

С.В. ДІДОВИЧ

Інститут сільського господарства Криму НААН України  
вул. Київська, 150, Сімферополь, 95453, АР Крим

## **ПІДВИЩЕННЯ ГЕНЕТИЧНОГО АЗОТФІКСУВАЛЬНОГО ПОТЕНЦІАЛУ СИМБІОТИЧНОЇ СИСТЕМИ *MESORHIZOBIUM CICERI* – *CICER ARIETINUM* L. ШЛЯХОМ КООРДИНОВАНОЇ СЕЛЕКЦІЇ**

Представлені трьохрічні експериментальні дані координованої селекції *Mesorhizobium ciceri* – *Cicer arietinum* на підвищення генетичного азотфіксувального потенціалу бобово-ризобіальної системи. Проведена оцінка п'яти нових вітчизняних сортозразків нуту на ефективність симбіотичної азотфіксації з колекційними штамми *M. ciceri*. Всі сортозразки виявилися чутливими до інокуляції бульбочковими бактеріями, але відрізнялися за шириною реакції і ефективністю бобово-ризобіальної взаємодії.

За результатами комплексної статистичної оцінки різних характеристик розподілу змінних за симбіотичними показниками, морфо-біологічними ознаками та елементами продуктивності двох перспективних сортозразків визначені кореляційні зв'язки між даними ознаками, виділені генетичні джерела високої ефективності азотфіксації, відібрано лінії нуту, які істотно перевищували батьківські генотипи рослин за генетичним потенціалом симбіотичної азотфіксації для клонування і подальшого використання у селекційній програмі.

*Ключові слова:* селекція, штамп, сортозразок, *Mesorhizobium ciceri*, *Cicer arietinum* L., азотфіксувальний потенціал, ефективність

Сучасне сільськогосподарське виробництво вимагає нової методології ведення господарства, що передбачає раціональне використання поновлюваних природних ресурсів, потенціалу рослинно-мікробної взаємодії і агроресурсу екосистем. Одним з альтернативних підходів щодо реалізації вищепідкресленого напрямку є використання симбіотичної взаємодії бобових рослин та бульбочкових бактерій, вивчення генетичного контролю, молекулярно-біологічних і еколого-фізіологічних механізмів цієї взаємодії та розробки конкретних селекційних програм для фіто- і ризобіосимбіонтів, здатних забезпечити високий вихід повноцінної і екологічно безпечної рослинної продукції [1].

Прогресивно зростаючий з кожним роком попит на виробництво нуту (*Cicer arietinum* L.) – цінну високобілкову продовольчу і кормову культуру, адаптовану до посушливих і спекотних природно-кліматичних умов півдня і сходу України, обумовлює необхідність створення нових вітчизняних сортів, технологій їх вирощування та переробки насіння. Важливими є дослідження з інтенсифікації симбіотичної азотфіксації нуту, які останнім часом проводилися переважно мікробіологами і були спрямовані головним чином на селекцію високоєфективних штамів *Mesorhizobium ciceri* та їх підбір до районованих і перспективних сортів, а селекції фітосимбіонта приділяли мало уваги. Тому актуальним питанням виступає генетичне удосконалення саме макросимбіонту на підвищення азотфіксувального потенціалу з перших етапів селекції.

### **Матеріал і методи досліджень**

Дослідження проводили в 2011-2013 роках за наступними етапами селекційної програми: в 2011 році визначали ефективні штамми ризобій, генетично комплементарні новим сортозразкам (с/з); у 2012-2013 роках виділяли генетичні джерела високої ефективності симбіотичної азотфіксації всередині популяції с/з нуту в симбіозі з генетично комплементарним штамом *M. ciceri*.

У досліджах застосовували штамми *M. ciceri* колекції мікроорганізмів ІСГ Криму і нові с/з нуту *Cicer arietinum* L. селекції СГІ НЦНС НААН.

Визначення ефективності симбіотичної азотфіксації *M. ciceri* з рослинами нуту проводили загальноприйнятими методами у вегетаційних дослідях [2]. Визначення азотфіксувального потенціалу с/з нуту проводили у дрібно-ділянковому досліді. Рослини вирощували в дренажному

бетонному резервуарі (довжиною – 7,0 м, шириною – 2,5 м, глибиною – 0,6 м), заповненому річковим піском і удобреному порошкоподібним суперфосфатом 0,5 г/кг і сульфатом калію 0,2 г/кг. Насіння обробляли перед висівом суспензією п'ятидодової культури *M. ciceri* штаму 068 із розрахунку  $10^6$  бактерій/насінину. Периметр резервуару з крайніх рослин слугував захисною межею.

