

Обзоры, проблемы, итоги

УДК 631.52:581.557:579.64:575

doi: 10.15389/agrobiology.2022.5.821rus

**СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ
И СИМБИОГЕНЕТИКА: СИНТЕЗ КЛАССИЧЕСКИХ ИДЕЙ
И КОНСТРУИРОВАНИЕ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ АГРОЦЕНОЗОВ***
(обзор)Н.А. ПРОВОРОВ¹ ✉, И.А. ТИХОНОВИЧ^{1, 2}

Сельскохозяйственная микробиология (СХМ) — это дисциплина, изучающая прокариотические и эукариотические микроорганизмы, которые определяют функционирование основных компонентов агроценоза (растений, животных и почвы). Развитие СХМ основано на идеях и методах микробиологии, физиологии растений, почвоведения и генетики, направленных на изучение организации и эволюции биосистем, где микроорганизмы выполняют агрономически важные функции в тесном взаимодействии друг с другом и с высшими организмами. Переходя из окружающей среды в эндосимбиотические ниши растений или животных, микроорганизмы образуют с ними многокомпонентные комплексы — холобионты (Е. Rosenberg с соавт., 2018). Они обладают собственными системами наследственности — симбиогеномами и хологеномами, которые служат предметом изучения симбиогенетики (И.А. Тихонович, Н.А. Проворов, 2012). Микроорганизмы, образующие симбиозы с растениями, выполняют важнейшие для них функции: трофические (фиксация N₂, усвоение почвенных источников питания, в первую очередь фосфатов), защитные (био-контроль фитопатогенов и фитофагов) и регуляторные (синтез фитогормонов, которые оптимизируют развитие растений и повышают устойчивость к неблагоприятным факторам среды). К наиболее изученным и важным для практики симбионтам растений относятся клубеньковые бактерии, или ризобии (*Rhizobiales*), — N₂-фиксирующие микросимбионты бобовых, грибы арбускулярной микоризы (*Glomeromycota*) — фосфатмобилизующие симбионты (более 80 % видов) растений (А. Berruti с соавт., 2016; ризосферные и эндофитные бактерии (например, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*), стимулирующие развитие растений и определяющие их устойчивость к антагонистам (патогенам, вредителям) и стрессам (засухе, засолению, загрязнению почв ксенобиотиками или тяжелыми металлами) (М.А. Hassani с соавт., 2018). У животных трофические симбионты определяют усвоение растительной пищи (микробиота кишечника или рубца), синтез незаменимых метаболитов (кишечные и внутриклеточные симбионты) и фиксацию N₂ (симбионты некоторых животных-фитофагов) (Е. Rinninella с соавт., 2019). Изучение симбионтов растений и животных позволяет создавать микробные препараты, которые улучшают питание хозяев и их устойчивость к стрессам, а также повышают плодородие почв. В растениеводстве широко применяются препараты N₂-фиксирующих и ростстимулирующих бактерий, которые позволяют резко снижать дозы экологически опасных азотных и фосфорных удобрений. Препараты микроорганизмов-антагонистов фитопатогенов — *Pseudomonas*, *Bacillus* (В.Ј. Lugtenberg с соавт., 2001; V.К. Chebotar с соавт., 2009), мышевидных грызунов — *Salmonella enteritidis*, *Serratia plymuthica* (А. Soenens, J. Imperial, 2019) и насекомых-фитофагов — *Bacillus thuringiensis*, *Beauveria bassiana* (А. V. McGuire, T. D. Northfield, 2020) используют для биоконтроля. Они также позволяют значительно снизить пестицидную нагрузку на агроценозы. СХМ вносит существенный вклад в изучение фундаментальных биологических процессов — генетических и молекулярных взаимодействий про- и эукариот, эволюции клетки и ее генома, а также формирования надорганизменных систем наследственности (И.А. Тихонович, Н.А. Проворов, 2009). Разработаны методы симбиотической инженерии, направленной на конструирование высокопродуктивных биосистем сельскохозяйственного, природоохранного и медицинского назначения.

Ключевые слова: сельскохозяйственная микробиология, симбиогенетика, симбиотическая азотфиксация, генетическая инженерия, биоконтроль патогенов и вредителей, микробиологические препараты, экологически устойчивое земледелие.

Сельскохозяйственная микробиология (СХМ) возникла в конце XIX века как прикладное направление, связанное с питанием растений и биоконтролем их вредителей (цит. по 1, 2), и оформилась в 1930-х годах как синтетическая дисциплина, использующая методы микробиологии, физиологии растений и почвоведения. В 1940-х годах были открыты системы «ген-на-ген», определяющие отношения фитопатогенов и их хозяев (3), а

* Подготовлено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 19-16-00081П).

также ризобий и бобовых растений (4). Было показано, что отношения микроорганизмов и их хозяев могут быть описаны в терминах взаимодействия генов (5) — эпистаза (паразитарные системы) или комплементарности (мутуалистические симбиозы) (табл. 1). Наиболее глубокая интеграция партнеров, то есть образование объединенных сигнально-рецепторных комплексов и биохимических путей, характерна для отношений мутуализма (6). Результатом интегративной эволюции стало формирование холобионтов — надвидовых комплексов, обладающих собственными системами наследственности (хологеномами), которые обеспечивают растениям и животным разнообразные адаптивные функции (7).

