

Бобово-ризобияльный симбиоз

УДК 579.64:579.262:582.736

doi: 10.15389/agrobiology.2025.5.887rus

СИМБИОТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ РИЗОБИАЛЬНЫХ ШТАММОВ *Mesorhizobium* spp. НА ЭСПАРЦЕТЕ ПЕСЧАНОМ *Onobrychis arenaria* (Кит.) DC. В УСЛОВИЯХ МИКРОВЕГЕТАЦИОННОГО ОПЫТА*П.В. ГУРО[✉], И.Г. КУЗНЕЦОВА, А.Л. САЗАНОВА, Э.А. СЕКСТЕ,
О.С. ЮЗИХИН, Н.Ю. ТИХОМИРОВА, А.А. БЕЛИМОВ, В.И. САФРОНОВА,
Д.С. КАРЛОВ

Эспарцет песчаный *Onobrychis arenaria* (Кит.) DC. представляет особый интерес как перспективная кормовая культура для возделывания в северных регионах России благодаря своей зимостойкости, высоким кормовым качествам и способности к азотфиксации через симбиоз с ризобияльными бактериями. Эспарцет способен формировать эффективный симбиоз с широким кругом ризобий, что делает его уникальным объектом для изучения растительно-микробных взаимодействий. В настоящей работе впервые выявлена значительная вариабельность симбиотической эффективности штаммов рода *Mesorhizobium*, выделенных из дикорастущих бобовых в различных географических регионах, при формировании азотфиксирующего симбиоза с эспарцетом песчаным (*Onobrychis arenaria* (Кит.) DC). Установлено, что штаммы северного происхождения демонстрируют повышенную азотфиксирующую активность и положительное влияние на рост растений в микровегетационных условиях. Полученные результаты позволяют рекомендовать ряд штаммов в качестве перспективных инокулянтов для возделывания эспарцета в экстремальных агроклиматических условиях северных регионов России. Нашей целью было изучение симбиотического потенциала штаммов *Mesorhizobium*, выделенных из дикорастущих бобовых (*Astragalus*, *Oxytropis*, *Hedysarum*, *Trifolium*) разного географического происхождения, формировать азотфиксирующий симбиоз с культурным бобовым эспарцетом песчаным *Onobrychis arenaria* (Кит.) DC. в условиях микровегетационного опыта для отбора наиболее перспективных ризобияльных изолятов. Работу проводили в ФГБНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии в 2025 году. Для проведения микровегетационного опыта использовали семена эспарцета песчаного и 19 коллекционных бактериальных штаммов рода *Mesorhizobium*. Штаммы *Mesorhizobium*, отобранные из Сетевой биоресурсной коллекции в области генетических технологий для сельского хозяйства (ФГБНУ ВНИИСХМ, г. Санкт-Петербург), были выделены из клубеньков различных видов дикорастущих бобовых *Hedysarum*, *Astragalus*, *Oxytropis* и *Trifolium*, произрастающих на Камчатке, в арктических и центральных регионах России, в центральной части УССР, а также из популяции культурного бобового *O. arenaria* (Алтай) и *Onobrychis* sp. (Армения). Семена проращивали на фильтровальной бумаге в стерильных чашках Петри при 25 °С в темноте в течение 4 сут. Проростки культивировали в стерильных пластиковых стаканах (1000 мл) с 70 г вермикулита. В каждый стакан, содержащий по 5 проростков, вносили суспензии индивидуальных бактериальных штаммов (10⁶ клеток/мл) в объеме 10 мл. В качестве отрицательного контроля использовали неинокулированные растения. Культивирование растений осуществляли в климатической камере (MLR-352H, «PHCbi», Сингапур) при 18-23 °С в течение 30 сут. По завершении культивирования сырую биомассу взвешивали и подсчитывали образовавшиеся клубеньки. Азотфиксирующую активность клубеньков определяли ацетиленовым методом с использованием газового хроматографа GC-2014 («Shimadzu», Япония). Показана способность всех исследованных штаммов формировать клубеньки на корнях эспарцета, однако их симбиотическая эффективность значительно варьировала. Наибольшую азотфиксирующую активность продемонстрировали штаммы северного происхождения: *Mesorhizobium* sp. 650 (Камчатка), *M. norvegicum* 20/1-4 (Якутия) и *Mesorhizobium* sp. RCAM03942 (Таймыр), тогда как камчатский штамм *Mesorhizobium* sp. 708 достоверно ($p < 0,05$) увеличивал массу корней и общую сырую биомассу растений по сравнению с контрольной группой. Высокая нодуляционная способность не всегда коррелировала с азотфиксирующей активностью. Так, штамм RCAM2915, несмотря на низкую азотфиксацию, значительно влиял на продуктивность растений, что может быть связано с дополнительными механизмами стимуляции роста. На основании комплексной оценки симбиотической эффективности таймырский штамм RCAM03942, якутский штамм 20/1-4, а также камчатские штаммы 650 и 708 рекомендованы для дальнейшего изучения как перспективные инокулянты эспарцета с целью возделывания этой ценной кормовой культуры в условиях северных регионов России.

Ключевые слова: эспарцет песчаный, *Onobrychis arenaria* (Кит.) DC., *Mesorhizobium* spp., бобово-ризобияльный симбиоз.

* Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект РНФ № 20-76-10042-П).

В северных регионах Российской Федерации животноводство (северное домашнее оленеводство, молочное животноводство, табунное коневодство и скотоводство) занимает одно из ключевых мест в сельском хозяйстве, а обеспечение животных качественным кормом служит основой его успешного развития (1). Ограниченные площади возделываемых земель, суровый субарктический климат с длительным световым днем и низкими положительными температурами в летний период, а также недостаток доступного азота в почвах накладывает ограничения на применение традиционных кормовых культур, рекомендованных для центральных регионов страны (2). Традиционно основой кормовой базы для животноводства служат многолетние злаковые травы, развитие которых поддерживается внесением азотных удобрений. Однако такие мероприятия могут привести к загрязнению грунтовых вод нитратами и нарушению экологического равновесия (3). В этом контексте все большую актуальность приобретает использование многолетних бобовых культур, способных самостоятельно фиксировать азот благодаря симбиотическим отношениям с клубеньковыми бактериями (ризобиями). Применение микробиологических препаратов вместо химических подкормок не только улучшает качество кормов, но и снижает экологическую нагрузку на агроэкосистему (4).

