

ОБЗОРНЫЕ
И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СТАТЬИ

УДК 576.6:575.8+631.461.52

СИМБИОТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ
ДЛЯ РЕКОНСТРУКЦИИ ОРГАНЕЛЛОГЕНЕЗА

© 2021 г. Н. А. Проворов*

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии,
Санкт-Петербург, 196602 Россия

*e-mail: provorovnik@yandex.ru

Поступила в редакцию 06.02.2020 г.

После доработки 26.03.2020 г.

Принята к публикации 09.06.2020 г.

Различные группы протеобактерий и цианобактерий, а также одноклеточных водорослей, образующих эндосимбиозы с растениями и животными, представлены в качестве моделей для реконструкции органеллогенеза (преобразования симбиотических микроорганизмов в клеточные органеллы) как наиболее яркого проявления симбиогенной эволюции, основанной на формировании партнерами объединенных систем наследственности. Органеллогенез включает следующие преобразования: факультативные ненаследуемые внутриклеточные симбионты → облигатные наследуемые эндоцитобионты → геном-содержащие органеллы → безгеномные органеллы. Эти преобразования сопровождаются утратой микроорганизмами генетической индивидуальности – способности к самостоятельному поддержанию и экспрессии геномов, вплоть до их полной элиминации. Сравнительный анализ различных групп симбиотических бактерий показал, что важным условием их трансформации в органеллы (первичного органеллогенеза) является высокая геномная пластичность, которая проявляется при факультативной и облигатной зависимости от хозяев. Для этих бактерий характерны направленные изменения геномной организации (переход от унитарного типа генома к многокомпонентному и редуцированному типам), а также способность симбиотически специализированных генов сохранять активность при переносе в неродственные организмы. Эти свойства характерны для α -протеобактерий и цианобактерий – предков митохондрий и пластид, но не выявлены у β - и γ -протеобактерий, *Bacteroidetes* и *Firmicutes*, для которых, несмотря на наличие многочисленных эндосимбиотических форм, преобразований в органеллы не зарегистрировано. Удобной моделью для изучения вторичного органеллогенеза, осуществляемого эукариотическими микроорганизмами, являются динофлагелляты *Symbiodinium* (*Alveolata*), которые: 1) содержат хлоропласты, возникшие из красных водорослей; 2) образуют с беспозвоночными животными внутриклеточные симбиозы, в которых выполняют функции пластид. Изучение органеллогенеза позволяет приступить к реконструкции ранних этапов становления жизни, включая анализ эволюционных соотношений метаболизма и наследственности, а также ДНК- и РНК-геномов.

Ключевые слова: органеллогенез, симбиогенез, митохондрии и пластиды, протеобактерии и цианобактерии, одноклеточные водоросли, горизонтальный и эндосимбиотический перенос генов, ДНК- и РНК-геномы.

DOI: 10.31857/S0016675821010112

Преобразование микроорганизмов в клеточные органеллы – магистральный путь биологической эволюции, который привел к становлению эукариот как принципиально нового, по сравнению с прокариотами, типа геномной организации [1]. Изучение этой эволюции восходит к трудам А.С. Фаминцына [2] и К.С. Мережковского [3], впервые обосновавших гипотезу о возникновении хлоропластов растений из фототрофных микроорганизмов. Возникшая на основе этой гипотезы теория серийных эндосимбиозов [4] позволяет: а) рассматривать эволюцию эукариотической клетки как многостадийный процесс вовле-

чения новых микросимбионтов в генетическую систему хозяина; б) изучать молекулярные механизмы симбиогенеза (в первую очередь, эндосимбиотический перенос генов [5]) и приступить к анализу его экологических факторов. Рассматривая органеллогенез как эволюционный путь, который связывает различные типы симбиотических бактерий с клеточными органеллами, мы можем выделить несколько этапов их эволюции (рис. 1):

1) вселение в археоты аэробных α -протеобактерий, давших начало митохондриям. При этом возникли первичные эукариоты, современные

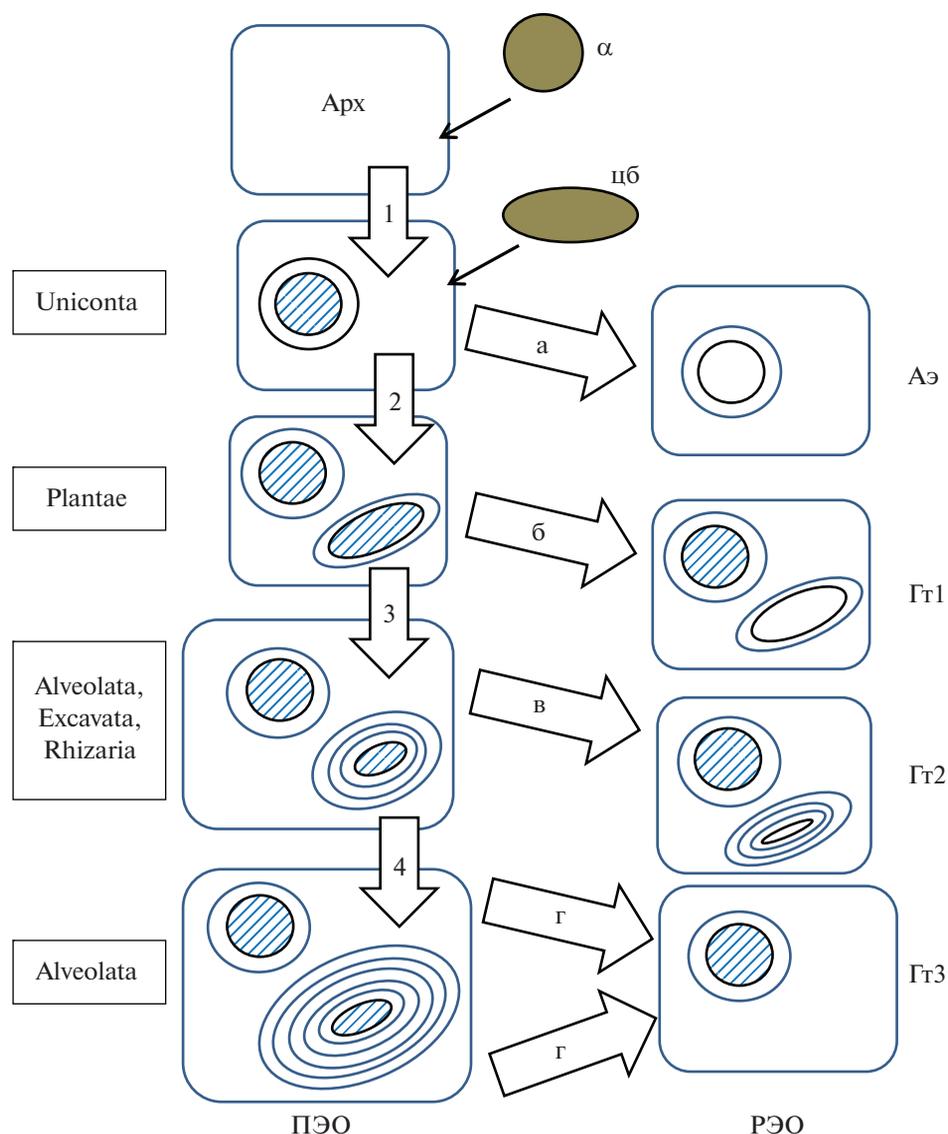


Рис. 1. Прогрессивная и редуцированная эволюция органелл. Прогрессивная эволюция органелл (ПЭО) включает: 1) вселение в археоты (Арх) α -протеобактерий (α) с образованием митохондрий; 2) вселение в эукариоты (супергруппа Uniconta) цианобактерий (цб) с образованием первичных (двухмембранных) пластид (супергруппа Plantae); 3) образование вторичных (содержат более двух мембран) пластид путем вселения зеленых или красных водорослей в представителей супергрупп Alveolata, Excavata и Rhizaria; 4) образование третичных пластид путем вселения несущих вторичные пластиды альвеолят в гетеротрофные (лишенные пластид) альвеоляты. Редуцированная эволюция органелл (РЭО) включает: а) утрату митохондриальных геномов с образованием анаэробных эукариот (Аэ), содержащих гидрогеносомы или митосомы; б) утрату геномов первичных пластид с образованием гетеротрофных (паразитических, микрогетеротрофных) представителей супергруппы Plantae (Гт1); в) утрату геномов вторичных пластид с образованием гетеротрофных (паразитических) представителей супергруппы Alveolata (Гт2); г) образование гетеротрофных альвеолят путем полной утраты пластид (Гт3). Серой заливкой обозначены бактерии с полноразмерными геномами, штриховкой – возникшие из них органеллы с рудиментарными геномами, белым цветом – безгеномные органеллы.

