



© О. Ю. Штарк¹, Т. Н. Данилова¹, Т. С. Наумкина², А. Г. Васильчиков², В. К. Чеботарь¹, А. Е. Казаков¹, А. И. Жернаков¹, Т. А. Неманкин¹, Н. А. Прилепская³, А. Ю. Борисов¹, И. А. Тихонович¹

¹ – Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии (Санкт-Петербург, Пушкин, ш. Подбельского, д. 3)

² – Всероссийский научно-исследовательский институт зернобобовых и крупяных культур (г. Орел, п/о Стрелецкое, административное здание ВНИИЗБК)

³ – Орловский государственный аграрный университет (г. Орел, ул. Генерала Родина, д. 69)

Установлено, что двойная инокуляция грибами арбускулярной микоризы и клубеньковыми бактериями приводит к увеличению семенной продуктивности и массы сухого растения (выбранных как основные параметры для оценки эффективности тройного симбиоза) у большинства изученных генотипов гороха и может превышать эффект минеральных удобрений. Доказана целесообразность селекции бобовых на повышение симбиотического потенциала и выделены генотипы для включения в селекционные программы.

Ключевые слова: Горох посевной, *Pisum sativum* L., бобово-ризобиальный симбиоз, арбускулярная микориза, симбиотическая эффективность

Список сокращений

КБ — клубеньковые бактерии
АМ — арбускулярная микориза
ДИ — двойная инокуляция
МУ — полная доза минеральных удобрений ($N_{60}P_{60}K_{60}$)
СП — семенная продуктивность растения
МР — масса сухого растения

АНАЛИЗ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.) ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ СОРТОВ С ВЫСОКИМ СИМБИОТИЧЕСКИМ ПОТЕНЦИАЛОМ И ВЫБОР ПАРАМЕТРОВ ДЛЯ ЕГО ОЦЕНКИ

ВВЕДЕНИЕ

Значительное увеличение использования агрохимикатов в период с 1960 года по 2000 год в результате интенсификации сельскохозяйственного производства привело к значительному истощению естественного потенциала плодородия почв, ухудшению качества воды и воздуха, снижению качества определенных видов сельскохозяйственной продукции [23]. В связи с этим в настоящее время наблюдается изменение основной концепции сельского хозяйства от интенсивного к устойчивому, экологически-ориентированному. Одним из перспективных направлений современного земледелия является использование потенциала полезной почвенной микрофлоры. Симбиотические микроорганизмы играют важную роль в развитии растений, обеспечивая их минеральное питание, защиту от патогенов и вредителей, адаптацию к различным стрессам [8, 9].

Наиболее важное экологическое и практическое значение имеют эндосимбиотические системы: бобово-ризобиальный симбиоз и арбускулярная микориза (АМ). Симбиоз с клубеньковыми бактериями (КБ) родов *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Bradyrhizobium* и др. позволяет бобовым растениям развиваться в условиях дефицита связанного азота, тогда как взаимодействие с АМ грибами, фила *Glomeromycota* [21], обеспечивает ассимиляцию труднорастворимых фосфатов и других питательных элементов почвы. Инокуляция бобовых культур КБ приводит к существенному увеличению урожая (от 15 % до 60 %), а также к фиксации 40–450 кг азота на гектар за сезон [11]. Результатом широкого применения биопрепаратов на основе КБ является снижение применения азотных удобрений и аккумуляции нитратов растениями, почвой и водой. Микоризация ведет к улучшению роста растений, однако широкое использование этого симбиоза ограничено сложностью приготовления препаратов микоризных грибов. Бобово-ризобиальный и АМ симбиозы также предохраняют почвы от истощения и поддерживают биологическое разнообразие растительных сообществ [12, 16]. Эти два симбиоза сильно различаются по физиологии, морфологии и специфичности взаимодействия. Тем не менее у бобовых растений выявлена единая система развития этих симбиозов, которая имеет много общих элементов с системами защиты растений от патогенов и является основой растительно-микробного эволюционного континуума [8, 9]. Однако в литературе описано

всего лишь несколько примеров совместного действия КБ и АМ на рост и развитие бобовых растений [5, 19].