1. Типы взаимодействия генов у свободноживущих и симбиотических организмов

Тип взаимодействия	Микроорганизмы	
	свободноживущие (5)	симбиотические (3, 4)
Эпистаз	Подавление геном одной аллельной пары проявления гена другой аллельной пары	Взаимодействия «ген-на-ген» в паразитарных системах (подавление хозяином патогенных микроорганизмов)
Комплементарность	Участие нескольких неаллельных генов в развитии признака	Функциональная интеграция генов в системах мутуализма (формирование партнерами объединенных сигнальных и биохимических путей)

Практическое использование достижений СХМ началось с подбора эффективных штаммов ризобий для инокуляции бобовых культур и координированной селекции микроорганизмов и растений с целью создания оптимальных сочетаний их генотипов (8). Эти работы определили развитие новой области биотехнологии — симбиотической инженерии, направленной на конструирование экологически безопасных агроценозов, в которых адаптивные функции растений и животных выполняют их симбионты (9).

Развитие СХМ в России было инициировано П.И. Костычевым и С.П. Костычевым, которые установили, что бактерии и грибы активно участвуют в питании растений и в формировании плодородных почв (10). К настоящему времени наиболее изучены микробно-растительные симбиозы, которые разделяют на три типа: трофические, защитные и регуляторные (6). Их возникновение имеет длительную историю, связанную с совместным (коэволюционным) выходом на сушу растений и микоризных грибов (11). При этом грибы выступали как посредники между не имевшими корней древнейшими растениями (риниофитами, псилофитами) и почвой, а возможно, и как доноры симбиотических бактерий, которые переходили от грибов к растениям (12).

В природных экосистемах и агроценозах микроорганизмы осуществляют все основные этапы круговорота веществ, связанные с питанием растений, усвоением животными растительной пищи, а также с трансформацией органических остатков в гумусовые вещества. Выполнение микроорганизмами агрономически значимых функций определяется их циркуляцией в экосистемах «почва—растения—животные». При этом большинство симбионтов растений возникло из почвенных бактерий и грибов, а многие обитатели пищеварительных полостей животных эволюционировали на основе микрофлоры кормовых растений (8). Переходя во внутреннюю среду хозяев, микробные сообщества подпадают под их контроль и становятся еще более интегрированными и функционально активными. Эта интеграция связана с глубокими преобразованиями метагеномов микробных сообществ, которые происходят под влиянием растений и животных, что указывает на возможность управления агроценозом как единой генетической системой.

Цель настоящей статьи — обобщение и анализ современных представлений об интегративных и адаптивных функциях, выполняемых микроорганизмами при формировании наземных экосистем. На основании знаний о генетической организации функционально целостных и самодостаточных микробно-растительных и микробно-животных комплексов (холобионтов) будут предложены методы управления агроценозами посредством модификации их микробных компонентов, определяющих жизнедеятельность сельскохозяйственных организмов, а также формирование плодородных почв.

Биоинженерия сельскохозяйственных микроорганизмов. В России работы по получению агрономически ценных микроорганизмов начались в лаборатории сельскохозяйственной бактериологии, основанной в конце XIX века в г. Санкт-Петербурге с целью подбора штаммов для борьбы с мышевидными грызунами (2). Создание отечественных препаратов ризобий (нитрагинов и их современных модификаций) связано с трудами В.П. Израильского с соавт. (13) и Е.Н. Мишустина (14). В 1930 году центром этих исследований стал Всесоюзный (ныне Всероссийский) НИИ сельскохозяйственной микробиологии, где в 1970-х годах началась разработка генетико-селекционных методов конструирования эффективных микробно-растительных симбиозов. Важный шаг на этом пути — сформулированный Л.М. Доросинским (15) основной принцип селекции ризобий, которая должна базироваться на комплементарности генотипов партнеров, играющей в определении симбиотической эффективности (СЭ, способности увеличивать урожайность растений) гораздо большую роль, чем приспособленность бактерий к местным почвенным условиям.

Развивая этот подход, мы оценили генотипические вклады партнеров в развитие бобово-ризобияльного симбиоза и показали, что повышение СЭ может быть достигнуто посредством сужения специфичности взаимодействия бактерий и растений (16). Согласно результатам дисперсионного анализа данных по взаимодействию различных генотипов партнеров, наиболее высокая продуктивность бобовых культур, инокулированных ризобиями, достигается при максимальном вкладе в варьирование показателей СЭ неаддитивного сорто-штаммового взаимодействия, которое служит мерой специфичности симбиоза (17).

На основе этих данных была предложена методология координированной селекции растений и бактерий, направленной на создание оптимальных сочетаний их генотипов (17). При этом необходимо учитывать, что аборигенные микробные популяции, взаимодействующие с бобовыми растениями в полевых условиях, гетерогенны и содержат множество бесполезных для хозяев и даже паразитических штаммов, которые конкурируют с производственными штаммами ризобий за образование клубеньков (18). Изменение состава микробной популяции, проникшей в растение, в пользу штаммов-мутуалистов возможно за счет направленного отбора этих штаммов хозяином из почвы или перестройки состава эндосимбиотической популяции в пользу активных N₂-фиксаторов. Благодаря этим механизмам в микробно-растительной системе осуществляются конкурентные взаимодействия нескольких типов.

К первому типу относится конкуренция почвенных штаммов ризобий за образование клубеньков у бобовых растений. Ее изучение позволило выявить у бактерий ряд *стр*-генов, контролирующих нодуляционную конкурентоспособность, которая обычно не коррелирует с активностью N₂-фиксации (18). Поэтому вводимые в агроценоз производственные штаммы

ризобий часто не выдерживают конкуренции с неэффективными, но вирулентными (агрессивными) местными штаммами. В ряде работ был отмечен предпочтительный отбор бобовым растением определенных генотипов ризобий из почвы (19), который обычно не обеспечивает направленного извлечения из популяций штаммов с высокой нитрогеназной активностью (20).

