



© Ан. Х. Баймиев¹, К. Г. Птицын¹,
А. А. Мулдашев², Ал. Х. Баймиев¹

¹ Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН

² Учреждение Российской академии наук Институт биологии Уфимского научного центра РАН

✿ Исследованы генетическое разнообразие и филогения клубеньковых бактерий, вступающих в симбиоз с 9 дикорастущими видами растений рода Чина *Lathyrus* L. (*Fabaceae*), произрастающими на территории Республики Башкортостан. Показано, что для данных растений характерно большое разнообразие вступающих с ними в симбиоз штаммов клубеньковых бактерий. Тем не менее выявлено, что большинство из них филогенетически близки к виду *Rhizobium leguminosarum*. Однако у некоторых видов растений обнаружены также клубеньковые бактерии, считавшиеся ранее несвойственными для данного рода бобовых. Так, у чины весенней и чины лесной обнаружены ризобии близкие к *R. tropici*, у чины болотной в клубеньках были обнаружены *Agrobacterium* sp., а у чины Гмелина все выделенные нами бактерии из клубеньков по последовательности генов 16S рРНК оказались близки к виду *Phyllobacterium myrsinacearum*.

✿ **Ключевые слова:** ризобия; клубеньковые бактерии; бобовые растения; *Lathyrus*; филогения; генетическое разнообразие.

Поступила в редакцию 13.10.2010
Принята к публикации 30.12.2010

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ БОБОВЫХ РОДА *LATHYRUS*, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

Симбиотические взаимоотношения бобовых растений и клубеньковых бактерий являются актуальной проблемой современной биологии и служат объектом интенсивных исследований различных специалистов в течение нескольких десятков лет. Решение этой проблемы важно как с научной, так и практической точек зрения и связано с необходимостью повышения симбиотического усвоения атмосферного азота хозяйственно значимыми бобовыми растениями.

Большинство хозяйственно значимых видов бобовых растений в умеренных широтах относятся к трибе виковых (*Vicieae* (Adans.) Bronn) (*Fabaceae*). Это такие, как горох посевной (*Pisum sativum* L.), вика посевная (*Vicia sativa* L.), чина посевная (*Lathyrus sativus* L.), чечевица пищевая (*Lens culinaris* Medik) и др. Представители трибы используются как зерновые, кормовые, декоративные, лекарственные и технические культуры. Род *Lathyrus* L. (чина) — самый большой род в трибе виковых *Vicieae*. Известно свыше 160 видов, растущих преимущественно в северном полушарии (Kupicha, 1983; Tsui, 1984; Asmussen, 1998). На территории Республики Башкортостан (РБ) произрастает 9 дикорастущих (*L. vernus* L. Bernh., *L. gmelinii* Fritsch, *L. tuberosus* L., *L. pratensis* L., *L. litvinovii* Iljin, *L. sylvestris* L., *L. pisiformis* L., *L. palustris* L., *L. palescens* (Bieb.) C. Koch) и 1 культурный вид чины (*L. sativus* L.) (Алексеев, 1989). На сегодня микросимбионты дикорастущих представителей рода чина, произрастающих в умеренном климате, ввиду их малой используемости в сельском хозяйстве и отсутствия экономической значимости остаются неописанными.

В рамках теории групп перекрестной инокуляции (ГПИ), в соответствии с которой виды бобовых разделяют на ряд групп, внутри которых растения могут свободно «обмениваться» микросимбионтами, род *Lathyrus* L. объединяется в одну группу с родами трибы виковых *Pisum* L. (горох), *Vicia* L. (горошек) и *Lens* Mill. (чечевица) и считается, что данная группа вступает в симбиоз с различными штаммами вида *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* (Проворов, 1992). Но в последнее время появляется все больше данных, что специфичность образования симбиоза чин не настолько строга и штаммами одного вида ризобий не ограничивается. Так, в северном Тяньшане был выделен штамм, являющийся микросимбионтом *L. numidicus* и классифицированный как *Phyllobacterium ifriqiense* (Mantelin et al., 2006). Более того, китайскими авторами среди микросимбионтов чин, произрастающих на территории Китая, были обнаружены бактерии, близкие к *R. fabae*, *R. tropici* и даже *Sinorhizobium morelense* (Sui et al., 2009).