В качестве перспективной бобовой культуры для внедрения в северных регионах России можно выделить эспарцет, который обладает высокими кормовыми качествами (богат белком и конденсированными танинами) и медоносными свойствами (нектаропродуктивность до 200 кг/га), а также служит отличным предшественником для зерновых и технических культур при севообороте благодаря способности обогащать почву азотом (5-7). На территории России возделывают все три окультуренных вида эспарцета — эспарцет виколистный *Onobrychis viciifolia* Scop., эспарцет песчаный *O. arenaria* (Kit.) DC. и эспарцет закавказский *O. transcaucasica* Grossh.

Эспарцет виколистный — наиболее распространенный культивируемый вид в настоящее время. Он, как и эспарцет закавказский, выращивается в широком диапазоне климатических условий на нейтральных и щелочных почвах с pH 6 или выше, в засушливых и орошаемых районах (8, 9). При этом эспарцет виколистный отличается высоким качеством зеленой массы, а закавказский — лучшей засухоустойчивостью (10-12). Эспарцет песчаный также возделывается в широком географическом диапазоне: в Центрально-Черноземном регионе, Предуралье, Сибири и на Дальнем Востоке (13-15). Он отличается особой зимостойкостью, выдерживая морозы от -40 до -45 °С, что делает его незаменимым для северных условий (16). Для освоения северных регионов перспективны образцы эспарцета песчаного из Сибири, Якутии и европейского Севера России, обладающие высокой зимостойкостью (17). Так, исследования в Якутии показали, что эспарцет сибирский *O. arenaria* subsp. *sibirica* (Sirj.) P.W. Ball развивает мощную корневую систему ниже пахотного горизонта мерзлотных почв, что свидетельствует о его хороших адаптационных способностях к экстремальным факторам криолитозоны, таким как короткий вегетационный период, резкие перепады температур и многолетняя мерзлота (18).

Согласно данным литературы, различные виды эспарцета вступают в симбиоз со штаммами родов *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Phyllobacterium* и *Bradyrhizobium* из порядка *Hyphomicrobiales* (ранее *Rhizobiales*) (19-21). Недавно из клубеньков эспарцета виколистного был выделен и описан новый вид — *Mesorhizobium onobrychidis*, а также представитель нового рода микросимбионтов *Onobrychidicola muellerharveyae* (22). Эспарцет способен образовывать эффективный симбиоз с ризобиями, выделенными не только из

клубеньков растений-хозяев, но и других бобовых, таких как *Oxytropis* spp., *Astragalus* spp., *Hedysarum* spp. (23, 24), *Coronilla* spp., *Petalostemon* spp. и *Dalea* spp. (25, 26).

В отличие от эспарцета, большинство бобовых культур демонстрируют узкоспециализированный симбиоз в отношении эффективного микросимбионта. Так, клевер (*Trifolium* spp.) взаимодействует исключительно с *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii*, а люцерна (*Medicago* spp.) — с *Ensifer meliloti* (27, 28). Горох (*Pisum sativum* L.) и вика (*Vicia* spp.) образуют клубеньки с *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* (29). Соя (*Glycine max* (L.) Merr) образует симбиоз с *Bradyrhizobium japonicum* и *Bradyrhizobium diazoefficiens* (30). Виды люпина (*Lupinus* spp.) также демонстрируют узкую специфичность, взаимодействуя преимущественно с *Bradyrhizobium lupini* (31).

Эспарцет — это уникальная бобовая культура с низкой специфичностью к широкому кругу видов ризобий, что выделяет ее на фоне других сельскохозяйственных бобовых с узконаправленным симбиозом. Тем не менее работы по изучению биоразнообразия ризобияльных штаммов, способных к нодуляции эспарцета, остаются немногочисленными. Особый интерес представляет поиск и изучение арктических ризобияльных штаммов, выделенных из северных дикорастущих бобовых, способных к эффективной нодуляции растений эспарцета в условиях Крайнего Севера. Исследования в Канаде в 1990-х годах показали, что арктические штаммы клубеньковых бактерий образуют эффективный симбиоз с эспарцетом, превосходящий показатели штаммов из умеренных широт (32). В частности, арктический штамм *Mesorhizobium* sp. N31, выделенный из астрагала альпийского (*Astragalus alpinus* L.) с полуострова Мелвилл на севере Канады, был изучен в сравнении с коммерческим штаммом *Rhizobium* sp. SM2 из *O. viciifolia* умеренных широт.

При формировании симбиоза с эспарцетом виколистным в лабораторных условиях штамм N31 демонстрировал высокую симбиотическую эффективность: нитрогеназная активность при 14 °C превышала показатели коммерческого штамма в 5,5 раза (50 против 9 $C_2H_4 \cdot ч^{-1} \cdot сосуд^{-1}$ на 8-й нед), при 3 °C — в 2 раза (20 против 10 $C_2H_4 \cdot ч^{-1} \cdot сосуд^{-1}$), при 23 °C — в 1,4 раза (15 против 11 $C_2H_4 \cdot ч^{-1} \cdot сосуд^{-1}$ на 7-й нед). В полевых условиях штамм N31 обеспечивал увеличение урожайности сухой массы на 52,5 % (второй укос 1992 года) по сравнению с контролем без инокуляции и 34,7 % по сравнению с коммерческим штаммом во вторые укосы 1991-1992 годов (33-35).

В настоящей работе впервые выявлена значительная вариабельность симбиотической эффективности штаммов рода *Mesorhizobium*, выделенных из дикорастущих бобовых в различных географических регионах, при формировании азотфиксирующего симбиоза с эспарцетом песчаным *Onobrychis arenaria* (Kit.) DC. Установлено, что штаммы северного происхождения демонстрируют повышенную азотфиксирующую активность и положительное влияние на рост растений в микровегетационных условиях. Полученные результаты позволяют рекомендовать ряд штаммов в качестве перспективных инокулянтов для возделывания эспарцета в экстремальных агроклиматических условиях северных регионов России.

Нашей целью было изучение симбиотического потенциала штаммов *Mesorhizobium*, выделенных из дикорастущих бобовых (*Astragalus*, *Oxytropis*, *Hedysarum*, *Trifolium*) разного географического происхождения, формировать азотфиксирующий симбиоз с культурным бобовым эспарцетом песчаным *Onobrychis arenaria* (Kit.) DC. в условиях микровегетационного опыта для отбора наиболее перспективных ризобияльных изолятов.

