

Печатная версия специального выпуска электронного журнала
Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Института биохимии и генетики

Уфимского научного центра Российской академии наук

наука XXI века



**III Всероссийская школа-конференция
молодых ученых Уфимского научного центра РАН
и Волго-Уральского региона
по физико-химической биологии и биотехнологии**

30 октября - 1 ноября 2012 г., Уфа



До недавнего времени считалось, что большинство бактерий, способных образовывать азотфиксирующий симбиоз с бобовыми растениями принадлежат к группе α -протеобактерий, среди которых наиболее изучены представители родов *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium* [1]. Но сравнительно недавно были обнаружены среди микросимбионтов бобовых и члены β -протеобактерий, к которым относятся представители родов *Burkholderia* [2], *Ralstonia* [3].

Для образования азотфиксирующего симбиоза между бобовыми растениями и ризобиями необходимо наличие у бактерий симбиотических генов (*sym* гены), включающих в себя *nod* гены, активирующие развитие клубеньков и *nif* гены, отвечающие за контроль азотфиксации. За счет своей локализации на мобильных генетических элементах (плазмиды, геномные острова), *sym* гены часто бывают вовлечены в процессы горизонтального переноса генов (ГПГ), что может привести к появлению штаммов клубеньковых бактерий с измененной хозяйской специфичностью [4].

Нами были проанализированы штаммы клубеньковых бактерий, выделенные из клубеньков эспарцета песчаного (*Onobrychis arenaria* (Kit. ex Willd.) DC.), произрастающего на территории Южного Урала.

С целью выявления филогенетического положения данных штаммов были секвенированы фрагменты гена 16S рННК, как наиболее используемого «гена домашнего хозяйства» при определении филогенетического положения бактерий. Было установлено, что штаммы, выделенные из клубеньков *O.*

arenaria филогенетически близки к роду *Cupriavidus* (*Ralstonia/Wautersia*).

Также нами был проведен поиск симбиотических генов для выяснения характера взаимоотношений макро- и микросимбионтов. В связи с этим были амплифицированы фрагменты общего для всех клубеньковых бактерий симбиотического гена *nodC*. Ввиду высокой вариабельности данного гена были подобраны несколько пар видоспецифичных праймеров к его последовательности. Было выявлено, что у всех образцов ПЦР-продукт нужного размера нарабатывается только при использовании праймеров, подобранных к гену *nodC*, *Mesorhizobium* spp.

Обнаруженный нами факт представляет несомненный интерес, поскольку род *Cupriavidus* относится к β -протеобактериям, которые на сегодняшний день были найдены исключительно среди микросимбионтов тропических бобовых, в то время как среди симбионтов бобовых Южного Урала они обнаружены не были.

1. Sprent J I. Nodulation in Legumes, 2001, London, Royal Botanical Gardens, Kew.
2. Vandamme P, Goris J, Chen WM, de Vos P, Willems A. *Burkholderia tuberum* sp. nov. and *Burkholderia phymatum* sp. nov. nodulate the roots of tropical legumes // Syst. Appl. Microbiol. 2002. V. 25. P. 507-512.
3. Chen WM, Laevens S, Lee TM, Coenye T, Vos PD, Mergeay M, Vandamme P. *Ralstonia taiwanensis* sp. nov., isolated from root nodules of *Mimosa* species and sputum of cystic fibrosis patient // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2001. V. 51. P. 1729 – 1735. Gonzalez V., Bustos P., Ramirez-Romero M. A. et al. // Genome Biology. -2003.V. 4, N6. P. 36

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ И ФЕНОТИПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНОФОНДА ПОПУЛЯЦИИ *Apis mellifera* L. В КИРОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Ильясов Р.А., Поскрывков А.В., Николенко А.Г.,

Брандорф А.З.*, Ивойлова М.М.*

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН

*ГНУ НИИСХ Северо-Востока Россельхозакадемии, г. Киров

apismell@hotmail.com, * gordenchuk@mail.ru

Интродукции медоносных пчёл из отдалённых регионов началась более ста лет назад, с переходом от колодного к рамочному содержанию пчелиных семей. Согласно неко-

торых исследований, на территории Кировской области количество пчелиных семей среднерусской расы сохранилось не более 8% (ссылка). Данная ситуация является результа-

том массовой пропаганды и интродукции на территорию области пчелиных маток и пакетов карпатской (*A. m. carpatica*), серой горной кавказской (*A. m. caucasica* Gorb.), а в некоторые годы краинской (*A. m. carnica*), итальянской (*A. m. ligustica* Spin.) расы и даже дальневосточных пчёл.