Ко второму типу относится конкуренция групп бактерий, находящихся в разных клубеньках бобового растения, за поставляемые им продукты фотосинтеза. Эта конкуренция основана на положительной обратной связи между процессами фиксации N_2 и CO_2 , которая обеспечивает предпочтительное снабжение углеродом микробных генотипов, сформировавших активно фиксирующие N_2 клубеньки (21, 22). При этом отбор в пользу штаммов-мутуалистов носит групповой характер и эффективен при условии клональности эндосимбиотической популяции ризобий, определяемой инфицированием растений отдельными клетками бактерий через корневые волоски (6).

И, наконец, конкуренция третьего типа осуществляется между разными растениями-холобионтами за выживание в условиях дефицита почвенного азота (23). Ее успех зависит от того, насколько эффективно индивидуальные генотипы бобовых отбирают активных N_2 -фиксаторов из почвенной популяции ризобий и распределяют продукты фотосинтеза в пользу тех микробных генотипов, которые сформировали активно фиксирующие N_2 клубеньки.

Методологию координированной селекции партнеров симбиоза, основанную на анализе их природной изменчивости, использовали при разработке генетических методов создания симбиотически активных микробных штаммов. На первом этапе работы было показано, что у ризобий люцерны (*Sinorhizobium meliloti*) гибридизация (трансформация, трансдукция, конъюгация) служит более эффективным источником активных N_2 -фиксаторов, чем мутагенез (24). При этом отбор штаммов на повышение нитрогеназной активности оказался более результативным, чем на повышение СЭ, что указывает на различный генетический контроль этих признаков.

Важным этапом создания эффективных штаммов ризобий стала молекулярная маркировка симбиотически специализированных (*sym*) генов, большинство из которых не активно вне хозяина. Обычно эту маркировку проводят посредством транспозонового ($Tn5$) мутагенеза (25), который позволяет выявлять две группы регуляторов симбиоза — позитивные и негативные (табл. 2). При инактивации первых симбиотическая активность бактерий снижается или утрачивается, при инактивации вторых — возрастает (26).

2. Гены ризобий — позитивные и негативные регуляторы симбиоза

Свойство	Регуляторы симбиоза	
	позитивные (27)	негативные (28)
Функции	Синтез нитрогеназы (<i>nif</i>) и ее снабжение энергией (<i>fix</i> , <i>dct</i>)	Синтез запасных питательных веществ (<i>phaC</i> , <i>phbA</i> , <i>glgA</i>) и внеклеточных полисахаридов (<i>eglC</i> , <i>rkpC</i>), экономное расходование энергии (<i>red</i>)
Локализация в геноме	Во внехромосомных кластерах	Дисперсная
Экспрессия вне симбиоза	Показана лишь для некоторых генов (<i>dct</i>)	Характерна для большинства генов
Симбиотическая эффективность: при инактивации генов при амплификации генов	Утрачена или резко снижена Повышена	Повышена Нет данных

Для получения агрономически ценных штаммов ризобий также проводят амплификацию позитивных регуляторов симбиоза. Например, при

введении в ризобии люцерны дополнительных копий *dct*-генов, определяющих транспорт дикарбоновых кислот, N₂-фиксирующая (C₂H₂-редуктазная) активность бактерий увеличивается на 60–100 %, однако масса растений — основной показатель СЭ — возрастает лишь на 15–20 % (27). Сбалансированное повышение нитрогеназной активности и СЭ обеспечивает инактивация негативных регуляторов N₂-фиксации (например, генов, определяющих конверсию получаемых от растений углеводов в запасные питательные вещества), которая в сочетании с амплификацией ее позитивных регуляторов может быть использована для конструирования эффективных штаммов ризобий (28).

Конструирование холобионтов. Главным результатом колонизации микроорганизмами внутренней среды эукариот-хозяев становится образование новых биологических единиц — холобионтов. На примере бобово-ризобияльного симбиоза можно видеть, что целостность холобионта определяется обратными связями партнеров — положительными и отрицательными (табл. 3). Отрицательная обратная связь, действующая на ранних стадиях взаимодействия, повышает стабильность системы, поскольку благодаря ей хозяин строго контролирует размер эндосимбиотической популяции ризобий, ограничивая число клубеньков и количество бактерий в каждом из них (29).

3. Обратные связи партнеров в системе бобово-ризобияльного симбиоза

Сопоставляемые свойства	Отрицательные связи	Положительные связи
Стадии симбиоза	Ранние	Поздние
Взаимодействие генов партнеров	Эписпаз («ген-на-ген»)	Комплементарность
Определяемый признак симбиоза	Стабильность	Эффективность
Гены ризобий	<i>nod</i>	<i>nif/fix, dct</i>
Гены растений	<i>NFR</i>	<i>GS/GOGAT/AAT, PEPC</i>
Контролируемые симбиотические процессы	Узнавание и инфицирование бактериями хозяев, развитие клубеньков	Образование объединенных путей азотно-углеродного обмена

Примечание. Гены ризобий контролируют образование липо-хито-олигосахаридных Nod-факторов (*nod*), синтез и регуляцию активности нитрогеназы (*nif/fix*), транспорт получаемых от растений дикарбоновых кислот (*dct*) (27). Гены растений контролируют рецепцию Nod-факторов (*NFR*) (6), ассимиляцию продуктов N₂-фиксации (*GS/GOGAT/AAT*), темновую фиксацию CO₂ (*PEPC*) (21, 22).