Методика. Для проведения микровегетационного опыта (МВО, 2025 год) использовали семена эспарцета песчаного и 19 коллекционных бактериальных штаммов рода *Mesorhizobium*. Штаммы *Mesorhizobium* (Сетевая биоресурсная коллекция в области генетических технологий для сельского хозяйства, ФГБНУ ВНИИСХМ, г. Санкт-Петербург) были выделены из клубеньков различных видов дикорастущих бобовых *Hedysarum*, *Astragalus*, *Oxytropis* и *Trifolium*, произрастающих на Камчатке, в арктических и центральных регионах России, в центральной части УССР, а также из популяции культурного бобового *O. arenaria* (Алтай) и *Onobrychis* sp. (Армения). Ранее была продемонстрирована способность большинства отобранных штаммов *Mesorhizobium* формировать эффективный симбиоз с растениями-хозяевами (36-39), а также образовывать клубеньки на корнях эспарцета в условиях предварительного МВО (данные не представлены).

Семена эспарцета скарифицировали и стерилизовали в 98 % растворе серной кислоты (H_2SO_4) в течение 10 мин, после чего дважды промывали стерильной водопроводной водой в течение 15 мин. Эффективность стерилизации контролировали посредством помещения части обработанных семян на чашки Петри с мясопептонным агаром (МПА) и последующей инкубацией при 28 °С в течение 24 ч. Отсутствие роста микроорганизмов подтверждало стерильность семян.

Семена проращивали на фильтровальной бумаге в стерильных чашках Петри при 25 °С в темноте в течение 4 сут. Полученные проростки культивировали в стерильных пластиковых стаканах (1000 мл) с крышками, оснащенными бактериальными фильтрами («Duchefa Biochemie», Нидерланды), содержащих 70 г вермикулита. В каждый сосуд добавляли по 100 мл среды Красильникова-Кореньяко, содержащей K_2HPO_4 — 1,0 г/л, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 1,0 г/л, $Ca_3(PO_4)_2$ — 0,2 г/л, $FeSO_4$ — 0,02 г/л) и 15 мл смеси микроэлементов по Федорову, состоящей из H_3BO_3 — 0,05 г/л, $(NH_4)_2MoO_4$ — 0,05 г/л, KCl — 0,005 г/л, $NaBr$ — 0,005 г/л, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,003 г/л, $MnSO_4$ — 0,002 г/л. В стаканах находилось по 5 проростков. В каждый стакан вносили суспензию индивидуальных бактериальных штаммов (10^6 клеток/мл) в объеме 10 мл. В качестве отрицательного контроля использовали инокулированные растения.

Растения культивировали в климатической камере (MLR-352H, «PHCbi», Сингапур) в течение 30 сут, при относительной влажности 50 % и следующем режиме освещения (лампы FL40SSW/37, Panasonic, Япония) и температуры: ночь (18 °С, 8 ч), утро ($100 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с}^{-1})$, 20 °С, 2 ч), день ($200 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с}^{-1})$, 23 °С, 12 ч), вечер ($100 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с}^{-1})$, 20 °С, 2 ч). По завершении культивирования сырую биомассу взвешивали и подсчитывали образовавшиеся клубеньки. Азотфиксирующую активность клубеньков определяли ацетиленовым методом с использованием газового хроматографа GC-2014 («Shimadzu», Япония).

Полученные данные МВО обрабатывали стандартным методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) в статистической среде R (версия 4.2.3; R Core Team, 2023). Для каждого из измеряемых симбиотических параметров в каждом варианте инокуляции определяли средние значения (M) и стандартные отклонения ($\pm SD$). При статистически значимых результатах ANOVA ($p < 0,05$) проводили тест Дункана для множественного сравнения средних с использованием пакета agricolae.

Результаты. Описание 19 коллекционных бактериальных штаммов рода *Mesorhizobium*, использованных в работе, представлено в таблице 1.

1. Штаммы *Mesorhizobium*, использованные в работе (лабораторный опыт, 2025 год)

Оригинальный № штамма	Коллекционный № штамма RCAM	Таксономическая принадлежность	Растение-хозяин	Регион выделения
572	04779	<i>M. jarvisii</i>	<i>Oxytropis kamschatica</i> Hult.	Камчатка, РФ
582	04789	<i>Mesorhizobium</i> sp.		
583	04790	<i>Mesorhizobium</i> sp.		
617	04822	<i>Mesorhizobium</i> sp.	<i>Oxytropis pumilio</i> (Pall.) Ledeb.	
650	04855	<i>Mesorhizobium</i> sp.	<i>Oxytropis anadyrensis</i> Vassilcz.	
699	05097	<i>Mesorhizobium</i> sp.	<i>Astragalus umbellatus</i> Bunge	
705	05101	<i>Mesorhizobium</i> sp.	<i>Astragalus inopinatus</i> Boriss.	
708	05104	<i>Mesorhizobium</i> sp.		
9-4/1	06350	<i>Mesorhizobium</i> sp.	<i>Oxytropis taimyrensis</i> Jurtzev	Якутия, РФ
25-2/1	06353	<i>Mesorhizobium</i> sp.	<i>Astragalus frigidus</i> (L.) A.Gray	
20/1-4	05519	<i>M. norvegicum</i>	<i>Hedysarum arcticum</i> B.Fedtsch.	
10-1-4	07000	<i>Mesorhizobium</i> sp.	<i>Hedysarum</i> L.	г. Воркута, РФ
16-2-2	06999	<i>Mesorhizobium</i> sp.	<i>Trifolium lupinaster</i> L.	
Ch33/5-2	07268	<i>Mesorhizobium</i> sp.	<i>Oxytropis maydelliana</i> Trautv.	Чукотка, РФ
A3-H1	03942	<i>Mesorhizobium</i> sp.	<i>Astragalus</i> L.	Таймыр, РФ
734	06816	<i>Mesorhizobium</i> sp.	<i>Astragalus cicer</i> L.	г. Полтава, УССР
787	1413	<i>Mesorhizobium</i> sp.	<i>Hedysarum alpinum</i> L.	г. Москва, СССР
827	2915	<i>Mesorhizobium</i> sp.	<i>Onobrychis</i> Mill.	Армения
836	2923	<i>Mesorhizobium</i> sp.	<i>Onobrychis arenaria</i> (Kit.) DC.	Алтай, РФ

Показана способность всех штаммов, использованных в работе, формировать клубеньки на корнях эспарцета, однако параметры симбиоза (число клубеньков, общая биомасса растений и азотфиксирующая активность) варьировали в зависимости от варианта инокуляции (табл. 2).