Целью данной работы было исследование клубеньковых бактерий всех дикорастущих представителей рода *Lathyrus* L., произрастающих на территории РБ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клубеньки собирали с корней растений чин, произрастающих в различных районах РБ до начала цветения. Бактерии из клубеньков выделяли следующим образом. Поверхность клубеньков последовательно стерилизовали 2 мин в 70%-

ном растворе этилового спирта и 2 мин в растворе 10 % гипохлорита натрия. Затем клубеньки многократно отмывали стерильной водопроводной водой. Стерильными иглами от одноразовых шприцев на 5 мл снимали кожу с дистальной части клубенька. Затем другой стерильной иглой делали соскоб содержимого клубенька и высевали на твердую питательную среду TY (0,1 % дрожжевой экстракт, 1 % бacto-триптон, 0,1 % CaCl₂, 1,5 % агар).

ДНК из бактерий выделяли лизированием клеток в 1 % Triton X100 и 1 % суспензии Chelex100. Для этого в 1,5 мл пробирки со 100 мкл 1 % Triton X100 и 1 % суспензии Chelex100 помещали небольшое количество бактериальной массы и после суспензирования инкубировали при температуре 95°C 10 мин. Клеточный дебрис осаждали центрифугированием при 12000g в течение 3 мин. Надосадочную жидкость брали в качестве матрицы для ПЦР.

ПЦР проводили на амплификаторах MC2 «Термик» компании «ДНК-технология» (Россия) и «T1 Thermocycler» фирмы «Biometra» (Германия) с использованием стандартных наборов для амплификации ДНК.

Генетическое разнообразие собранных штаммов исследовали с помощью RAPD-анализа (Random Amplified Polymorphic DNA) (Williams et al., 1990) с использованием следующих «случайных» праймеров:

1. 5'-gggcgcgtg-3'
2. 5'-caggeccatc-3'
3. 5'-gcgtccattc-3'
4. 5'-acgggtggacg-3'

Для оценки генотипического разнообразия штаммов использовали нормализованный коэффициент Шеннона: $H_s = -\sum g_i * \ln(g_i) / \ln N$, где g_i — частота i -го генотипа, а N — объем выборки (Śliwka et al., 2006).

ПЦР-ПДРФ-анализ (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) (Laguette et al., 1996) гена *16S* рРНК проводили с использованием мелкощепящих эндонуклеаз рестрикции *Kzo91* и *HaeIII*. Для амплификации гена *16S* рРНК были использованы праймеры Y1 (5'-tggtcagaacgaacgctggcggc-3') (Young et al., 1991) и Y3 (5'-tacctgtgtacgacttcacccagtc-3') (Brosius et al., 1981), фланкирующие фрагмент гена размером около 1400 п.н.

Филогенетический анализ исследуемых штаммов проводили на основании данных множественного выравнивания секвенированных фрагментов генов *16S* рРНК, также амплифицированных с использованием праймеров Y1 и Y3. Определение нуклеотидных последовательностей проводили на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 310 фирмы «Applied Biosystems, Inc.» (США) с помощью наборов «Big Dye Terminator v.3.1».

Компьютерный анализ нуклеотидных последовательностей проводили с помощью пакета компьютерных программ «Lasergene» фирмы «DNASTAR, Inc.» (США).

Поиск сходных последовательностей в базе данных генов GenBank проводили с помощью программы «Megablast», доступной на вебсайте NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) и с использованием базы данных RDP (<http://rdp.cme.msu.edu>).

Кислотность почвы определяли в вытяжке 1 н. KCl. Соотношение почва:раствор использовали 1:2,5 (на 10 г почвы 25 мл раствора) (Практикум по почвоведению, 1973).