Положительная обратная связь, реализуемая на поздних стадиях симбиоза, играет важную роль в определении СЭ, поскольку получение растением фиксированного азота стимулирует подачу в клубеньки продуктов фотосинтеза, используемых для обеспечения нитрогеназной реакции и размножения бактерий (30). В совокупности эти связи определяют стабильность и целостность симбиоза, которые, как показали результаты математического и экспериментального моделирования, тесно связаны с его адаптивными функциями. Действительно, наиболее высокая СЭ достигается тогда, когда растения и бактерии координированно реагируют на внешние факторы, влияющие на жизнедеятельность партнеров (31).

Использование моделей микробно-растительного симбиоза показало, что при переходе из внешней среды во внутренние ниши растений или животных почвенные микробиомы существенно меняются по составу и становятся более интегрированными, подпадая под регуляторное воздействие хозяев (32). Благодаря этой регуляции симбионты стабильно сосуществуют с хозяином, несмотря на их разнообразие и быстрое размножение.

Если у растений эндосимбиотические микробиомы формируются на основе организмов, поступающих главным образом из почвы, то у животных — из организмов, получаемых с пищей. Для холобионтов, образуемых животными, характерна глубокая интеграция, необходимая для выполнения симбиотических функций. Например, системы приобретенного иммунитета

у позвоночных регулируют структуру микробиомов, населяющих пищеварительные органы (рубец, кишечник), где симбионты осуществляют деградацию получаемых с пищей биополимеров (в первую очередь, целлюлозы и пектина) и синтез белка. Состав этих микробиомов определяется возрастом животных, их физиологическим состоянием, режимом кормления (33, 34) и в значительной степени сохраняется при размножении хозяев (35). Функциональная структура эндосимбиотического микробиома животных, связанная с адаптивными функциями, может быть охарактеризована с помощью математических моделей, основанных на фрактальном анализе. Их использование для анализа микробиома кишечника птиц показало (36), что его целостность коррелирует с продуктивностью хозяев и может быть критерием для отбора штаммов бактерий, используемых в качестве пробиотиков, добавляемых в корм.

Структурно-функциональная целостность холобионтов определяется формированием надорганизменных систем наследственности, изучение которых составляет предмет новой дисциплины — симбиогенетики (37, 38). Эти системы были обозначены как симбиогеномы (в них участвуют только специализированные для взаимодействия гены партнеров) или хологеномы (в них участвуют все гены партнеров). Симбиогеномы возникают в результате функциональной интеграции партнеров, характерной для факультативных симбиозов: по мере повышения взаимной зависимости микросимбионтов и хозяев они могут переходить к структурной интеграции, характерной для облигатных симбиозов и приводящей к образованию хологеномов (39).

Качественно новый этап повышения целостности холобионтов связан с возникновением механизмов регулярной (вертикальной) передачи микро-партнеров при размножении хозяев. Она обычно вызывает генетическую редукцию микроорганизмов, которые преобразуются в наследственные детерминанты эукариот, реализующих стратегию пангенезиса — наследования благоприобретенных признаков (40). Наиболее глубокая интеграция с клеткой-хозяином характерна для ее постоянных органелл — митохондрий и пластид: многие гены органелл были перемещены в ядерные хромосомы (41), вследствие чего сформировались мозаичные по происхождению многокомпонентные геномы эукариот.

Изучение надорганизменных систем наследственности открывает возможность для создания алгоритмов их конструирования — симбиотической инженерии (9) как одного из важнейших направлений биотехнологии. Ее цель — получение новых агрономически ценных биосистем, например N_2 -фиксирующих растений. Однако прямой путь решения этой задачи (введение *nif*-генов в растительный геном) не продуктивен, поскольку *nif*-гены не функционируют в эукариотической клетке (42). Более реалистично введение *nif*-генов в митохондрии или пластиды, которые эволюционно связаны с N_2 -фиксирующими бактериями (43). В качестве перспективных реципиентов этих генов могут рассматриваться глубоко редуцированные клеточные органеллы (гидрогеносомы, митосомы, нефотосинтезирующие пластиды), в которых отсутствуют собственные геномы и поддерживаются анаэробные условия, необходимые для работы нитрогеназы (44).

Экологически безопасные агротехнологии. Микроорганизмы, осуществляющие основные этапы обмена веществ между почвой, растениями и животными, играют ключевую роль в формировании природных экосистем. Одна из основных задач сельскохозяйственной микробиологии — изучение циркуляции микроорганизмов в агроценозах как фактора

их стабильности и продуктивности (8). Взаимодействуя с микроорганизмами, растения и животные способны развиваться при минимальном агрохимическом воздействии благодаря выполнению симбионтами функций питания хозяев, их защиты от патогенов и стрессов, а также повышения почвенного плодородия (45–48).

Важное условие развития экологически безопасных агротехнологий — повышение эффективности симбиотрофного питания растений, включая усвоение труднорастворимых фосфатов микоризными грибами и ризосферными бактериями (49). В связи с этим представляет интерес разработка комбинированных препаратов, содержащих минеральные удобрения и микроорганизмы, которые позволяют растениям максимально полно использовать вносимые в почву соединения азота и фосфора, сокращая накопление вредных продуктов их трансформации (50).

