

## ОЦЕНКА СИМБИОТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА НУТА И ШТАММОВ РОДА *MESORHIZOBIUM*

**Шевкунов Андрей Борисович**, инженер группы Альгобиотехнологии ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, E-mail: arhstd@yandex.ru

**Волобуева Ольга Гавриловна**, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева, E-mail: [ovolobueva@list.ru](mailto:ovolobueva@list.ru)

**Зотов Василий Сергеевич**, кандидат биологических наук, руководитель группы Альгобиотехнологии ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, E-mail: [algo.consortium@gmail.com](mailto:algo.consortium@gmail.com)

**Аннотация:** В статье анализируются исследования микробно-растительных взаимодействий нута и его симбионтов, позволяющие установить наиболее эффективные штаммы для использования с конкретными сортами растений нута

**Ключевые слова:** нут, штамм, микробно-растительные взаимодействия, симбиотический потенциал

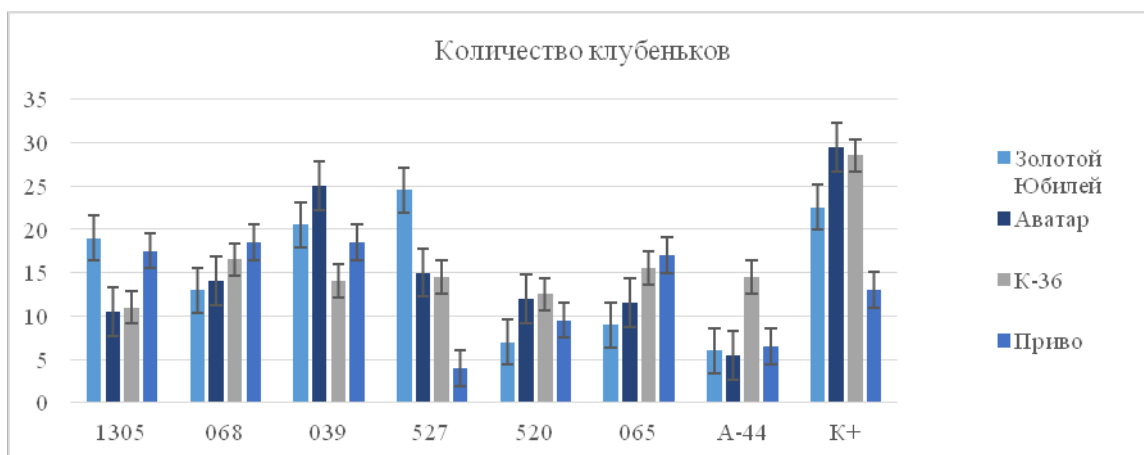
**Введение.** В современном сельском хозяйстве, функционирующем в условиях сокращения использования минеральных форм удобрений, большое внимание уделяется проблеме экологического земледелия и поиску новых источников с высокой способностью к фиксации атмосферного азота. Кроме этого, важным вопросом является сокращение использования токсичных для животных и человека химических пестицидов и введения в практику биологических средств защиты растений. Одним из способов решения данных проблем является применение микробных полифункциональных препаратов [3, 4]. Род *Mesorhizobium* образует клубеньки при инокуляции различных видов растений, в том числе нута. Как правило, бактериями-симбионтами нута являются бактерии вида *Mesorhizobium ciceri*. Нут, как значимая кормовая и пищевая бобовая культура, широко распространенная не только за рубежом, но и в России, представляет собой важный объект для изучения взаимодействий с потенциальными компонентами микробных биопрепаратов [5].

**Цель** – оценка симбиотического потенциала нута (*Cicer arietinum*) и штаммов его микросимбионтов (*Mesorhizobium sp.*).