Нуклеотидные последовательности генов *16S* рРНК исследованных штаммов депонированы в Международном банке данных нуклеотидных последовательностей под номерами: HQ218429, HQ218430, HQ218431, HQ218432, HQ218433, HQ218434, HQ218435, HQ218436, HQ218437, HQ218438, HQ218439, HQ218440, HQ218441, HQ218442, HQ218443, HQ218444, HQ380015, HQ380016, HQ380017

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С целью исследования филогении и генетического разнообразия клубеньковых бактерий, образующих клубеньки на корнях произрастающих на территории РБ дикорастущих бобовых растений рода *Lathyrus* L. (чина), были выделены чистые культуры клубеньковых бактерий из клубеньков чины весенней *L. vernus* L. Bernh. — 159 штаммов, чины лесной *L. sylvestris* L. — 78 штаммов, чины Литвинова *L. litvinovii* Iljin — 38 штаммов, чины Гмелина *L. gmelinii* Fritsch — 5 штаммов, чины бледноватой *L. palescens* (Bieb.) C. Koch — 77 штаммов, чины клубненосной *L. tuberosus* L. — 49 штаммов, чины болотной *L. palustris* L. — 52 штамма, чины гороховидной *L. pisiformis* L. — 51 штамм и чины луговой *L. pratensis* L. — 19 штаммов. Гетерогенность собранных штаммов исследовали с помощью RAPD-анализа с применением нескольких «произвольных» олигонуклеотидных праймеров. Было обнаружено, что клубеньковые бактерии всех взятых в анализ растений отличаются разной степенью полиморфности ДНК. В наших исследованиях наиболее гетерогенными оказались микросимбионты чины клубненосной, где индекс разнообразия Шеннона составил 0,84. Менее разнородными оказались микросимбионты чины болотной и чины Литвинова, где данные индексы были равными 0,39 и 0,36 соответственно (табл. 1).

В дальнейшем в работу брали только по одному образцу из каждой гомогенной группы, поскольку полное совпадение RAPD-профилей по нескольким произвольным праймерам предполагает идентичность штаммов. С целью исследования филогении исследуемых клубеньковых бактерий был проведен ПДРФ-анализ гена *16S* рРНК с использованием мелкощепящих рестриктаз *Kzo91* и *HaeIII*. Было выявлено, что, несмотря на высокую гетерогенность штаммов бактерий образующие клубеньки у одного вида растения, по ПДРФ-профилю гена *16S* рРНК они достаточно однородны (табл. 1).

Для определения филогенетического положения исследуемых штаммов клубеньковых бактерий были секвенированы нуклеотидные последовательности фрагментов генов *16S* рРНК размером примерно 1400 п. н. и проведен их сравнительный анализ с уже известными аналогичными последовательностями из базы данных

Таблица 1

Состав и генетическая характеристика клубеньковых бактерий из клубеньков растений рода *Lathyrus* L.

Вид растения-хозяина	Кол-во выделенных штаммов (А)	Количество гомогенных по RAPD групп штаммов (Б)	Индекс разнообразия Шеннона (Hs)	Количество групп штаммов, гомогенных по 16S-ПДРФ	Предполагаемый вид бактерий и их процентное содержание к общему количеству штаммов
<i>L. litvinovii</i>	63	20	0,36	1	<i>R. leguminosarum</i>
<i>L. palustris</i>	42	13	0,39	4	<i>R. leguminosarum</i> 79% <i>Agrobacterium</i> sp. 21%
<i>L. pallescens</i>	77	40	0,51	3	<i>R. leguminosarum</i>
<i>L. pisiformis</i>	51	42	0,80	4	<i>R. leguminosarum</i>
<i>L. vernus</i>	159	120	0,72	7	<i>R. tropici</i> 70%* <i>R. leguminosarum</i> 30%**
<i>L. sylvestris</i>	78	59	0,70	2	<i>R. tropici</i> 67%* <i>R. leguminosarum</i> 33%**
<i>L. tuberosus</i>	49	40	0,84	2	<i>R. leguminosarum</i>
<i>L. pratensis</i>	19	11	0,63	3	<i>R. leguminosarum</i>
<i>L. gmelinii</i>	5	—	—	2	<i>Phyllobacterium</i> sp.

* — > 98 % на кислых почвах; ** — 100 % на нейтральных почвах.

GenBank и RDP (<http://rdp.cme.msu.edu/>). Для проведения филогенетического анализа брали по два штамма из каждой гомогенной по 16S-ПДРФ группы.