представители которых составляют супергруппу Uniconta, включающую животных и грибы;

2) вселение в первичные эукариоты цианобактерий, давших начало первичным (двухмембранным) пластидам, характерным для супергруппы Plantae (глаукофитовые, красные и зеленые водоросли, а также возникшие из них наземные растения);

3) вселение в эукариоты зеленых или красных водорослей, давших начало вторичным (содержащим более двух мембран) пластидам, выявленным в супергруппах Alveolata, Excavata и Rhizaria. Некоторые из возникших при этом форм (например, гаптофиты) сформировали внутриклеточные симбиозы с другими альвеолятами и дали начало третичным, а возможно и четвертичным пластидам.

Помимо указанных этапов прогрессивной эволюции эукариотической клетки, происходила и ее редукционная эволюция, включавшая переходы: а) аэробных форм к анаэробизму путем частичной или полной утраты геномов митохондриями, которые трансформировались в O_2 -чувствительные гидрогеносомы и митосомы; б) фототрофных форм к гетеротрофности путем глубокой редукции или полной утраты пластидных геномов, а иногда и самих пластид (рис. 1).

Приступая к реконструкции эволюционного пути, который связывает различные типы симбиотических микроорганизмов с органеллами эукариотических клеток, мы должны определить критерии для их разграничения. Ниже будет показано, что органеллы, в отличие от облигатных внутриклеточных симбионтов, утратили генетическую индивидуальность — способность к поддержанию и экспрессии геномов, а иногда и полностью лишены их. Однако даже безгеномные органеллы способны осуществлять сложные биохимические программы, используя генные продукты (белки, РНК), поступающие из цитозоля клетки-хозяина, а иногда и из других симбиогенно возникших органелл [5].

Широко обсуждаемые в литературе молекулярные механизмы органеллогенеза были изучены на примерах митохондрий и пластид, находящихся на завершающих этапах этого эволюционного пути [1, 5]. Более ранним его этапам, на которых бактерии еще сохраняли полноразмерные геномы, уделяется мало внимания. В то же время именно эти этапы, на которых произошел переход свободноживущих организмов к внутриклеточному симбиозу, могут быть достаточно полно реконструированы на примерах бактерий, характеризующихся факультативной либо облигатной зависимостью от эукариот-хозяев (табл. 1). Для этих бактерий характерна тесная интеграция с хозяевами: в системе симбиоза гены партнеров работают столь же согласованно, как гены свободноживущего (унитарного) организма. Функциональная интеграция микросимбионтов и хозяев, наблюдаемая в системах факультативного и облигатного взаимодействия, создает условия для их более глубокой, структурной интеграции, основанной на физическом объединении геномов органелл и клетки-хозяина.

α -ПРОТЕОБАКТЕРИИ

Эта эволюционно молодая и генетически пластичная группа бактерий — один из наиболее активных участников органеллогенеза, давший начало АТФ-продуцирующим митохондриям. Согласно данным сравнительной геномики они возникли на основе нескольких групп аэробных α -протеобактерий: основная часть митохондриального генома была сформирована представителями порядков Rhizo-

biales и Rickettsiales, а также факультативными аэробами, близкими к *Rhodobacter* [1, 6]. В связи с этим удобной моделью для реконструкции начальных этапов органеллогенеза могут считаться клубеньковые бактерии (ризобии), способные к автономному существованию и имеющие полноразмерные геномы, а при взаимодействии с бобовыми растениями образующие симбиосомы — внутриклеточные компартменты, которые рассматривают как временные N_2 -фиксирующие органеллы растительной клетки — аммонийопласты [7]. Подобно органеллам симбиосомы содержат глубоко дифференцированные формы бактерий — бактериоиды, окруженные эукариотическими мембранами. Они функционируют в тесной кооперации с пластидами и митохондриями, образуя с ними объединенные пути азотно-углеродного обмена. Для бактериоидов быстрорастущих ризобий сем. Rhizobiaceae характерна необратимая утрата репродуктивной активности, основанная на функциональной репрессии большей части генома. Она сопровождается резким уменьшением пространства между про- и эукариотическими мембранами, что характерно для органелл [5].

Выделяют два этапа эволюции ризобий, на которых: а) первичные медленно растущие формы (*Bradyrhizobium*) образовались из свободноживущих фототрофных N_2 -фиксаторов, близких к *Rhodopseudomonas*; б) вторичные быстрорастущие формы (например, *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Neorhizobium* из сем. Rhizobiaceae) возникли путем переноса *sym*-генов, возникших у первичных ризобий, в почвенные и ассоциированные с растениями бактерии [8].

Наиболее эффективными реципиентами *sym*-генов являются агробактерии, вызывающие у двудольных растений онкотрансформацию путем передачи в их хромосомы Т-ДНК, входящей в состав *Ti(Ri)*-плазмид. Эти плазмиды имеют с *Sym*-плазидами ризобий обширные области гомологии, которые, однако, не содержат *sym*-генов [9]. По-видимому, генные системы образования N_2 -фиксирующих клубеньков и онкотрансформации возникли у этих бактерий независимо, а затем эволюционировали на общем генетическом фоне, что обеспечило широкое распространение симбиотической системы в сем. Rhizobiaceae.

Для первичных ризобий характерно возрастание геномов (от 5–6 млн пн у *Rhodopseudomonas* до 7–10 млн пн у *Bradyrhizobium*), связанное с увеличением их аксессуарных частей, что вызвало резкое расширение пангеномов [10]. У вторичных ризобий сем. Rhizobiaceae выявлены многокомпонентные геномы, которые в дополнение к хромосомам содержат крупные репликоны (мегаплазмиды, хромиды), несущие кластеры *sym*-генов. Адаптивная значимость такой реорганизации, по-видимому, определяется повышенной мобильностью *sym*-ге-

Таблица 1. Симбиотические бактерии – модели для реконструкции органеллогенеза [5]

Зависимость от хозяев	Генетически изученные представители	Таксономическое положение	Хозяева	Локализация в хозяевах	Функции	Геномы
Факультативная	Клубеньковые бактерии (ризобии)	α -Протеобактерии (Rhizobiales)	Бобовые растения	Внутри- или внеклеточная	N_2 -фиксация	Увеличенные (до 10 100 тпн), многокомпонентные*
	<i>Nostoc puliciforme</i>	Многоклеточные цианобактерии (Nostocales)	Растения и грибы	Внутри- или межклеточная	N_2 -фиксация	Увеличенные (более 9000 тпн)**
Облигатная	Репродуктивные паразиты беспозвоночных (<i>Wolbachia</i>)	α -Протеобактерии (Rickettsiales)	Членистоногие и нематоды	Внутриклеточная	Регуляция соотношения полов	Редуцированные (700–1400 тпн)
	Паразиты животных (<i>Rickettsia</i>)	α -Протеобактерии (Rickettsiales)	Животные	Внутриклеточная	Инфекционные заболевания	Редуцированные (1100–1600 тпн)
	Хроматофоры	Одноклеточные цианобактерии (Synecococcales)	<i>Paulinella chromatophora</i> (Rhizaria)	Внутриклеточная	Фотосинтез	Редуцированные (1000 тпн)
	<i>Nostoc azollae</i>	Многоклеточные цианобактерии (Nostocales)	Водный папоротник <i>Azolla</i>	Внеклеточная	N_2 -фиксация	Редуцированные (5500 тпн)**

* У “первичных” ризобий (*Bradyrhizobium*) размеры геномов составляют 7000–10100 тпн, у их вероятных предков (*Rhodospirillum rubrum*) – 5000–5500 тпн. Многокомпонентные геномы, содержащие метаплазмиды и хромиды, характерны для “вторичных” ризобий (Rhizobiales). ** У свободноживущих форм *Nostoc* размер генома составляет 7000–7300 тпн.

нов в популяциях ризобий, которая обеспечивает их изменчивость, необходимую для ко-адаптации с высокополиморфными популяциями растений. Важно отметить, что клубеньковые бактерии – это полифилетичная группа, которая включает в себя не только ряд независимо возникших групп α -протеобактерий (пор. Rhizobiales), но и некоторые β -протеобактерии [5], указывая на способность *сут*-генов к экспрессии в различном генетическом окружении.

В основе эволюции ризобий лежат геномные перестройки, определившие: а) переформатирование системы N_2 -фиксации, которое позволило ей функционировать в эндосимбиотических нишах; б) утрату фотосинтеза, функционально замещаемого образованием хитин-подобных Nod-факторов – индукторов образования клубеньков, заселение которых позволяет бактериям активно использовать продукты растительного фотосинтеза [8]. Эволюция Nod-факторов включала приобретение ризобиями генов синтеза хитин-подобных веществ от неродственных организмов – микоризных грибов, либо от синтезирующих муреин грамположительных бактерий [11].

