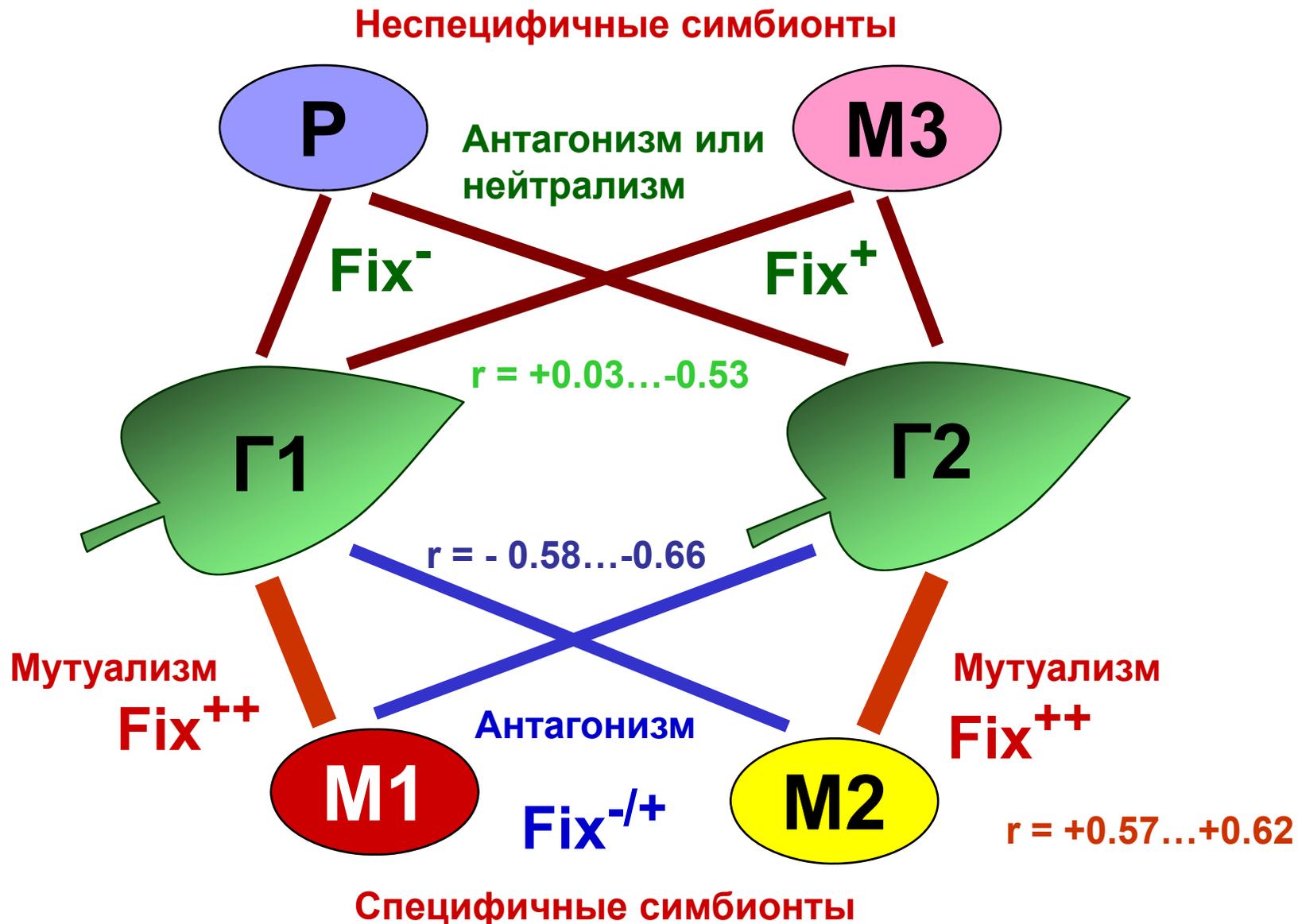
Соотношение давлений отбора, действующего на M3/M1

+ 0,24

- 0,01

- 1,07

Межкомпонентные взаимодействия в полиморфной симбиотической системе



Математическое описание целостности (функциональной интегрированности) симбиоза

1. Последовательное изменение системных параметров (+1%), вызывающее микроэволюционные изменения
2. Вычисление изменений частот для каждого генотипа растений или бактерий при изменении системных параметров
3. Построение матрицы ковариации для всех пар генотипов
4. Вычисление индекса функциональной интегрированности симбиоза (ФИС) путем факторного анализа матриц ковариации

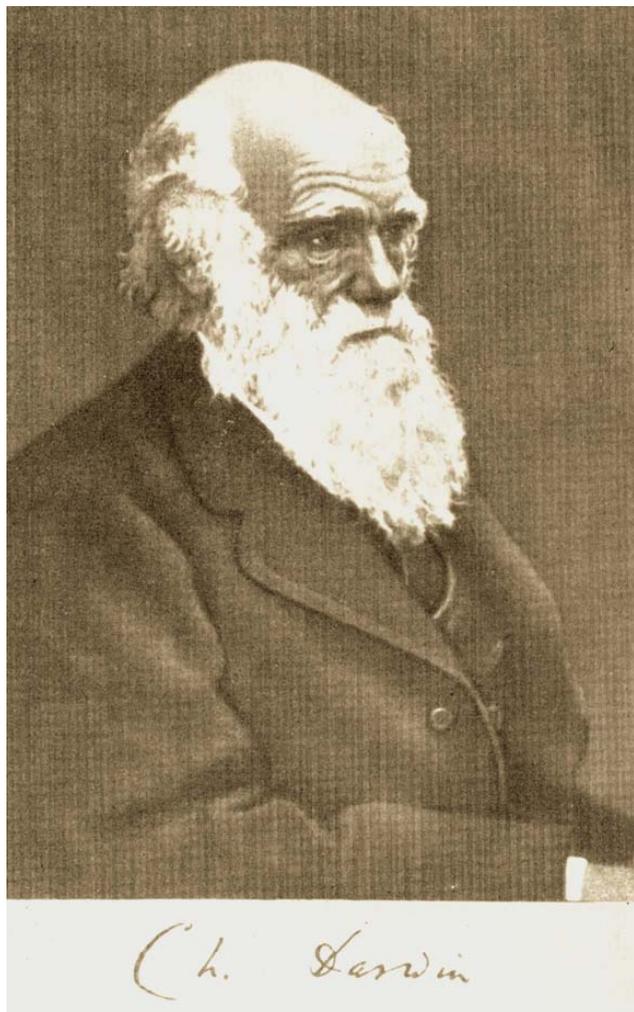
**Индекс ФИС (I_n) – мера согласованности адаптивных реакций компонентов симбиоза на действие средовых факторов
($0 \leq I_n \leq 1$)**

**Связь функциональной интегрированности симбиоза (ФИС) с его
адаптивно значимыми свойствами
($0 \leq I_{n_{PM}}, I_{n_M} \leq 1$)**

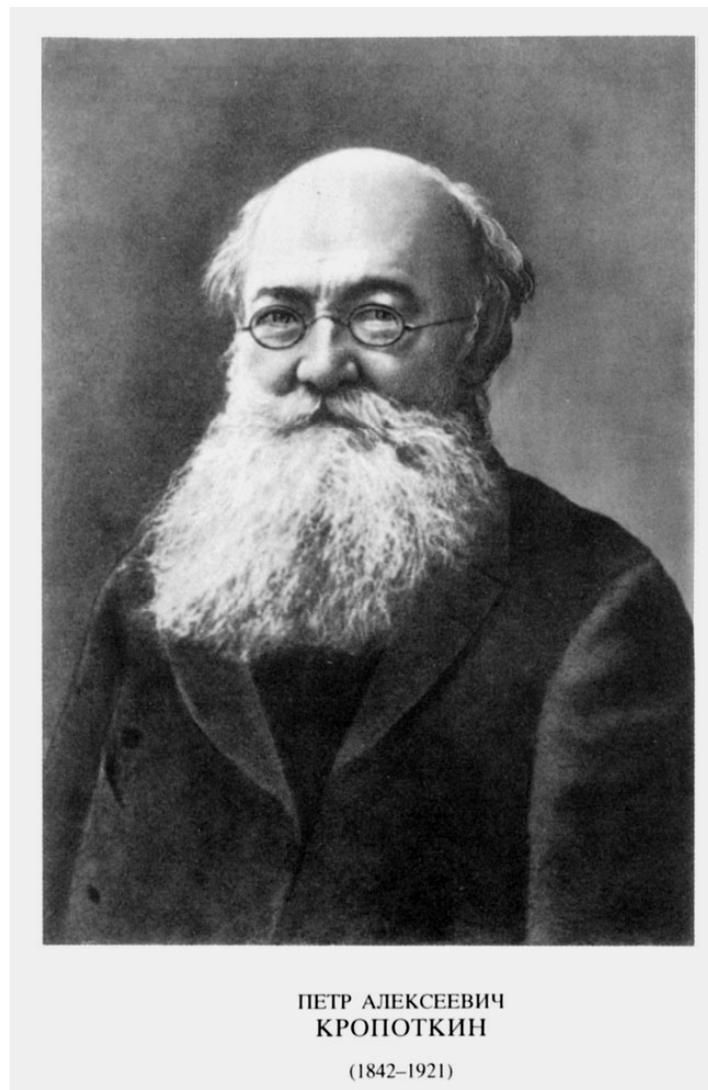
Индексы ФИС	Коэффициенты корреляции индексов ФИС с параметрами симбиоза (19 систем)			
	ЭМС	Разнообразие растений и бактерий	Финальные (при $t \rightarrow \infty$) частоты бактериальных генотипов	
			P	M3
$I_{n_{PM}}$ (0,211-0,908)	+ 0,728	- 0,818 ... - 0,978	- 0,887	+ 0,959
I_{n_M} (0,216-0,977)	+ 0,708	- 0,805 ... - 0,973	- 0,860	+ 0,959