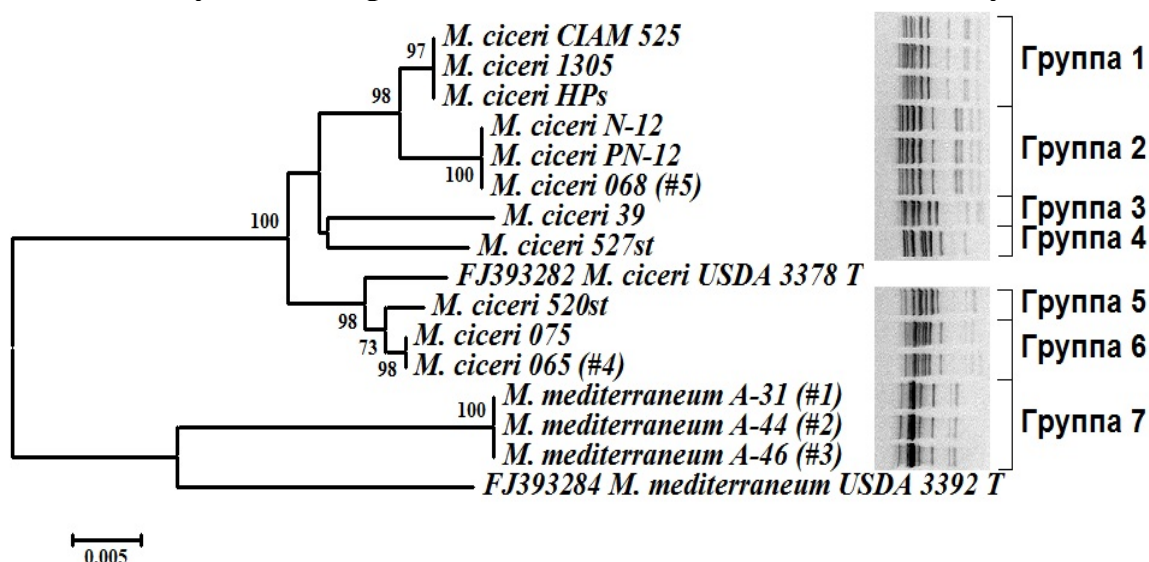
**Материалы и методы.** Объектами исследования были 7 материальных штаммов 1305, 068, 039, 527, 065, А-44, относящихся к роду *Mesorhizobium* и растения нута сортов Приво, Краснокутский-36, Бонус, Аватар, Золотой Юбилей. Растения выращивали в климатических камерах с искусственным освещением в пластиковых сосудах на стерильном вермикулите. В ходе

исследования проводили наблюдения за динамикой роста и развития растений, определяли нодулирующую способность, проводили учет количества клубеньков и осуществляли их подготовку к выделению ДНК, проводили проверочный электрофоретический анализ качества и количества ДНК, а также генотипирование клубенёк-образующих единиц (КЛОЕ) посредством анализа полиморфизма длин фрагментов saAFLP с применением эндонуклеазы рестрикции – *Xma*II.

**Результаты и их обсуждение.** Анализ данных по влиянию штаммов на образование клубеньков растений нута разных сортов показал, что количество клубеньков было наибольшим в вариантах при инокуляции нута сорта Золотой юбилей штаммами 1305, 039 и 527, нута сорта Аватар штаммом 039 и 520, нута сорта Краснокутский-36 штаммом 520, 065 и А-44, нута сорта Приво штаммом 1305, 068 и 065 (рис.1)



**Рисунок 1 – Сравнительная оценка количества клубеньков**



**Рисунок 2 - Дендрограмма, построенная на основе данных сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей гена *proB* и saAFLP анализа, проведенного с эндонуклеазой рестрикции *Xma*II, для штаммов видов *M. ciceri* и *M. mediterraneum*. \***

Посредством электрофореза в агарозном геле распределены сайты рестрикции эндонуклеаз и получены отпечатки (фингерпринты) нескольких генетических признаков, отражающих структуру генома и позволяющих осуществлять поиск вид-штамм-специфичных маркеров для дальнейшей идентификации бактерий. Принадлежность фингерпринтов клубенькообразующих единиц (КлОЕ) к тому или иному штамму устанавливалась на основе сравнения с представленными на рисунке 2 данными (рис. 2)

Выявлено, что штамм *M. ciceri* 039 преобладал в большинстве клубеньков на корнях растений всех исследуемых сортов.