Не менее сложные геномы характерны для ризосферных и эндофитных N_2 -фиксаторов рода *Azospirillum*, содержащих несколько хромид, которые, как и хромосомы, несут гены 16S рРНК и тРНК. Однако у этих бактерий связь между формированием многокомпонентного генома и симбиозом не столь очевидна, как у ризобий: на хромиде азоспирилл не выявлено генов, вовлеченных во взаимодействия с растениями, хотя для некоторых из этих генов показана хромосомная локализация [12, 13].

Передача генов из α -протеобактерий в ядерные хромосомы хозяев выявлена лишь у некоторых паразитов (антагонистических симбионтов) эукариот. Среди них наиболее изучены агробактерии – близкие родичи ризобий из сем. Rhizobiaceae. Т-ДНК, передаваемая агробактериями в растительные клетки через системы секреции 4-го типа (СС4Т), содержит гены образования опухолей и синтеза опинов – особых метаболитов, потребляемых “генетическими паразитами”. Хотя Т-ДНК передается в вегетативные клетки широкого спектра покрытосеменных, данные о закреплении бактериальных генов в растительных геномах имеются лишь для некоторых видов двудольных, например для льнянок, в связи с чем функции приобретенных растениями трансгенов остаются неясными [14].

Весьма интенсивный, хотя и не столь упорядоченный перенос генов в эукариотические клетки осуществляют бактерии рода *Wolbachia* – репродуктивные паразиты насекомых и нематод, которые, как и агробактерии, имеют СС4Т [15]. Зарегистрирован перенос в хромосомы насекомых

крупных сегментов генома вольбахий, а иногда и целых хромосом, которые могут составлять до 2% генома хозяина [16]. Однако адаптивные эффекты этого переноса неясны, поскольку большинство перемещенных генов выявляются у хозяев в неактивной форме.

Хотя для бактерий порядка Rickettsiales эволюция изучена не столь подробно, как для Rhizobiales, для них могут быть выделены общие эволюционные закономерности. Так, способность к внутриклеточному симбиозу с эукариотами, как и высокая геномная пластичность, связанная с наличием особых палиндромных последовательностей, возникла у предков риккетсий задолго до редукции их геномов. У жестких патогенов из группы тифа (*Rickettsia prowazekii*, *R. typhi*) выявлена утрата генов репарации ДНК, указывая на начавшуюся редукцию матричных процессов, характерную для органелл. И наконец, риккетсии, так же как вольбахии и агробактерии, имеют СС4Т, хотя их участие в переносе бактериальных генов в клетки эукариот пока не доказано [17].

ЦИАНОБАКТЕРИИ

Цианобактерии, давшие начало первичным пластидам супергруппы Plantae, проявляют генетическое родство с представителями порядка Nostocales [18], которые, таким образом, могут быть использованы для реконструкции ранних этапов органеллогенеза. Род *Nostoc* включает симбиотически активные цианобактерии, способные формировать внутриклеточные симбиозы с цветковыми растениями (*Gunnera*) и грибами-гломеромицетами (*Geosiphon*). Эти цианобиоты служат для хозяев источниками соединений азота, получаемых в ходе нитрогеназной реакции, а при симбиозе с грибами – также и соединений углерода, образуемых в ходе фотосинтеза. Объединенная метаболическая система, которую формируют цианобактерии и растения, сходна с системой обмена С- и N-соединениями N_2 -фиксирующих гетероцист и фотосинтезирующих вегетативных клеток в филаментах *Nostoc* [19].

У факультативного симбионта растений *N. punctiforme* геном увеличен по сравнению со свободноживущими формами *Nostoc* на 25–30%. У облигатного симбионта *N. azollae* геном уменьшен на 20–25%, причем по некоторым показателям (количество некодирующих последовательностей и генов тРНК) он приближается к геному пластид [20], подтверждая правомерность использования *Nostoc* как модели для реконструкции органеллогенеза.

Другая модель, перспективная для реконструкции органеллогенеза, представлена одноклеточными цианобактериями *Synechococcus*, из которых возникли хроматофоры простейшего *Paulinella chromatophora* (супергруппа Rhizaria). Для этих

эндосимбионтов характерна более глубокая, чем для *N. azollae*, редукция: хроматофоры утратили свыше 70% генома свободноживущих предков [21]. При этом свыше 20 генов фотосистемы I перенесены из хроматофоров в ядро хозяина, указывая на начавшийся процесс объединения геномов партнеров. По всей видимости, хроматофоры *Paulinella* возникли из цианобактерий, поедаемых простейшими: близкий к *P. chromatophora* вид *P. ovata*, не имеющий хроматофоров и использующий цианобактерии в пищу, содержит гомологи ряда генов *Synechococcus*. Важность развития этой модели определяется родством *Synechococcus* и одноклеточной цианобактерии *Gloeomargarita*, которая, согласно данным протеомного анализа, близка к первичным пластидам [22].

γ-ПРОТЕОБАКТЕРИИ

Эта генетически изученная группа бактерий включает ряд факультативных и облигатных паразитов и мутуалистов животных и растений, которые эволюционно связаны со свободноживущими формами, обитающими в водных и почвенных экосистемах [23]. Для симбиотических форм характерен двухэтапный сценарий эволюции генома, позднее подтвержденный и для других бактерий. На первом этапе происходит существенное (на 20–25%) расширение геномов, обусловленное приобретением симбиотически специализированных генных кластеров. На втором этапе наблюдается возвращение геномов к исходным размерам, определяемое элиминацией негативных регуляторов симбиоза [24]. Например, патогенные формы *Escherichia coli*, превосходя комменсальные формы по размеру генома [25], сохраняют его унитарную структуру. Более специализированные патогены – шигеллы, иногда рассматриваемые как подвид *E. coli*, не отличаются от нее по размеру генома и по числу плазмид. У еще более специализированных патогенов – сальмонелл, способных к стабильному поддержанию в клетках кишечного эпителия и макрофагах, при сравнении с *E. coli* выявлено упрощение генома, связанное с уменьшением числа плазмид [26].

Сходная эволюционная динамика характерна для фитопатогенов рода *Erwinia*, которые по геномной организации не отличаются от эпифитов. У эволюционно молодого патогена *E. tracheiphila* повышено содержание мобильных элементов, фагов и псевдогенов, что свидетельствует о возврате генома к паразитизму. У “старого” патогена *E. amylovora*, а также у эпифита *E. billingiae* число этих элементов невелико, указывая на стабилизацию генома [27].

Более сложная организация генома характерна для бактерий сем. *Vibrionaceae*, которые содержат две хромосомы. У жесткого паразита *Vibrio cholerae*

они имеют размер 3.0 и 1.1 Mb [28], у светящегося симбионта морских животных *V. fischeri* 2.9 и 1.3 Mb [29], тогда как сапрофитный вид *V. natriegens* имеет хромосомы размером 3.2 и 1.9 Mb [30]. Таким образом, у *Vibrio* структура генома не связана с симбиотическими свойствами и может рассматриваться как общая характеристика этих бактерий.

Облигатно-симбиотические внутриклеточные формы γ-протеобактерий широко распространены у насекомых. Наиболее изученной является *Buchnera* – симбионт тлей, снабжающий хозяев незаменимыми аминокислотами. Для него характерна глубокая геномная редукция (сохраняется 10–15% генов свободноживущих предков), которая определяет неспособность к автономному существованию бактерий, передаваемых вертикально (трансовариально) при размножении хозяев [31].

Важно отметить, что преобразование свободноживущих γ-протеобактерий в генетически редуцированные облигатные симбионты резко изменяет соотношение различных групп “операционных” (кодирующих метаболизм и развитие клетки) генов. Например, у *Baumannia*, *Blochmannia*, *Buchnera*, *Ishikawaella* и *Wigglesworthia* повышена, по сравнению с *E. coli*, доля генов, которые контролируют синтез аминокислот и витаминов, поставляемых хозяевам. Однако при этом снижена доля генов, кодирующих регуляцию, транспорт и подвижность: эти функции упрощены или отсутствуют у бактерий, постоянно обитающих в строго контролируемой внутриклеточной среде [32]. Не менее выражено различие по стабильности для разных групп “информационных” генов, кодирующих матричные процессы: у облигатных симбионтов число генов рекомбинации, репарации и транскрипции снижено, а число генов трансляции повышено по сравнению со свободноживущими формами [33].

Важно отметить, что некоторые γ-протеобактерии – эндоцитобионты насекомых – по организации генома вплотную приблизились к органеллам. Так, в геноме *Carsonella* – симбионта псиллид, имеющем размер 160 тпн, отсутствует ряд генов репликации, транскрипции и трансляции [34]. Однако органеллы, возникшие из γ-протеобактерий, не описаны, что может быть связано с недостаточной пластичностью их геномов либо с низкой активностью переноса генов в хромосомы хозяев.