$r = 0,456$ ($P_0 < 0,05$); $r = 0,575$ ($P_0 < 0,01$)

Отношения организмов, определяющие адаптивную эволюцию

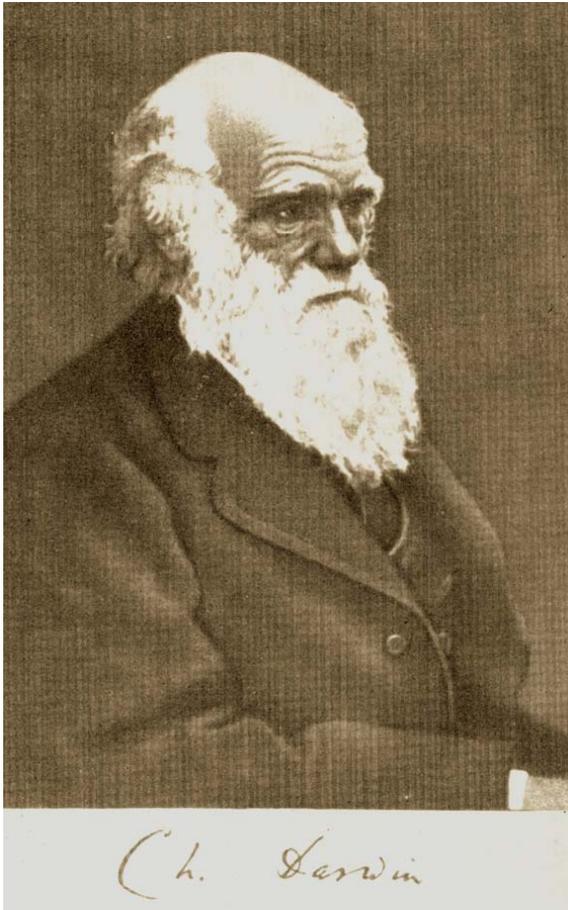


**Антагонизм и конкуренция
(борьба за существование)**



**Мутуализм
(взаимопомощь в живой природе)**

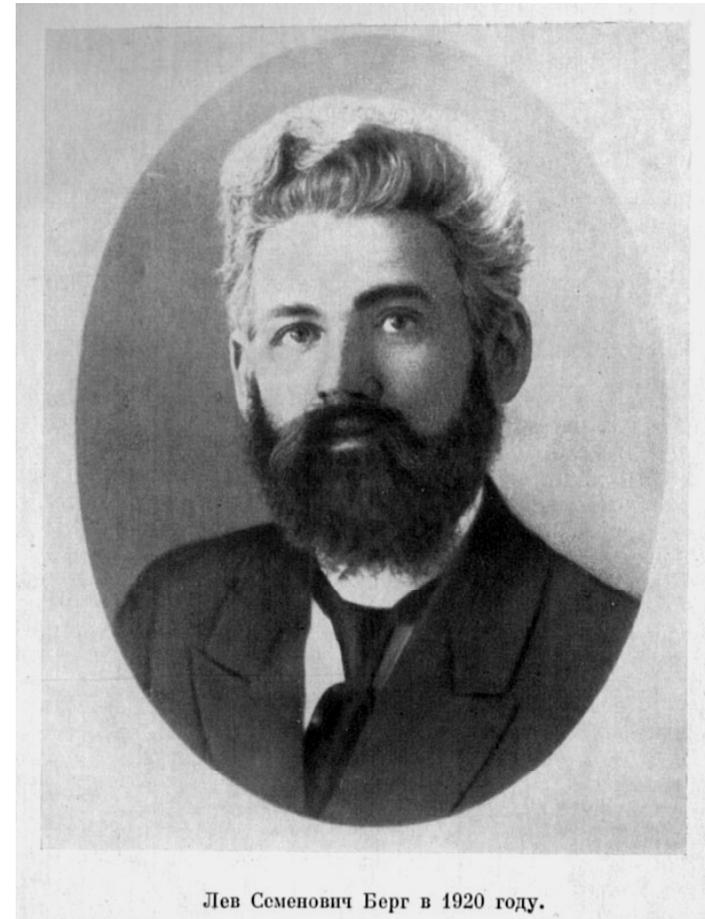
Направленность и факторы эволюции



Эволюция носит приспособительный характер.

Направленность макроэволюции отсутствует.

Основная движущая сила – естественный отбор.

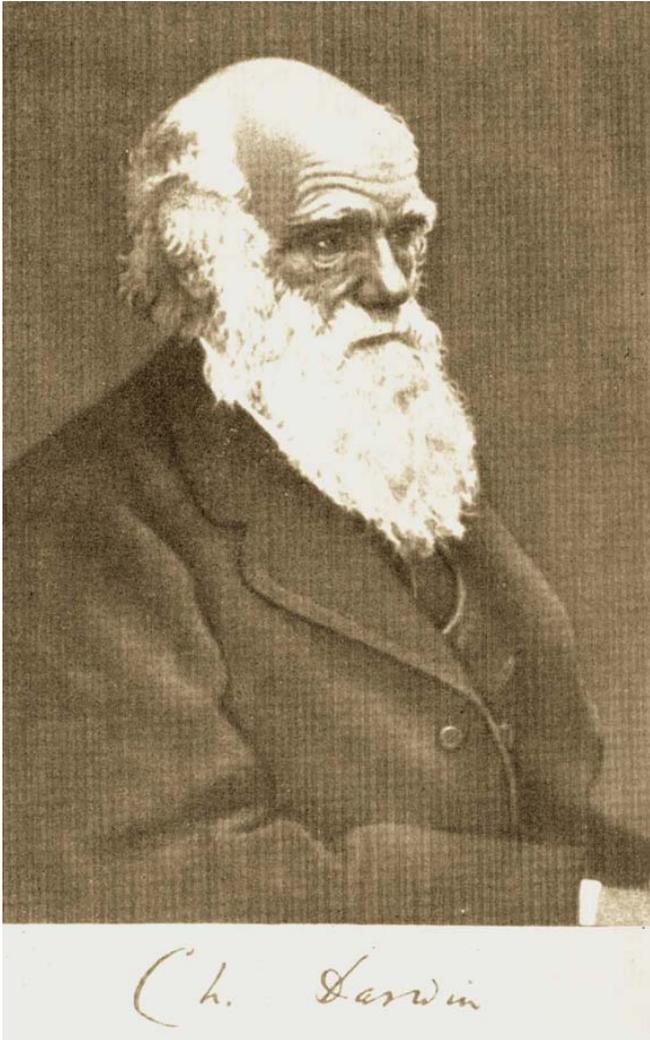


Эволюция не имеет приспособительного характера.

Направленность макроэволюции ярко выражена (номогенез, основанный на преадаптациях).

Роль отбора – элиминация нежизнеспособных форм.