Поиск сходных последовательностей в базе данных генов GenBank показал, что последовательности секвенированных фрагментов длиной примерно 1300–1400 п. н., у большинства исследованных микроорганизмов имеют высокое сходство с последовательностями генов 16S рПНК *Rhizobium leguminosarum* (>99,5 %). Но наряду с ними у некоторых растений обнаружены микросимбионты, близкие по последовательности генов 16S рПНК к другим видам бактерий. У чины весенней и чины лесной были обнаружены ризобии, близкие (99,7 %) к *R. tropici*, у чины болотной в клубеньках обнаружены бактерии, близкие (98,2 %) к *Agrobacterium albertimagni*, а у чины Гмелина — *Phyllobacterium myrsinacearum* (99,9 %). (рис. 1).

В эволюционном плане триба виковых считается наиболее специализированной в семействе Fabaceae. Лианоподобная травянистая форма роста, которой обладают виковые, — вторичное усложнение, возникшее из древних деревянистых тропических лиан в процессе их продвижения в умеренные области, считается вершиной эволюции (Серебряков и др., 1962; Вишнякова и др., 2008). Эволюционное продвижение, в свою очередь, сопровождалось увеличением специфичности образования азотфиксирующего симбиоза и его азотфиксирующей активности (Парийская и др., 1979). Именно данное обстоятельство объясняет то, что «истинные» ГПИ состоят из эволюционно продвинутых бобовых умеренных широт. Для более примитивных тропических и субтропических бобовых деление на ГПИ нехарактерно, поскольку у многих из этих видов выявлена способность к симбиозу с генетически разнородными ризобиями, выделенными из неродственных бобовых (Тихонович и др., 2009). Большинство видов трибы виковых также принято объединять в одну ГПИ, члены которой вступают в симби-

оз с различными штаммами *R. leguminosarum* bv. *viciae*. (Проворов и др., 1992). Данные, полученные нами, в целом подтверждают такую теорию. Показано, что все представители рода чина (кроме чины Гмелина, у которой обнаружены в клубеньках только бактерии, близкие к *Phyllobacterium myrsinacearum*), произрастающие на территории РБ, вступают в симбиоз со штаммами клубеньковых бактерий, хотя и отличающихся высоким полиморфизмом ДНК, но филогенетически родственных *R. leguminosarum* (>99,5 % сходства по последовательности гена 16S рПНК). Принадлежность к биоварам достоверно определить не удалось, поскольку разница нуклеотидных последовательностей генов 16S рПНК типовых штаммов обоих биоваров не превышает 0,5 %. Что касается высокой полиморфности ДНК штаммов, то ранее нами было показано, что, например, таковая клубеньковых бактерий, образующих клубеньки у чины весенней, в основном связана с различием плазмидного состава (Баймиев и др., 2011). С большой долей уверенности можно предположить, что гетерогенность ДНК других исследованных нами бактерий вызвана теми же причинами.

Однако наряду с этим среди микросимбионтов некоторых исследованных видов чин были обнаружены отличные от *R. leguminosarum* клубеньковые бактерии. Получается, что, как показывают данные, полученные нами, а также и другими авторами (Mantelin et al., 2006; Sui et al., 2009), границы ГПИ не столь строги и растения данной группы в некоторых исключительных случаях могут вступать в симбиоз с нехарактерными для них клубеньковыми бактериями. Такие исключительные случаи возникают, скорее всего, в ходе адаптации растений к определенным условиям произрастания. В пользу этого говорит и тот факт, что «артефактные» штаммы нами были обнаружены не во всех участках сбора. Зависимость бобовых растений от клубеньковых бактерий очень велика, поскольку они снабжают растение азотом. И в связи с этим бобовые растения произрастают успешно только в тех