Не меньшую роль симбиотические микроорганизмы играют в питании животных, особенно растительноядных: находясь в пищеварительных органах, микробы разрушают поступающие туда биополимеры, а также синтезируют белок и образуют метаболиты, по которым дефицитны кормовые растения (51). Для оптимизации микрофлоры в организме животных активно применяют препараты пробиотиков, в первую очередь лактобактерий, способствующих повышению усвояемости кормов и осуществляющих биоконтроль патогенных организмов (33, 34).

Структурно-функциональная и генетическая интеграция прокариот и эукариот — одно из основных направлений симбиотической инженерии, нацеленной на формирование надорганизменных комплексов сельскохозяйственного и природоохранного назначения (9). Анализ механизмов взаимодействия микроорганизмов с растениями и животными следует рассматривать как необходимое условие для разработки алгоритмов конструирования эффективных агроценозов. В применении к растениям оно включает: совершенствование природных (клубеньковых, эндوفитных, эпифитных) симбиозов, направленное на создание микробных препаратов, замещающих экологически опасные агрохимикаты. Также обсуждается конструирование новых биосистем, включая трансгенные растения, способные синтезировать метаболиты, используемые в качестве съедобных вакцин (52).

В качестве перспективного направления симбиотической инженерии можно рассматривать создание принципиально новых фотосинтезирующих систем для использования в зеленой энергетике. Разработка подходов для решения этой задачи связана с изучением симбиозов, образуемых про- и эукариотическими фототрофными микроорганизмами с животными, простейшими и грибами (53). Примером возникновения новых систем фотосинтеза в природе служат клептопласты — пластиды, извлекаемые животными из поедаемых ими растений и длительно поддерживаемые новыми хозяевами в клетках как эффективные источники углерода (54).

Для конструирования новых систем фотосинтеза перспективны гетеротрофные простейшие группы *Alveolata*, которые, по-видимому, произошли от организмов, ранее имевших пластиды, и содержат многочисленные гены, полученные от цианобактерий (55). Очевидно, что такие организмы преадаптированы к поддержанию фотобионтов и могут быть использованы для создания новых систем фиксации CO₂ с высоким биотехнологическим потенциалом.

Создание агротехнологий будущего должно базироваться на изучении процессов эволюции природных биосистем, направленной на возрастание их целостности, экологической устойчивости и продуктивности. По-

явление этих систем было результатом коэволюции симбионтов и их хозяев, в процессе которой партнеры формировали объединенные генетические системы. В результате эволюции, направляемой человеком (56), уже в ближайшем будущем могут быть решены задачи перехода растений к симбиотрофному питанию, который приведет к частичной, а при определенных условиях и к полной замене минеральных удобрений экологически безопасными микробными препаратами. Перспективной представляется также интродукция в растения эндофитных микроорганизмов, которые делают хозяев невосприимчивыми к инфицированию фитопатогенами. Решение этих задач требует комплексного использования подходов микробиологии, симбиогенетики и геной инженерии, объединение которых является приоритетной задачей сельскохозяйственной биологии.

Таким образом, с применением методов сельскохозяйственной микробиологии и симбиогенетики связывают развитие экологически безопасных агротехнологий на основе использования симбиотических микроорганизмов, обеспечивающих симбиотрофное питание растений и животных и защиту от паразитов и вредителей. Решение этих задач позволит частично, а в некоторых случаях полностью отказаться от экологически опасных удобрений и средств защиты. Конструирование экологически безопасных агро-систем должно быть основано на формировании стабильных надорганизменных комплексов (холобионтов), обладающих собственными системами наследственности, возникшими в результате генетической интеграции растений и животных с полезными микроорганизмами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Возняковская Ю.М. *Микрофлора растений и урожай*. М., 1969.
2. Кандыбин Н.В. *Бактериальные средства борьбы с грызунами и вредными насекомыми: теория и практика*. М., 1989.
3. Flor H.H. Genetics of pathogenicity in *Melampsora lini*. *J. Agric. Res.*, 1946, 73: 335-357.
4. Nutman P.S. Genetic factors concerned in the symbiosis of clover and nodule bacteria. *Nature*, 1946, 157: 463-465 (doi: 10.1038/157463a0).
5. Лобашев М.Е. *Генетика*. Л., 1967.
6. Проворов Н.А., Воробьев Н.И. *Генетические основы эволюции растительно-микробного симбиоза*. СПб, 2012.
7. Rosenberg E., Zilber-Rosenberg I. The hologenome concept of evolution after 10 years. *Microbiome*, 2018, 6: 78 (doi: 10.1186/s40168-018-0457-9).
8. Тихонович И.А., Проворов Н.А. Сельскохозяйственная микробиология — основа экологически устойчивого агропроизводства: фундаментальные и прикладные аспекты. *Сельскохозяйственная биология*, 2011, 3: 3-9.
9. Проворов Н.А., Онищук О.П. Эволюционно-генетические основы симбиотической инженерии растений: мини-обзор. *Сельскохозяйственная биология*, 2018, 53(3): 464-474 (doi: 10.15389/agrobiology.2018.3.464rus).
10. Костычев С.П. *Физиология растений*. М.-Л., 1937.
11. Каратыгин И.В. Коэволюция грибов и растений. *Труды Ботанического института РАН*. Вып. 9. СПб, 1993.
12. Проворов Н.А., Штарк О.Ю. Направленная эволюция грибов и растений в системах симбиоза. *Микология и фитопатология*, 2014, 48(3): 151-160.
13. Израильский В.П., Рунов Е.В., Бернад В.В. *Клубеньковые бактерии и нитрагин*. М., 1933.
14. Мишустин Е.Н. *Микроорганизмы и продуктивность земледелия*. М., 1972.
15. Доросинский Л.М. *Клубеньковые бактерии и нитрагин*. Л., 1970.
16. Проворов Н.А., Симаров Б.В. Генетический полиморфизм бобовых культур по способности к симбиозу с клубеньковыми бактериями. *Генетика*, 1992, 28(6): 5-14.
17. Provorov N.A., Tikhonovich I.A. Genetic resources for improving nitrogen fixation in legume-rhizobia symbiosis. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2003, 50(1): 89-99 (doi: 10.1023/A:1022957429160).
18. Онищук О.П., Воробьев Н.И., Проворов Н.А. Нодуляционная конкурентоспособность клубеньковых бактерий: генетический контроль и адаптивное значение. *Прикладная биохимия и микробиология*, 2017, 53(2): 127-135.