Наследственная основа эволюции



**Неопределенная
генетическая изменчивость**



Ж.Б.Ламарк

**Наследование
благоприобретенных признаков**

ДНК

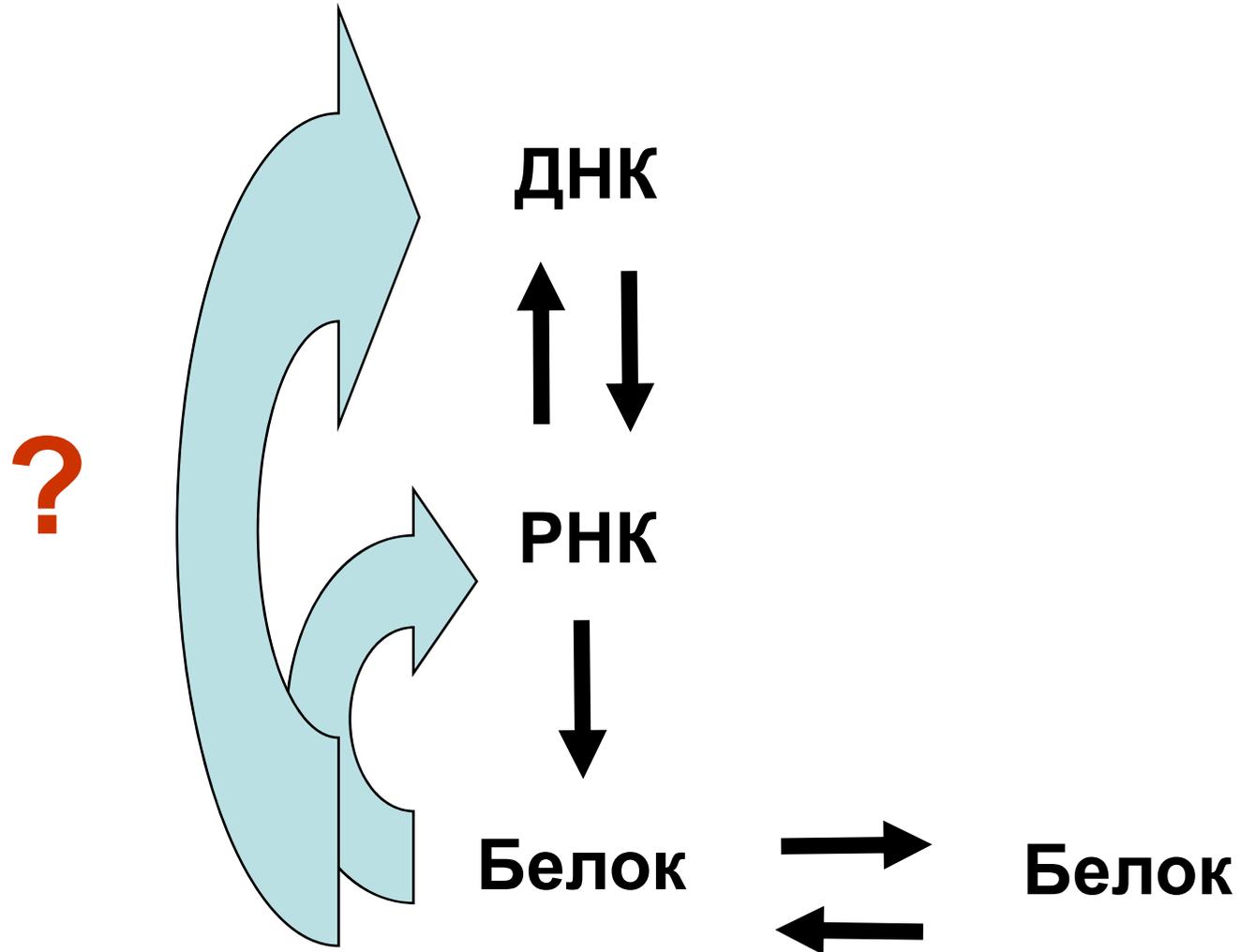


РНК



Белок

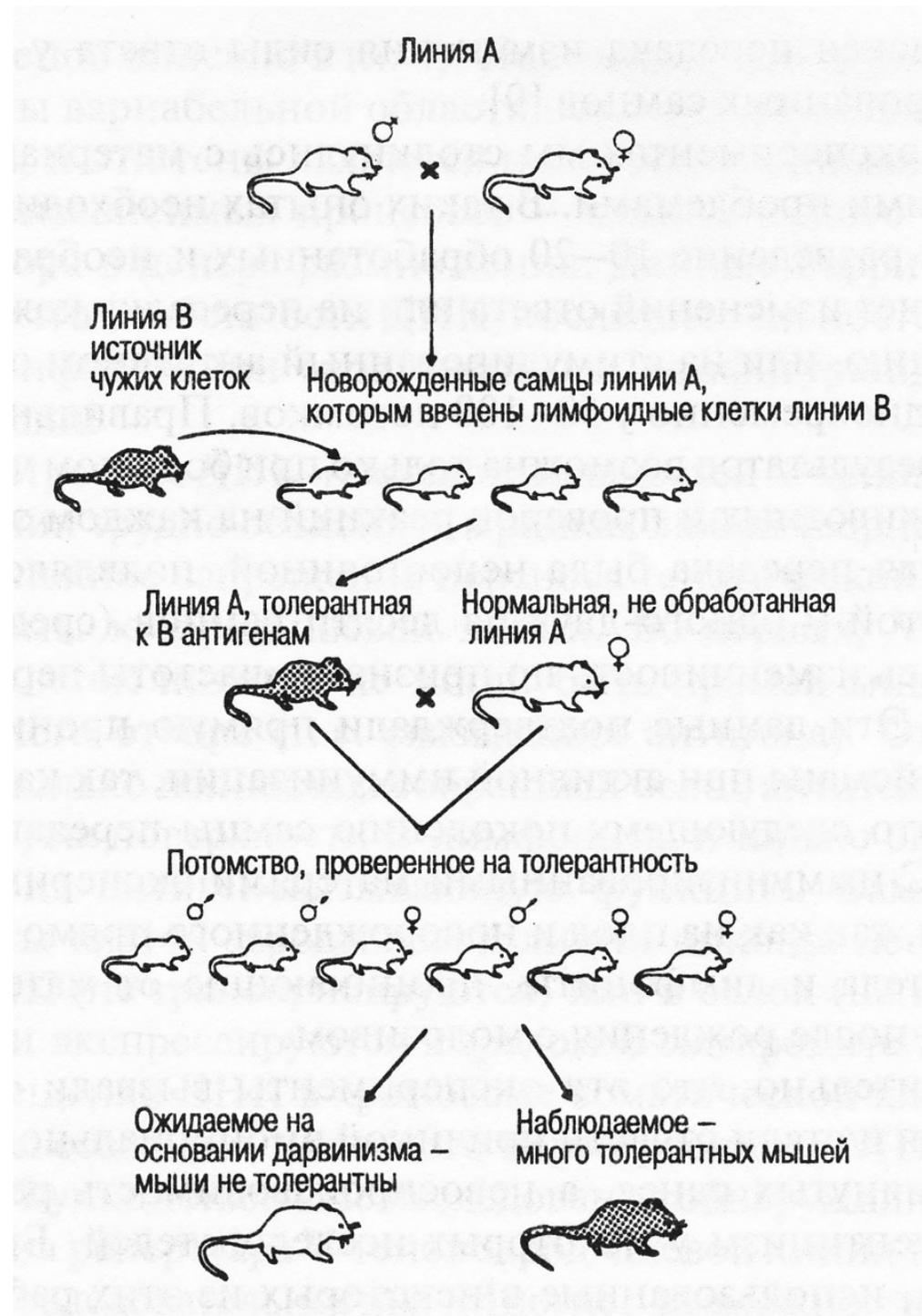
Центральная догма молекулярной биологии

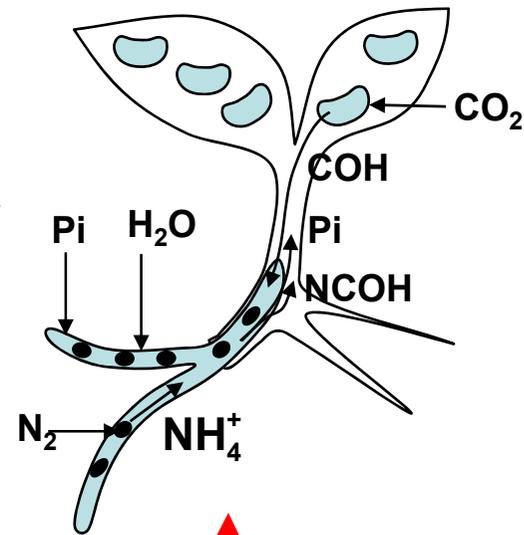
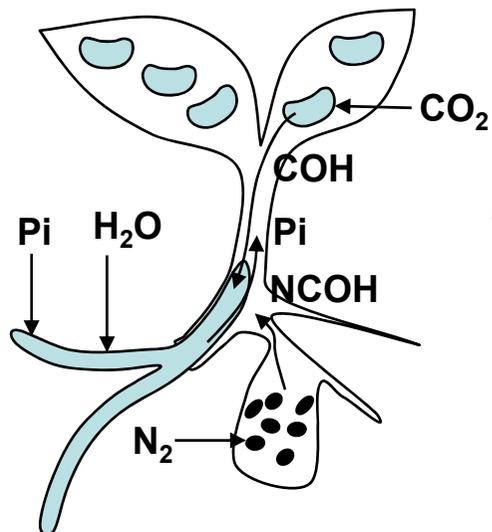
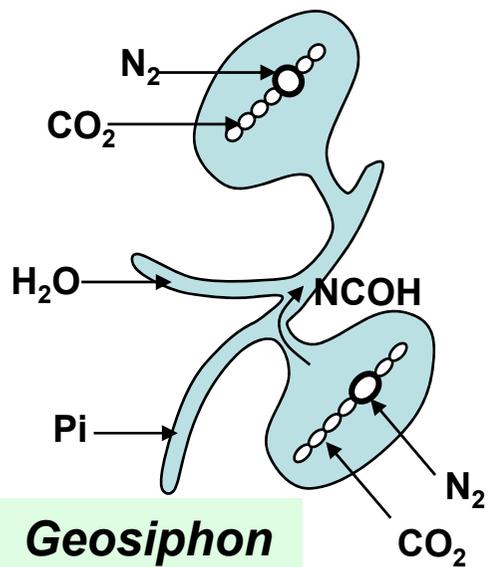


Наследование приобретенной иммуно-толерантности у мышей

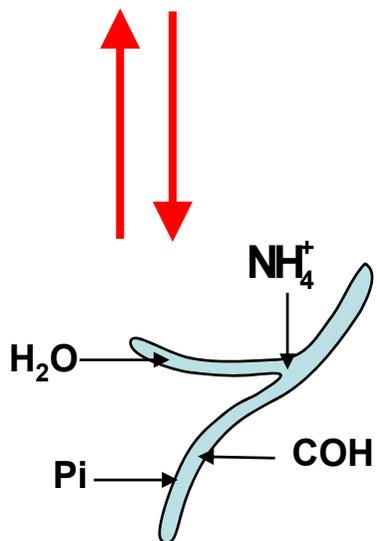
Э.Стил, Р.Линдли, Р.Бландэн
Что, если Ламарк был прав?