Несмотря на интенсивные исследования, генетический потенциал бобово-ризобиального и АМ симбиозов изучен недостаточно для непосредственного использования в сельском хозяйстве. В первую очередь, нужна дополнительная информация о полиморфизме всех симбиотических партнеров, необходимая для их координированной селекции. Во-вторых, необходима информация о балансе симбиотрофного/автотрофного азотного [7] и фосфорного питания у специально отобранных генотипов бобовых для определения возможного количества азотно-фосфорных удобрений, которое может быть заменено инокуляцией симбиотическими микроорганизмами. В-третьих, необходима разработка методологии создания тройной симбиотической системы в полевых условиях (методы инокуляции и обогащения местной почвенной полезной микрофлоры, данные о влиянии почвенных и климатических факторов на эффективность симбиотической и ассоциативной почвенной микрофлоры и т. д.). Для достижения этих целей необходимы адекватные модели, основанные на бобовых растениях (которые являются генетически намного более стабильными, чем микроорганизмы), способных формировать оба эндосимбиоза и имеющих важное практическое значение.

Горох посевной (*Pisum sativum* L.), благодаря своему значению для мирового растениеводства, занимает особое место среди сельскохозяйственных культур [13]. Кроме того, он является одним из лучших модельных растений для изучения тройного симбиоза. У *P. sativum* L. идентифицировано более 40 менделирующих симбиотических генов, контролирующих клубенькообразование, некоторые из них участвуют также в формировании и функционировании АМ [8]. Несмотря на литературные данные, свидетельствующие о низкой способности коммерческих сортов гороха формировать АМ [например, 17], при изучении 99 дикорастущих и мало окультуренных форм *P. sativum* L. различного географического происхождения был установлен высокий генетический полиморфизм по продуктивности биомассы и способности к симбиотрофному минеральному питанию за счет микоризации на фоне инокуляции клубеньковыми бактериями. Полученные данные подтверждают возможность создания новых сортов гороха с высоким потенциалом тройного симбиоза [10].

Целью данной работы являлась оценка исходного материала гороха посевного (*P. sativum* L.) для селекции сортов с высоким потенциалом тройного

симбиоза и выбор критериев для оценки эффективности симбиоза.

МЕТОДИКА

Растительный материал

Использовали дикорастущие генотипы и примитивные сорта гороха посевного из коллекции ВИР: к-925, к-1693, к-7128, к-8274 (высоко «отзывчивые» на внесение симбиотической почвенной микрофлоры) и к-3358, к-3064 (низко «отзывчивые») [3, 10], а также линии селекции ВНИИ зернобобовых и крупяных культур Скиф и Триумф. Линия Скиф была создана без учета его симбиотической эффективности. Линия Триумф получена в результате скрещивания генотипа к-8274 как донора признака симбиотической эффективности и сорта Classik, выбранного по показателям архитектоники растения, качества семян и продуктивности. Также в экспериментах был задействован селекционный материал Центра генетических исследований зернобобовых Департамента сельского хозяйства США при Вашингтонском университете (Franklin, Lifter, Fallon, Shawnee, PS610152, PS610324, PS710048, PS810191, PS810240, PS810765, PS7101044, PS7101047, PS7101149, PS9910029, PS9910134, PS9910135, PS9910140, PS9910188). Селекция генотипов из США велась без учета их симбиотического потенциала.

ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ И МЕТОДЫ ИНОКУЛЯЦИИ

Использовали штаммы КБ *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* CIAM 1022 и CIAM 1026 [20] из коллекции ГНУ ВНИИСХМ и изоляты грибов АМ: *Glomus intraradices* CIAM 7 (коллекция ГНУ ВНИИСХМ), *G. intraradices* CIAM 8 (коллекция ГНУ ВНИИСХМ; депонирован как BEG 144 в Европейском банке гломусовых грибов (BEG), г. Дижон, Франция), *G. fasciculatum* BEG 53 (BEG).

Исходный инокуляционный материал АМ производили в теплице в вегетационных сосудах емкостью 4,5 л с субстратом, характеристики которого приведены в работе [2]. В качестве накопительной культуры использовали сорго-суданский гибрид (*Sorghum* sp.). Растения инокулировали смесью изолятов микоризных грибов CIAM 7, CIAM 8 (BEG 144) и BEG 53. Под семена при посеве вносили инокуляционный материал, представляющий собой смесь корней, обрывков мицелия и спор, разбавленную почвой в 10 раз (плотность инокулята — около 500 инфекционных единиц на растение) и обеспечивающий формирование АМ с частотой встречаемости

(F %) в диапазоне 60–97 %. Через 90 дней вегетации смесь микоризованных корней растений с субстратом сушили при комнатной температуре, измельчали в мельнице марки Nossen 8255 (VEB Maschinen Anlagenbau Nossen, Германия) до получения фракции 0,05–0,20 мм.