Генетичний азотфіксувальний потенціал визначали за статистичною оцінкою морфо-біологічних, симбіотичних показників і елементів продуктивності кожної рослини з вибірки 150-400 рослин. Нітрогеназну активність аналізували ацетиленовим методом на газовому хроматографі „Chrom” 5 [3]. Статистичну обробку отриманих результатів проводили, використовуючи комп'ютерні програми Statistica 6,0, Excel 2003.

### Результати досліджень та їх обговорення

У 2011 році були визначені комплементарні штами *M. ciceri* до генотипів п'яти с/з нуту № 28, 39, 49, 64, 83. С/з № 49 показав високу симбіотичну ефективність з чотирма штамми ризобій, яка була більше на 22,5-40,0% порівняно з контролем із бактеризацією насіння виробничим штамом Н-12. С/з № 28, № 39 і № 83 – з двома штамми ризобій з ефективністю симбіозу на 19,5-37,1% більше за контроль. С/з № 64 – з одним колекційним штамом ризобій з ефективністю на 21,1% більше.

У 2012-2013 роках в умовах дрібно-ділянкового досліду проводилась комплексна оцінка двох с/з нуту №28 і 49 у симбіозі з генетично комплементарним їм штамом *M. ciceri* 068 за симбіотичними показниками (кількістю, біомасою і нітрогеназною активністю бульбочок), морфо-біологічними ознаками (висотою, фітомасою рослин) та елементами продуктивності (кількістю бобів, насіння і його біомаси).

Нами виявлено по с/з №49 високий рівень лівосторонньої асиметрії розподілу за біомасою і нітрогеназною активністю азотфіксувальних бульбочок, кількістю бобів і насіння на рослину, по с/з №28 – за кількістю азотфіксувальних бульбочок, зеленою фітомасою і кількістю насіння на рослину, що свідчить про необхідність проведення селекції за умов нітрагінізації для підвищення потенціалу бобово-ризобіального симбіозу.

Важливим етапом наукового аналізу в селекції є пошук зв'язків (залежностей) між змінними (кількісними і якісними). У зв'язку з цим було проаналізовано кореляційні зв'язки між досліджуваними ознаками. По с/з №49 встановлено кореляції між кількістю і біомасою бульбочок ( $r=0,46$ ), біомасою бульбочок та зеленою фітомасою рослин ( $r=0,19$ ), висотою і зеленою масою рослин ( $r=0,79$ ), кількістю бобів, насіння і його масою ( $r=0,79-0,89$ ). По с/з 28 виявлені кореляції між кількістю і біомасою бульбочок ( $r=0,47$ ), біомасою бульбочок та зеленою фітомасою рослин ( $r=0,66$ ), висотою і зеленою масою рослин ( $r=0,74$ ), кількістю бобів, насіння і його масою ( $r=0,94-0,95$ ). Незважаючи на високий рівень лівосторонньої асиметрії і високу варіабельність нітрогеназної активності всередині популяції у даних с/з не виявлено її кореляції з іншими ознаками, що виключає можливість використання нітрогеназної активності для селекції на підвищення генетичного азотфіксувального потенціалу досліджуваних сортозразків.

### Висновки

За три роки проведення координованої селекції *M. ciceri* – *Cicer arietinum* було оцінено п'ять сортозразків нуту (№28, 39, 49, 64, 83) на ефективність симбіотичної азотфіксації з колекційними штамми *M. ciceri*. Показано, що всі зразки виявилися чутливими до інокуляції бульбочковими бактеріями, але відрізнялися за шириною реакції і ефективністю бобово-ризобіальної взаємодії.

За результатами комплексної статистичної оцінки різних характеристик розподілу змінних за симбіотичними показниками (кількістю, біомасою і нітрогеназною активністю бульбочок нуту), морфо-біологічними ознаками (висотою і фітомасою рослин) та елементами продуктивності (кількістю бобів, насіння і його біомаси) визначені кореляційні зв'язки між даними ознаками, виділено генетичні джерела високої ефективності азотфіксації, відібрано лінії нуту, істотно перевищуючі батьківські генотипи рослин сортозразків №28 і 49 за генетичним потенціалом симбіотичної азотфіксації для клонування і подальшого використання у селекційній програмі.