М. Мир. 2002

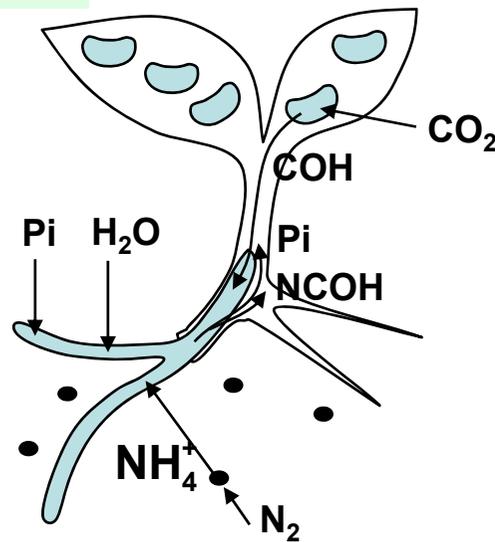




**Эволюция
арбускулярной
микоризы**

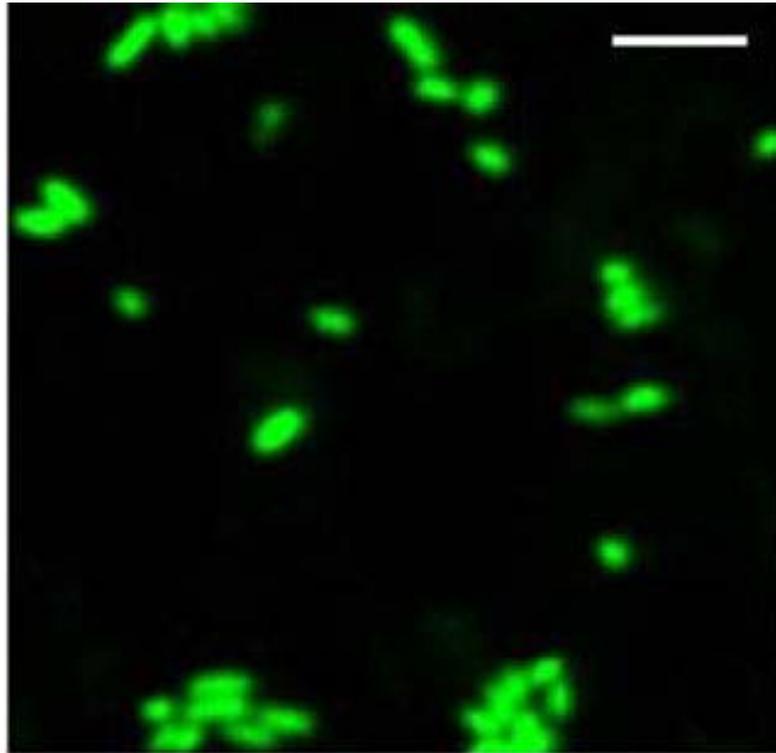


**Unknown
free-living
fungus**

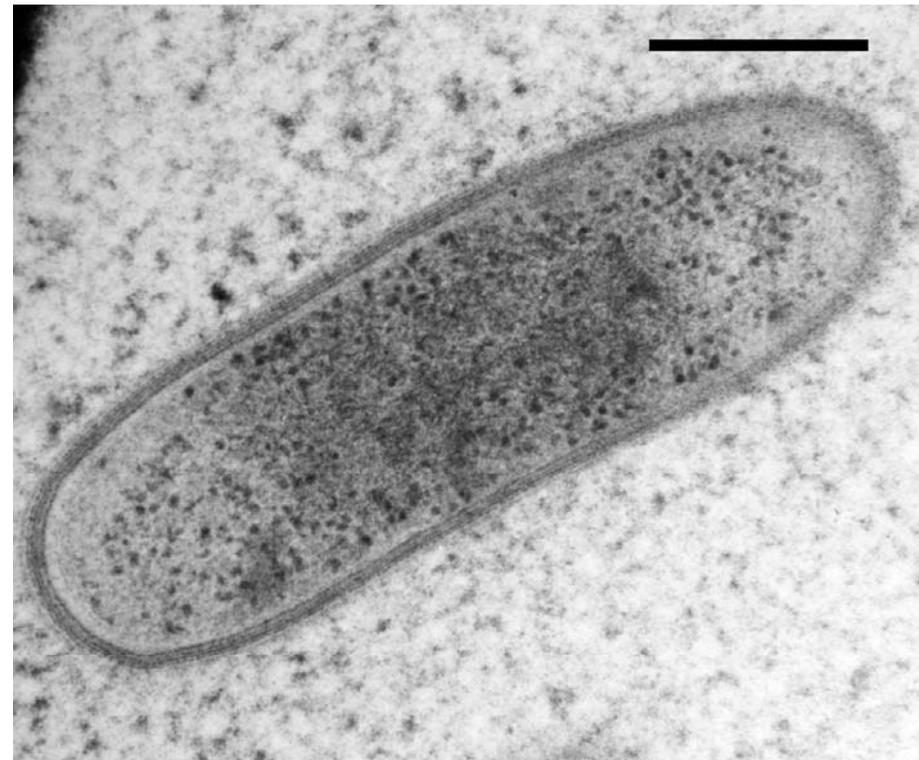


Бактериальные эндосимбионты гломусовых грибов

Бактерии в грибных спорах



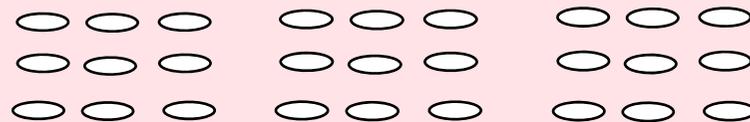
Бактерия в грибном мицелии



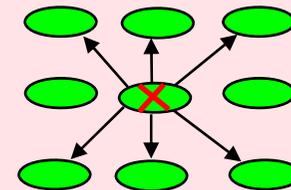
Burkholderia (β -протеобактерии) – мультифункциональные симбионты растений (патогены, азотфиксирующие эндофиты, ризобактерии, клубеньковые бактерии)

“Альтруистические” отношения между клетками у свободноживущих бактерий

- ✓ Частичный лизис клеток в условиях голодания
- ✓ Синтез бактериоцинов
- ✓ Ускоренный лизис клеток, инфицированных фагом
- ✓ Необратимая дифференцировка при образовании многоклеточных комплексов

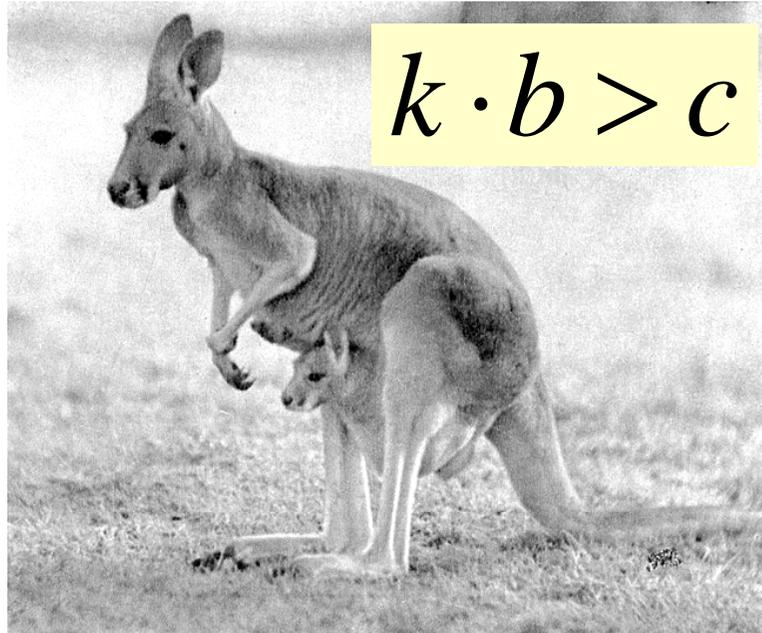


Групповой отбор



Модели альтруизма

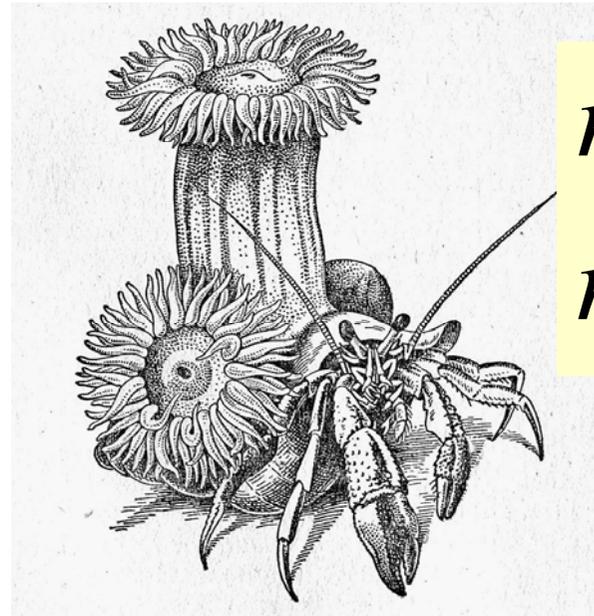
Внутривидовой альтруизм
(социальное поведение)



k – степень родства (kinship) доноров и реципиентов альтруизма.