**Заключение.** Проведенный вегетационный опыт с инокуляцией семян нута штаммами *Mesorhizobium sp.* позволил выявить наиболее эффективно взаимодействующие пары сорт-штамм.

1. По количеству клубеньков наилучшие результаты показали следующие варианты: нут сорта Золотой Юбилей при инокуляции штаммами 1305, 039 и 527; нут сорта Аватар при инокуляции штаммами 039 и 520; нут сорта Краснокутский-36 при инокуляции штаммами 520, 065 и А-44; нут сорта Приво при инокуляции штаммами 1305, 068 и 065. Анализ результатов опыта выявил некоторые особенности – так, у сорта Приво, при взаимодействии с отдельными штаммами, вероятно, наблюдается эффект антагонизма. У других сортов нута, в целом, наблюдаются высокие показатели по биомассе и количеству клубеньков в варианте К+, что свидетельствует о синергетическом эффекте при взаимодействии нескольких штаммов *Mesorhizobium sp.*

2. Генотипирование КлОЕ с помощью фингерпринтинга saAFLP позволило выявить наиболее конкурентоспособный штамм рода *Mesorhizobium* в условиях конкретного бобово-ризобияльного симбиоза.

3. Штамм *M. ciceri* 039 преобладает в большинстве клубеньков на корнях растений всех исследуемых сортов, что позволяет предлагать данный штамм (генотип) в качестве основы для биопрепарата для предпосевной обработки семян нута. Следует отметить, что помимо этого штамма, у растений сорта Аватар клубеньки были образованы также штаммом 068, а у сорта Золотой Юбилей – штаммом 527.

### Библиографический список

1. Акулов А. С., Беляева Ж. А. Сравнительная оценка различных сортов нута в зависимости от элементов технологии возделывания // Научно – производственный журнал «Зернобобовые и крупяные культуры» №4(20) – 2016 г. С. 51-55.
2. Баймиев Ан.Х., Гуменко Р.С., Владимирова А.А., и др. Искусственная активация экспрессии *nif*-генов у клубеньковых бактерий *ex planta* // Экологическая генетика. – 2019. – Т. 17. – № 2. – С. 35–42.
3. Волобуева О. Г. Роль биопрепаратов и регуляторов роста в повышении эффективности бобово-ризобияльного симбиоза // Сборник статей к Всероссийской конференции с международным участием «Современные

аспекты структурно-функциональной биологии растений: от молекул до экосистем. 2017. – С. 65-73.

4. Дидович С. В., Горгулько Т. В., Кулинич Р. А и др. Влияние полифункциональных биопрепаратов на микробиологические процессы в ризосфере и продуктивность бобовых культур // Вестник Уманского НУС №2. - 2014 г.. - стр. 14-18.

5. Дидович С. В., соавт. Экологически безопасная технология выращивания нута (методические рекомендации) // Симферополь. - Симферополь, 2013 г. - 36с.

## **EVALUATION OF SYMBIOTIC POTENTIAL OF CHICKPEA AND MESORHIZOBIUM GENUS STRAINS**

*Shevkunov Andrey Borisovich, engineer, group of algae biotechnology, Research center of biotechnology RAS, E-mail: arhstd@yandex.ru*

*Volobueva Olga Gavrilovna, candidate of biological Sciences, associate professor of department of microbiology and immunology, Moscow Timiryazev Agricultural Academy (RSAU-MTAA), E-mail: [ovolobueva@list.ru](mailto:ovolobueva@list.ru)*

*Zotov Vasily Sergeevich, candidate of biological Sciences, head of the group of algae biotechnology, Research center of biotechnology RAS E-mail: [algo.consortium@gmail.com](mailto:algo.consortium@gmail.com)*

**Abstract:** *The article analyzes the studies of microbial-plant interactions of chickpea and its symbionts, allowing to establish the most effective strains for usage with specific varieties of chickpea plants*

**Key words:** *chickpea, strain, microbial-plant interactions, symbiotic potential*