Промышленное производство инокулюма арбускулярной микоризы производили на отвалах фильтрационно-моечного осадка с сахарного завода пос. Сотницыно Сасовского района Рязанской области возрастом 20 лет со следующими агрохимическими характеристиками: $pH_{\text{сол}}$ 8,0, содержание органического вещества 4,5 %, биологически доступного фосфора по Кирсанову 1,4 мг/100 г, K_2O по Масловой 63,2 мг; Ca^{2+} 8,4 мг-экв/100 г, общего азота 0,26 %. В качестве накопительной культуры использовали *Sorghum sp.* Исходный инокулюм АМ наносили на семена в виде оболочки. По окончании вегетационного периода снимали слой фильтрационного осадка, содержащий корни растений, толщиной 20 см, сушили и измельчали в мельнице (см. выше).

Для покрытия оболочкой семян *Sorghum sp.* использовали смесь следующего состава (весовые %): исходный инокуляционный материал АМ — 65, вода — 20, клей ПВА (ГОСТ 18992-80) — 15. Семена гороха покрывали препаратом БисолбиМикс, приготовленным по следующей рецептуре (весовые %): исходный инокуляционный материал АМ — 65, водная суспензия КБ с титром 10^{7-8} КОЕ/мл (штамм СИАМ 1026) — 20, клей ПВА — 15.

В 2002, 2004 годах семена перед посевом замачивали в жидкой культуре КБ (штамм СИАМ 1022, 10^6-10^7 клеток/мл). Инокулюм АМ вносили в борозды перед посевом в форме порошка в количестве 2,3 г на семя. В 2002 году использовали исходный инокуляционный материал АМ, в 2004 году — промышленный инокулюм. В экспериментах 2003 года использовали препарат БисолбиМикс в форме оболочки семян.

УСЛОВИЯ ПРОВЕДЕНИЯ ПОЛЕВЫХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

Исследования проводили на полях ВНИИ зернобобовых и крупяных культур (Орловская область). Характерной особенностью области является достаточная обеспеченность сельскохозяйственных культур теплом и влагой. В годы проведения исследований погодные условия были различными. В 2002 году посев производился при благоприятных условиях для развития бобовых культур. В дальнейшем на протяжении всего вегетационного периода температура воздуха превышала среднюю многолетнюю, в верхних слоях

почвы влаги было недостаточно для нормального роста сельскохозяйственных растений. В 2003 году посев проходил при благоприятных погодных условиях, но в третьей декаде мая недостаток влаги в верхнем слое почвы ухудшил условия роста и развития растений. В дальнейшем период вегетации в основном сопровождался обильным выпадением осадков и температурой, соответствующей или несколько превышающей среднюю многолетнюю данного месяца. В 2004 году май и июнь характеризовались низкими температурами воздуха и небольшим по сравнению со средними многолетними показателями количеством осадков, что замедлило развитие растений гороха. Июль был холодным, а количество выпавших осадков в 2,5 раза превысило норму. Август отличался жаркой и сухой погодой.

Растения гороха выращивали на делянках площадью $3 м^2$ площадь питания составляла $5 г 15 см^2$ /растение. Почва — темно-серая лесная среднесуглинистая, $pH_{\text{сол}}$ 5,3–6,0, содержание гумуса в пахотном горизонте 3,3–5,5 %, биологически доступного фосфора по Кирсанову 9,2–11,0 мг/100 г, K_2O по Масловой 4,0–7,8 мг, легкогидролизуемого азота 6,5–7,8 мг; сумма поглощенных оснований 21,0–26,5 мг-экв/100 г, степень насыщенности основаниями 7,6–9,4 %. В вариантах с полной дозой минерального питания ($N_{60}P_{60}K_{60}$) в почву вносили минеральное удобрение Нитрофоска ($N_{16}P_{16}K_{16}$, ГОСТ 11365-75) в количестве 105 г на делянку.

АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

Для структурного анализа в фазе созревания семян отбирали по 25 растений от каждой из двух повторностей. Для оценки изменения массы сухого растения, семенной продуктивности и содержания белка в семенах рассчитывали относительные прибавки (%): $100(X_o - X_k)/X_k$, где X_o — значения параметров в варианте с обработкой, X_k — то же в контрольном варианте (без обработки). Нитрогеназную активность клубеньков (мкг азота/растение/час) определяли с использованием метода ацетиленовой редукции [15]. Оценку микоризной инфекции проводили по методике [22]. Использовали следующие параметры: интенсивность развития микоризной инфекции, пересчитанная на 1 см корня (M , %) и обилие арбускул в микоризованной части корня (a , %).

СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДАННЫХ

Для обработки полученных данных использовали программу “SigmaStat” для Windows, версия 2.03 (SPSS Inc, США). Оценку достоверности различий между вариантами опытов производили

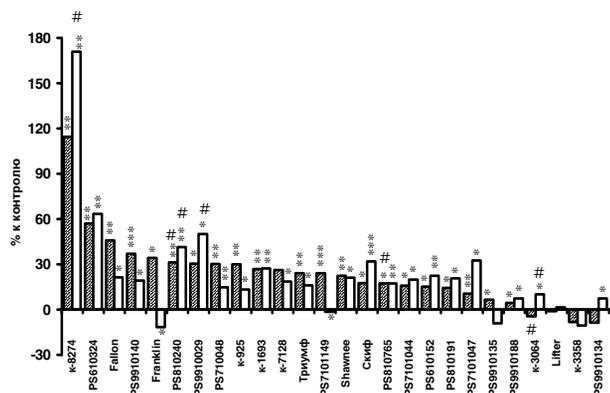


Рис. 1. Изменение семенной продуктивности (СП) гороха (% к контролю) при двойной инокуляции (ДИ) КБ и комплексом грибов АМ (первый столбик) и применении полной дозы минеральных удобрений $N_{60}P_{60}K_{60}$ (МУ) (второй столбик) в полевых условиях 2002-2004 годы.; достоверные прибавки СП ($P = 0,95$): * - только в один год полевых испытаний, ** - два года, *** - три года, # - нет данных 2004 года

с использованием t-критерия Стьюдента. Для определения зависимости между оцениваемыми параметрами вычисляли классический коэффициент корреляции Пирсона. При расчете коэффициентов корреляции в случае параметров, характеризующих развитие растений (масса сухого растения, семенная продуктивность, содержание белка в семенах), использовали относительные прибавки: $(X_o - X_k)/X_k$, где X_k, X_o — см. выше. В случае параметров развития симбиотических систем (количество клубеньков на растении, нитрогеназная активность клубеньков, интенсивность развития микоризной инфекции, обилие арбускул в микоризованной части корня) использовали абсолютное различие: $X_o - X_k$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Динамика развития растений

В ходе полевых испытаний в период с 2002 по 2004 годы было отмечено, что в варианте с двойной инокуляцией (ДИ) КБ и грибами АМ всходы гороха появлялись на 2–3 суток раньше, чем в других вариантах и отличались более темной окраской листьев. Продолжительность вегетационного периода гороха в варианте с ДИ была в среднем на 3 суток дольше, чем в контрольном.

РЕЗУЛЬТАТЫ СТРУКТУРНОГО АНАЛИЗА РАСТЕНИЙ

На рис. 1–2 представлены средние данные полевых испытаний трех лет. Установлено, что у большинства

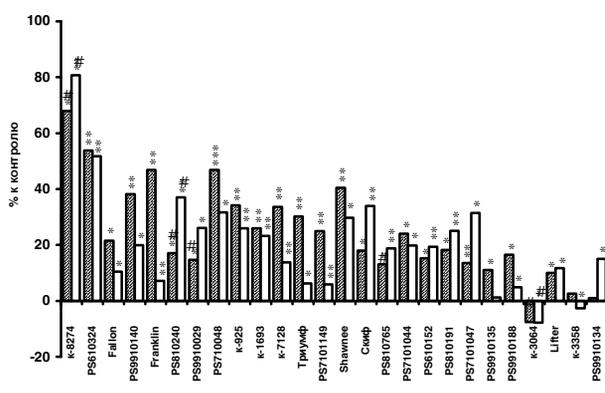


Рис. 2. Изменение массы сухого растения (МР) гороха (% к контролю) при двойной инокуляции (ДИ) КБ и комплексом грибов АМ (первый столбик) и применении полной дозы минеральных удобрений $N_{60}P_{60}K_{60}$ (МУ) (второй столбик) в полевых условиях 2002-2004 годы.; достоверные прибавки МР ($P = 0,95$): * - только в один год полевых испытаний, ** - два года, *** - три года; # - нет данных 2004 года