Отбор родичей

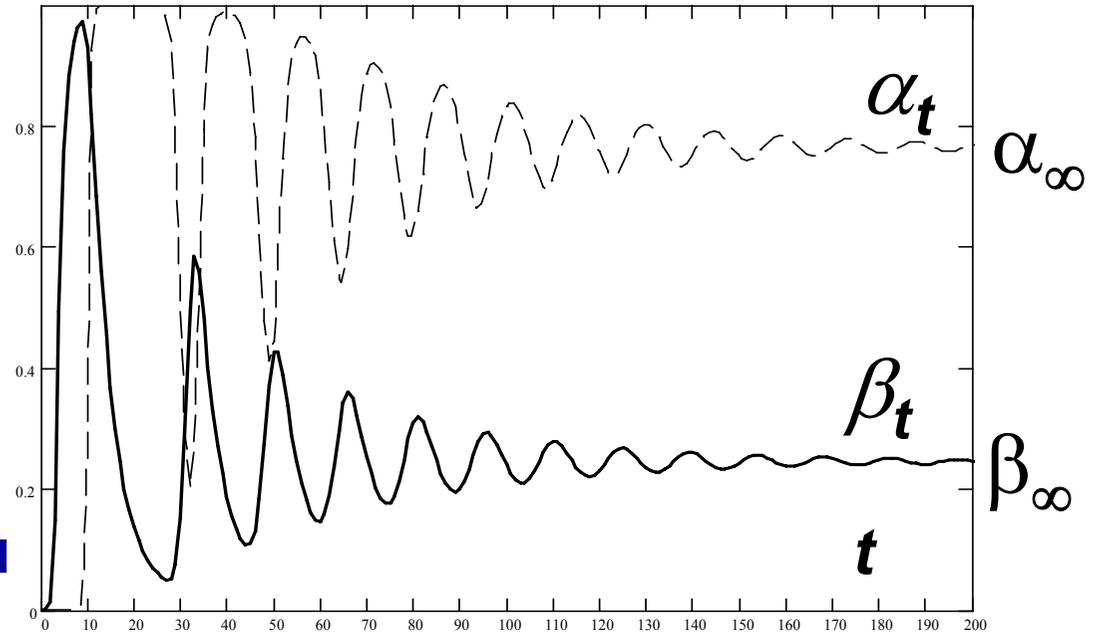
Межвидовой альтруизм
(симбиоз)



r - коэффициент корреляции между величинами экологического выигрыша, получаемого каждым из партнеров

Динамика ко-эволюционной системы

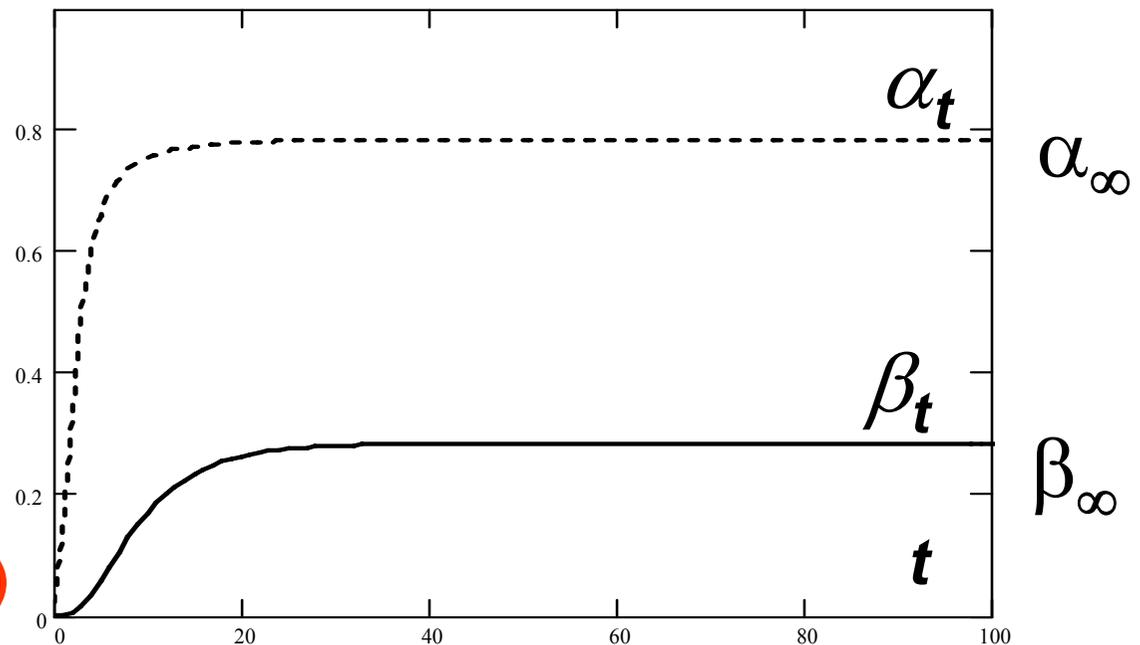
Колебательный режим
(низкое давление ЧЗО)



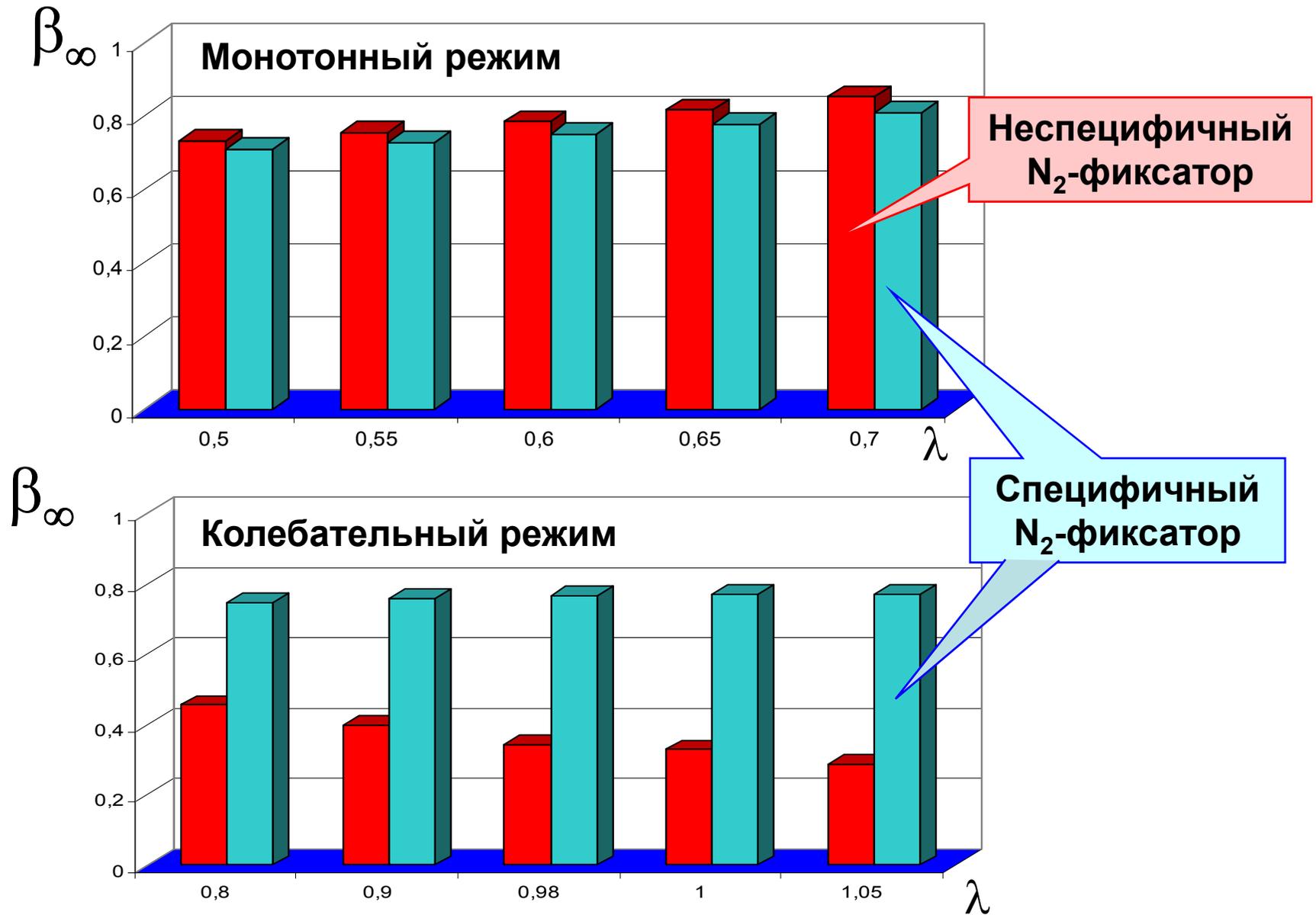
α_t – частота 1-го
генотипа растений

β_t – частота
 N_2 -фиксирующего
штамма ризобий

Монотонный режим
(высокое давление ЧЗО)



Специфичный к хозяину N₂-фиксатор более приспособлен к выживанию в системе, чем неспецифичный N₂-фиксатор



Математическое описание макроэволюционных процессов в симбиотической системе

1. Внесение изменений в схему развития симбиоза

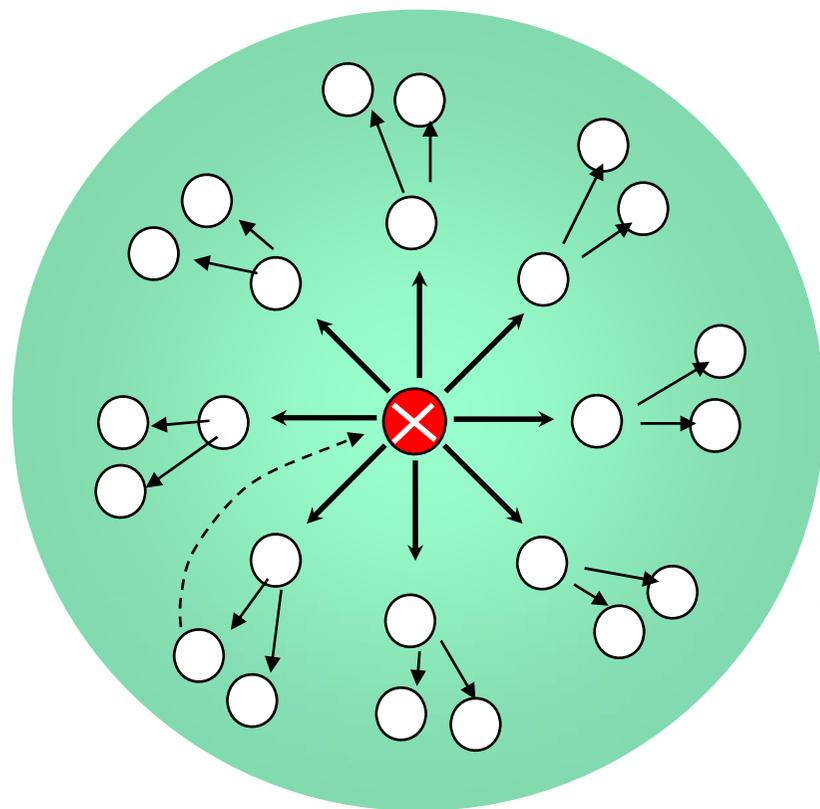
- запреты на колонизацию клубеньковой ниши разными штаммами
- одновременное изменение N_2 -фиксирующей активности всех штаммов
- резкое изменение параметров, к которым система наиболее чувствительна