19. Carelli M., Gnocchi S., Fancelli S., Mengoni A., Paffetti D., Scotti C., Bazzicalupo M. Genetic diversity and dynamics of *Sinorhizobium meliloti* populations nodulating different alfalfa cultivars in Italian soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(11): 4785-4789 (doi: 10.1128/AEM.66.11.4785-4789.2000).
20. Masson-Boivin C., Sachs J.L. Symbiotic nitrogen fixation by rhizobia—the roots of a success story. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2018, 44: 7-15 (doi: 10.1016/j.pbi.2017.12.001).
21. Barnes D.K., Heichel G.H., Vance C.P., Ellis W.R. A multiple-trait breeding program for improving the symbiosis for N₂ fixation between *Medicago sativa* L. and *Rhizobium meliloti*. *Plant and Soil*, 1984, 32(2): 303-314 (doi: 10.1007/BF02184269).
22. El Yahyaoui F., Küster H., Ben Amor B., Hohnjec N., Pühler A., Becker A., Gouzy J., Vernié T., Gough C., Niebel A., Godiard L., Gamas P. Expression profiling in *Medicago truncatula* identifies more than 750 genes differentially expressed during nodulation, including many potential regulators of the symbiotic program. *Plant Physiology*, 2004, 136(2): 3159-3176 (doi: 10.1104/pp.104.043612).
23. Awika H.O., Mishra A.K., Gill H., DiPiazza J., Avila C.A., Joshi V. Selection of nitrogen responsive root architectural traits in spinach using machine learning and genetic correlations. *Sci. Rep.*, 2021, 11: 9536 (doi: 10.1038/s41598-021-87870-z).
24. Симаров Б.В., Аронштам А.А., Новикова Н.И., Шарыпова Л.А., Баженова О.В., Проворов Н.А. *Генетические основы селекции клубеньковых бактерий*. Л., 1990.
25. Simon R., Priefer U., Pühler A. A broad host range mobilization system for in vivo genetic engineering: transposon mutagenesis in gram negative bacteria. *Nat. Biotechnol.*, 1983, 1(3): 784-791 (doi: 10.1038/nbt1183-784).
26. Sharypova L.A., Onishchuk O.P., Chesnokova O.N., Fomina-Eshenko J.G., Simarov B.V. Isolation and characterization of *Rhizobium meliloti* Tn5 mutants showing enhanced symbiotic effectiveness. *Microbiology*, 1994, 140(3): 463-470 (doi: 10.1099/00221287-140-3-463).
27. Онищук О.П., Воробьев Н.И., Проворов Н.А., Симаров Б.В. Симбиотическая активность ризобий люцерны (*Sinorhizobium meliloti*) с генетическими модификациями системы транспорта дикарбоновых кислот. *Экологическая генетика*, 2009, 7(2): 3-10.
28. Проворов Н.А., Онищук О.П., Юргель С.Н., Курчак О.Н., Чижевская Е.П., Воробьев Н.И., Затовская Т.В., Симаров Б.В. Конструирование высокоэффективных симбиотических штаммов бактерий: эволюционные модели и генетические подходы. *Генетика*, 2014, 50(11): 1273-1285.
29. Ferguson V.J., Indrasumunar A., Hayshi S., Lin H.M., Lin Y.H., Reid D.E. Gresshoff P.M. Molecular analysis of legume nodule development and autoregulation. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2010, 52(1): 61-76 (doi: 10.1111/j.1744-7909.2010.00899.x).
30. Denison R.F., Kiers E.T. Lifestyle alternatives for rhizobia: mutualism, parasitism and foregoing symbiosis. *FEMS Microbiology Letters*, 2004, 237(2): 187-193 (doi: 10.1111/j.1574-6968.2004.tb09695.x).
31. Воробьев Н.И., Проворов Н.А. Моделирование эволюции бобово-ризобийного симбиоза в условиях экологической нестабильности. *Экологическая генетика*, 2013, 11(4): 73-85 (doi: 10.17816/ecogen11473-85).
32. Nassani M.A., Durán P., Hacquard S. Microbial interactions within the plant holobiont. *Microbiome*, 2018, 6: 58 (doi: 10.1186/s40168-018-0445-0).
33. Лаптев Г.Ю., Ёлдырым Е.А., Дуняшев Т.П., Ильина Л.А., Тюрина Д.Г., Филиппова В.А., Бражник Е.А., Тарлавин Н.В., Дубровин А.В., Новикова Н.И. Таксономические и функциональные особенности микробиоты рубца у дойных коров с диагнозом кетоз. *Сельскохозяйственная биология*, 2021, 56(2): 356-373 (doi: 10.15389/agrobiol.2021.2.356rus).
34. Лаптев Г.Ю., Ёлдырым Е.А., Дуняшев Т.П., Ильина Л.А., Тюрина Д.Г., Филиппова В.А., Бражник Е.А., Тарлавин Н.В., Дубровин А.В., Новикова Н.И., Большаков В.Н., Пономарева Е.С. Биоразнообразие и метаболические функции микробиома рубца у молочных коров в разные физиологические периоды. *Сельскохозяйственная биология*, 2021, 56(4): 619-640 (doi: 10.15389/agrobiol.2021.4.619rus).
35. Li W., Tapiainen T., Brinkac L., Lorenzi H.A., Moncera K., Tejesvi M.V., Salo J., Nelson K.E. Vertical transmission of gut microbiome and antimicrobial resistance genes in infants exposed to antibiotics at birth. *The Journal of Infectious Diseases*, 224(7): 1236-1246 (doi: 10.1093/infdis/jiaa155).
36. Воробьев Н.И., Егоров И.А., Кочиш И.И., Никонов И.Н., Ленкова Т.Н. Биосистемная самоорганизация и фрактальная структура частотно-таксономических профилей микробиоты кишечника бройлеров под влиянием кормовых пробиотиков. *Сельскохозяйственная биология*, 2021, 56(2): 400-410 (doi: 10.15389/agrobiol.2021.2.400rus).
37. Tikhonovich I.A., Provorov N.A. From plant-microbe interactions to Symbiogenetics: a universal paradigm for the inter-species genetic integration. *Annals of Applied Biology*, 2009, 154(3): 341-350 (doi: 10.1111/j.1744-7348.2008.00306.x).
38. Тихонович И.А., Проворов Н.А. Развитие подходов симбиогенетики для изучения изменчивости и наследственности надвидовых систем. *Генетика*, 2012, 48(4): 437-450.
39. Проворов Н.А., Тихонович И.А., Воробьев Н.И. *Симбиоз и симбиогенез*. СПб, 2018.
40. Provorov N.A. Genetic individuality and inter-species altruism: modelling of symbiogenesis using