изученных генотипов гороха в результате ДИ повышались семенная продуктивность (СП) и масса сухого растения (МР), по сравнению с контролем. В то же время было выявлено, что действие симбиотической микрофлоры на СП растений может быть как негативным по сравнению с контролем без инокуляции (например, PS9910134), так и превышать эффект полной дозы минеральных удобрений (МУ) (Franklin, PS7101149) (рис. 1). Генотип k-8274 в 2002 году и 2003 году демонстрировал достоверно высокие прибавки СП (67,1 и 156,3 %, соответственно). Достоверные прибавки СП при ДИ в течение трех лет показывали: PS9910140 (16,8–73,0 %) и PS7101149 (18,1–34,7 %). В среднем по всем генотипам ДИ повышала СП в 2002 году на 15,5 %, в 2003 году — на 22,1 % и в 2004 году — на 32,3 %. Влияние ДИ на МР растений часто было сравнимо с уровнем воздействия МУ, а иногда и превышало его (рис. 2). Стабильно в течение трех лет наблюдалось достоверное увеличение МР при ДИ у генотипов Franklin (19,2–70,4 %) и PS710048 (20,2–83,6 %). В среднем по всем генотипам в 2002 и 2003 годах. ДИ увеличивала МР на 14,2 % и 17,1 %, соответственно. Важно отметить, что в 2004 году, отличающемся плохими погодными условиями, средняя прибавка МР в результате ДИ составляла 47,5 % по отношению к контролю. Была обнаружена высокая корреляция между изменением МР и СП растений при двойной инокуляции по отношению к контролю: $r_{2002} = 0,92$ ($P = 0,00, N = 26$); $r_{2003} = 0,93$ ($P = 0,00, N = 26$); $r_{2004} = 0,76$ ($P = 0,00, N = 21$). Эффект МУ, оказываемый как на СП (рис. 1), так и МР (рис. 2), был крайне нестабильным. Так, в 2002 году наблюдался слабый эффект от

применения МУ, а в 2004 году его не было совсем. Прибавка СП в эти годы в среднем по всем генотипам составляла $12,4 \pm 4,02$ и $-2,2 \pm 5,3$ %, соответственно, а МР — $12,8 \pm 4,7$ и $-3,6 \pm 4,2$ %. В то время как в 2003 году применение МУ привело к достоверному повышению СП и МР у большинства генотипов в среднем на $46,8 \pm 11,4$ и $46,9 \pm 5,7$ %, соответственно.

СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКА В СЕМЕНАХ

В результате трехлетних исследований было показано, что, как правило, ДИ увеличивает содержание белка в семенах как у генотипов гороха, положительно реагирующих на ДИ (например, PS7101149, Shawnee, Скиф), так и у слабо «отзывчивых» (Lifter, PS9910134, PS9910135), в среднем до 2,8 %, по сравнению с контролем. Применение МУ в среднем за 2003–2004 годы привело к повышению содержания белка в семенах на $1,3 \pm 0,4$ %, а в 2002 году — к его снижению на $0,8 \pm 0,3$ %. У отдельных генотипов применение МУ привело в среднем за 3 года к значительному снижению содержания белка в семенах (в частности, до 5 % у к-1693).

ФОРМИРОВАНИЕ БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА

По данным 3 лет было установлено, что при ДИ на корнях исследуемых генотипов формируется значительно большее количество клубеньков ($27,2 \pm 3,2$), по сравнению с контролем без инокуляции ($5,2 \pm 0,4$), где клубеньки образовывались только за счет взаимодействия с резидентными КБ. В варианте с МУ количество клубеньков ($0,5 \pm 0,2$) было значительно ниже, чем в контроле. Достоверной корреляции между увеличением количества клубеньков и прибавкой СП (в варианте с ДИ) обнаружено не было: $r_{2002} = -0,05$ ($P = 0,79$, $N = 26$); $r_{2003} = 0,17$ ($P = 0,42$, $N = 26$); $r_{2004} = 0,16$ ($P = 0,50$, $N = 21$). Нитрогеназная активность клубеньков при ДИ увеличивалась в среднем на 18,3 %, а при внесении МУ, наоборот, снижалась на 48,7 %. В то же время достоверной корреляции между изменением нитрогеназной активности и прибавкой СП при ДИ не наблюдалось: $r_{2002} = 0,05$ ($P = 0,83$, $N = 26$); $r_{2003} = 0,17$ ($P = 0,41$, $N = 26$); $r_{2004} = -0,22$ ($P = 0,33$, $N = 21$).