2. Определение для полученных систем:

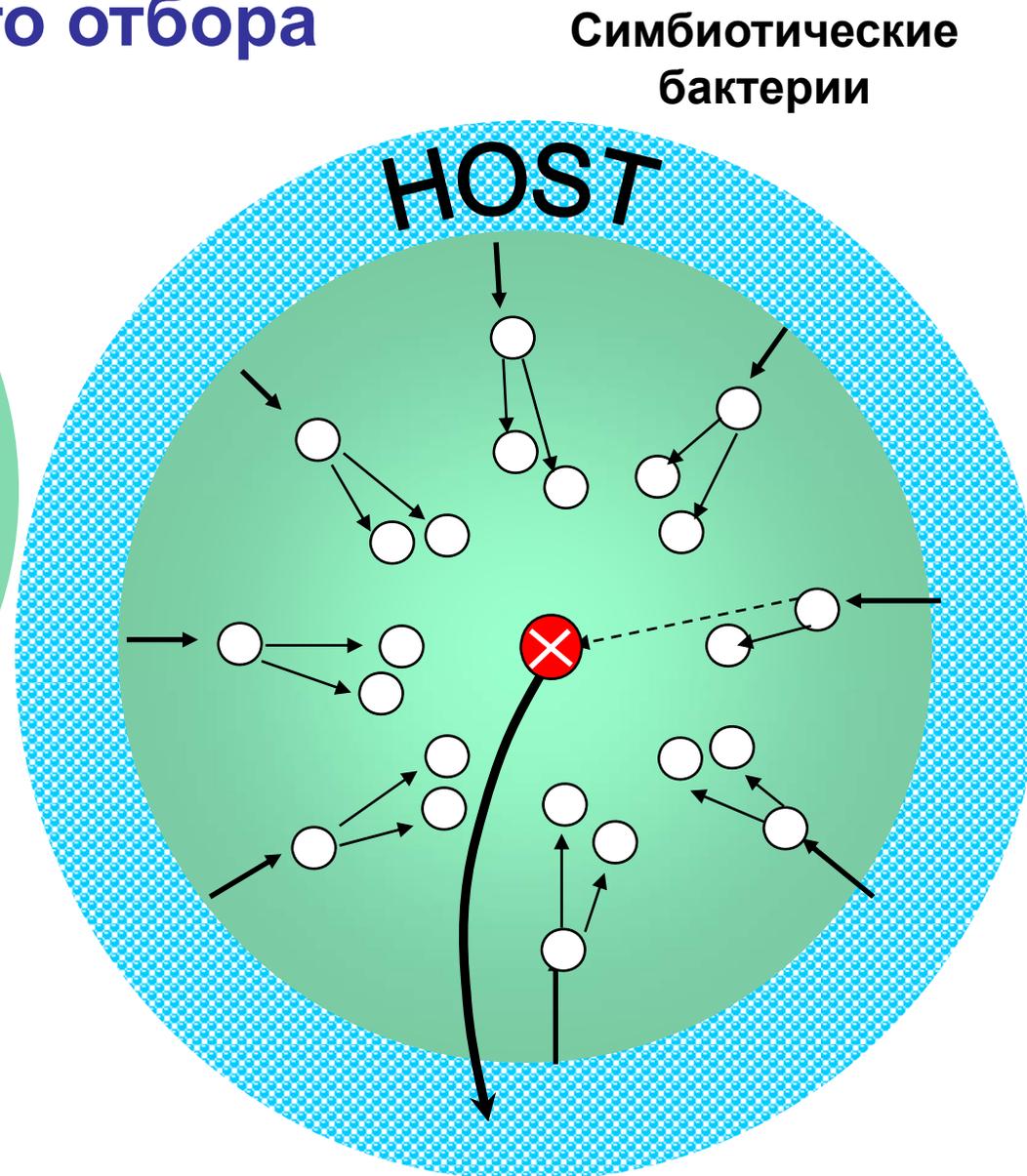
- эффективности мутуалистического симбиоза (репродуктивный потенциал растений, пропорциональный азотфиксирующей активности бактерий)
- популяционного разнообразия партнеров
- индексов ФИС

3. Сопоставление индексов ФИС с адаптивными свойствами системы

Альтруистические отношения в бактериальных популяциях, приводящие к действию группового отбора



Свободноживущие
бактерии

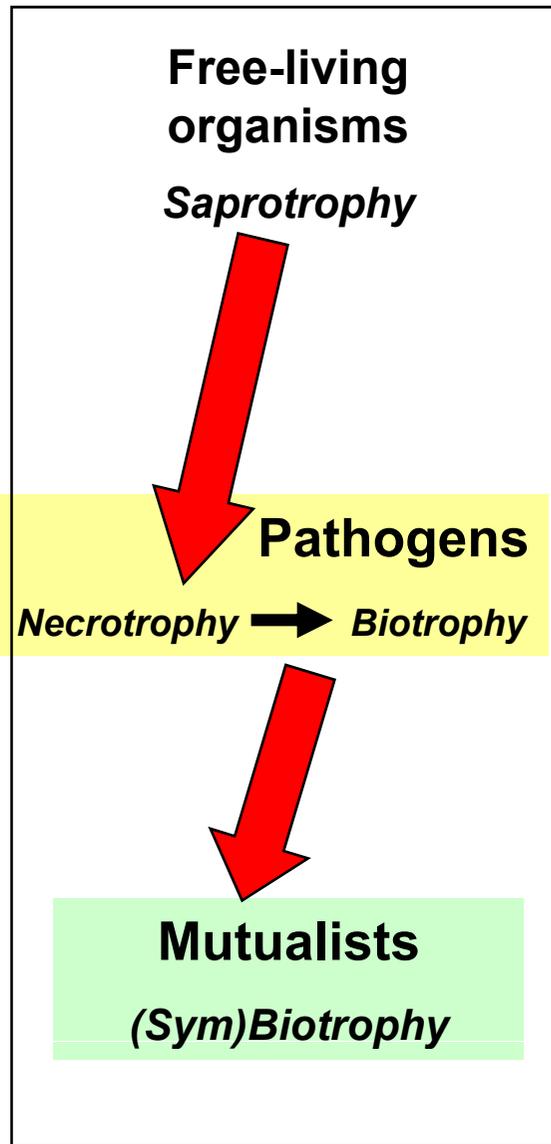


Основные типы азотфиксирующих клубеньков бобовых

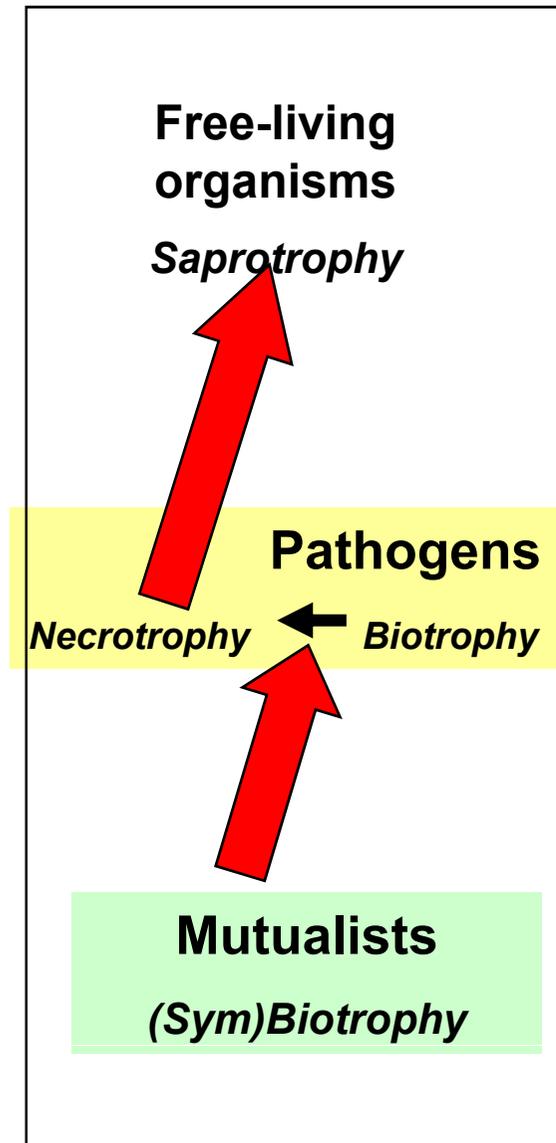
Тип (растения)	Инфекция	Эндоцитоз	Меристема	Зональность клубенька
Примитивный (анцестральные деревянистые формы)	Разрывы эпидермиса	Отсутствует	Стабильная	Выражена
Ашеноменодный (арахис)		Из межклетников	Нестабильная	Отсутствует
Детерминированный (фасоль, соя)	Корневые волоски	Из инфекционных нитей	Нестабильная	
Недетерминированный (горох, люцерна)			Стабильная	