β-ПРОТЕОБАКТЕРИИ

Протеобактерии β-группы реализуют разнообразные жизненные стратегии: они могут быть паразитами либо мутуалистами животных или растений, в том числе симбиотическими N₂-фиксаторами, образующими клубеньки у тропических бобовых. Отсутствие связи между размером

генома и способностью к симбиозу показано для рода *Burkholderia*, в который наряду со свободноживущими формами входят паразиты животных и растений, а также для рода *Paraburkholderia*, включающего N_2 -фиксирующие симбионты бобовых [35, 36].

Для *Burkholderia* характерны многокомпонентные геномы, содержащие 2–3 хромосомы (1000–4000 тпн) и до трех плазмид. Патогенные для человека виды *B. mallei* и *B. pseudomallei* различаются по размеру генома (5400–5950 и 7000–7450 тпн соответственно) и обычно лишены плазмид. Наиболее крупные геномы (свыше 9000 тпн) выявлены у свободноживущих видов *B. fungorum* и *B. xenovorans*. Максимальное число плазмид (3) зарегистрировано у фитопатогена *B. gladioli*, у которого общий размер генома составил 8899 тпн, хотя известны и бесплазмидные патогены с более компактными геномами [37]. Таким образом, у буркхольдерий, как и у γ -протеобактерий, приобретение симбиотических свойств не сказывается на организации генома. Однако с симбиозом тесно связан его состав: патогенные формы имеют системы секреции 3-го типа, а также протеолитические и антифунгальные активности, которые не выявляют у свободноживущих штаммов [38].

Более простая, унитарная структура генома выявлена у эндофитной N_2 -фиксирующей β -протеобактерии *Azoarcus*, которая имеет узкий круг хозяев, включая некоторые злаковые растения (*Leptochloa fusca*, *Oryza sativa*) [39]. Геном этой бактерии имеет небольшой размер (4300–4400 тпн, 3900–4000 генов) и не содержит плазмид. В нем не выявляются системы секреции 3-го и 4-го типов, а также синтеза фитотоксинов и лактонов гомосерина, участвующих в регуляции генов вирулентности различных бактерий [40]. Проникновение *Azoarcus* в растения вызывает у них ограниченный иммунный ответ, который снижает скорость размножения бактерий и, что особенно важно, вызывает их переход в некультивируемое состояние, сопряженный с индукцией высокой нитрогеназной активности [41]. *Azoarcus*, в отличие от ризобий и азоспирилл, имеет ген *nifL*, который подавляет экспрессию оперона *nifHDK* аммонием или кислородом у свободноживущих diaзотрофов [42].

Мутуалистические симбионты животных среды β -протеобактерий немногочисленны, однако они могут обладать весьма глубокой специализацией к хозяевам. Например, *Nasuia deltocephalini-cola* – симбионт цикады *Macrostelus quadrilineatus*, снабжающий хозяина незаменимыми аминокислотами, имеет наименьший среди эндоситобионтов насекомых геном – всего 112 тпн [43].

ОДНОКЛЕТОЧНЫЕ ВОДОРОСЛИ

Выше мы рассмотрели модели для реконструкции первичного органеллогенеза, который включает вселение α -протеобактерий в археи, а также цианобактерий в эукариоты с образованием двухмембранных органелл. Значительно менее разработаны модели вторичного органеллогенеза, связанного с вселением в эукариотические клетки эукариотических же симбионтов. Хотя вторичный органеллогенез документирован только для пластид, выявление облигатных внутриклеточных паразитов-эукариот, содержащих митосомы – производные митохондрий [44], предполагает возможность возникновения вторичных форм и для этих органелл.

Удобную модель для реконструкции вторичного органеллогенеза представляют динофлагелляты – одноклеточные эукариоты из супергруппы Alveolata, которые обитают в морской или пресной воде [45]. Около 50% динофлагеллят являются автотрофными, остальные – миксотрофными или гетеротрофными, в том числе и паразитическими формами [46]. Для гетеротрофных динофлагеллят характерны пластиды с редуцированными геномами, а иногда и полностью лишённые геномов, но сохранившие способность к имплементации сложных биохимических процессов, включая синтез изопреноидов, тетрапироллов и Fe-S-кластеров.

Наиболее изучен среди динофлагеллят род *Symbiodinium*, многие его представители являются фотосинтезирующими симбионтами беспозвоночных – губок, кишечнорастных, моллюсков, червей и фораминифер. Этот род разделяют на 8–9 клад, в которых выявляются как свободноживущие, так и симбиотические формы [47]. Последние обладают слабо выраженной специфичностью к хозяевам: симбионты фораминифер встречаются в пяти из восьми основных клад *Symbiodinium* [48].

Одно из доказательств специализации *Symbiodinium* к симбиозу было получено при изучении синтеза микоспорин-подобных аминокислот (МПА), защищающих светособирающий комплекс от УФ-лучей. Гены синтеза МПА были, по-видимому, получены *Symbiodinium* от красных водорослей – предков вторичных пластид. Эти гены выявлены у представителей базальной клады А, но отсутствуют в специализированной клade С. Возможно, что утрата синтеза МПА была связана с переходом *Symbiodinium* к симбиозу, при котором функцию защиты фотосинтетического аппарата от УФ выполняет хозяин [49].

Наиболее изучены симбиозы *Symbiodinium* с кишечнорадными – коралловыми полипами, имеющими огромное экологическое значение [48]. Коралловые рифы, занимающие менее 1% площади мирового океана, предоставляют ниши для более чем 30% морских организмов и являются одним из основных резервуаров биоразнообразия

на Земле. Поэтому деградация коралловых рифов, связанная с утратой фотобионтов (обесцвечением кораллов), несет огромную угрозу сохранению биосферы [50]. Стабильное поддержание *Symbiodinium* в животных свидетельствует об установлении в организме-хозяине генетического гомеостаза, регулируемого на клеточном и организменном уровне [49]. Однако вертикального наследования фотобионтов при половом размножении хозяев не наблюдается, в связи с чем симбиотические штаммы *Symbiodinium* сохраняют способность к автономному существованию, осуществляя как автотрофное, так и гетеротрофное, основанное на фагоцитозе питание [50].

Общий размер прокариотического пластома *Symbiodinium* составляет 25–50 тпн [45]. Для него характерна сильная фрагментация, которая может рассматриваться как предпосылка для полной утраты генома [46]. Большинство сохранившихся в пластомах генов расположены по одному в составе мини-плазмид, размеры которых составляют 1.8–3.3 (до 6.1) тпн. Иногда на одной мини-плазмиде находится несколько (до 4) генов [44]. Всего на мини-плазмидах выявляют 12–17 генов, кодирующих рРНК и белки фотосистемы I [46]. У некоторых штаммов *Symbiodinium* выявлены “пустые” мини-плазмиды, которые не содержат кодирующих последовательностей [45]. Несмотря на глубокую редукцию генома, пластиды *Symbiodinium* осуществляют фотосинтез и трансляцию, используя генные продукты (белки, РНК), синтезируемые в цитозоле клетки-хозяина и поступающие в пластиды через аппарат Гольджи, а не через мембранные транспортеры Тс/Тос, функционирующие в первичных пластидах.

Цитологический и геномный анализ динофлагеллят показал, что вторичный органеллогенез сопровождается гораздо более сложными генетическими процессами, чем первичный органеллогенез, так как вторичные пластиды имеют многокомпонентные геномы, состоящие из рудиментарного ядра красной водоросли (нуклеоморфа) и прокариотического пластома. Обе части генома подвергаются редукционной эволюции, причем наименьшей стабильностью характеризуется нуклеоморф: у большинства динофлагеллят он отсутствует, хотя его генетические маркеры часто выявляются в хромосомах хозяина [49]. У *S. minutum* свыше 90% генов фотосинтеза перенесены из прокариотических геномов в ядерные хромосомы, которые постоянно находятся в конденсированной форме [45]. Транскрипты пластидных генов фотосинтеза подвергаются интенсивному редактированию, не характерному для генов, перенесенных в геном хозяина [46].

Сравнительный анализ различных групп динофлагеллят показал, что в их эволюции происходили неоднократные утраты исходной, возник-

шей из красных водорослей пластиды, в которой синтезируются хлорофиллы *a* и *c*, а также особый каротиноид – перидинин. У ряда динофлагеллят произошла ее замена на третичные пластиды, возникшие из других альвеолят (гаптофитов, диатомовых водорослей) либо из зеленых водорослей [51]. Во втором случае пластиды синтезируют хлорофиллы *a* и *b*, сохраняя многие клеточные компоненты зеленых водорослей – рудиментарное ядро (нуклеоморф), 80S рибосомы и вакуоли. Общей чертой вновь приобретенных третичных пластид является наличие маркеров исходной перидинин-синтезирующей пластиды. Это может быть связано с тем, что процесс замены пластид включал стадию сосуществования вторичной и третичной органелл, между которыми происходил интенсивный перенос генов [22]. По-видимому, он явился основой чрезвычайно широкой генетической и экологической диверсификации динофлагеллят, выделяющей их среди других одноклеточных эукариот.