2. Эффект инокуляция эспарцета песчаного *Onobrychis arenaria* (Kit.) DC. штаммами *Mesorhizobium* различного географического происхождения ($n = 5$, $M \pm SD$; лабораторный опыт, 2025 год)

Регион выделения	№ штамма	Число клубеньков	Масса побега, мг	Масса корней, мг	Общая масса растения, мг	Ацетилен-редуктазная активность, мкмоль $C_2H_4 \cdot$ сосуд $^{-1} \cdot$ сут $^{-1}$
Камчатка	572	3,0±0,71 ^{ef}	157,0±21,97	153,0±12,04 ^{abcd}	310,0±33,17 ^{ab}	0,45±0,09 ^{fg}
	582	1,6±0,20 ^h	182,0±19,24	153,0±23,35 ^{abcd}	335,0±40,62 ^{ab}	0,1±0,02 ^g
	583	6,0±1,41 ^a	161,0±25,59	120,0±18,71 ^{bcd}	281,0±43,65 ^{ab}	0,02±0,01 ^g
	617	2,6±0,30 ^{ef}	184,0±22,19	150,0±27,61 ^{abcd}	334,0±42,34 ^{ab}	0,4±0,06 ^{fg}
	650	4,4±0,89 ^{cd}	165,0±16,58	177,0±29,50 ^{abcd}	342,0±36,16 ^{ab}	2,8±0,24 ^a
	699	4,8±0,45 ^{bc}	202,0±39,62	135,0±18,03 ^{abcd}	337,0±51,91 ^{ab}	1,3±0,20 ^{cd}
	705	2,0±0,30 ^{ef}	178,0±7,58	115,0±22,64 ^{abcd}	293,0±27,97 ^{ab}	0,6±0,11 ^{efg}
	708	1,8±0,45 ^{ef}	192,0±42,07	193,0±44,81 ^a	385,0±80,23 ^a	0,8±0,11 ^{def}
Якутия	9-4/1	3,0±0,40 ^{ef}	175,0±9,13	128,8±21,75 ^{abcd}	303,8±28,69 ^{ab}	0,08±0,01 ^g
Якутия	20/1-4	3,4±0,55 ^{ef}	171,0±42,49	176,0±41,74 ^{abcd}	347,0±79,81 ^{ab}	2,2±0,30 ^b
Якутия	25-2/1	5,8±1,10 ^a	180,0±28,28	150,0±24,24 ^{abcd}	330,0±51,11 ^{ab}	1,1±0,20 ^{de}
г. Воркута	10-1-4	2,6±0,55 ^{ef}	166,0±25,84	125,0±29,15 ^{bcd}	291,0±51,04 ^{ab}	1,1±0,11 ^{de}
г. Воркута	16-2-2	4,2±0,45 ^{cd}	174,0±16,36	142,0±24,14 ^{abcd}	316,0±36,47 ^{ab}	0,01±0,00 ^g
Чукотка	Ch33/5-2	1,8±0,45 ^{ef}	176,0±27,93	122,0±27,75 ^{bcd}	298,8±42,07 ^{ab}	1,1±0,10 ^{de}
Таймыр	RCAM03942	3,2±0,45 ^{ef}	186,0±30,29	119,0±23,82 ^{bcd}	305,0±50,00 ^{ab}	1,8±0,23 ^{bc}
г. Москва	RCAM1413	3,2±0,45 ^{ef}	164,0±27,93	161,0±28,37 ^{abcd}	325,0±45,28 ^{ab}	0,2±0,03 ^{fg}
г. Полтава	RCAM06816	1,6±0,20 ^h	162,0±22,80	135,0±35,88 ^{abcd}	297,0±48,04 ^{ab}	0,5±0,10 ^{efg}
Алтай	RCAM2923	5,4±0,89 ^{ab}	164,0±26,08	116,0±10,84 ^{bcd}	280,0±31,82 ^{ab}	1,2±0,16 ^{cde}
Армения	RCAM2915	3,2±0,45 ^{ef}	170,0±23,45	192,0±22,8 ^a	362,0±37,68 ^{ab}	0,07±0,00 ^g
	Контроль	0,00 ⁱ	145,0±5,00	113,0±20,49 ^d	258,0±16,05 ^b	0,01±0,00 ^g

^{a-f} Разными латинскими буквами отмечены варианты, различия между которыми статистически значимы ($p < 0,05$). В вариантах без буквенного ранжирования статистически значимых групповых различий ($p > 0,05$) выявлено не было и тест Дункана не проводился.

Так, наиболее высокую азотфиксирующую активность продемонстрировали штаммы из северных регионов: камчатский изолят *Mesorhizobium* sp. 650 (2,8±0,24), якутский изолят *M. norvegicum* 20/1-4 (2,2±0,30) и таймырский изолят RCAM03942 (1,8±0,23), выделенные соответственно из *O. anadyrensis*, *H. arcticum* и *Astragalus* sp. Низкие показатели азотфиксирующей активности были отмечены у армянского изолята RCAM2915

(0,07±0,00), якутского 9-4/1 (0,08±0,01) и камчатского 582 (0,1±0,02). Азотфиксация практически отсутствовала у воркутинского изолята 16-2-2 (0,01±0,00) и камчатского 583 (0,02±0,01).

Интересно отметить, что высокая нодуляционная и азотфиксирующая активность штаммов не всегда коррелировали между собой. Так, якутский штамм 25-2/1 и алтайский RCAM2923, сформировавшие статистически значимо большее количество пигментированных клубеньков (соответственно 5,8±1,10 и 5,4±0,89; $p < 0,05$) в сравнении с остальными вариантами инокуляции, но показали не очень высокую азотфиксирующую активность (1,14±0,2 и 1,2±0,16), тогда как воркутинский штамм 16-2-2 и камчатский штамм 583 при активной нодуляции (4,2±0,45 и 6,0±1,41) сформировали соответственно неэффективные и малоэффективные клубеньки. При этом клубеньки, сформированные двумя последними штаммами, были не пигментированными, характеризовались небольшими размерами и округлой формой, что также указывало на отсутствие физиологической активности.

Влияние штаммов на развитие растений также варьировало. В частности, общая биомасса, достоверно превышающая контроль, наблюдалась у растений, инокулированных камчатским штаммом 708 (385,0±80,23 мг; $p < 0,05$), при этом его нодуляционная и азотфиксирующая активность были относительно низкими (соответственно 1,8±0,45 и 0,8±0,11).

Интересно отметить, что штамм *Mesorhizobium* sp. RCAM2915, несмотря на очень низкую азотфиксирующую активность (0,07±0,00), показал относительно высокие значения общей биомассы (362,0±37,68 мг), хотя статистически значимых различий с другими инокулированными вариантами не наблюдалось. Это может свидетельствовать о наличии дополнительных механизмов стимуляции роста растений, возможно, через продукцию фитогормонов. Известно, что ризобии способны стимулировать рост растений независимо от их азотфиксирующей активности (40). Ключевым механизмом такой стимуляции становится синтез фитогормонов — индол-3-уксусной кислоты, цитокининов и гиббереллинов, которые регулируют клеточное деление, дифференциацию и растяжение клеток растений (41-44). Кроме того, многие штаммы *Mesorhizobium* spp. обладают геном *acdSR* и продуцируют фермент 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат (АЦК)-деаминазу, который расщепляет АЦК (непосредственный предшественник этилена в растениях) до аммиака и α -кетобутирата, тем самым снижая содержание этилена, ингибирующего рост растений при стрессе (45, 46). Также ризобии могут улучшать поглощение питательных веществ через сольюбилизацию фосфатов и продукцию сидерофоров (47-50).