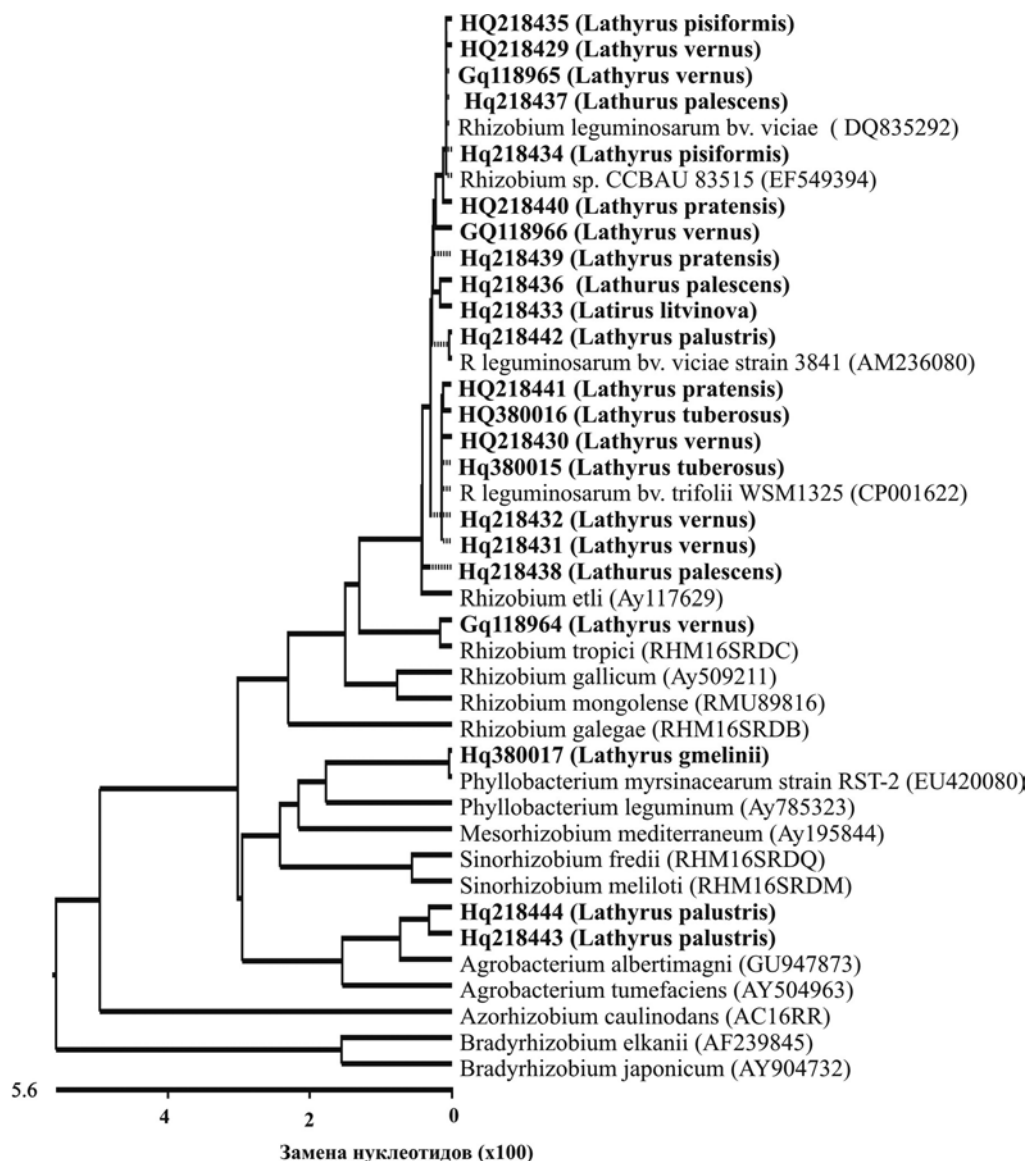


Рис. 1. Дендрограмма нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК бактерий семейства *Rhizobiaceae*, построенная с помощью программы MegAlign пакета Lasergene (DNASTAR, США). На горизонтальной оси приведено количество замен нуклеотидов на 100 оснований

местах, где в почве присутствуют подходящие клубеньковые бактерии. Но в некоторых случаях растениям, вероятно, приходится выбирать симбионтов среди несвойственных им в обычных условиях клубеньковых бактерий ввиду отсутствия «родных» микросимбионтов в данной почве или потерей ими нодулирующей активности. Горизонтальный перенос генов между ризобиями постоянно поставляет для этого выбора материал в виде различных рекомбинантов, среди которых встречаются и межвидовые, при котором образуются штаммы, способные вступать в симбиоз с данным видом растений и имеющие конкурентоспособные, в определенных условиях, свойства (Sullivan and Ronson, 1998).

