

Изучение нодуляции и азотфиксации у двух сортов вигны [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] при инокуляции разными штаммами ризобий (*Bradyrhizobium* sp.)

Ю.В. Фотев¹✉, К.К. Сидорова², Т.И. Новикова¹, В.П. Белоусова¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск, Россия

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

Вигна (*Vigna unguiculata* L. Walp.) – перспективная овощная бобовая культура, представляющая интерес для сельскохозяйственного производства России. Изучено влияние инокуляции тремя штаммами *Bradyrhizobium* sp., полученными из коллекции микроорганизмов ФГБНУ ВНИИСХМ (г. Санкт-Петербург), на нодуляционную способность и азотфиксацию у двух новых сортов вигны (Сибирский размер и Юньнаньская). Все штаммы формировали азотфиксирующие клубеньки на обоих сортах вигны. Установлены сортовые различия вигны по способности образовывать клубеньки и активно фиксировать азот при использовании разных штаммов. У этих сортов выявлен высокий размах варьирования по нодуляционной способности: количество клубеньков в начале цветения на сорте Сибирский размер составляло 4–47 шт. на растение, а на сорте Юньнаньская – 17–117 шт. В контроле, без инокуляции, клубеньков не обнаружено. У сорта Сибирский размер максимальные значения массы клубеньков и азотфиксации (в начале цветения, через 48 дней после инокуляции) наблюдали при использовании штамма 164 0503 (03) – 0,79 г и 5155,3 нмоль C₂H₄/раст./ч соответственно. У сорта Юньнаньская эти показатели составили 1,41 г и 5255,5 нмоль C₂H₄/раст./ч при инокуляции штаммом 162 0501 (01) и по азотфиксации – 4673,0 нмоль C₂H₄/раст./ч при инокуляции штаммом 03. Выявлена положительная корреляция между активностью азотфиксации и массой клубеньков: $r = 0,78$ ($p > 0,95$). Полученные данные свидетельствуют о том, что для образования эффективного симбиоза у сорта Сибирский размер перспективным является штамм 03 *Bradyrhizobium* sp., а у сорта Юньнаньская – штамм 01.

Ключевые слова: вигна; *Vigna unguiculata*; *Bradyrhizobium* sp.; торфяной субстрат; штаммы; инокуляция; нодуляция; активность азотфиксации.

Study of nodulation and nitrogen fixation in two cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] cultivars inoculated with different strains of *Bradyrhizobium* sp.

Yu.V. Fotev¹✉, K.K. Sidorova², T.I. Novikova¹, V.P. Belousova¹

¹ Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) is a vegetable legume with promise for agricultural production in Russia. The impact of inoculation with three strains of *Bradyrhizobium* sp. from the All Russian Institute of Agricultural Microbiology (St. Petersburg) on nodulation and nitrogen fixation on two cowpea cultivars, Sibirskiy razmer and Yunnanskaya, has been explored. All the strains used made both cultivars produce nitrogen fixing nodules. Differences between the varieties in the ability to form nodules and fix nitrogen following exposure to the different strains have been identified. High variation of the nodulation ability of both cultivars has been observed: at the beginning of flowering, the number of nodules per plant was 4–47 in Sibirskiy razmer and 17–117 in Yunnanskaya. Uninoculated vigna roots used as the control did not form nodules. At the beginning of flowering (48 days after inoculation) Sibirskiy razmer plants inoculated with strain 164 0503 (03) had the highest nodule weight per plant (0.79 g) and N₂ fixation rates (5155.3 nmol C₂H₄/plant/h). The corresponding measures in Yunnanskaya were 1.41 g and 5255.5 nmol C₂H₄/plant/h following exposure to strain 162 0501 (01) and 4673.0 nmol C₂H₄/plant/h following exposure to strain (03). Analysis showed a correlation between nitrogen fixation rate and nodule weight (pcs./plant), $r = 0.78$ ($p > 0.95$). Data obtained suggest that effective symbioses are achieved between Sibirskiy razmer and strain 03 as well as between Yunnanskaya and strain 01.

Key words: cowpea; *Vigna unguiculata*; *Bradyrhizobium* sp.; peat substrate; strains; inoculation; nodulation; activity of nitrogen fixation.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Фотев Ю.В., Сидорова К.К., Новикова Т.И., Белоусова В.П. Изучение нодуляции и азотфиксации у двух сортов вигны [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] при инокуляции разными штаммами ризобий (*Bradyrhizobium* sp.). Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016;20(3):348-354. DOI 10.18699/VJ16.099

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Fotev Yu.V., Sidorova K.K., Novikova T.I., Belousova V.P. Study of nodulation and nitrogen fixation in two cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] cultivars inoculated with different strains of *Bradyrhizobium* sp. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016;20(3):348-354. DOI 10.18699/VJ16.099

УДК 631.874.462:581.138.1

Поступила в редакцию 26.08.2015 г.