Географическое происхождение штаммов оказывало заметное влияние на параметры бобово-ризобияльного симбиоза. Изоляты из северных регионов демонстрировали более высокую азотфиксирующую активность по сравнению со штаммами из умеренных широт: камчатский штамм 650 (2,8±0,24 мкмоль $C_2H_4 \cdot \text{сосуд}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$), якутский 20/1-4 (2,2±0,30) и таймырский RCAM03942 (1,8±0,23) значительно превосходили штаммы RCAM1413 из Московской области (0,2±0,03), RCAM06816 из Полтавы (0,5±0,10) и RCAM2915 из Армении (0,07±0,00). Все инокулированные варианты оказали положительное влияние на развитие растений, однако статистически значимое увеличение массы корней по сравнению с контрольной группой наблюдалось у камчатского штамма 708 и армянского RCAM2915 (193,0±44,81 и 192,0±22,80; $p < 0,05$). При этом камчатский штамм 708 также способствовал достоверному увеличению общей сырой биомассы растений.

На основании комплексной оценки симбиотической эффективности

таймырский штамм RCAM03942, якутский 20/1-4, а также камчатские штаммы 650 и 708 можно рекомендовать для дальнейшего изучения в качестве перспективных микробных инокулянтов эспарцета с последующей валидацией их эффективности в экстремальных агроклиматических условиях северных регионов России.

Следует отметить, что фундаментальный и практический интерес представляет изучение молекулярно-генетических механизмов низкой (не свойственной культурным бобовым) специфичности эспарцета песчаного к широкому кругу микросимбионтов. Решение этого вопроса позволит повысить восприимчивость сельскохозяйственных бобовых к нетипичным для них штаммам эффективных ризобий и расширить географические пределы возделывания многих традиционных бобовых культур. Направленная оптимизация симбиотических систем на основе штаммов, адаптированных к определенным климатическим условиям, может способствовать повышению эффективности растительно-микробных взаимодействий и улучшению агрономических характеристик эспарцета песчаного для широкого внедрения этой ценной бобовой культуры на территории российских регионов с различными почвенно-климатическими условиями.

Таким образом, результаты микровегетационного опыта продемонстрировали значительную вариабельность симбиотической эффективности штаммов *Mesorhizobium* при взаимодействии с эспарцетом песчаным. Наибольшую азотфиксирующую активность показали северные штаммы *Mesorhizobium* sp. 650, 20/1-4, RCAM03942, выделенные из дикорастущих бобовых *Oxytropis anadyrensis*, *Hedysarum arcticum* и *Astragalus* sp., соответственно, тогда как штаммы *Mesorhizobium* sp. 708 RCAM2915, выделенные из *Astragalus inopinatus* и *Onobrychis* sp., способствовали увеличению общей сырой биомассы растений и корней по сравнению с остальными вариантами инокуляции. Выявлена тенденция к повышенной азотфиксирующей активности у штаммов северного происхождения по сравнению со штаммами из умеренных широт. Большинство исследованных штаммов оказали положительное влияние на развитие растений, однако статистически значимое увеличение сырой биомассы по сравнению с контрольной группой без инокуляции наблюдалось только у камчатского штамма *Mesorhizobium* sp. 708. В дальнейшем эффективность бобово-ризобиального симбиоза между штаммами *Mesorhizobium* и растениями эспарцета песчаного будет оценена в условиях микровегетационного опыта при пониженных температурах, что позволит отобрать наиболее перспективные штаммы для их последующего изучения в условиях многолетних полевых опытов в различных регионах России.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чугунов А.В. Состояние и перспективы развития животноводства в Якутии. *Природные ресурсы Арктики и Субарктики*, 2009, 2: 89-94.
2. Корелина В.А., Батакова О.Б., Зобнина И.В. Интродукция кормовых культур для расширения видового разнообразия, укрепления кормовой базы животноводства в условиях субарктической зоны Российской Федерации. *Эффективное животноводство*, 2018, 4(143): 32-35.
3. Башкин В.Н. Экологические риски применения азотных удобрений. *Проблемы анализа риска*, 2022, 19(2): 40-53 (doi: 10.32686/1812-5220-2022-19-2-40-53).
4. Kakraliya S.K., Singh U., Bohra A., Choudhary K.K., Kumar S., Meena R.S., Jat M.L. Nitrogen and legumes: a meta-analysis. In: *Legumes for soil health and sustainable management*. Springer, 2018: 277-314.
5. Carbonero C.H., Mueller-Harvey I., Brown T.A., Smith L. Sainfoin (*Onobrychis viciifolia*): a beneficial forage legume. *Plant Genetic Resources*, 2011, 9(1): 70-85 (doi: 10.1017/S1479262110000328).
6. Цветков М.Л., Панков Д.М. Кормообразующее значение эспарцета для медоносных пчел

в годы с недостаточным увлажнением. *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*, 2013, 9(107): 73-80.