Другая перспективная модель вторичного органеллогенеза представлена системой “*Chlorella–Paramecium*” [52]. Образующая ее инфузория-хозяин относится к альвеолятам и является гетеротрофом, который утратил имевшиеся ранее вторичные пластиды и поэтому преадаптирован к приобретению новых пластид. Клетки хлореллы поступают в простейшее через ротовое отверстие и переходят в пищеварительные вакуоли, часть из которых преобразуется в симбиосомы, располагающиеся вблизи поверхности клетки-хозяина и осуществляющие фотосинтез. Эта модель иллюстрирует преобразование трофической цепи в симбиоз, приводящее к формированию генетически интегрированной биосистемы на основе отношений “хищник–жертва”.

В качестве модели для изучения эволюции вторичных пластид можно рассматривать также “клептопласты” моллюска *Elysia*, извлекаемые им из пищевого объекта – желто-зеленой водоросли *Vaucheria*. Эта водоросль, входящая в супергруппу Alveolata (Heterokonta), содержит пластиды, возникшие из одноклеточных красных водорослей [53], в связи с чем приобретение клептопластов, длительно поддерживаемых в эпителиальных клетках животного, может рассматриваться как проявление вторичного органеллогенеза.

ВОЗМОЖЕН ЛИ ОРГАНЕЛЛОГЕНЕЗ БЕЗ СИМБИОГЕНЕЗА?

Несмотря на огромный массив данных, указывающих на симбиогенную природу ДНК-содержащих органелл эукариотической клетки, экспериментальные данные для анализа генетических процессов, сопровождающие их возникновение, очень немногочисленны. В частности, эндосимбиозы бактерий и археот, на основе которых мог-

ли возникнуть первичные эукариоты, пока не идентифицированы, хотя в ряде работ описаны археотные “кандидаты” в предки эукариот. Одними из них являются локиархеоты — анаэробные организмы из донных осадков Арктики, имеющие актиноновый цитоскелет и способные к эндоцитозу, который мог обеспечить приобретение аэробных α -протеобактерий — предшественников митохондрий [54].

Большой интерес представляет вопрос о том, возможно ли у прокариот не связанное с симбиозом обособление геном-содержащих клеточных компартментов? До сих пор не может считаться полностью опровергнутой гипотеза аутогенеза, которая предполагает возникновение органелл на основе структурной дифференциации и функциональной специализации мембранных компартментов анцестральной клетки. Выдвинутая в конце XIX в. в применении к пластидам эта гипотеза была отклонена К.С. Мережковским на основании генетической непрерывности данных органелл [55]. Однако в 1970-х гг. гипотеза аутогенеза была возрождена Т. Кавалер-Смитом [56], полагавшим, что в основе эволюции эукариот лежало происходившее у прокариот обособление клеточных компартментов вместе с кодирующими их функции участками генома. Сторонники аутогенеза проводили параллели между органеллогенезом и возникновением новых органов — процессами, основанными на обособлении функционально специализированных структур у предковых форм.

О возможности аутогенной эволюции клеточных органелл у прокариот свидетельствуют результаты изучения грамотрицательной бактерии *Gemmata obscuriglobus* (Planctomycetes). Эта бактерия имеет крупный геном (около 9000 тпн, свыше 8000 генов), кодирующий синтез стеролов и способность к эндоцитозу, характерные для эукариот [57]. В клетках *G. obscuriglobus* выявлен ДНК-содержащий компартмент, который может рассматриваться как аналог ядра. Их сходство выявляется, в частности, при анализе мембранных белков, образующих поровые комплексы. Возможно, что гены про- и эукариот, кодирующие эти комплексы, имеют общее происхождение, связанное с дивергенцией от общих предков либо с горизонтальным переносом генов (ГПГ) [58].

По мнению ряда авторов, первичные эукариоты возникли путем вселения α -протеобактерий в клеточные организмы, обладавшие ядрами, которые могли иметь либо аутогенное, либо симбиогенное происхождение, в том числе и возникать на основе гигантских вирусов [59]. Другие авторы полагают, что предшественниками ядер были археотные клетки, вселившиеся в δ -протеобактерии либо в планкомицеты [60]. В связи с этим большой интерес представляют внутриклеточные симбиозы, в которых хозяевами являются бакте-

рии. К их числу относится симбиоз β -протеобактерии *Tremblaya princeps*, которая выявлена в бактериоцитах червеца *Planococcus citri*, с γ -протеобактерией *Moranella endobia*, обитающей в клетках *T. princeps*. Стимулом для образования данной “матрешки” могла стать избыточная редукция генома *T. princeps* (139 тпн), вызванная ослаблением отбора в популяциях эндоцитобионтов (в связи с постоянством среды их обитания) и компенсируемая менее редуцированным симбионтом *M. endobia*, геном которого превышает 500 тпн [61]. Показано, что у *T. princeps* отсутствуют многие факторы трансляции, включая аминоксил-тРНК-синтетазы и фактор элонгации EF-Ts, которые поступают от *M. endobia*.

Одним из нерешенных вопросов теории симбиогенеза остается последовательность возникновения ядра и митохондрий. Согласно “градуалистическому” сценарию митохондрии возникли путем вселения α -протеобактерий в первичные эукариоты, образовавшиеся путем обособления у архей геном-содержащего ядра и других мембранных структур — эндоплазматического ретикулула, аппарата Гольджи, пероксисом [1]. В качестве ближайших родичей первичных эукариот было предложено рассматривать архезоев — внутриклеточных паразитов животных (метамонады, трихомонады, энтамебы), которые лишены митохондрий и обладают упрощенной, по сравнению со свободноживущими эукариотами, клеточной структурой [44]. Однако в настоящее время представление об архезоях как о переходных формах между про- и эукариотами оставлено, поскольку: а) у архезоев выявлены митосомы — безгеномные производные митохондрий; б) филогенетический анализ показал, что архезои — это специализированная группа эукариот, а не сестринская по отношению к ним группа [62].

В связи с этим более обоснованным представляется “симбиотический” сценарий формирования внутриклеточных компартментов, согласно которому предки митохондрий, вселившиеся в археи, послужили генераторами возникновения ядра и других внутриклеточных структур, сформировавшихся из продуцируемых митохондриями мембранных везикул. В пользу этого сценария свидетельствует то, что синтез липидов, локализованный у прокариот в плазматических мембранах, у эукариот происходит в мембранах эндоплазматического ретикулула (ЭПР) и аппарата Гольджи [1].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Реконструкция симбиогенной эволюции эукариот — чрезвычайно актуальное и увлекательное направление современной биологии, связанное с выяснением путей становления структурно-функционального и генетического разнообразия клеточных организмов. Способность к стабильному существо-