ФОРМИРОВАНИЕ АМ СИМБИОЗА

Анализ полученных данных показал, что у большинства генотипов при ДИ имеет место тенденция уменьшения М, % (во многих случаях достоверного) по сравнению с контролем (например, Скиф, Shawnee, PS710048, PS810191) (рис. 3), однако достоверной

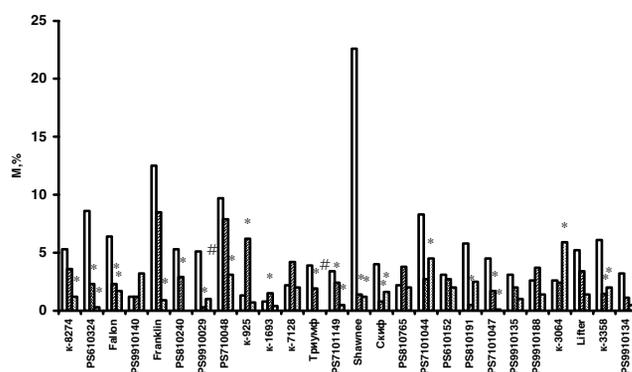


Рис. 3. Интенсивность развития микоризной инфекции (М, %) в корневой системе гороха в полевых условиях 2002 году; # - нет данных; * - значение статистически отличается от контроля ($P = 0,95$). Первый столбик - контроль, второй столбик - двойная инокуляция (ДИ), третий столбик - полная доза минеральных удобрений ($N_{60}P_{60}K_{60}$) (МУ)

отрицательной корреляции между изменением М, % и изменением СП не было выявлено: $r_{2002} = -0,04$ ($P = 0,86$, $N = 24$). У растений варианта с МУ М, % было также ниже по сравнению с контролем (например, Franklin, к-8274, Скиф) (рис. 3). У многих генотипов при ДИ возрастало а, %, однако недостоверно по сравнению с контролем без инокуляции. При этом изменение а, % достоверно не коррелировало с прибавкой СП растений: $r_{2002} = 0,26$ ($P = 0,22$, $N = 24$). В варианте с МУ арбускулы в корнях практически не обнаруживались.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В результате трехлетних полевых испытаний было показано, что применение ДИ КБ и грибами АМ с первых дней вегетации в целом положительно влияет на развитие растений гороха посевного. Интенсивная зеленая окраска листьев в результате ДИ свидетельствует о более высокой активности фотосинтеза, а длительный вегетационный период — о продолжительном накоплении биомассы. На основании данных структурного анализа 26 генотипов гороха различного происхождения, в среднем за 2002–2004 годы, можно заключить, что ДИ приводит к достоверному увеличению СП и МР по сравнению с контролем без обработки у большинства генотипов, и в некоторых случаях действует на уровне МУ. Инокуляция симбиотической почвенной микрофлорой положительно влияет на содержание белка

в семенах, несмотря на отсутствие повышения СП в некоторых случаях. Этот факт демонстрирует целесообразность применения коммерческих инокулянтов, содержащих грибы АМ и КБ, даже в случае возделывания сортов гороха, биомасса которых не увеличивается в результате ДИ. В пользу ДИ свидетельствует также отсутствие в отдельные годы положительного эффекта от внесения МУ, по-видимому, связанное с недостаточным, или наоборот, избыточным увлажнением почвенного покрова.

Для выбора критериев оценки симбиотической эффективности гороха посевного был проведен анализ параметров развития эндосимбиозов корневой системы. Установлено, что в результате ДИ количество клубеньков увеличивается более чем в 5 раз по сравнению с контролем, а интенсивность микоризации корней (М, %), напротив, снижается, что можно объяснить большей эффективностью интродуцированных эндомикоризных грибов в данной ассоциации по сравнению с резидентными. Это выражается в относительном увеличении биомассы растений большинства генотипов при более низких значениях М, %, а также — в относительном увеличении, хотя и недостоверном, численности арбускул, что свидетельствует о более высокой функциональной активности АМ. Снижение количества клубеньков на корнях растений в варианте с МУ по сравнению с контролем может указывать на переход к автотрофному питанию растений азотом в данных условиях [6, 7]. Аналогично, практически полное отсутствие арбускул в корнях при внесении МУ может свидетельствовать об отказе растений от симбиотрофного типа питания за счет АМ [6, 8]. Важно отметить отсутствие корреляции между увеличением продуктивности исследуемых генотипов гороха и такими параметрами, как «уровень микоризации корневой системы» и «количество клубеньков», что также было показано у различных других бобовых [1, 4, 5, 14, 18]. Это свидетельствует о том, что параметры развития корневых симбиозов бобовых растений не целесообразно использовать в качестве критериев для оценки эффективности тройной симбиотической системы.