Природно-климатические условия Кировской области являются оптимальными для содержания и разведения пчелиных семей среднерусской расы (*Apis mellifera mellifera* L.). Вследствие систематической интродукции пчёл различного происхождения образовались их гибриды, что способствовало утрате местными пчёлами некоторых адаптаций. В настоящее время у пчелиных семей Кировской области наблюдается снижение зимостойкости, гибель пчелиных семей на некоторых пасеках составляет 25-30%, иногда достигает 80%. Наличие поноса внутри гнезда часто является нормой. Ярким примером, эффективности использования особенностей медосборных условий, являются показания контрольного улья.

Аналогичная ситуация наблюдается в близлежащих регионах: Удмуртской Республике, Пермском крае, Коми-Пермяцком округе, Архангельской области и др., но несмотря на это, в данных регионах регистрируются семьи с признаками аборигенной пчелы, что доказательно подтверждается исследованиями Ильясова Р.А., Петухова А.В. (2007), Авдеева Н.В., Макаровой Н.Е. и др. (2009), Колбиной Л.М., Непейвода С.Н. и др. (2011) [1; 2; 3].

Морфобиологическую (фенотипическую) оценку проводили по 7 основным экстерьерным признакам, методом разработанным НИИ пчеловодства в 2006 году [4]. Одновременно учитывали окрас кутикулы и волосного покрова у рабочих особей по методике описанной Ф. Руттнером (2006) [5]. Всего обследовано в 4 районах Кировской области фенотипическим методом 1500 особей из 60 пчелиных семей, популяционно-генетическим 80 особей из 40 пчелиных семей.

Результаты популяционно-генетического анализа показали неоднородность происхождения исследуемых локальных популяций медоносной пчелы. Частота встречаемости ком-

бинации RQQ варьирует в пределах 0,5-1,0. Минимальная частота встречаемости комбинации RQQ, свойственная пчелам среднерусской расы, наблюдается в Даровской популяции, что свидетельствует о существенном влиянии других рас на её генофонд.

При рассмотрении Кировской популяции медоносной пчелы в целом, её можно отнести к гибридной, так как межгенный локус COI-COI мтДНК представленный лишь элементом Q встречается с частотой 0,3-0,5, что свидетельствует о происхождении пчелиных семей по материнской линии от нескольких рас. Пчелиные семьи Кильмезской и Орловской популяций по материнской линии происходят только от пчёл среднерусской расы.

Несмотря на то, что Кировская популяция медоносной пчелы по средним значениям частоты встречаемости комбинации RQQ и RQQQ, оказалась гибридной, на исследуемой территории обозначились ареалы локальных популяций среднерусской расы, которые представляют особый практический интерес для племенной работы в области пчеловодства.

Результаты морфологического обследования частично подтверждают данные молекулярно-генетического анализа Кильмезской, Даровской популяций. Неоднородные показатели получены в Орловской и Кирово-Чепецкой локальных популяциях, где по результатам морфометрического анализа стандарту среднерусской расы соответствует примерно на 30% меньше пчелиных семей.

Неоднородность результатов, полученных разными методами, можно обосновать случайностью и недостаточным объемом выборки при популяционно – генетическом анализе. Следует отметить, что при сравнительном анализе результатов популяционно – генетического анализа и данных распределения особей по окраске тергитов отмечено 100% совпадение в проявлении генотипической принадлежности медоносных пчёл. Полученные результаты могут предполагать положительную корреляцию фенотипической изменчивости в окрасе кутикулы пчёл и полиморфизма локусов ДНК.

В исследуемых локальных популяциях медоносных пчёл Кировской области наиболь-

тах 0,5-1,0.
ти комби-
реднерус-
ой популя-
ественном

популяции
но отнести
локус COI-
ь элемен-
,5, что сви-
елиных се-
льких рас.
Орловской
происходят

популяция
ачениям ча-
PQQ и
исследуемой
локальных
и, которые
кий интерес
и пчеловод-

обследова-
ные молеку-
ильмезской,
ые показав-
и Кирово-
где по ре-
ализа стан-
тствует при-
семей.