Принята к публикации 13.10.2015 г.

© АВТОРЫ, 2016

Вигна (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) – перспективная для России и Сибири овощная культура семейства Fabaceae (Фотев и др., 2007), имеющая африканское происхождение (Piennag, van Wyk, 1992), достоинства которой давно оценили жители Китая, выращивающие ее повсеместно и в большом количестве. В предисловии к монографии В.В. Singh, посвященной вигне (2014), отмечается, что за последнее десятилетие произошел 70 % рост мирового производства вигны, тогда как производство остальных бобовых культур сохранилось на прежнем уровне. Традиционно в пищу используют незрелые плоды, богатые белком, витаминами, а также макро- и микроэлементами (P, Fe, Mg и Mn) и пектином (Фотев, Белоусова, 2013; Наумова и др., 2014). Помимо питательной ценности, плоды вигны обладают великолепными вкусовыми качествами, пригодны для разных видов консервирования и заморозки, представляя собой ценный деликатесный продукт для пищевой промышленности и индустрии общественного питания России.

Выращиваемая во многих тропических и субтропических странах Старого и Нового Света между 35° с. ш. и 30° ю. ш., причем северная граница может доходить до 50° с. ш. (Вишнякова и др., 2012), вигна до недавнего времени не рассматривалась в качестве удачного кандидата для интродукции в условиях Средней полосы России и тем более Сибири. Причиной тому служили короткодневность, поздние сроки формирования плодов и низкая продуктивность большинства сортообразцов.

После продолжительного изучения сортов, форм и гибридов в Центральном сибирском ботаническом саду СО РАН (ЦСБС СО РАН) впервые в России в 2006 г. были созданы и включены в Государственный реестр селекционных достижений два сорта вигны, Сибирский размер и Юньнаньская (рис. 1). Эти сорта отличаются нейтральной реакцией на длину дня, коротким периодом от всходов до плодоношения (51–69 дней) и высокой стабильной урожайностью (2,1–2,9 кг/м²) (Фотев и др., 2007). До сих пор крупного агропромышленного производства вигны в стране нет, хотя востребованность культуры фермерскими хозяйствами и овощеводами-любителями из года в год растет. К 2015 г. количество ее сортов, зарегистрированных в Госреестре селекционных достижений Российской Федерации, возросло до 11 (Государственный реестр..., URL: http://www.gossort.com/ree_cont.html).

Одной из особенностей вигны как бобового растения является способность к симбиозу с почвенными азотфиксирующими бактериями рода *Bradyrhizobium* Jordan., в результате которого атмосферный азот может накапливаться в количестве от 4 до 201 кг/га за сезон (Pule-Meulenberg, Dakora, 2015). В Нигерии, стране с самой большой в мире площадью посева вигны, достигающей 4 млн. га (Gómez, 2004), этот показатель составляет от 74 до 117 кг/га (Awonaike et al., 1990). При выращивании одних и тех же сортов в разных условиях доля азота, полученного за счет симбиотической азотфиксации, может варьировать от 30 до 96 % (Dakora et al., 2015), достигая 385 мг/растение за 80 дней роста (Senaratne, Ratnasinghe, 1990). Исследования, проведенные в условиях Южной Африки, Ботсваны и Ганы (Pule-Meulenberg et al., 2010), свидетельствуют, что азотное питание вигны существенно зависит от

симбиотической фиксации атмосферного азота. Нетребовательность вигны к почвенным условиям позволяет выращивать ее на неплодородных почвах с pH = 4,5–9,0, содержанием органического вещества меньше 0,2 % и песка более 85 % (Singh et al., 1997), экономя дорогостоящие минеральные удобрения и пополняя азотный пул почвы для последующих культур. Есть данные, что раса клубеньковых бактерий является специфической для вигны и «другие культуры не заражает» (Павлова, 1959), хотя в последнее время получена информация о широкой специфичности видов ризобий из рода *Bradyrhizobium* Jordan, включающих штаммы, способные к эффективному симбиозу не только с вигной, но и большим спектром однолетних и многолетних бобовых растений в тропиках (You et al., 2002). Результаты исследования в Беларуси показали, что лишь 3 из 10 штаммов клубеньковых бактерий сои вида *Bradyrhizobium japonicum* из коллекции ГНУ Институт микробиологии НАН Беларуси показали эффективный симбиоз с вигной (Семенова, 2010).

В Сибири исследования нодуляционной способности и азотфиксации на формах и сортах *Vigna unguiculata* (L.) Walp. при симбиозе с клубеньковыми бактериями не проводили. В то же время удачные попытки выращивания вигны в хозяйствах Алтайского края и других регионов России в открытом грунте и с использованием современных полимерных материалов свидетельствуют о довольно высокой адаптивной способности вида к новым условиям.