- different types of symbiotic bacteria. *Biological Communications*, 2021, 66(1): 65-71 (doi: 10.21638/spbu03.2021.108).
41. Smith D.R., Keeling P.J. Mitochondrial and plastid genome architecture: reoccurring themes, but significant differences at the extremes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2015, 112(33): 10177-10184.
 42. Curatti L., Rubio L.M. Challenges to develop nitrogen-fixing cereals by direct *nif*-gene transfer. *Plant Sci.*, 2014, 225: 130-137 (doi: 10.1016/j.plantsci.2014.06.003).
 43. Burén S., Pratt K., Jiang X., Guo Y., Jimenez-Vicente E., Echavarri-Erasun C., Dean D.R., Saaem I., Gordon D.B., Voigt C.A., Rubio L.M. Biosynthesis of the nitrogenase active-site co-factor precursor NifB-co in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2019, 116(50): 25078-25086 (doi: 10.1073/pnas.1904903116).
 44. Tovar J., León-Avila G., Sánchez L.B., Sutak R., Tachezy J., van der Giezen M., Hernández M., Müller M., Lucocq J.M. Mitochondrial remnant organelles of *Giardia function* in iron-sulphur protein maturation. *Nature*, 2003, 426(6963): 172-176 (doi: 10.1038/nature01945).
 45. Lugtenberg B.J.J., Dekkers L., Bloemberg G. Molecular determinants of rhizosphere colonization by *Pseudomonas*. *Annual Review of Phytopathology*, 39: 461-490 (doi: 10.1146/annurev.phyto.39.1.461).
 46. Chebotar V.K., Makarova N.M., Shaposhnikov A.I., Kravchenko L.V. Antifungal and phyto-stimulating characteristics of *Bacillus subtilis* Ch-13 rhizospheric strain, producer of biopreparations. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 2009, 4: 419-423 (doi: 10.1134/S0003683809040127).
 47. Soenens A., Imperial J. Biocontrol capabilities of the genus *Serratia*. *Phytochemistry Reviews*, 2019, 19: 577-587 (doi: 10.1007/s11101-019-09657-5).
 48. McGuirel A.V., Northfield T.D. Tropical occurrence and agricultural importance of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *Front. Sustain. Food Syst.*, 2020, 4: 6 (doi: 10.3389/fsufs.2020.00006).
 49. Berruti A., Lumini E., Balestrini R., Bianciotto V. Arbuscular mycorrhizal fungi as natural bio-fertilizers: let's benefit from past successes. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 6: 1559 (doi: 10.3389/fmicb.2015.01559).
 50. Zavalin A., Chebotar V., Alferov A., Chernova L., Shcherbakova E., Chizhevskaya E. Nitrogen use by plants and nitrogen flows after application of standard and biomodified nitrogen fertilizers on barley. *Biological Communications*, 2021, 66(4): 4283-4289.
 51. Rinninella E., Raoul P., Cintoni M., Franceschi F., Miggiano G.A.D., Gasbarrini A., Mele M.C. What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet and diseases. *Microorganisms*, 2019, 7(1): 14 (doi: 10.3390/microorganisms7010014).
 52. Савельева Н.В., Бурлаковский М.С., Емельянов В.В., Лутова Л.А. Трансгенные растения-продуценты веществ медицинского и ветеринарного назначения. *Экологическая генетика*, 2015, 13(2): 77-99.
 53. Green B.R. Chloroplast genomes of photosynthetic eukaryotes. *The Plant Journal*, 2011, 66(1): 34-44 (doi: 10.1111/j.1365-313X.2011.04541.x).
 54. Seródio J., Cruz S., Cartaxana P., Calado R. Photophysiology of kleptoplasts: photosynthetic use of light by chloroplasts living in animal cells. *Phil. Trans. R. Soc. B.*, 2014, 369(1640): 20130242 (doi: 10.1098/rstb.2013.0242).
 55. Ševčíková T., Horák A., Klimeš V., Zbránková V., Demir-Hilton E., Sudek S., Jenkins J., Schmutz J., Příbyl P., Fousek J., Vlček C., Lang B.F., Oborník M., Worden A.Z., Eliáš M. Updating algal evolutionary relationships through plastid genome sequencing: did alveolate plastids emerge through endosymbiosis of an ochrophyte? *Sci. Rep.*, 2015, 5: 10134 (doi: 10.1038/srep10134).
 56. Вавилов Н.И. *Селекция как наука. Общая селекция растений*. М., 1934.