Основные типы корневых клубеньков у бобовых п/сем. Papilionoideae

Признаки клубеньков	Типы клубеньков	
	Недетерминированные	Детерминированные
Апикальная меристема	Стабильная (месяцы)	Короткоживущая (дни)
Зональность	Ярко выражена	Отсутствует
Бактероиды по сравнению с недифференцированными бактериями	Значительно крупнее, часто плеiomорфны (1 на симбиосому)	Варьируют, не плеiomорфны (несколько на симбиосому)
Локализация примордия	Внутренний кортекс корня	Наружный кортекс корня
Транспортные формы азота	Амиды, аминокислоты (C:N = 2-3)	Уреиды (C:N = 1)



Lewis, 1974



Savile, 1968

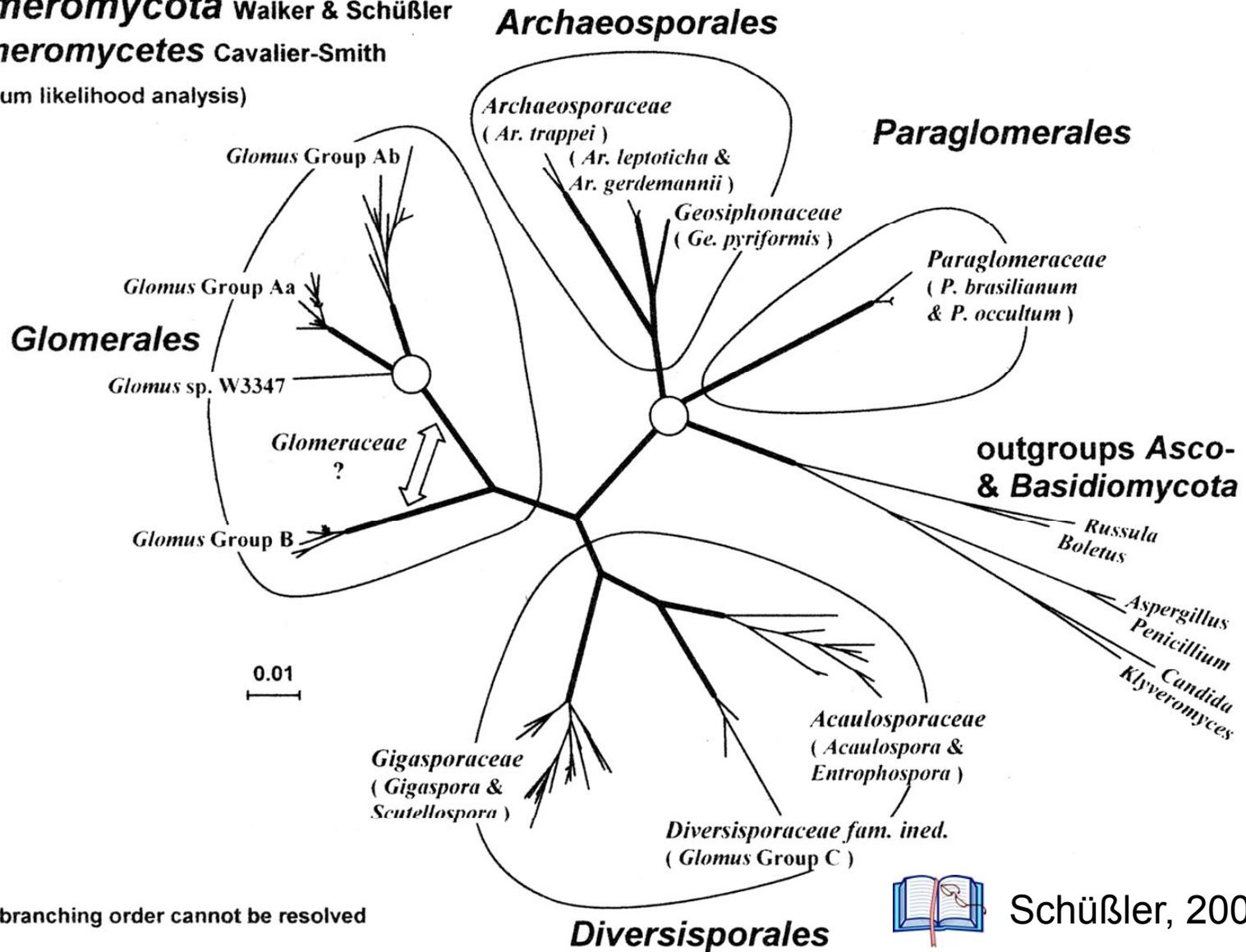
Эволюционные соотношения разных типов симбионтов

AM fungi are not related to pathogens

Glomeromycota Walker & Schüßler

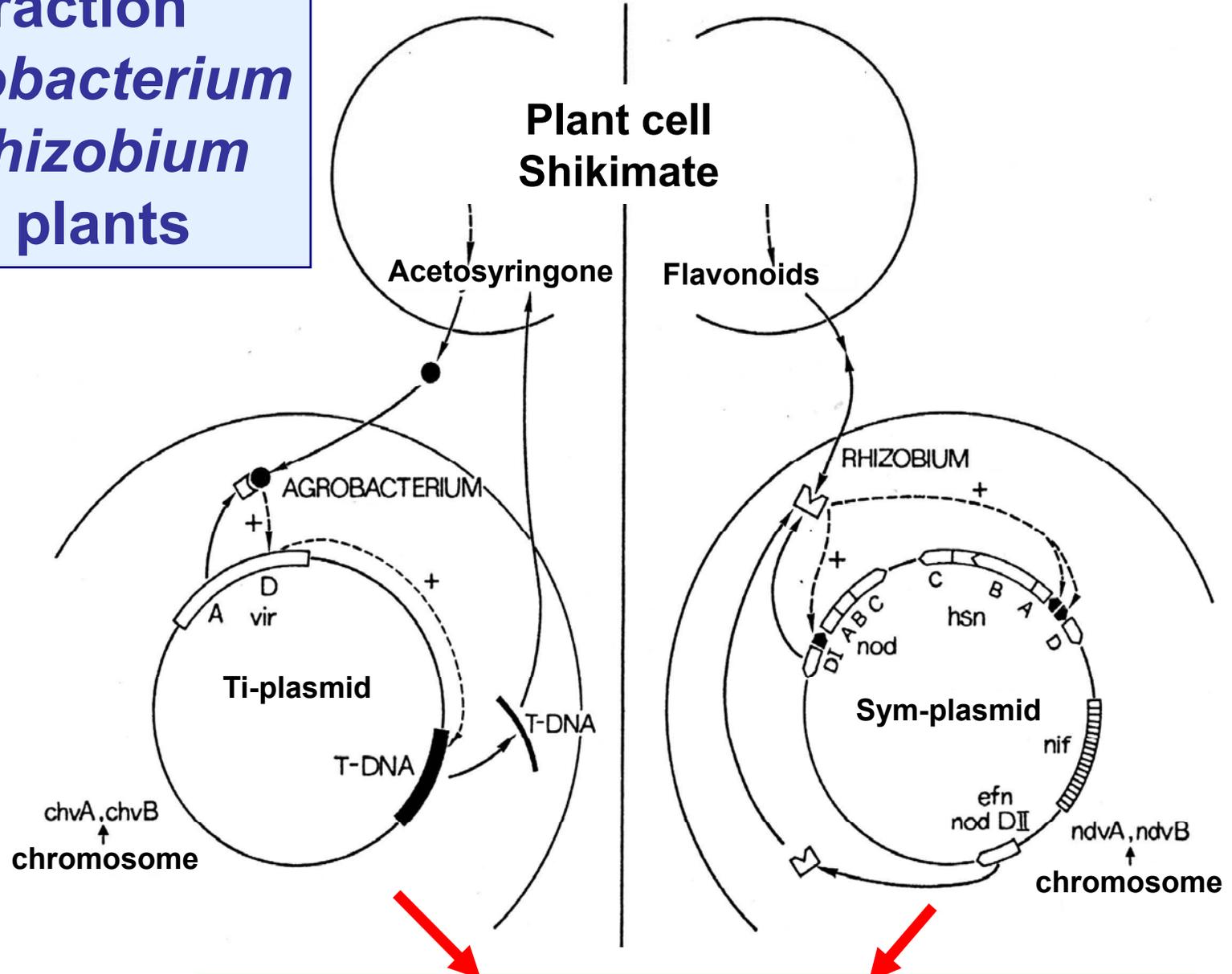
Glomeromycetes Cavalier-Smith

(maximum likelihood analysis)