Цель работы – выяснить влияние инокуляции тремя штаммами *Bradyrhizobium* sp. на нодуляционную способность, азотфиксацию и продуктивность растений у двух новых сортов вигны.

Материалы и методы

В работе использовали два сорта вигны *Vigna unguiculata* (L.) Walp.] «Сибирский размер» и «Юньнаньская», созданные в ЦСБС СО РАН (г. Новосибирск). Для инокуляции растений использовали штаммы *Bradyrhizobium* sp. 162 0501, 163 0502 и 164 0503, полученные из коллекции ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии (ФГБНУ ВНИИСХМ), г. Санкт-Петербург. Штаммы были выделены из клубеньков *Vigna unguiculata* в 1960 г. Рекомендованный ВНИИСХМ способ долговременного хранения этих штаммов – на минеральной среде с люпиновой мукой при 4 °С с пересевом каждые 6 мес. и в криоконсервированном состоянии – при –80 °С в жидкой среде с 15 % глицерином. В 1979 г. штаммы были проверены на эффективность в вегетационном опыте ВНИИСХМ и получили оценку «эффективен» (штаммы 162 0501 и 164 0503) и «малоэффективен» (штамм 163 0502). В таблицах и при обсуждении результатов использованы сокращенные обозначения: 162 0501 – «01», 163 0502 – «02» и 164 0503 – «03» соответственно. Штаммы размножали на твердой и жидкой гороховых средах с использованием качалки. Семена инокулировали за 2 часа до посева. Контролем служили семена сортов, обработанные обычной водой (без инокуляции). Исходный почвенный субстрат на основе торфа характеризовался следующим содержанием N-P-K: N-NO₃ – 33,0 мг/л, P₂O₅ – 72,5 и K₂O – 122,0 мг/л. В основную заправку почвы в теплице перед началом сезона вносили минеральное удобрение марки N-P-K:



Рис. 1. Сорта вигны Сибирский размер (а) и Юньнаньская (б).



Рис. 2. Клубеньки на корнях вигны (сорт Сибирский размер).

15 : 15 : 15 в дозе 25 г/м², что, по оценке, не превышает дозу, ингибирующую процесс азотфиксации у вигны (Agbenin et al., 1990). Для определения продуктивности горшечную рассаду в возрасте 25–27 дней высаживали в грунт пленочной необогреваемой теплицы ЦСБС СО РАН (55°01' с. ш. 82°56' в. д.) 25 мая. Растения размещали однострочно, с густотой посадки 4,6 раст./м². Площадь учетной делянки – 5,2 м². Определяли общее количество клубеньков, число клубеньков меньше и больше 0,5 см на 35-й день после инокуляции (в стадии 2–3-го настоящего листа), в начале цветения (на 48 день после инокуляции) и в конце вегетационного периода (на 96-й день после инокуляции). Проводили учет количества собранных плодов в биологической спелости (на семена), а также сырой биомассы надземной части растений и корней (г) в конце вегетационного периода. Активность азотфиксации определяли по активности нитрогеназы ацетиленовым методом (нмоль C₂H₄ /раст/ч) на газовом хроматографе «Цвет» (Россия) в фазу начала цветения. Использовали стандартные методы обработки опытных данных (Зайцев, 1973). Оценку нодуляции, активности азотфиксации и продуктивности растений проводили в трехкратной повторности. Условные обозначения: М – выборочная средняя, m_М – средняя ошибка выборочной средней.

Результаты и обсуждение

По нашим данным, за более чем 10-летний период наблюдений при выращивании форм вигны в открытом и защищенном грунте Сибири клубеньки на ее корнях не образовывались. Это свидетельствует об отсутствии подходящих штаммов ризобий в использованных почвогрунтах. Отметим, что даже в более благоприятных условиях тропической зоны Амазонского региона Бразилии после 3–5 циклов выращивания вигны ее корни без искусственной инокуляции были нодулированы лишь небольшим (< 5 шт./раст.) количеством клубеньков (Neves et al., 1990).

Через 35 дней после инокуляции все использованные штаммы *Bradyrhizobium* sp. проявили вирулентность, т. е. были способны вызывать образование клубеньков (рис. 2) на корнях сортов вигны с показателями от 18,0 ± 1,85 до 23,3 ± 4,24 шт./раст. (сорт Сибирский размер) и от 12,1 ± 3,56 до 35,9 ± 1,73 шт./раст. (сорт Юньнаньская) (табл. 1). Симбиотическая эффективность штамма 02 по признаку «нодуляция» оказалась наиболее выраженной

на сорте Юньнаньская, что подтверждает данные других исследований о наличии существенных сортовых различий в проявлении признака (Wang et al., 2012; Омелянюк и др., 2013; Omel'yanuk et al., 2014). Клубеньки интенсивно-розового цвета, формировались преимущественно на растущих молодых корнях, причем как на главном, так и боковых (рис. 3). В отличие от выполненного ранее в Университете штата Оклахома (США) исследования (Kahn, Stoffella, 1991), 70 % доминирования расположения клубеньков преимущественно на главном корне не установлено.