Например, *R. tropici* в клубеньках чины весенней и чины лесной обнаружены нами только у растений, произрастающих на кислой почве (pH 4,3-5,0). Различными ав-

торами было показано, что у *R. tropici* эффективность клубенькообразования в кислой среде увеличивается, тогда как у *R. leguminosarum* кислая среда, наоборот, подавляет данное свойство (Martínez-Romero et al., 1991; Muglia et al., 2007). Нами была обнаружена высокая гомология некоторых симбиотических генов данных бактерий с аналогичными генами *R. leguminosarum bv. viciae* (данные не представлены), которые они могли приобрести вследствие горизонтального переноса. Вероятно, именно это сделало штаммы *R. tropici* способными вступать в симбиоз с растениями чины и выдерживать конкуренцию в условиях кислых почв со специфичными для данных растений бактериями *R. leguminosarum bv. viciae*.

Есть вероятность, что штаммы *Agrobacterium sp.*, обнаруженные в клубеньках чины болотной, также могут об-

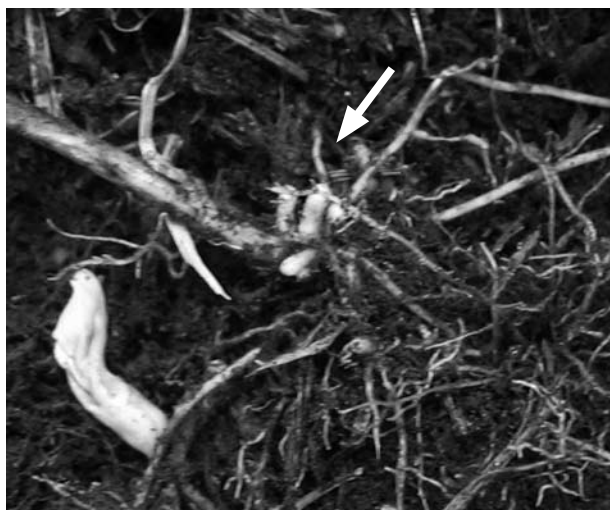


Рис. 2. Клубеньки (показаны стрелкой) чины болотной *L. palustris* L.

ладать симбиотическими свойствами, возникшими вследствие горизонтального переноса *sym* генов (Martinez et al., 1987). К тому же примечательным является тот факт, что в отличие от остальных представителей этого рода в сильно заболоченных участках у чины болотной образуются только воздушные клубеньки в районе корневой шейки (рис. 2), в том участке растений, где обычно патогенные штаммы *Agrobacterium* образуют опухоловое образование, называемое корончатым галлом.

Отдельного внимания требует исследование микросимбионтов чины Гмелина. Данное растение само по себе необычное. Чина Гмелина (*L. gmelinii* Fritsch) — реликт ледникового периода. Встречается на кислых почвах, довольно богатых минеральными веществами, особенно азотом, что само по себе является нехарактерным для растений, входящих в ГПИ виковых, поскольку клубеньковые бактерии *R. leguminosarum* bv. *viciae*, с которыми они обычно вступают в симбиоз, в кислых почвах теряют свою вирулентность. И тот факт, что у чины Гмелина в клубеньках нами были обнаружены бактерии, близкие по последовательности РНК малой субъединицы к *Phyllobacterium myrsinacearum*, является весьма интересным и требует дальнейшего, более подробного исследования с большей выборкой штаммов.

Таким образом, для дикорастущих растений рода *Lathyrus* L. (Чина) в почвенно-климатических условиях Республики Башкортостан характерно большое генетическое разнообразие вступающих с ними в симбиоз штаммов клубеньковых бактерий. Но, тем не менее, филогенетический анализ на основе сравнения последовательностей генов 16S рРНК показывает, что большинство исследованных штаммов филогенетически родственны и относятся, как и предполагалось, к виду *R. leguminosarum*, а гетерогенность вызвана, скорее всего, различиями в наборе плазмид, входящих в состав их генома (Баймиев и др., 2010). Кроме того, у некоторых видов растений обнаруживаются также клубеньковые бактерии, считавшиеся ранее несвойствен-

ными данному роду бобовых. Так, у чины весенней и чины лесной обнаружены ризобии, близкие к *R. tropici*, у чины болотной в клубеньках обнаружены бактерии, близкие *Agrobacterium* sp., а у чины Гмелина все выделенные нами бактерии по последовательности генов 16S рРНК оказались близки к виду *Phyllobacterium myrsinacearum*. Эти данные увеличивают известный спектр микросимбионтов бобовых растений рода *Lathyrus* L. (Чина) и полезны для понимания становления азотфиксирующего симбиоза.