Schüßler, 2002

Interaction of *Agrobacterium* and *Rhizobium* with plants

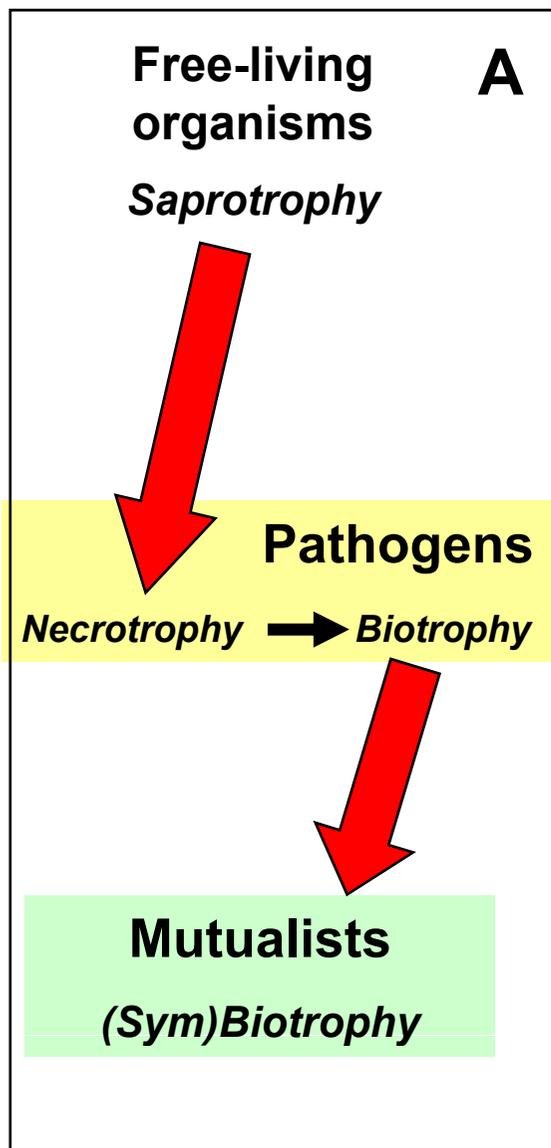


Müntz, 1978

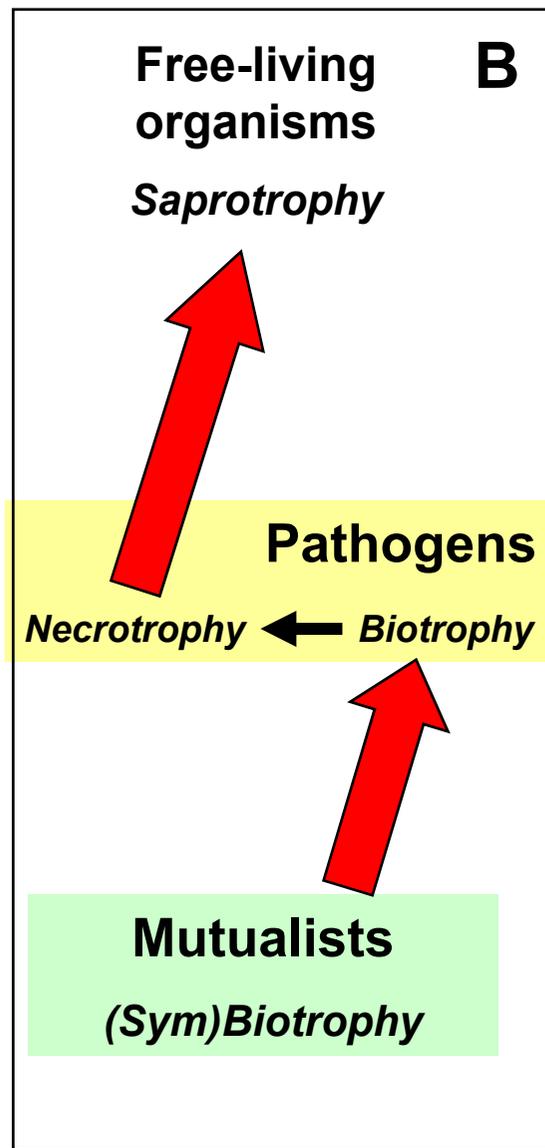
**Proliferation of plant cells.
New organs. Transfer of C- and N-metabolites.**

Ключевые взаимодействия *Rhizobium* и *Agrobacterium* с растениями

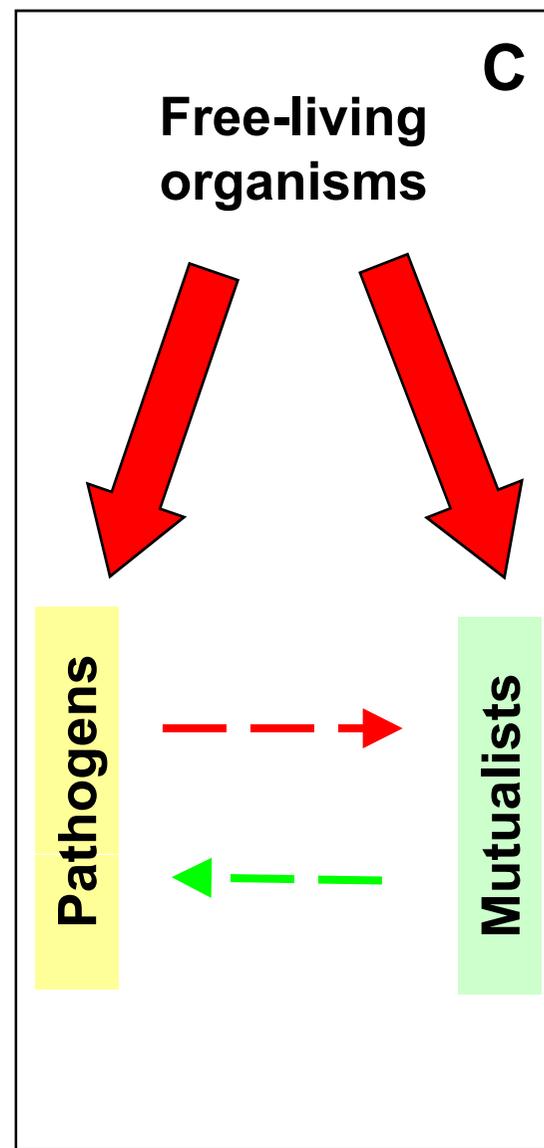
Взаимодействия	<i>Rhizobium</i>	<i>Agrobacterium</i>
Перенос бактериальных генов в растения	Не выявлен	Происходит регулярно (интеграция Т-ДНК в хромосомы хозяина)
Индукция генов вирулентности сигнальными факторами растений	Флавоноидами (однокомпонентная система <i>nodD</i>)	Фенольными веществами (двухкомпонентная система <i>virA/virG</i>)
Пролиферация растительных клеток, индуцируемая:	Липо-хито-олигосахаридными Nod-факторами бактерий	Фитогормонами, которые синтезируются растительной клеткой под контролем Т-ДНК
Развитие новых структур	Гистологически дифференцированные клубеньки	Недифференцированные опухоли или “бородатые” корни
Перенос метаболитов: растение→бактерии	дикарбоновые кислоты (источники С)	опины (источники С и N)
бактерии→растение	NH ₄ ⁺ (аминокислоты?)	не выявлен
Осмотическая адаптация бактерий в тканях хозяина	Синтез циклических β-глюканов, кодируемый гомологичными генами <i>ndv</i> (ризобии) и <i>chv</i> (агробактерии)	



Lewis, 1974



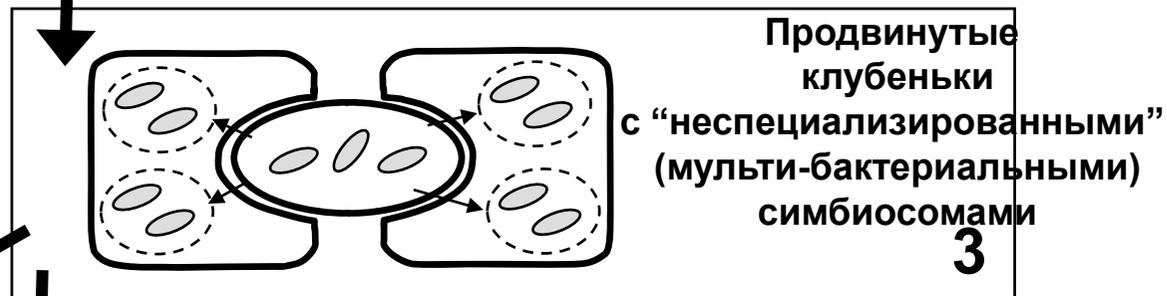
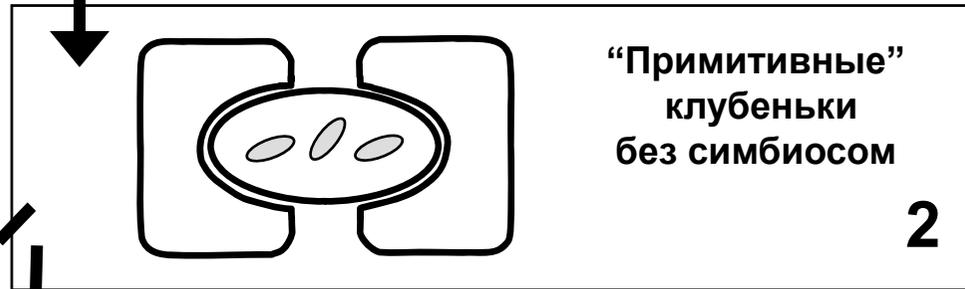
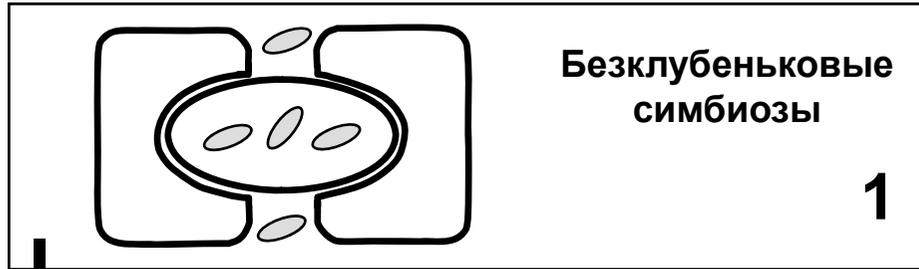
Savile, 1968



Provorov, Vorobyov,
Tikhonovich, 2010

Эволюционные соотношения разных типов симбионтов

Эволюция типов азот-фиксирующих клубеньков у бобовых



Редуцированные типы клубеньков или отсутствие клубеньков 5