В начале цветения, через 48 дней после инокуляции, средние значения количества клубеньков были максимальными в варианте инокуляции штаммом 02 растений обоих сортов (табл. 1), однако средняя масса клубеньков с растения оказалась больше при использовании штаммов 03 – 0,79 г (сорт Сибирский размер) и 01 – 1,41 г (сорт Юньнаньская). На растениях сорта Сибирский размер, инокулированных штаммом 01, количество клубеньков уменьшилось в 1,8 раза по сравнению с аналогичным показателем на 35-й день после инокуляции (см. табл. 1). Растения сорта Юньнаньская, напротив, показали

Таблица 1. Количество клубеньков и их масса на растениях сортов вигны в разные сроки после инокуляции

Сорт	Число клубеньков на растении при инокуляции штаммами ризобий, кл./раст.						Масса клубеньков через 48 дней, г/раст.		
	Через 35 дней			Через 48 дней					
	Штамм								
	01	02	03	01	02	03	01	02	03
Сибирский размер	23,3±4,24	22,2±3,31	18,0±1,85	$\frac{13,0\pm4,51}{4-17}$	$\frac{30,7\pm8,76}{17-47}$	$\frac{26,3\pm6,96}{15-39}$	0,25±0,09	0,70±0,02	0,79±0,20
Юньнаньская	13,3±3,95	35,9±1,73	12,1±3,56	$\frac{65,0\pm26,8}{28-117}$	$\frac{74,0\pm22,8}{35-114}$	$\frac{26,3\pm4,81}{17-33}$	1,41±0,28	1,32±0,30	0,84±1,19

В числителе: $M \pm m_M$, в знаменателе: $M_{\min}-M_{\max}$ (минимальное и максимальное значения числа клубеньков); в контроле количество клубеньков равно нулю.

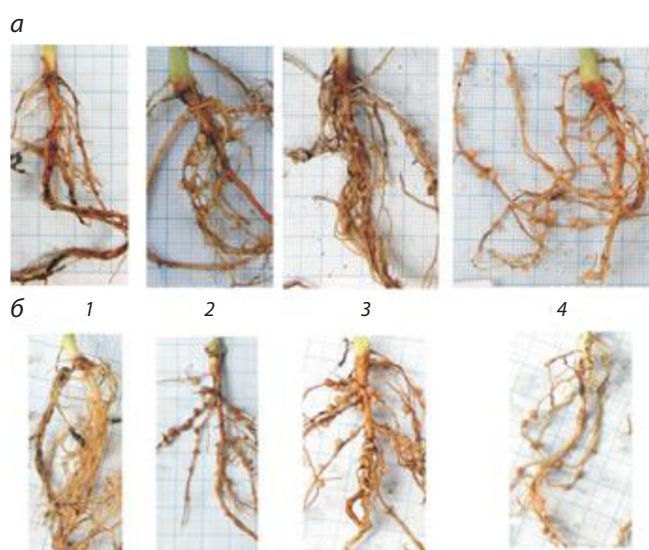


Рис. 3. Корневая система сортов вигны на 35-й день после инокуляции штаммами *Bradyrhizobium* sp.
а – сорт Сибирский размер; б – сорт Юньнаньская; 1 – контроль (без инокуляции); 2 – штамм 01; 3 – штамм 02; 4 – штамм 03.

последовательное увеличение нодуляции при инокуляции штаммами 01, 02 и 03 в 4,9, 2,1 и 2,2 раза, соответственно, также в сравнении с данными на 35-й день. Результаты, полученные по массе клубеньков к началу цветения, близки к данным (0,37–1,70 г/раст.) В.А. Kahn и P.J. Stoffella (1991), проводивших опыты на трех сортах в открытом грунте штатов Флорида и Оклахома (США).

К концу вегетационного периода, через 96 дней после инокуляции, наибольшее снижение числа клубеньков наблюдали при использовании штамма 02 (на сорте Сибирский размер – в 7,7 раза и на сорте Юньнаньская – в 22,4 раза) относительно количества клубеньков на 35-й день после инокуляции (рис. 4).