Литература

1. Алексеев Ю. Е., Галева А. Х., Губанов И. А. и др., 1989. Определитель высших растений Башкирской АССР. М.: Наука, 375 с.
2. Баймиев Ан. Х., Птицын К. Г., Благова Д. К. и др., 2011. Генетическое разнообразие и филогения клубеньковых бактерий, вступающих в симбиоз с чиней весенней *Lathyrus vernus* (L.) Bernh. // Микробиол. Т. 80, № 1. С. 96–100.
3. Вишнякова М. А., Бурляева М. О., Алпатьева Н. В., Чесноков Ю. В., 2008. RAPD анализ видового полиморфизма рода чина *Lathyrus* L. семейства *Fabaceae* Lindl // Вестник ВОГиС. Т. 12, № 4. С. 595–607.
4. Парийская А. Н., Клевенская И. Л., 1979. Распространение в природе и возможные пути эволюции азотфиксирующего симбиоза // Успехи микробиол. Т. 14. С. 124–147.
5. Практикум по почвоведению / Под ред. С. И. Кауричева М.: «Колос», 1973. 279 с.
6. Проворов Н. А., 1992. Взаимосвязь между таксономией бобовых и специфичностью их взаимодействия с клубеньковыми бактериями // Ботан. журн. Т. 77. № 8. С. 21–32.
7. Серебряков И. Г., Экологическая морфология растений. 1962. Жизненные формы покрытосеменных и хвойных. М.: Высш. шк., 387 с.
8. Тихонович И. А., Проворов Н. А., 2009. Симбиозы растений и микроорганизмов. С.-Пб.: Изд-во С.-Петербург. ун-та, 210 с.
9. Яковлев Г. П., 1991. Бобовые земного шара / Под ред. Ю. Л. Меницкий. Л.: Наука, 141 с.
10. Asmussen C., Liston A., 1998. Chloroplast DNA characters, phylogeny and classification of *Lathyrus* (*Fabaceae*) // American Journal of Botany Vol. 85. P. 387–401.
11. Brosius J., Dull T. J., Sleeter D. D., Noller H. F., 1981. Gene organization and primary structure of a ribosomal RNA operon from *Escherichia coli* // J. Mol. Biol. Vol. 148. P. 107–127.
12. Kupicha F. K., 1976. The infrageneric structure of *Vicia* // Notes from the Royal Botanic Garden. Vol. 34, N. 3. P. 287–326.
13. Kupicha F. K., 1983. The infrageneric structure of *Lathyrus* L. // Notes from the Royal Botanic Garden. Vol. 41, N. 2. P. 209–244.

14. Mantelin S., Saux M. F., Zakhia F. et al., 2006. Emended description of the genus *Phyllobacterium* and description of four novel species associated with plant roots: *Phyllobacterium bourgognense* sp. nov., *Phyllobacterium ifriqiyense* sp. nov., *Phyllobacterium leguminum* sp. nov. and *Phyllobacterium brassicearum* sp. nov. // Int J Syst Evol Microbiol. Vol. 56. P. 827–839.
15. Martínez E., Palacios R., Sánchez F., 1987. Nitrogen-fixing nodules induced by *Agrobacterium tumefaciens* harboring *Rhizobium phaseoli* plasmids // J Bacteriol. Vol. 169. N. 6. P. 2828–2834.
16. Martínez-Romero E., Segovia L., Mercante F. M. et al., 1991. *Rhizobium tropici*, a novel species nodulating *Phaseolus vulgaris* L. beans and *Leucaena* sp. trees // Int J Syst Bacteriol. Vol. 41. N. 3. P. 417–426.
17. Muglia C. I., Grasso D. H., Mario Aguilar O., 2007. *Rhizobium tropici* response to acidity involves activation of glutathione synthesis // Microbiology. Vol. 153. N. 4. P. 1286–1296.
18. Śliwka J., Sobkowiak S., Lebecka R. et al., 2006. Mat-ing type, virulence, aggressiveness and metalaxyl resistance of isolates of *Phytophthora infestans* in Poland // Potato Research. Vol. 49. P. 155–166.
19. Sui X. H., Han L. L., Wang E. T. et al., 2009. Novel as-sociations between rhizobial populations and legume species within the genera *Lathyrus* and *Oxytropis* grown in the temperate region of China // Sci China Ser C-Life Sci. Vol. 52. N. 2. P. 182–192.
20. Sullivan J. T., Ronson C. W., 1998. Evolution of rhizo-bia by acquisition of a 500-kb symbiosis island that in-tegrates into a phe-tRNA gene // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 95. P. 5145–5149.
21. Tsui H. P., 1984. Materiae ad Floram Lathyrorum Sinen-sium. Bulletin of Botanical Research Vol. 4. P. 36–60.
22. Williams J. G., Kubelik A. R., Livak K. J. et al. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers // Nucleic Acids Res. Vol. 18. N. 22. P. 6531–6535.
23. Young, J. P. W., Downer H. L., Eardly B. D., 1991. Phy-logeny of the phototrophic *Rhizobium* strain BTAi1 by poly-merase chain reaction-based sequencing of a 16S rRNA gene segment // J. Bacteriol. Vol. 173. P. 2271–2277.