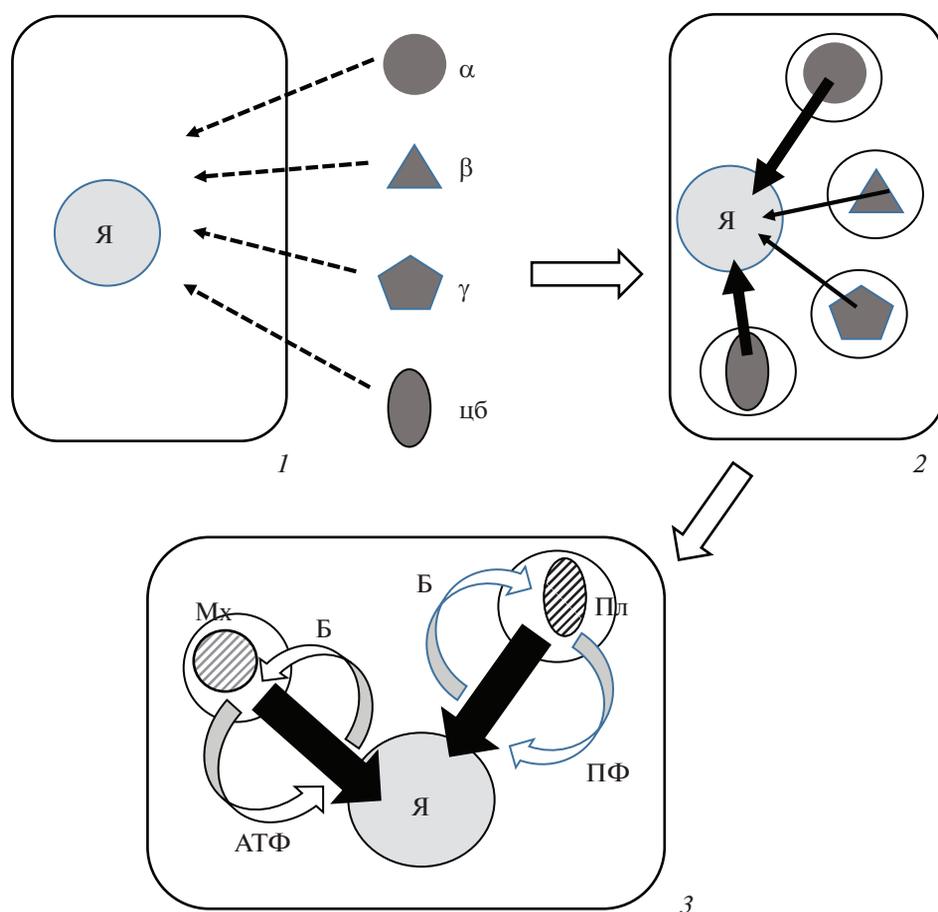


Рис. 2. Основные этапы органеллогенеза. 1 – приобретение представителями археот, которые согласно “градуалистическому” сценарию органеллогенеза [1] имели ядра (Я), эндосимбионтов, относящихся к различным группам протеобактерий (α , β , γ) или к цианобактериям (цб); 2 – горизонтальный перенос генов (его интенсивность обозначает толщина стрелок) из симбионтов в Я клетки-хозяина (наиболее эффективные доноры генов – α -протеобактерии и цианобактерии – дали начало митохондриям и пластидам); 3 – эндосимбиотический перенос (обозначен черными стрелками) из митохондрий (Мх) и пластид (Пл) в Я генов, которые кодируют белки (Б), синтезируемые в цитозоле клетки-хозяина и транспортируемые в органеллы. Мх служат для хозяев донорами АТФ, Пл – донорами продуктов фотосинтеза (ПФ).

ванию в клетках эукариот, которая может рассматриваться как начальный этап формирования органелл, выявлена во многих группах протеобактерий (α , β , γ) и цианобактерий (гетероцистные, негетероцистные), а также у одноклеточных водорослей. У клубеньковых бактерий (ризобий), которые относятся к α -протеобактериям, переход к внутриклеточному симбиозу сопровождался усложнением генома и повышением его пластичности, включая перенос *sym*-генов в неродственные бактерии [8]. Он привел к возникновению способности формировать на корнях бобовых N_2 -фиксирующие клубеньки более чем в 10 семействах α -протеобактерий, объединяемых в отряд Rhizobiales, а также у некоторых β -протеобактерий. В то же время у γ -протеобактерий (например, у сальмонелл) внутриклеточный симбиоз не связан с усложнением геномной организа-

ции, и горизонтальный перенос генов вирулентности ограничен сем. Enterobacteriaceae [22, 25].

Таким образом, высокая геномная пластичность, проявляемая на ранних стадиях коэволюции бактерий с хозяевами, должна рассматриваться как важнейшая предпосылка для перехода симбионтов на путь органеллогенеза, послужившего основой программы серийных эндосимбиозов [4]. Для некоторых α -протеобактерий (*Agrobacterium*, *Wolbachia*) и цианобактерий (*Synechococcus*) показан горизонтальный перенос генов в хозяев, который можно рассматривать как начальный этап геномной интеграции партнеров, его завершение связано с эндосимбиотическим переносом генов из органелл в ядерные хромосомы (рис. 2).

Важно отметить, что преобразование бактерий в клеточные органеллы представляет собой результат утраты эндосимбионтами генетической

индивидуальности – способности к самостоятельному поддержанию и экспрессии геномов [5]. Эта утрата явилась предпосылкой для образования симбионтами и их хозяевами объединенных систем наследственности, она привела к резкому расширению адаптивного потенциала партнеров. Наиболее широкий круг генетических процессов реализуется при вторичном органеллогенезе, моделью которого являются одноклеточные фототрофные эукариоты, в первую очередь жгутиконосцы *Symbiodinium*. В число этих процессов входит глубокая редукция, а иногда и полная утрата эндосимбионтами эукариотических ядер (нуклеоморфов), сопровождаемая переносом их генов в хромосомы хозяев [22, 45].

Сравнительный анализ факультативных и облигатных симбионтов эукариот открыл широкие возможности для реконструкции ранних этапов органеллогенеза, связанных с переходом микроорганизмов к существованию во внутриклеточных нишах (табл. 1). Однако используемые для этого модели ограничены лишь некоторыми бактериями и водорослями, поселяющимися в клетках эукариот. Пока еще мало доступны для изучения внутриклеточные симбиозы, в которых хозяевами являются прокариоты. Весьма дискуссионным остается вопрос о возникновении ядра, которое либо предшествовало приобретению митохондрий первичными эукариотами, возникшими из археот путем обособления ДНК-содержащих компартментов (“градуалистический” сценарий), либо явилось результатом вселения α -протеобактерий в безъядерную археотную клетку (“симбиотический” сценарий) [1].

Данные о том, что в геномах эукариот бактериальные по происхождению гены, контролирующие в основном клеточный метаболизм, более многочисленны, чем археотные гены, определяющие матричные процессы, согласуются с развиваемой рядом авторов гипотезой о возникновении ядра из археотных клеток, вселившихся в бактерии [60]. Очевидно, что мозаичные геномы эукариот могут рассматриваться как продукты реорганизации надорганизменных систем наследственности, возникших на ранних этапах органеллогенеза в связи с формированием симбиозов между разными типами прокариот [63].

Изучение процессов органеллогенеза, основанных на глубокой редукции эндосимбиотических бактерий и их рекомбинации с клеткой-хозяином, открывает широкие возможности для анализа процессов возникновения и ранней эволюции жизни. В частности, формирование безгеномных органелл, которое, по-видимому, представляло собой результат их реверсии к анцестральным формам организации клетки, может рассматриваться как доказательство первичности метаболизма по отношению к геному. Важно отметить, что система

РНК-направляемого синтеза белков (трансляции) как связующее звено между клеточным метаболизмом и кодирующим его геномом проявила в ходе редуцированной эволюции гораздо большую стабильность, чем ДНК-зависимые матричные процессы (репликация, рекомбинация, репарация, транскрипция), подтверждая гипотезу о первичности РНК-генома по отношению к ДНК-геному. В связи с этим заслуживает внимания гипотеза о возникновении ДНК-геномов прокариот на основе РНК-геномов анцестральных клеточных или доклеточных форм жизни [64].

Реконструкция органеллогенеза имеет важное прикладное значение, связанное с созданием новых генетических систем, которые кодируют заранее заданные полезные свойства, например способность растений к фиксации N_2 , либо животных к фиксации CO_2 [65]. Правомерность постановки этих задач подтверждается выявлением глубоко редуцированных N_2 -фиксирующих симбионтов у некоторых фототрофных организмов [66], а также широким распространением фото- и хемобионтов, поддерживаемых в клетках животных [67].

Работа поддержана грантом РФФИ 19-16-00081.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Martin W.* Symbiogenesis, gradualism, and mitochondrial energy in eukaryote origin // *Period. Biol.* 2017. V. 119. № 3. P. 141–158. <https://doi.org/10.18054/pb.v119i3.5694>
2. *Фаминцын А.С.* О роли симбиоза в эволюции организмов // *Зап. Импер. акад. наук, физ.-мат. отд. Серия 8.* 1907. Т. 20. № 3. С. 1–14.
3. *Мережковский К.С.* Теория двух плазм как основа симбиогенеза, нового учения о происхождении организмов. Казань: Типо-литография Импер. ун-та, 1909. 102 с.
4. *Margulis L., Sagan D.* *Acquiring Genomes. A theory of the Origins of Species.* N.Y.: Basic Books, 2002. 320 p.
5. *Проворов Н.А., Тихонович И.А., Воробьев Н.И.* Симбиоз и симбиогенез. С.-Петербург: Информ-Навигатор, 2018. 464 с.
6. *Georgiades K., Raoult D.* The rhizome of *Reclinomonas americana*, *Homo sapiens*, *Pediculus humanus* and *Saccharomyces cerevisiae* mitochondria // *Biology Direct.* 2011. V. 6: 55. <https://doi.org/10.1186/1745-6150-6-55>
7. *de la Peña T.C., Fedorova E., Pueyo J.J., Lucas M.M.* The symbiosome: legume and rhizobia co-evolution toward a nitrogen-fixing organelle? // *Front. Plant Sci.* 2018. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02229>