Наименьшее снижение нодуляции было отмечено на сорте Сибирский размер при использовании штамма 03 (в 2 раза), а на сорте Юньнаньская – при использовании штаммов 03 (в 2,4 раза) и 01 (в 2,8 раза) также по сравнению с уровнем нодуляции на 35-й день после

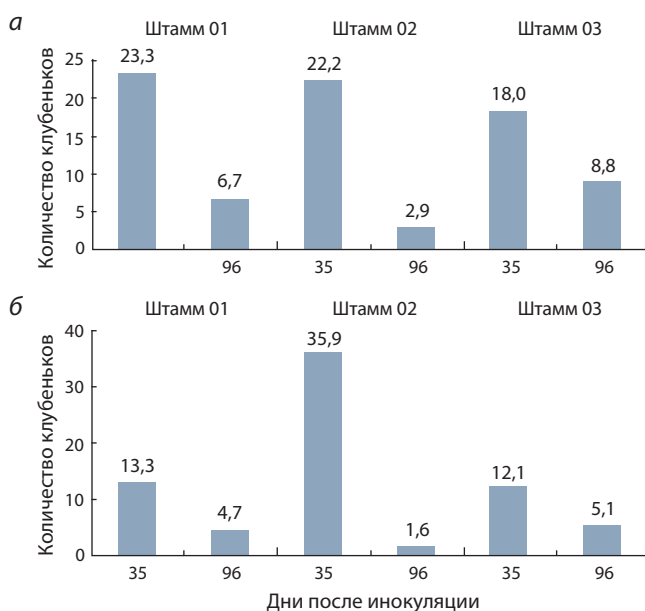


Рис. 4. Количество клубеньков на корнях сортов вигны через 35 и 96 дней после инокуляции.

а – сорт Сибирский размер; б – сорт Юньнаньская.

инокуляции. Уменьшение числа клубеньков к концу вегетации, вероятно, связано с процессом их естественного старения, запускающимся после цветения. Сохранение большего количества клубеньков к концу сезона при использовании штаммов 03 и 01 является важным признаком эффективной нодуляции, так как происходящая при старении клубеньков деградация белка позволяет повторно утилизировать азот и другие вещества, а цистеиновые протеазы клубеньков принимают участие в адаптации клеток хозяина к физиологическим стрессам (Серова, Цыганов, 2014).

При оценке семенной продуктивности растений вигны, инокулированных разными штаммами ризобий, выявлена ее сортовая специфичность. В контроле, без инокуляции, у обоих сортов было одинаковое значение урожая плодов (9,8 и 9,7 шт./раст.) (рис. 5). При инокуляции разными штаммами сорт Сибирский размер характеризовался либо небольшим увеличением урожая до 11,3 шт./раст.

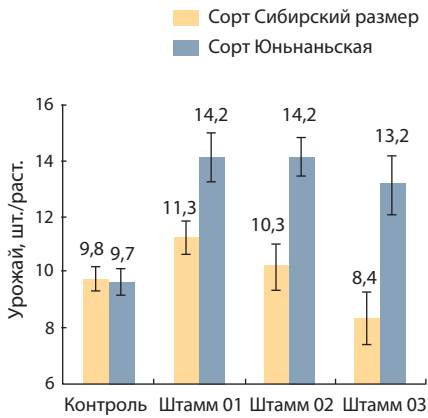


Рис. 5. Урожай плодов двух сортов вигны при инокуляции растений разными штаммами ризобий.

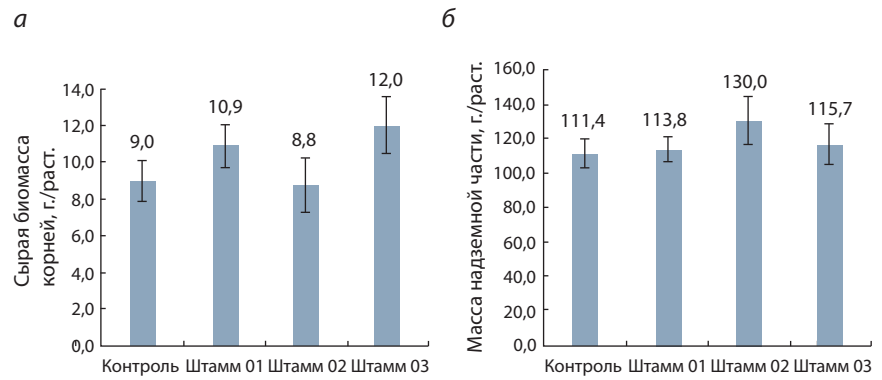


Рис. 6. Накопление сырой биомассы корней и надземной части растений вигны сорта Сибирский размер при инокуляции разными штаммами *Bradyrhizobium* sp.

Таблица 2. Активность азотфиксации у сортов вигны Сибирский размер и Юньнаньская при инокуляции растений разными штаммами *Bradyrhizobium* sp.

Сорт	Активность нитрогеназы при инокуляции растений штаммом ризобий, нмоль C ₂ H ₄ /раст./ч		
	штамм 01	штамм 02	штамм 03
Сибирский размер	$2499,6 \pm 1393,0$ 853,3–5269,1	$3397,0 \pm 1514,4$ 1283,2–6332,6	$5155,3 \pm 878,8$ 3817,5–6811,4
Юньнаньская	$5255,5 \pm 2036,2$ 1203,0–7630,2	$4516,1 \pm 1148,7$ 2258,4–6013,4	$4673,0 \pm 719,0$ 3252,9 – 5578,7

В числителе: $M \pm m_M$, в знаменателе: $M_{\min} - M_{\max}$ (минимальное и максимальное значения показателя активности азотфиксации); в контроле активность азотфиксации равна нулю.

(штамм 01), либо отсутствием эффекта от инокуляции (штаммы 02 и 03). Сорт Юньнаньская характеризовался более высокой семенной продуктивностью (13,2–14,2 шт./раст.) в вариантах инокуляции всеми анализируемыми штаммами (рис. 5). Полученные результаты могут быть обусловлены генотипическими различиями у анализируемых сортов вигны.

При сравнении с соей (сорт Киевская 27) в условиях Украины все использованные штаммы вида *Bradyrhizobium japonicum* показали однозначно положительное влияние на урожайность растений (от 7 до 38 % по отношению к контролю), хотя характеризовались отсутствием прямой связи между количеством, массой клубеньков, азотфиксирующей активностью и урожайностью (Драгозов и др., 2011).

В конце вегетации наибольшая сырая биомасса корней вигны сорта Сибирский размер отмечена при использовании штамма 03 – $12,0 \pm 1,58$ г (контроль – $9,0 \pm 1,16$ г) (рис. 6). Показатели сырой биомассы остальных вариантов опыта (штаммы 01 и 02) оказались в пределах ошибки выборочной средней контроля (без инокуляции).

Более высокий показатель накопления сырой биомассы надземной части растений у сорта Сибирский размер отмечен при использовании штамма 02 – 130,0 г/раст., почти одинаковые значения (в пределах ошибки выборочной средней) – с применением штаммов 01 – 113,8 и 03 – 115,7 г/раст., в контроле – 111,4 г/раст.

Данные оценки активности азотфиксации показали активность нитрогеназы разных штаммов у сорта Сибирский размер от 853,3 до 6811,4 нмоль C₂H₄/раст./ч, сорта Юньнаньская – от 1203,0 до 7630,2 нмоль C₂H₄/раст./ч (табл. 2). Активность нитрогеназы, достигнутая при использовании разных штаммов, на сорте Сибирский размер варьирует от 853,3 до 6811,4 нмоль C₂H₄/раст./ч, на сорте Юньнаньская – от 1203,0 до 7630,2 нмоль C₂H₄/раст./ч. Высокие значения этого показателя отмечены у сорта Сибирский размер при использовании штамма 03 ($5155,3 \pm 878,8$ нмоль C₂H₄/раст./ч); сорта Юньнаньская – штаммов 01 ($5255,5 \pm 2036,2$ нмоль C₂H₄/раст./ч), а также 03 ($4673,0 \pm 719,0$ нмоль C₂H₄/раст./ч). В контроле (без инокуляции) активность азотфиксации была равна нулю.

Проведенные эксперименты показали достаточно высокие значения активности нитрогеназы на сортах вигны в Сибири в сравнении с данными, полученными в США при выращивании растений пяти сортов в сосудах и инокуляции эффективными штаммами USDA61 и USDA74: от $1,40 \pm 0,45$ до $8,1 \pm 4,13$ мкмоль C₂H₄/раст./ч (Keyser et al., 1982).

Анализ сопряженностей показал довольно тесную корреляционную связь между активностью азотфиксации и массой клубеньков (шт./раст.): $r = 0,78$ ($p > 0,95$), слабее – между азотфиксацией и общим количеством клубеньков: $r = 0,540$ ($p < 0,95$). Между активностью азотфиксации и количеством клубеньков больше 0,5 см за-

висимость слабая ($r = 0,061, p < 0,95$). Схожие результаты прямой зависимости азотфиксации от массы и количества клубеньков при инокуляции вигны четырьмя штаммами *B. japonicum* были получены в Институте сельскохозяйственной микробиологии НААН Украины (Крутило, 2010), но степень корреляции этих признаков была ниже (по приведенным табличным данным, $r = 0,47$ и $0,38$ соответственно). На положительную связь между азотфиксацией и количеством клубеньков указывают также авторы исследования, проведенного в Танзании (Marandu et al., 2010). Экспериментами в условиях теплицы (Wadisirisuk, Weaver, 1985) было показано, что количество бактериоидов в клубеньках возрастает с увеличением массы клубенька. В то же время авторы указывают на отсутствие стабильно тесной зависимости между активностью азотфиксации и количеством бактериоидов в клубеньках: в одном эксперименте коэффициент регрессии был $0,93$, в другом – $0,65$. На то, что количество клубеньков не всегда коррелирует с показателем активности азотфиксации, указывают и данные, полученные на горохе (Омельянюк и др., 2013; Omelyanuk et al., 2014). Вероятно, функциональное состояние клубенька при достижении им оптимального для протекания комплекса биохимических процессов размера определяет эффективность азотфиксации, а не его физический размер.