7. Кашеваров Н.И., Полюдина Р.И., Рожанская О.А., Железнов А.В. Селекция эспарцета (*Onobrychis* Mill.) для кормопроизводства Сибири. *Кормопроизводство*, 2013, 9: 22-24.
8. Лебедева Н.С., Кравцов В.В. Урожайность зеленой массы перспективных сортов эспарцета в зоне неустойчивого увлажнения Ставропольского края. *Сельскохозяйственный журнал*, 2019, 4(12): 14-18 (doi: 10.25930/0372-3054/002.4.12.2019).
9. Бурцева Н.И., Кулик Д.К., Молоканцева Е.И., Головатюк О.В. Кормовая продуктивность многолетних бобовых трав на орошаемых землях Нижнего Поволжья. *Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование*, 2023, 3(71): 86-96.
10. Лазарев Н.Н., Шитикова А.В., Куренкова Е.М., Кухаренкова О.В., Дикарева С.А., Климов А.А., Шевелева С.Н. Эспарцет (*Onobrychis* Adans.): выгодная культура в органическом лугопастбищном хозяйстве (обзор). *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*, 2023, 2: 76-94 (doi: 10.26897/0021-342X-2023-2-76-94).
11. Mora-Ortiz M., Smith L. *Onobrychis viciifolia*: a comprehensive literature review of its history, etymology, taxonomy, genetics, agronomy and botany. *Plant Genetic Resources*, 2018, 16(5): 403-418 (doi: 10.1017/S1479262118000230).
12. Матолинец Н.Н. *Приемы возделывания эспарцета песчаного на кормовые цели в Среднем Предуралье. Автореф. канд. дис.* Пермь, 2020.
13. Золотарев В.Н., Иванов И.С., Сапрыкин С.В., Чекмарёва А.В. Биологические особенности и технология возделывания эспарцета песчаного на семена в степной зоне Центрально-Черноземного региона в условиях аридизации климата. *Кормопроизводство*, 2019, 8: 19-27.
14. Монгуш Л.Т. Возделывание эспарцета песчаного (*Onobrychis arenaria*) на корм в условиях Республики Тыва. *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*, 2018, 7(165): 31-35.
15. Панков Д.М. Эффективность возделывания эспарцета песчаного в условиях лесостепи Алтая. *Кормопроизводство*, 2012, 10: 34-36.
16. Лубенец П.А., Наговицина А.В. *Эспарцет. Каталог-справочник Мировой коллекции ВИР.* Л., 1970, 57.
17. Малышев Л.Л., Малышева Н.Ю., Булынец С.В., Дук О.В., Дзюбенко Е.А. Потенциал коллекции кормовых культур ВИР в развитии кормопроизводства на Севере РФ. *АгроЗооТехника*, 2023, 6(3): 1-15 (doi: 10.15838/alt.2023.6.3.5).
18. Осипова В.В., Филиппов Е.Г. Интродукция эспарцета сибирского (*Onobrychis sibirica*) в Якутии. *Вестник Красноярского государственного аграрного университета*, 2020, 11(164): 30-35 (doi: 10.36718/1819-4036-2020-11-30-35).
19. Hördt A., García López M., Meier-Kolthoff J.P., Schleuning M., Weinhold L.-M., Tindall B.J., Gronow S., Kyrpidis N.C., Woyke T., Göker M. Analysis of 1,000+ type-strain genomes substantially improves taxonomic classification of *Alphaproteobacteria*. *Front. Microbiol.*, 2020, 11: 468 (doi: 10.3389/fmicb.2020.00468).
20. Motlhamme K.L. *Biodiversity of rhizobia associated with sainfoin (Onobrychis viciifolia) in South Africa. Ph.D. thesis.* North-West University, South Africa, 2023.
21. Prévost D., Macheret V., Laguerre G. Phylogenetic comparison of symbiotic (nodC and nifH) and 16S rRNA genes in strains of *Rhizobium*, *Mesorhizobium* and *Bradyrhizobium* isolated from *Astragalus*, *Oxytropis* and *Onobrychis* spp. In: *Nitrogen fixation: from molecules to crop productivity. Current plant science and biotechnology in agriculture, vol. 38* /F.O. Pedrosa, M. Hungria, G. Yates, W.E. Newton (eds.). Springer, Dordrecht, 2000: 205 (doi: 10.1007/0-306-47615-0_107).
22. Ashrafi S., Kuzmanović N., Patz S., Lohwasser U., Bunk B., Spröer C., Lorenz M., Elhady A., Frühling A., Neumann-Schaal M., Verburg S., Becker M., Thünen T. Two new *Rhizobiales* species isolated from root nodules of common sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) show different plant colonization strategies. *Microbiology Spectrum*, 2022, 10(5): e01099-22 (doi: 10.1128/spectrum.01099).
23. Issah G., Schoenau J.J., Lardner H.A., Knight J.D. Nitrogen fixation and resource partitioning in alfalfa (*Medicago sativa* L.), cicer milkvetch (*Astragalus cicer* L.) and sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) using ¹⁵N enrichment under controlled environment conditions. *Agronomy*, 2020, 10(9): 1438 (doi: 10.3390/agronomy10091438).
24. Baimiev A.K., Gubaidullin I.I., Kulikova O.L., Chemeris A.V. Bacteria closely related to *Phyllobacterium trifolii* according to their 16S rRNA gene are discovered in the nodules of Hungarian sainfoin. *Russ. J. Genet.*, 2007, 43: 587-590 (doi: 10.1134/S1022795407050146).
25. Prévost D., Bordeleau L.M., Caudry-Reznick S., Schulman H.M., Antoun H. Characteristics of rhizobia isolated from three legumes indigenous to the Canadian high arctic: *Astragalus alpinus*, *Oxytropis maydelliana*, and *Oxytropis arctobia*. *Plant Soil*, 1987, 98: 313-324 (doi: 10.1007/BF02378352).
26. Tlustý B., van Berkum P., Graham P.H. Characteristics of the rhizobia associated with *Dalea* spp. in the Ordway, Kellogg-Weaver Dunes, and Hayden prairies. *Canadian Journal of Microbiology*, 2005, 51(1): 15-23 (doi: 10.1139/w04-107).