¹ФГБНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии,

196608 Россия, г. Санкт-Петербург, ш. Подбельского, 3,

e-mail: provorovnik@yandex.ru ✉;

²ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет,

199034 Россия, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9,

e-mail: arriam2008@yandex.ru

Поступила в редакцию

16 июня 2022 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2022, V. 57, № 5, pp. 821-831

AGRICULTURAL MICROBIOLOGY AND SYMBIOGENETICS: SYNTHESIS OF CLASSICAL IDEAS AND CONSTRUCTION OF HIGHLY PRODUCTIVE AGROCENOSSES (review)

N.A. Provorov¹ ✉, I.A. Tikhonovich^{1, 2}

¹All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, 3, sh. Podbel'skogo, St. Petersburg, 196608 Russia,

Abstract

Agricultural microbiology (AM) is presented as a discipline addressing the prokaryotic and eukaryotic microorganisms that influence operation of the major components of agrocenosis — plants, animals and soils. Development of AM is based on the synthesis of ideas and methods of microbiology, plant physiology, soil science and genetics. This synthesis is aimed to study the organization and evolution of biosystems in which symbiotic microorganisms perform adaptively important functions in cooperation with each other and with host organisms. Upon migration from environment into the endosymbiotic niches of plants and animals, microorganisms form with them multicomponent complexes — holobionts (E. Rosenberg, I. Zilber-Rosenberg, 2018). They possess own systems of heredity, symbiogenomes and hologenomes, which have become the subjects of a new discipline, symbiogenetics (I.A. Tikhonovich, N.A. Provorov, 2012). Microorganisms forming symbioses with plants perform the important adaptive functions — nutritional (N₂ fixation, absorption of soil nutrients, firstly phosphates), defensive (biocontrol of pathogens and phytophagans) and regulatory (synthesis of phytohormones that optimize plant development and improve their resistance to adverse environment) (I.A. Tikhonovich, N.A. Provorov, 2009). The broadly studied and practically important plant symbionts include: a) nodule bacteria or rhizobia (*Rhizobiales*) — N₂-fixing symbionts of legumes; b) arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomeromycota*) — phosphate-mobilizing symbionts of a wide range (more than 80 % species) of plants (A. Berruti et al., 2016); c) rhizospheric and endophytic bacteria (e.g., *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*) which stimulate the development of plants and determine their resistance to antagonists (pathogens, pests) and stresses (drought, salinity of soils, their contamination with xenobiotics or heavy metals) (M.A. Hassani et al., 2018). In animals, trophic symbionts determine the assimilation of plant biomass (intestinal or rumen microbiota), synthesis of essential amino acids and cofactors (intestinal and intracellular symbionts), and N₂ fixation (symbionts of some herbivorous animals) (E. Rinninella et al., 2019). The study of microbial effects on plants and animals makes it possible to create microbial preparations that improve the nutrition of hosts, their resistance to biotic and abiotic stresses, and increase the soil fertility. In crop production, preparations of N₂-fixing and growth-stimulating bacteria are widely used, which ensure a drastic reduction in application of environmentally hazardous nitrogen and phosphorus fertilizers. Preparations of microorganisms that are antagonists of phytopathogens — *Pseudomonas*, *Bacillus* (B.J. Lugtenberg et al., 2001; V.K. Chebotar et al., 2009), rodents — *Salmonella enteritidis*, *Serratia plymuthica* (A. Soenens, J. Imperial, 2019) or phytophagous insects — *Bacillus thuringiensis*, *Beauveria bassiana* (A.V. McGuire, T.D. Northfield, 2020) are used broadly for their biocontrol to significantly reduce the pesticide load on agrocenoses. By studying the integrative functions of agronomically valuable microorganisms, AM invests a significant contribution to the fundamental biological research, including the genetic and molecular interactions of prokaryotes and eukaryotes, evolution of cell and of its genome, and formation of supraorganismal genetic systems (I.A. Tikhonovich, N.A. Provorov, 2012). Based on these studies, methods of symbiotic engineering are being developed aimed at constructing the highly productive biosystems, including the cereal and vegetable cultivars capable of symbiosis with rhizobia, as well as N₂-fixing plants.

Keywords: agricultural microbiology (AM), symbiogenetics, genetic engineering, symbiotic nitrogen fixation, biocontrol of pathogens and pests, microbial preparations, sustainable agriculture.