полученных
новать слу-
емом выбор-
ом анализе.
равнительном
но — генети-
еделения осо-
но 100% сов-
ческой при-
Полученные
положитель-
й изменчиво-
полиморфизма

популяциях ме-
сти наиболь-

шая генетическая отдаленность от других локальных популяций по генетическим расстояниям (по М. Nei, 1972), рассчитанная по результатам анализа частот аллелей локуса COI-

COII мтДНК и микросателлитных локусов ar243 и 4a110 яДНК обнаружена в Даровской популяции (рис.1).

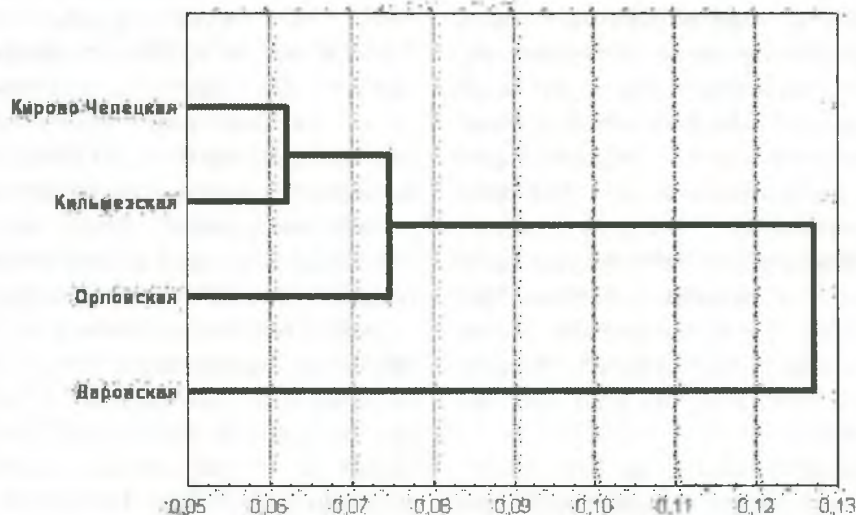


Рисунок 1. Дендограмма генетических отношений по результатам анализа локуса COI-COII мтДНК и микросателлитных локусов ar243 и 4a110 яДНК.

По результатам расчёта коэффициента дифференциации между популяциями, кроме Кильмезской, отмечены значения близкие к нулю, что свидетельствует о низком уровне генетической дифференциации популяций ($F_{st} = -0,154 - 0,057$). Только в Кильмезской локальной популяции данный показатель составил $F_{st} = 0,202$, при отрицательном коэффициенте инбридинга субпопуляций ($F_{it} = -0,149$), что является показателем аутбридинга, и может свидетельствовать об поддержании биоразнообразия на высоком уровне, в связи с чем, данную популяцию можно рассматривать как источник поддержания генетического разнообразия медоносных пчёл *A. m. mellifera* L.

1. Ильясов Р.А., Петухов А.В. полностью надо писать лучше Локальные популяции *A. mellifera mellifera* L. на Урале // Генетика, 2007.- том 43, № 6. - С. 855-858.
2. Авдеев Н.В., Макарова Н.Е., Петухов А.В. Выявление уровня «генетического загрязнения» по характеристикам жилкования крыла // Пчеловодство.- 2008.- № 7.- С.21-24.
3. Колбина Л.М., Непейвода С.Н. и др. Генетическая дифференциация популяций медоносных пчёл (*A. m. mellifera* L.) в Удмуртской Республике // Аграрная наука Евро-Северо-Востока.- 2001. - № 6.- С.46-50.
4. Методы проведения научно-исследовательских работ в пчеловодстве. - Рыбное: НИИП. - 2006. - 154с.
5. Ф. Руттнер Техника разведения и селекционный отбор пчёл.- М.: АСТ: Астрель.- 2006.- 166с.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ШТАММОВ *Bacillus subtilis* 10-4 И 12-2 НА РОСТОВЫЕ ПАРАМЕТРЫ ПШЕНИЦЫ

Ильясова Е.Ю., Ласточкина О.В., Широков А.В., Пусенкова Л.И.

Башкирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства Российской академии сельскохозяйственных наук, Уфа, L-basta@mail.ru

В связи с тем, что существующие методы повышения устойчивости растений к неблагоприятным факторам окружающей среды базируются в основном на применении

небезопасных синтетических пестицидов, растёт спрос на новые и более безопасные методы защиты. Многообещающей является разработка и применение эффективных и