Таким образом, впервые для агроклиматических условий Сибири созданы эффективные симбиотические системы на основе двух новых сортов вигны, Сибирский размер и Юньнаньская, и двух штаммов клубеньковых бактерий *Bradyrhizobium* sp., у которых уровни нодуляционной способности и активности азотфиксации оказались сопоставимы с аналогичными показателями в традиционных районах ее производства (страны Африки, Бразилия, США). Установлены различия между двумя сортами по урожаю плодов при инокуляции растений ризобиями. Для полного использования потенциала симбиотической азотфиксации с учетом высокой нитрогеназной активности и сохранения большего количества клубеньков к концу сезона для инокуляции вигны сортов Сибирский размер и Юньнаньская целесообразно использовать штаммы 162 0501 и 164 0503. В дальнейшем в популяциях вигны необходимо выявить формы с более активной нодуляцией и азотфиксацией, определить генетический контроль этих признаков, а также изучить условия использования этих и других штаммов (температура, pH почвы), взаимодействие с микопатогенами, вызывающими заболевание корней, а также дозы и формы применения макро- и микроэлементов.

Благодарности

Авторы выражают благодарность за участие в проведении экспериментов сотрудникам ИЦиГ СО РАН: М.Н. Гляненко, Т.М. Мищенко и сотрудникам ЦСБС СО РАН Н.Я. Гордиенко и А.А. Эрст. Работа поддержана бюджетным финансированием по госзаданию, проект № 0324-2015-0005.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Вишнякова М.А., Александрова Т.Г., Буравцева Т.В., Булынец С.В., Бурляева М.О., Егорова Г.П., Семенова Е.В., Сеферова И.В., Яньков И.И. Стратегия и тактика мобилизации генетических ресурсов зернобобовых в коллекцию ВИР на рубеже XX–XXI веков. Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. Спб.: ВИР. 2012;169:41-52.
- Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию (по состоянию на 09.04.2015 г.) (дата обращения: 20.08.2015). http://www.gosort.com/ree_cont.html
- Драговоз И.В., Леонова Н.О., Иутинская Г.А. Синтез фитогормонов штаммами *Bradyrhizobium japonicum* различной симбиотической эффективности. Микробиол. журн. 2011;73(4):29-35.
- Зайцев Г.Н. Методика биометрических расчетов. М.: Наука. 1973.
- Крутило Д.В. Функціонування симбіотичної системи вигни китайська – бульбочкові бактерії. Сільськогосподарська мікробіологія: міжвідомчий тематичний науковий збірник. Чернівці: ЦНПІ. 2010;12:46-58.
- Наумова Н.Б., Фотев Ю.В., Бугровская Г.А., Белоусова В.П. Макро- и микроэлементный состав вигны, кивано, момордики и бенинказы при тепличном выращивании. Овощи России. 2014; 3(24):11-17.
- Омельянюк Л.В., Сидорова К.К., Шумный В.К. Изучение симбиотических признаков – нодуляции и азотфиксации – у районированных сортов и перспективных линий гороха (*Pisum sativum* L.) при выращивании растений на двух фонах питания азотом. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013;17(3):424-429.
- Павлова А.М. Значение спаржевой вигны для селекции. Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1959;32(3):228-232.
- Семенова И.В. Изучение способности штаммов *Bradyrhizobium japonicum* к симбиозу с *Vigna unguiculata*. VI Молодежная школа-конференция с международным участием «Актуальные аспекты современной микробиологии». Тезисы, 25–27 октября 2010 г. М., 2010:66-67.
- Серова Т.А., Цыганов В.Е. Старение симбиотического клубенька у бобовых растений: молекулярно-генетические и клеточные аспекты (обзор). С.-х. биология. 2014;5:3-15.
- Фотев Ю.В., Белоусова В.П. Вигна. Интродукция нетрадиционных плодовых, ягодных и овощных растений в Западной Сибири. Отв. ред. И.Ю. Коропачинский, А.Б. Горбунов. Новосибирск: «Гео», 2013:172-193.
- Фотев Ю.В., Кудрявцева Г.А., Белоусова В.П. Биологические особенности и продуктивность вигны овощной в условиях Сибири. Сиб. вестн. с.-х. науки. 2007;4:32-36.
- Agbenin J.O., Lombin G., Owonubi J.J. Effect of boron and nitrogen fertilization on cowpea nodulation, mineral nutrition and grain yield. Fertilizer Res. 1990;22(2):71-78.
- Awonaike K.O., Kumarasinghe K.S., Danso S.K.A. Nitrogen fixation and yield of cowpea (*Vigna unguiculata*) as influenced by cultivar and *Bradyrhizobium* strain. Field Crops Res. 1990;24(3-4): 163-171.
- Dakora F.D., Belane A.K., Mohale K.C., Makhubkdu T.I., Makhura P., Pule-Meulenberg F., Mapope N., Mogkelhe S.N., Gyoglluu C., Phatlane G.P., Muhaba S., Mokobane F., Oteng-Frimpong R. Food Grain Legumes: Their Contribution to Soil Fertility, Food Security and Human Nutrition/Health in Africa. Biological Nitrogen Fixation. Eds F.J. de Bruijn. John Wiley and Sons, Inc., 2015;2(Ch. 105): 1063-1070.
- Gómez C. Cowpea: Post-Harvest Operations. Ed. D. Mejía. FAO, Rome (Italy). 2004.
- Kahn B.A., Stoffella P.J. Nodule distribution among root morphological components of field-grown cowpeas. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 1991;116(4):655-658.
- Keyser H.H., Berkum P.V., Weber D.F. A comparative study of the physiology of symbioses formed by *Rhizobium japonicum* with *Glycine max*, *Vigna unguiculata*, and *Macroptilium atropurpureum*. Plant Physiol. 1982;70:1626-1630.