Таким образом, в качестве параметров, характеризующих симбиотическую эффективность гороха, следует использовать изменения СП и МР в результате ДИ. Данные параметры имеют большое значение для сельскохозяйственного производства [3, 10], и наиболее «отзывчивы» на внесение симбиотической почвенной микрофлоры. В результате трехлетних полевых экспериментов было подтверждено, что горох посевной обладает высоким генетическим полиморфизмом по признаку симбиотической эффективности, то есть способности растений полноценно

развиваться за счет взаимодействия с симбиотической почвенной микрофлорой. На основании полученных данных были отобраны как симбиотически высокоэффективные генотипы (к-8274, PS610324, PS9910140, Franklin, PS810240, PS710048, к-925, к-1693, к-7128, PS7101149, Shawnee), так и низкоэффективные (PS9910135, PS9910188, к-3064, Lifter, к-3358, PS9910134). Генотипы PS9910140, PS7101149, Franklin и PS710048 рекомендованы в качестве стандартов для оценки симбиотической эффективности различных генотипов гороха как стабильно «отзывчивые» на ДИ. В результате данного исследования было сделано очень важное заключение, что среди современных сортов гороха могут быть выделены генотипы (например, PS710048, PS9910140, PS7101149, Shawnee) для дальнейшего включения в селекционные программы с целью создания новых сортов с высоким симбиотическим потенциалом, обладающих хозяйственно ценными признаками, которые контролируются рецессивными аллелями многочисленной группы генов. Ранее селекционеры ориентировались только на формы «местной селекции», которые по своей архитектонике зачастую не подходят для селекции сортов, отвечающих современным требованиям агротехники.

Таким образом, результаты проведенных экспериментов доказывают целесообразность селекции новых сортов бобовых с учетом симбиотического потенциала. В ходе исследований выявлены сорта гороха, выведенные без учета симбиотического потенциала, которые можно использовать в качестве исходного материала для создания новых коммерческих сортов с высокой симбиотической эффективностью.

Данная работа проведена при финансовой поддержке РФФИ (02-04-08025 инно, 04-04-48457-а, 06-04-89000-НВОЦ_а, 07-04-01171-а), CRDF (ST-012-0), программы НАТО-Россия (JSTC.RCLG.979133), Грант Евросоюза GLIP TTC (FP6-2002-FOOD-1-506223), Федерального агентства по науке и инновациям (НШ-1103.2003.04, НШ-9744.2006.04, госконтракты №№ 02.445.11.7492, 02.434.11.7122), NWO (047.117.2005.006).

Литература

1. Антипчук А. Ф., Садовников Ю. С., Скопинская Н. Н. Испытание клубеньковых бактерий сои в вегетационном опыте и использование некоторых математических методов для оценки значимости полученных результатов. // Микробиол. журн. — 1986. — Т. — 48, № 1. — С. 25–30.
2. Борисов А. Ю., Наумкина Т. С., Штарк О. Ю. и др. Эффективность использования совместной инокуляции гороха посевного грибами арбускулярной микоризы и клубеньковыми бактериями. // Докл. РАСХН. — 2004. — № 2. — С. 12–14.