8. *Проворов Н.А., Андронов Е.Е.* Эволюция клубеньковых бактерий: реконструкция процессов видообразования, обусловленных перестройками генома в системе симбиоза // *Микробиология*. 2016. Т. 85. № 2. С. 195–206.
<https://doi.org/10.7868/S0026365616020166>
9. *Prakash R.K., Schilperoort B.A.* Relationship between *nif*-plasmids of fast-growing *Rhizobium* species and *Ti*-plasmids of *Agrobacterium tumefaciens* // *J. Bacteriol.* 1982. V. 149. № 3. P. 1129–1134.
10. *Tian C.F., Zhou Y.L., Zhang Y.M. et al.* Comparative genomics of rhizobia nodulating soybeans suggests extensive recruitment of lineage-specific genes in adaptations // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2012. V. 109. № 22. P. 8629–8634.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1120436109>
11. *Hirsch A.M., Lum M.R., Downie J.A.* What makes the rhizobia-legume symbiosis so special? // *Plant Physiol.* 2001. V. 127. № 4. P. 1484–1492.
<https://doi.org/10.1104/pp.010866>
12. *Wisniewski-Dyé F., Lozano L., Acosta-Cruz E. et al.* Genome sequence of *Azospirillum brasilense* CBG497 and comparative analyses of *Azospirillum* core and accessory genomes provide insight into niche adaptation // *Genes*. 2012. V. 3. № 4. P. 576–602.
<https://doi.org/10.3390/genes3040576>
13. *Blaha D., Sanguin H., Robe P. et al.* Physical organization of phytobeneficial genes *nifH* and *ipdC* in the plant growth-promoting rhizobacterium *Azospirillum lipoferum* 4VI // *FEMS Microbiol. Lett.* 2005. V. 244. № 1. P. 157–163.
<https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.01.034>
14. *Matveeva T.V., Lutova L.A.* Horizontal gene transfer from *Agrobacterium* to plants // *Front. Plant Sci.* 2014. V. 5. Article 326.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00326>
15. *Wu M., Sun L.V., Vamathevan J. et al.* Phylogenomics of the reproductive parasite *Wolbachia pipientis* wMel: a streamlined genome overrun by mobile genetic elements // *PLoS Biology*. 2004. V. 2. № 3. P. 327–341.
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020069>
16. *Nikoh N., McCutcheon J.P., Kudo T. et al.* Bacterial genes in the aphid genome: absence of functional gene transfer from *Buchnera* to its host // *PLoS Genet.* 2010. V. 6. № 2. e1000827.
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000827>
17. *Blanc G., Ogata H., Robert C. et al.* Lateral gene transfer between obligate intracellular bacteria: evidence from the *Rickettsiamassiliae* genome // *Genome Res.* 2007. V. 17. № 11. P. 1657–1664.
<https://doi.org/10.1101/gr.6742107>
18. *Deusch O., Landan G., Roettger M. et al.* Genes of cyanobacterial origin in plant nuclear genomes point to a heterocyst-forming plastid ancestor // *Molec. Biol. Evol.* 2008. V. 25. № 4. P. 748–761.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msn022>
19. *Meeks J.C., Elhai J.* Regulation of cellular differentiation in filamentous cyanobacteria in free-living and plant-associated symbiotic growth states // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2002. V. 66. № 1. P. 94–121.
<https://doi.org/10.1128/MMBR.66.1.94-121.2002>
20. *Ran L., Larsson J., Vigil-Stenman T. et al.* Genome erosion in a nitrogen-fixing vertically transmitted endosymbiotic multicellular cyanobacterium // *PLoS One*. 2010. V. 5. № 9.
<https://doi.org/10.1371/annotation/835c5766-5128-41c4-b636-adfe0c503103>
21. *Nowack E.C., Grossman A.R.* Trafficking of protein into the recently established photo-synthetic organelles of *Paulinella chromatophora* // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2012. V. 109. № 14. P. 5340–5345.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1118800109>
22. *Ponce-Toledo R.I., Deschamps P., López-García P. et al.* An early-branching freshwater cyanobacterium at the origin of plastids // *Current Biology*. 2017. V. 27. № 3. P. 386–391.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.11.056>
23. *Hata H., Natori T., Mizuno T. et al.* Phylogenetics of family Enterobacteriaceae and proposal to reclassify *Escherichia hermannii* and *Salmonella subterranea* as *Atlantibacter hermannii* and *Atlantibacter subterranea* gen. nov., comb. nov. // *Microbiol. Immunol.* 2016. V. 60. № 5. P. 303–311.
<https://doi.org/10.1111/1348-0421.12374>
24. *Merhej V., Georgiades K., Raoult D.* Postgenomic analysis of bacterial pathogens repertoire reveals genome reduction rather than virulence factors // *Brief. Fuct. Genom.* 2013. V. 12. № 4. P. 291–304.
<https://doi.org/10.1093/bfpg/elt015>
25. *Rasko D.A., Rosovitz M.J., Myers G.S. et al.* The pangenome structure of *Escherichia coli*: comparative genomic analysis of *E. coli* commensal and pathogenic isolates // *J. Bacteriol.* 2008. V. 190. № 20. P. 6881–6893.
<https://doi.org/10.1128/JB.00619-08>
26. *Call D.R., Kang M.-S., Daniels J., Besser T.E.* Assessing genetic diversity in plasmids from *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* using a mixed-plasmid microarray // *J. Appl. Microbiol.* 2006. V. 100. № 1. P. 15–28.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02775.x>
27. *Shapiro L.R., Scully E.D., Straub T.J. et al.* Horizontal gene acquisitions, mobile element proliferation and genome decay in the host-restricted plant pathogen *Erwinia tracheiphila* // *Genome Biol. Evol.* 2016. V. 8. № 3. P. 649–664.
<https://doi.org/10.1093/gbe/evw016>
28. *Dutilh B.E., Thompson C.C., Vicente A.C. et al.* Comparative genomics of 274 *Vibrio cholerae* genomes reveals mobile functions structuring three niche dimensions // *BMC Genomics*. 2014. 15: 654.
<https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-654>
29. *Ruby E.G., Urbanowski M., Campbell J. et al.* Complete genome sequence of *Vibrio fischeri*: a symbiotic bacterium with pathogenic congeners // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2005. V. 102. № 8. P. 3004–3009.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0409900102>
30. *Lee H.H., Ostrov N., Wong B.G. et al.* *Vibrio natriegens*, a new genomic powerhouse // *bioRxiv preprint*. 2016.
<https://doi.org/10.1101/058487>
31. *Douglas A.E.* The molecular basis of bacterial–insect symbiosis // *J. Mol. Biol.* 2014. V. 426. № 10. P. 3830–3837.
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2014.04.005>