- Marandu A.E.T., Semu E., Mrema J.P., Nyaki A.S. Quantification of atmospheric N₂ fixed by cowpea, pigeonpea and greengram grown on Ferralsols in Muheza District, Tanzania. *Tanzania J. Agric. Sci.* 2010;10(1):28-37.
- Neves M.C.P., Ramos M.L.G., Martinazzo A.F., Botelho G.R., Doberiner J. Adaptation of more efficient soybean and cowpea rhizobia to replace established populations. *Biological nitrogen fixation and sustainability of tropical agriculture: Proc. of the 4th Intern. Conf. of the African Association for Biological Nitrogen Fixation (AABNF), Int. Inst. Tropical Agric., Nigeria. Sept. 24–28, 1990:219-233.*
- Omel'yanuk L.V., Sidorova K.K., Shumny V.K. Study of nodulation and nitrogen fixation in introduced cultivars and candidate lines of pea (*Pisum sativum* L.) grown at two nitrogenous nutrition levels. *Russ. J. Genet.: Appl. Res.* 2014;4(1):19-22.
- Piennar B.J., van Wyk A.E. The *Vigna unguiculata* complex (Fabaceae) in South Africa. *South Afr. J. Bot.* 1992;58:414.
- Pule-Meulenberg F., Alphonsus K., Belane A.K., Krasova-Wade T., Dakora F.D. Symbiotic functioning and bradyrhizobial biodiversity of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) in Africa. *BMC Microbiol.* 2010;10:1-12. DOI 10.1186/1471-2180-10-89
- Pule-Meulenberg, F., Dakora, F.D. Nodule Functioning and Symbiotic Efficiency of Cowpea and Soybean Varieties in Africa. *Biological Nitrogen Fixation*. Ed. F.J. de Bruijn. John Wiley and Sons, Inc, Hoboken, NJ (USA). 2015;2:1025-1030. DOI 10.1002/9781119053095.ch100
- Senaratne R., Ratnasinghe D.S. Ontogenic variation in nitrogen fixation and accumulation of nitrogen in mungbean, blackgram, cowpea, and groundnut. *Biology Fert. Soils.* 1993;16(2):125-130.
- Singh B.B. Cowpea: the food legume of the 21st century. Madison, WI., USA. 2014. DOI 10.2135/2014.cowpea URL: <http://dx.doi.org/10.2135/2014.cowpea>
- Singh B.B., Chambliss O.L., Sharma B. Recent advances in cowpea breeding. *Advances in cowpea research*. Eds B.B. Singh, D.R. Mohan, K.E. Dashiell, L.E.N. Jackai. Copublication of International Institute of Tropical Agriculture (IITA) and Japan International Research Center for Agricultural Sciences (JIRCAS). IITA. Ibadan, Nigeria. 1997:30-49.
- Wadisirisuk P., Weaver R.W. Importance of bacteroid number in nodules and effective nodule mass to dinitrogen fixation by cowpeas. *Plant Soil.* 1985;87(2):223-231.
- Wang D., Yang S., Tang F., Hongyan Zhu H. Symbiosis specificity in the legume – rhizobial mutualism. *Cell. Microbiol.* 2012;14(3):334-342. DOI 10.1111/j.1462-5822.2011.01736.x
- You Z., Marutani M., Borthakur D. Diversity among *Bradyrhizobium* isolates nodulating yardlong bean and sunnhemp in Guam. *J. Appl. Microbiol.* 2002;93(4):577-584. DOI 10.1046/j.1365-2672.2002.01733.x