3. Лабутова Н.М., Поляков А.И., Лях В.А. и др. Влияние инокуляции растений клубеньковыми бактериями и эндомикоризным грибом *Glomus intraradices* на урожай различных сортов сои и содержание белка и масла в семенах. // Докл. РАСХН. — 2004. — №2. — С. 10–12.
4. Проворов Н.А. Генетико-эволюционные основы учения о симбиозе. // Журн. общ. биол. — 2001. — Т.62, №6. — С. 472–495.
5. Проворов Н.А. Соотношение симбиотрофного и автотрофного питания азотом у бобовых растений: генетико-селекционные аспекты. // Физиология растений. — 1996. — Т. 43, № 1. — С. 127–135.
6. Проворов Н.А., Борисов А.Ю., Тихонович И.А. Сравнительная генетика и эволюционная морфология симбиозов растений с микробами-азотфиксаторами и эндомикоризными грибами. // Журн. общ. биол. — 2002. — Т. 63, № 6. — С. 451–472.
7. Тихонович И.А., Борисов А.Ю., Цыганов В.Е. и др. Интеграция генетических систем растений и микроорганизмов при симбиозе. // Успехи совр. биол. — 2005. — Т. 125, № 3. — С. 227–238.
8. Якоби Л.М., Кукалев А.С., Ушаков К.В. и др. Полиморфизм форм гороха посевного по эффективности симбиоза с эндомикоризным грибом *Glomus* sp. в условиях инокуляции ризобиями. // С.-х. биология. — 2000. — №3. — С. 94–102.
9. Bhatia C.R., Nichterlein K., Maluszynski M. Mutations affecting nodulation in grain legumes and their potential in sustainable cropping system. // Euphytica. — 2001. — Vol. 120. — P. 415–432.
10. Celik I., Ortas I., Kilic S. Effects of compost, mycorrhiza, manure and fertilizer on some physical properties of a Chromoxerert soil. // Soil and Tillage Research. — 2004. — № 78. — P. 59–67.
11. Davies D.R. The pea crop. // Peas: Genetics, Molecular Biology and Biotechnology / Casey R., Davies D.R., eds. Cab International, Wallingford, Oxon OX10, 8 DE, UK. 1993.
12. Gianinazzi S., Schpp H., Barea J.M. et al. Mycorrhizal technology in agriculture: from genes to bioproducts. Basel; Boston; Berlin: Birkhuser, 2002.
13. Hardy R.W.F., Holstein R., Jackson E., Burns R.S. C₂H₂—C₂H₄ assay for N₂ fixation: laboratory and field evaluation. // Plant Physiol. — 1968. — Vol. 43, suppl. — P. 9–13.
14. Heijden van der M.G.A., Klironomas J.N., Ursic M. et al. Mycorrhizal fungi diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. // Nature. — 1998. — Vol. 396. — P. 69–72.
15. Martensson A., Rydberg I. Variability among pea varieties for infection with arbuscular mycorrhizal fungi. // Swedish J. Agr. Res. — 1994. — Vol. 24. — P. 13–19.
16. Rai R., Singh S.N. Interaction between chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes and strains of *Rhizobium* spp. // J. Agr. Sci. 1979. — Vol. 92. — P. 437–444.
17. Requena N., Jimenes I., Toro M., Barea J.M. Interactions between plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR), arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium* spp. in the rhizosphere of *Anthyllis cytisoides*, a model legume for revegetation in the mediterranean and semi-arid ecosystems. // New Phytol. — 1997. — Vol. 136. — P. 667–677.
18. Safronova V.I., Novikova N.I. Comparison of two methods for root nodule bacteria preservation: Lyophilization and liquid nitrogenfreezing. // J. Microbiol. Methods. — 1996. — № 24. — P. 231–237.
19. Schryer A., Schwarzott D., Walker C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. // Mycol. Res. — 2001. — Vol. 105. — P. 1413–1297.
20. Trouvelot A., Kough J., Gianinazzi-Pearson V. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un systeme radiculare, Recherche de methods d'un estimation ayant una signification fonctionnelle. Mycorrhizae: physiology and genetics, ist. ESM/1er SEM. Dijon, 1–5 Juli, 1985. CNRA, Paris, 1986. —P. 217–221.
21. Vance C.P. Symbiotic nitrogen fixation and phosphorus acquisition. Plant nutrition in a world of declining renewable resources. // Plant Physiol. —2001. — Vol. 127. — P. 390–397.
22. Trouvelot A., Kough J., Gianinazzi-Pearson V. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un systeme radiculare, Recherche de methods d'un estimation ayant una signification fonctionnelle. Mycorrhizae: physiology and genetics, ist. ESM/1er SEM. Dijon, 1–5 Juli, 1985. CNRA, Paris, 1986. —P. 217–221.
23. Vance C.P. Symbiotic nitrogen fixation and phosphorus acquisition. Plant nutrition in a world of declining renewable resources. // Plant Physiol. —2001. — Vol. 127. — P. 390–397.

Analysis of pea (*Pisum sativum* L.) source material for breeding of cultivars with high symbiotic potential and choice of criteria for its evaluation

O.Y. Shtark¹, T.N. Danilova¹, T.S. Naumkina², A.G. Vasilchikov²,
V.K. Chebotar¹, A.E. Kazakov¹, A.I. Zhernakov¹, T.A. Nemankin¹, N.A. Prilepskaya³, A.Y. Borisov¹, I.A. Tikhonovich¹

☀ **SUMMARY:** Double inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and nodule bacteria was shown to increase seed productivity and plant dry weight in most of pea genotypes studied. Sometimes it can exceed the effect of mineral fertilizers. Seed productivity and plant dry weight were chosen as main criteria for evaluation of symbiosis effectiveness of legume crops. Expediency of legume breeding to improve symbiotic potential of legume varieties was proven and the genotypes to be used in such breeding programs were identified.

☀ **KEY WORDS:** garden pea, *Pisum sativum* L., legume-rhizobial symbiosis, arbuscular mycorrhiza, symbiotic effectiveness