32. *Nikoh N., Hosokawa T., Oshima K. et al.* Reductive evolution of bacterial genome in insect gut environment // *Genome Biol. Evol.* 2011. V. 3. № 3. P. 702–714. <https://doi.org/10.1093/gbe/evr064>
33. *Moran N.A., McCutcheon J.P., Nakabachi A.* Genomics and evolution of heritable bacterial symbionts // *Annu. Rev. Genet.* 2008. V. 42. P. 165–190. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.41.110306.130119>
34. *Nakabachi A., Yamashita A., Toh H. et al.* The 160-kilobase genome of the bacterial endosymbiont *Carsonella* // *Science*. 2006. V. 314. № 5797. P. 267–270. <https://doi.org/10.1126/science.1134196>
35. *Beukes C.W., Palmer M., Manyaka P. et al.* Genome data provides high support for generic boundaries in *Burkholderia sensu lato* // *Front Microbiol.* 2017. V. 8: 1154. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01154>
36. *Estrada-de los Santos P., Palmer M., Chávez-Ramírez B. et al.* Whole genome analyses suggests that *Burkholderia sensu lato* contains two additional novel genera (*Mycetohabitans* gen. nov., and *Trinickia* gen. nov.): implications for the evolution of diazotrophy and nodulation in the Burkholderiaceae // *Genes*. 2018. V. 9. № 8. P. 389–401. <https://doi.org/10.3390/genes9080389>
37. *Johnson S.L., Bishop-Lilly K.A., Ladner J.T. et al.* Complete genome sequences for 59 *Burkholderia* isolates, both pathogenic and near neighbor // *Genome Announc.* 2015. V. 3. № 2. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00159-15>
38. *Coenye T., Vandamme P.* Diversity and significance of *Burkholderia* species occupying diverse ecological niches // *Environ. Microbiol.* 2003. V. 5. P. 719–729. <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2003.00471.x>
39. *Karg T., Reinhold-Hurek B.* Global changes in protein composition of N_2 -fixing *Azoarcus* sp. strain BH72 upon diazosome formation // *J. Bacteriol.* 1996. V. 178. № 11. P. 5748–5754. <https://doi.org/10.1128/jb.178.19.5748-5754.1996>
40. *Krause A., Ramakumar A., Bartels D. et al.* Complete genome of the mutualistic, N_2 -fixing grass endophyte *Azoarcus* sp. strain BH72 // *Nature Biotechnol.* 2006. V. 24. № 11. P. 1385–1391. <https://doi.org/10.1038/nbt1243>
41. *Miché L., Battistoni F., Gemmer S. et al.* Upregulation of jasmonate-inducible defense proteins and differential colonization of roots of *Oryza sativa* cultivars with the endophyte *Azoarcus* sp. // *Mol. Plant-Microbe Interact.* 2006. V. 19. № 5. P. 502–511. <https://doi.org/10.1094/MPMI-19-0502>
42. *Egener T., Hurek T., Reinhold-Hurek B.* Endophytic expression of *nif* genes of *Azoarcus* strain BH72 in rice roots // *Molec. Plant-Microbe Interact.* 1999. V. 12. № 4. P. 813–819. <https://doi.org/10.1094/MPMI.1999.12.9.813>
43. *Bennett G.M., Moran N.A.* Small, smaller, smallest: the origins and evolution of ancient dual symbioses in a phloem-feeding insect // *Genome Biol. Evol.* 2013. V. 5. № 9. P. 1675–1688. <https://doi.org/10.1093/gbe/evt118>
44. *Cavalier-Smith T.* Kingdom protozoa and its 18 phyla // *Microbiol. Rev.* 1993. V. 57. № 4. P. 953–994.
45. *Barbrook A.C., Voolstra C.R., Howe C.J.* The chloroplast genome of a *Symbiodinium* sp. clade C3 isolate // *Protist.* 2014. V. 165. № 1. P. 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2013.09.006>
46. *Mungpakdee S., Shinzato C., Takeuchi T. et al.* Massive gene transfer and extensive RNA editing of a symbiotic dinoflagellate plastid genome // *Genome Biol. Evol.* 2014. V. 6. № 6. P. 1408–1422. <https://doi.org/10.1093/gbe/evu109>
47. *Pochon X., Putnam H.M., Gates R.D.* Multi-gene analysis of *Symbiodinium* dinoflagellates: a perspective on rarity, symbiosis and evolution // *PeerJ.* 2014. 2: e394. <https://doi.org/10.7717/peerj.394>
48. *Pochon X., Pawlowski J.* Evolution of the soritids – *Symbiodinium* symbiosis // *Symbiosis.* 2006. V. 42. № 2. P. 77–88.
49. *Shoguchi E., Beedesse G., Tada I. et al.* Two divergent *Symbiodinium* genomes reveal conservation of a gene cluster for sunscreen biosynthesis and recently lost genes // *BMC Genomics.* 2018. V. 19. P. 458. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4857-9>
50. *Shinzato C., Mungpakdee S., Satoh N., Shoguchi E.* A genomic approach to coral–dinoflagellate symbiosis: studies of *Acropora digitifera* and *Symbiodinium minutum* // *Front Microbiol.* 2014. V. 5. P. 336. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00336>
51. *Waller R.F., Koreny L.* Plastid complexity in dinoflagellates: a picture of gains, losses, replacements and revisions // *Adv. Botan. Res.* 2017. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2017.06.004>
52. *Kodama Y., Fujishima M.* Infection of *Paramecium bursaria* by symbiotic *Chlorella* species // *Endosymbionts in Paramecium*, Microbiology Monographs 12 / Ed. Fujishima M. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2009. P. 31–55. https://doi.org/10.1007/978-3-540-92677-1_2
53. *Rumpho M.E., Worful J.M., Lee J. et al.* Horizontal gene transfer of the algal nuclear gene *psbO* to the photosynthetic sea slug *Elysia chlorotica* // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2008. V. 105. № 46. P. 17867–17871. <https://doi.org/10.1073/pnas.0804968105>
54. *Spang A., Saw J.H., Jørgensen S.L. et al.* Complex archaea that bridge the gap between prokaryotes and eukaryotes // *Nature.* 2015. V. 521. № 7551. P. 173–179. <https://doi.org/10.1038/nature14447>
55. *Проворов Н.А.* К.С. Мережковский и происхождение эукариотической клетки: 111 лет теории симбиогенеза // *С.-х. биология.* 2016. Т. 51. № 5. С. 746–758. <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2016.5.746rus>
56. *Cavalier-Smith T.* The origin of nuclei and of eukaryotic cells // *Nature.* 1975. V. 256. № 5517. P. 463–468.
57. *Franke J.D., Blomberg W.R., Todd R.T. et al.* Assembly of a complete genome sequence for *Gemmata obscuriglobus* reveals a novel prokaryotic rRNA operon gene architecture // *Ant. Leeuwenhoek.* 2018. V. 111. № 11. P. 2095–2105. <https://doi.org/10.1007/s10482-018-1102-0>
58. *Sagulenko E., Nouwens A., Webb R.I. et al.* Nuclear pore-like structures in a compartmentalized bacterium //

- PLoS One. 2017. V. 12. № 2: e0169432.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169432>
59. Claverie J.M. Viruses take center stage in cellular evolution // *Genome Biol.* 2006. V. 7. P. 110.
<https://doi.org/10.1186/gb-2006-7-6-110>
60. Martin W., Roettger M., Kloesges T. et al. Modern endosymbiotic theory: getting lateral gene transfer into the equation // *J. Endocyt. Cell Res.* 2012. V. 23. P. 1–5.
61. Husnik F., Nikoh N., Koga R. et al. Horizontal gene transfer from diverse bacteria to an insect genome enables a tripartite nested mealybug symbiosis // *Cell.* 2013. V. 153. № 5. P. 1567–1578.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.040>
62. Aanen D.K., Eggleton P. Symbiogenesis: beyond the endosymbiosis theory? // *J. Theor. Biol.* 2017. V. 434. № 1. P. 99–103.
<https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2017.08.001>
63. Ku C., Nelson-Sathi S., Roettger M. et al. Endosymbiotic gene transfer from prokaryotic pangenomes: inherited chimerism in eukaryotes // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2015. V. 112. № 33. P. 10139–10146.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1421385112>
64. Проворов Н.А., Тихонович И.А., Воробьев Н.И. Симбиогенез как модель для реконструкции ранних этапов эволюции генома // *Генетика.* 2016. Т. 52. № 2. С. 137–145.
<https://doi.org/10.7868/S0016675816020107>
65. Проворов Н.А., Онищук О.П. Эколого-генетические основы конструирования высокоэффективных азотфиксирующих микробно-растительных систем // *Эколог. генетика.* 2019. Т. 17. № 1. С. 11–18.
<https://doi.org/10.17816/ecogen17111-18>
66. Kneip C., Lockhart P., Voss C., Maier U.G. Nitrogen fixation in eukaryotes – new models for symbiosis // *BMC Evol. Biol.* 2007. 7: 55.
<https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-55>
67. Nakagawa S., Takai K. Deep-sea vent chemoautotrophs: diversity, biochemistry and ecological significance // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2008. V. 65. № 1. P. 1–14.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00502.x>

Symbiotic Models for Reconstruction of Organellogenesis

N. A. Provorov*

All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, St.-Petersburg, 196602 Russia

*e-mail: provorovnik@yandex.ru

Various groups of proteobacteria and cyanobacteria as well as unicellular algae capable of endosymbioses with eukaryotes, are addressed as the models for reconstruction of organellogenesis (transformation of symbiotic microbes into cellular organelles) as a major result of symbiogenesis – evolution based on formation of the integral systems of heredity by the tightly interacting partners. Organellogenesis includes the following transitions: facultative non-inherited intracellular symbionts → obligatory inherited endocytobionts → genome-containing organelles → genome-free organelles. We demonstrated that organellogenesis is accompanied by the loss of bacterial genetic individuality – the ability to maintain and express own genomes, including their complete elimination. Comparative analysis of various endosymbiotic bacteria groups showed that the major prerequisite for their transformation into organelles (primary organellogenesis) is a high genomic plasticity expressed at the early stages of organellogenesis, under the facultative or obligatory dependences on hosts. It is manifested as a directed change of genomic architectures (transitions of the unitary genome type to a multicomponent and to a reduced type) as well as in the export of functionally active genes into the non-related organisms. These properties are characteristic for α -proteobacteria and cyanobacteria – ancestors of mitochondria and plastids, but not for β - and γ -proteobacteria, Bacteroidetes and Firmicutes which, although include multiple endosymbiotic forms, have not been transformed into organelles. A convenient model for analyzing the secondary organellogenesis implemented by eukaryotic microorganisms is represented by dinoflagellates *Symbiodinium* (Alveolata) which: 1) harbor chloroplasts derived from red algae; 2) develop intracellular symbioses with invertebrates behaving as their plastids. Reconstruction of organellogenesis allows us to address the early stages of organic evolution including the trade-off between metabolism and heredity as well as between the RNA- or DNA-based genomes.

Keywords: organellogenesis, symbiogenesis, mitochondria and plastids, proteobacteria and cyanobacteria, unicellular algae, horizontal and endosymbiotic gene transfer, DNA- and RNA-based genomes.