GENETIC DESCRIPTION OF ROOT NODULE BACTERIA OF LATHYRUS SPECIES GROWING IN THE TERRITORY OF REPUBLIC BASHKORTOSTAN

Baymiev An. K., Ptitsyn K. G., Muldashev A. A., Baymiev Al. K.

✿ **SUMMARY:** The genetic diversity and phylogeny of rhizobia isolated from nodules of 9 wild-growing *Lathyrus* L. species (*Fabaceae*) growing in Republic Bashkortostan were studied. It is shown that for the given plants is characteristic that the big variety of heterogeneous strains of root nodule bacteria. Nevertheless, it is revealed that the majority of them in phylogenetics are closely related to *Rhizobium leguminosarum*. However, some plant species are found out also nodule bacteria which were considered earlier unusual for *Lathyrus*. So, *L. vernus* L. Bernh. and *L. sylvestris* L. are found out a root nodule bacteria close to *R. tropici*, *L. palustris* L. — *Agrobacterium* sp., and *L. gmelinii* Fritsch all isolated with us bacteria from root nodules by the sequence of genes of 16S pPHK have appeared are closely related to *Phyllobacterium myrsinacearum*.

✿ **KEY WORDS:** rhizobia; nodule bacteria; legumes; *Lathyrus*; phylogeny; genotypic diversity.

✿ Информация об авторах

Баймиев Андрей Ханифович — с. н. с., к. б. н., доцент.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, лаборатория молекулярной биологии и нанобиотехнологии.
450054, г. Уфа, пр. Октября, 71.
E-mail: baymiev@anrb.ru

Птицын Константин Георгиевич — аспирант.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, лаборатория молекулярной биологии и нанобиотехнологии.
450054, г. Уфа, пр. Октября, 71.
E-mail: konstantin157@yandex.ru

Мулдашев Альберт Акрамович — с. н. с., к. б. н.

Учреждение Российской академии наук Институт биологии Уфимского научного центра РАН, лаборатория геоботаники и охраны растительности.
450054, г. Уфа, пр. Октября, 69.
E-mail: vasmal@anrb.ru

Баймиев Алексей Ханифович — в. н. с., д. б. н., доцент.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, лаборатория молекулярной биологии и нанобиотехнологии.
450054, г. Уфа, пр. Октября, 71.
E-mail: baymiev@mail.ru

Baymiev An. K. — PhD, the senior lecturer

Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Scientific Center RAS.
Oktyabrya ave., 71, Ufa, 450 054
E-mail: baymiev@anrb.ru

Ptitsyn K. G. — aspirant.

Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Scientific Center RAS
Oktyabrya ave., 71, Ufa, 450 054
E-mail: konstantin157@yandex.ru

Muldashev A. A. — PhD.

Institute of Biology of Ufa Scientific Center RAS.
Oktyabrya ave., 69, Ufa, 450 054
E-mail: vasmal@anrb.ru

Baymiev Al. K. — PhD, doctor of biology, the senior lecturer

Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Scientific Center RAS
Oktyabrya ave., 71, Ufa, 450 054
E-mail: baymiev@mail.ru