1. Алисова С.М. Методические указания по использованию ацетиленового метода при селекции бобовых культур на повышение симбиотической азотфиксации / С.М. Алисова, А.И. Чундерова. — Л., 1982. — 12 с.
2. Методы исследований клубеньковых бактерий /Методические рекомендации для курсов повышения квалификации научных сотрудников по сельскохозяйственной микробиологии: [под ред. Л. Доросинского]. — Л., 1981. — 48 с.

3. *Rhizobiaceae*: Молекулярная биология взаимодействующих бактерий с растениями: [под ред. Спайк Г., Кондороши А., Хукас П., пер. с англ. Тихоновича И., Проворова Н.]. — Санкт-Петербург: ООО „ИПК Бионт“, 2002. — 568 с.

*С.В. Дидович*

Институт сельского хозяйства Крыма НААН Украины

ПОВЫШЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АЗОТФИКСИРУЮЩЕГО ПОТЕНЦИАЛА СИМБИОТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ *MESORHIZOBIUM CICERI* – *CICER ARIETINUM* L. ПУТЕМ КООРДИНИРОВАННОЙ СЕЛЕКЦИИ

Представлены трехлетние экспериментальные данные координированной селекции *Mesorhizobium ciceri* - *Cicer arietinum* на повышение генетического азотфиксирующего потенциала бобово-ризобияльной системы. Проведена оценка пяти новых сортообразцов нута украинской селекции на эффективность симбиотической азотфиксации с коллекционными штаммами *M. ciceri*. Все сортообразцы оказались чувствительными к инокуляции клубеньковыми бактериями *M. ciceri*, но отличались по ширине реакции и эффективности бобово-ризобияльного взаимодействия. Получены высокоэффективные сочетания «сортообразец – штамм».

По результатам комплексной статистической оценки различных характеристик распределения переменных по симбиотическим показателям (количеству, биомассе, нитрогеназной активности клубеньков), морфо-биологическим признакам (высоте и фитомассе растений) и элементам продуктивности (количеству бобов, семян и их биомассе) двух перспективных сортообразцов № 28 и № 49 определены корреляционные связи между данными признаками. Выделены генетические источники высокой эффективности азотфиксации, отобраны линии нута внутри популяции исследуемых сортообразцов, которые существенным образом превышали родительские генотипы растений по генетическому потенциалу симбиотической азотфиксации для клонирования и дальнейшего использования в селекционной программе.

*Ключевые слова:* селекция, штамм, сортообразец, *Mesorhizobium ciceri*, *Cicer arietinum* L., азотфиксирующий потенциал, эффективность

*S.V. Didovych*

Institute of Agriculture of Crimea of NAAS of Ukraine

THE RIZE OF GENETIC NITROGEN FIXING POTENTIAL OF SYMBIOTIC SYSTEM *MESORHIZOBIUM CICERI* – *CICER ARIETINUM* L. BY COORDINATE SELECTION

Three-year experimental data of coordinate selection of *Mesorhizobium ciceri* - *Cicer arietinum* on increase of genetic nitrogen fixing potential of bean-rhizobial system are presented. The assessment of five new chickpea cultivar-samples of the Ukrainian selection on efficiency of a symbiotic nitrogen fixation with collection strains of *M. ciceri* is made. All chickpea cultivar-samples were sensitive to an inoculation of nodule bacteria of *M. ciceri*, but differed on width of reaction and efficiency of bean-rhizobial interactions. Highly effective combinations «cultivar-samples – a strain» are received.

By results of a complex statistical assessment of various characteristics of distribution of variables on symbiotic factor (to quantity, biomass, nitrogen activity of nodule), morphological and biological signs (to height and phytomass of plants) and to efficiency elements (to quantity of beans, seeds and their biomass) of two perspective cultivar-samples №28 and 49 are defined correlation connections between these signs. Genetic sources of high efficiency of a nitrogen fixation are allocated. Chickpea lines in population of cultivar-samples, which significantly exceeded as compared with parental genotypes of plants on the genetic potential of a symbiotic nitrogen fixation for cloning and further use in the selection program, are selected.

*Keywords:* selection, strain, cultivar-samples, *Mesorhizobium ciceri*, *Cicer arietinum* L., nitrogen fixing potential, efficiency

Рекомендує до друку

Надійшла 05.06.2014

Н.М. Дробик