27. Yates R.J., Howieson J.G., Reeve W.G., Brau L., Speijers J., Nandasena K., Real D., Sezmis E., O'Hara G.W. Host-strain mediated selection for an effective nitrogen-fixing symbiosis between *Trifolium* spp. and *Rhizobium leguminosarum* biovar trifolii. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(3): 822-833 (doi: 10.1016/j.soilbio.2007.11.001).
28. Ramírez-Bahena M.H., Vargas M., Martín M., Tejedor C., Velázquez E., Peix Á. Alfalfa micro-symbionts from different ITS and nodC lineages of *Ensifer meliloti* and *Ensifer medicae* symbiovar meliloti establish efficient symbiosis with alfalfa in Spanish acid soils. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2015, 99: 4855-4865 (doi: 10.1007/s00253-014-6347-6).
29. Karunakaran R., Ramachandran V.K., Seaman J.C., East A.K., Mouhsine B., Mauchline T.H., Prell J., Skeffington A., Poole P.S. Transcriptomic analysis of *Rhizobium leguminosarum* biovar viciae in symbiosis with host plants *Pisum sativum* and *Vicia cracca*. *Journal of Bacteriology*, 2009, 191(12): 4002-4014 (doi: 10.1128/JB.00165-09).
30. Delamuta J.R.M., Ribeiro R.A., Ormeño-Orrillo E., Melo I.S., Martínez-Romero E., Hungria M. Polyphasic evidence supporting the reclassification of *Bradyrhizobium japonicum* group Ia strains as *Bradyrhizobium diazoefficiens* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2013, 63(9): 3342-3351 (doi: 10.1099/ijs.0.049130-0).
31. Peix A., Ramírez-Bahena M.H., Flores-Félix J.D., Alonso de la Vega P., Rivas R., Mateos P.F., Igual J.M., Martínez-Molina E., Trujillo M.E., Velázquez E. Revision of the taxonomic status of the species *Rhizobium lupini* and reclassification as *Bradyrhizobium lupini* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2015, 65(4): 1213-1219 (doi: 10.1099/ijs.0.000082).
32. Prévost D., Bordeleau L.M., Antoun H. Symbiotic effectiveness of indigenous arctic rhizobia on a temperate forage legume: Sainfoin (*Onobrychis viciifolia*). *Plant Soil*, 1987, 104: 63-69 (doi: 10.1007/BF02370626).
33. Bigwaneza P.C., Prévost D., Bordeleau L.M., Antoun H. Effect of temperature on succinate transport by an arctic and a temperate strain of rhizobia. *Canadian Journal of Microbiology*, 1993, 39(10): 907-911 (doi: 10.1139/m93-138).
34. Prévost D., Bordeleau L.M., Michaud R., Lafrenière C., Waddington J., Biederbeck V.O. Nitrogen fixation efficiency of cold-adapted rhizobia on sainfoin (*Onobrychis viciifolia*): laboratory and field evaluation. In: *Symbiotic nitrogen fixation. Developments in plant and soil sciences, vol. 57* /P.H. Graham, M.J. Sadowsky, C.P. Vance (eds.). Springer, Dordrecht, 1994: 171-176 (doi: 10.1007/978-94-011-1088-4_20).
35. Prévost D., Drouin P., Laberge S., Bertrand A., Cloutier J., Lévesque G. Cold-adapted rhizobia for nitrogen fixation in temperate regions. *Canadian Journal of Botany*, 2003, 81(12): 1153-1161 (doi: 10.1139/b03-113).
36. Кузнецова И.Г., Карлов Д.С., Гуро П.В., Сазанова А.Л., Тихомирова Н.Ю., Лашинский Н.Н., Белимов А.А., Сафронова В.И. Генетическое разнообразие и симбиотическая эффективность клубеньковых микросимбионтов остролодочника таймырского (*Oxytropis taimyrensis* (Jurtz.) A. et D. Love), астрагала холодного (*Astragalus frigidus* (L.) A. Gray) и астрагала тугаринова (*Astragalus tugarinovii* Basil.) из Арктической Якутии. *Сельскохозяйственная биология*, 2024, 59(5): 927-942 (doi: 10.15389/agrobiol.2024.5.927rus).
37. Karlov D.S., Guro P.V., Kuznetsova I.G., Sazanova A.L., Alekhina I.A., Tikhomirova N.Yu., Lashchinsky N.N., Belimov A.A., Safronova V.I. Genetic identification of micro symbionts of the legume *Hedysarum arcticum* B. Fedtsch, growing on Samoylov Island in the Lena River Delta (Arctic Zone of Yakutia), Russia. *Microbiology*, 2024, 93: 380-384 (doi: 10.1134/S0026261723604220).
38. Guro P.V., Sazanova A.L., Kuznetsova I.G., Tikhomirova N.Y., Belimov A.A., Yakubov V.V., Safronova V.I. Genetic diversity of root nodule endophyte strains isolated from the legumes *Astragalus umbellatus* and *A. inopinatus*, growing on the Kamchatka Peninsula (Russian Federation). *Russ. J. Plant Physiol.*, 2023, 70(8): 185 (doi: 10.1134/S1021443723602100).
39. Safronova V.I., Guro P.V., Sazanova A.L., Kuznetsova I.G., Belimov A.A., Yakubov V.V., Chirak E.R., Afonin A.M., Gogolev Y.V., Andronov E.E., Tikhonovich I.A. Rhizobial microsymbionts of Kamchatka oxytropis species possess genes of the type III and VI secretion systems, which can affect the development of symbiosis. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2020, 33(10): 1232-1241 (doi: 10.1094/MPMI-05-20-0114-R).
40. Laranjo M., Alexandre A., Oliveira S. Legume growth-promoting rhizobia: an overview on the *Mesorhizobium* genus. *Microbiological Research*, 2014, 169(1): 2-17 (doi: 10.1016/j.micres.2013.09.012).
41. Gamas P., Brault M., Jardinaud M.F., Frugier F. Cytokinins in symbiotic nodulation: when, where, what for? *Trends in Plant Science*, 2017, 22(9): 792-802 (doi: 10.1016/j.tplants.2017.06.012).
42. Leelahawong C., Pongsilp N., Nuntagij A. Factors influencing indole-3-acetic acid biosynthesis of root-nodule bacteria isolated from various leguminous plants. *Thammasat Int. J. Sc. Tech.*, 2009, 14(2): 1-12.
43. Spaepen S., Vanderleyden J., Remans R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiology Reviews*, 2007, 31(4): 425-448 (doi: 10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x).

44. Tatsukami Y., Ueda M. Rhizobial gibberellin negatively regulates host nodule number. *Sci. Rep.*, 2016, 6(1): 27998 (doi: 10.1038/srep27998).
45. Nascimento F., Brígido C., Alho L., Glick B.R., Oliveira S. Enhanced chickpea growth-promotion ability of a *Mesorhizobium* strain expressing an exogenous ACC deaminase gene. *Plant Soil*, 2012, 353: 221–230 (doi: 10.1007/s11104-011-1025-2).
46. Nascimento F.X., Brígido C., Glick B.R., Oliveira S. ACC deaminase genes are conserved among *Mesorhizobium* species able to nodulate the same host plant. *FEMS Microbiology Letters*, 2012, 336(1): 26–37 (doi: 10.1111/j.1574-6968.2012.02648.x).
47. Peix A., Rivas-Boyer A.A., Mateos P.F., Rodríguez-Barrueco C., Martínez-Molina E., Velázquez E. Growth promotion of chickpea and barley by a phosphate solubilizing strain of *Mesorhizobium mediterraneum* under growth chamber conditions. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33(1): 103–110 (doi: 10.1016/S0038-0717(00)00120-6).
48. Zaidi A., Khan M.S., Rizvi A., Saif S., Ahmad B., Shahid M. Role of phosphate-solubilizing bacteria in legume improvement. In: *Microbes for legume improvement* /A. Zaidi, M. Khan, J. Musarrat (eds.). Springer, Cham, 2017: 175–197 (doi: 10.1007/978-3-319-59174-2).
49. Raychaudhuri N., Das S.K., Chakrabarty P.K. Symbiotic effectiveness of a siderophore overproducing mutant of *Mesorhizobium ciceri*. *Pol. J. Microbiol.*, 2005, 54(1): 37–41.
50. Menéndez E., Pérez-Yépez J., Hernández M., Rodríguez-Pérez A., Velázquez E., León-Barrios M. Plant growth promotion abilities of phylogenetically diverse *Mesorhizobium* strains: effect in the root colonization and development of tomato seedlings. *Microorganisms*, 2020, 8(3): 412 (doi: 10.3390/microorganisms8030412).

ФГБНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии,
196608 Россия, г. Санкт-Петербург—Пушкин, ш. Подбельского, 3,
e-mail: guro.pv@arriam.ru ✉, ig.kuznetsova@arriam.ru,
al.sazanova@arriam.ru, sekste_edgar@mail.ru, os.yuzikhin@arriam.ru,
ny.tikhomirova@arriam.ru, belimon@arriam.ru, v.safronova@arriam.ru,
ds.karlov@arriam.ru

Поступила в редакцию
26 февраля 2025 года
Принята к публикации
23 апреля 2025 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2025, V. 60, № 5, pp. 887–897

SYMBIOTIC EFFICIENCY OF RHIZOBIAL *Mesorhizobium* spp. STRAINS ON *Onobrychis arenaria* (KIT.) DC. UNDER CONDITIONS OF A MICROVEGETATION EXPERIMENT

P.V. Guro✉, I.G. Kuznetsova, A.L. Sazanova, E.A. Sekste, O.S. Yuzikhin,
N.Yu. Tikhomirova, A.A. Belimov, V.I. Safronova, D.S. Karlov

All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, 3, sh. Podbel'skogo, St. Petersburg, 196608 Russia, e-mail guro.pv@arriam.ru (✉ corresponding author), ig.kuznetsova@arriam.ru, al.sazanova@arriam.ru, sekste_edgar@mail.ru, os.yuzikhin@arriam.ru, ny.tikhomirova@arriam.ru, belimon@arriam.ru, v.safronova@arriam.ru, ds.karlov@arriam.ru

ORCID:

Guro P.V. orcid.org/0000-0001-5754-6926

Kuznetsova I.G. orcid.org/0000-0003-0260-7677

Sazanova A.L. orcid.org/0000-0002-4808-320X

Sekste E.A. orcid.org/0000-0002-9753-8303

Yuzikhin O.S. orcid.org/0000-0002-1818-9230

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Funded by the Russian Science Foundation (grant № 20-76-10042-П)

Final revision received February 26, 2025

Accepted April 23, 2025

Tikhomirova N.Yu. orcid.org/0000-0002-8510-2123

Belimov A.A. orcid.org/0000-0002-9936-8678

Safronova V.I. orcid.org/0000-0003-4510-1772

Karlov D.S. orcid.org/0000-0002-9030-8820

doi: 10.15389/agrobiology.2025.5.887eng

Abstract

Onobrychis arenaria (Kit.) DC. is of particular interest as a promising forage crop for cultivation in the northern regions of Russia due to its winter hardiness, high forage quality, and ability to fix nitrogen through symbiosis with rhizobial bacteria. Sainfoin is capable of forming effective symbiotic relationships with a wide range of rhizobia, making it a unique model for studying plant-microbe interactions. In this study, we for the first time revealed significant variability in the symbiotic efficiency of *Mesorhizobium* strains isolated from wild legumes across various geographic regions in forming nitrogen-fixing symbiosis with sand sainfoin (*Onobrychis arenaria*). It was established that strains of northern origin exhibited increased nitrogen-fixing activity and a positive effect on plant growth under microvegetation conditions. The results obtained allow us to recommend several strains as promising inoculants for sainfoin cultivation under the extreme agroclimatic conditions of northern Russia. The aim of this work was to study the symbiotic potential of *Mesorhizobium* strains isolated from wild legumes (*Astragalus*, *Oxytropis*, *Hedysarum*, *Trifolium*) of different geographic origins to form nitrogen-

fixing symbiosis with the cultivated forage legume *Onobrychis arenaria* under microvegetation conditions, in order to select the most promising rhizobial isolates. The study was conducted at the All-Russian Research Institute of Agricultural Microbiology in 2025. For the microvegetation experiment, seeds of sand sainfoin and 19 collection bacterial strains of the genus *Mesorhizobium* were used. The *Mesorhizobium* strains, obtained from the Russian Collection of Agricultural Microorganisms (All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, St. Petersburg), were isolated from nodules of various wild legumes (*Hedysarum*, *Astragalus*, *Oxytropis*, and *Trifolium*) growing in Kamchatka, Arctic and central regions of Russia, the central part of the Ukrainian SSR, as well as from populations of cultivated sainfoin (*O. arenaria*, Altai) and *Onobrychis* sp. (Armenia). Seeds were germinated on filter paper in sterile Petri dishes at 25 °C in darkness for 4 days. Seedlings were grown in sterile plastic pots (1000 ml) containing 70 g of vermiculite. Each pot with 5 seedlings was inoculated with a 10 ml suspension of an individual bacterial strain (10^6 cells/ml). Non-inoculated plants served as negative controls. Plants were cultivated in a climate chamber (MLR-352H, PHCbi, Singapore) at 18-23 °C for 30 days. After cultivation, fresh biomass was weighed and the number of nodules was counted. Nitrogen-fixing activity of nodules was determined by the acetylene reduction assay using a GC-2014 gas chromatograph (Shimadzu, Japan). All tested strains were capable of forming nodules on sainfoin roots, but their symbiotic efficiency varied considerably. The highest nitrogen-fixing activity was demonstrated by strains of northern origin: *Mesorhizobium* sp. 650 (Kamchatka peninsula), *M. norvegicum* 20/1-4 (Yakutia), and *Mesorhizobium* sp. RCAM03942 (Taimyr peninsula), whereas the Kamchatka strain *Mesorhizobium* sp. 708 significantly ($p < 0.05$) increased root mass and overall fresh biomass compared to the control. High nodulation ability did not always correlate with nitrogen-fixing activity. For example, strain RCAM2915, despite low nitrogen fixation, had a notable positive effect on plant productivity, which may be associated with additional growth-stimulating mechanisms. Based on a comprehensive assessment of symbiotic efficiency, the Taimyr strain RCAM03942, the Yakutia strain 20/1-4, and the Kamchatka strains 650 and 708 are recommended for further study as promising inoculants for sainfoin with the aim of cultivating this valuable forage crop in northern regions of Russia.

Keywords: *Onobrychis arenaria* (Kit.) DC., sand sainfoin, *Mesorhizobium* spp., legume-rhizobial symbiosis.