

УДК 631.461.52+633.367:547.94

ВЛИЯНИЕ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ЭФФЕКТИВНОСТИ НА БИОСИНТЕЗ АЛКАЛОИДОВ У ЛЮПИНА

С. В. РОДИОНОВА, В. К. ШИЛЬНИКОВА

(Кафедра микробиологии)

Азотные удобрения повышают уровень алкалоидов в люпине [7]. О существовании определенной зависимости между содержанием азота и алкалоидов в растениях еще в 1919 г. писал Д. Н. Прянишников [9]. Фогель и Вебер [по 5], изучая влияние азотных удобрений на химический состав люпина, пришли к заключению, что синтез алкалоидов у растений, питающихся азотом симбиотрофно с помощью клубеньковых бактерий, идет более активно, чем у выращиваемых на минеральном азоте.

Исходя из существующих в настоящее время представлений о связи образования алкалоидов в люпине с обменом белковых веществ, в частности лизина и триптофана, которые являются предшественниками многих алкалоидов [10], уменьшение содержания последних в процессе развития растения следует, очевидно, объяснить их превращением в другие азотистые вещества. Это подтверждается данными опытов по введению в растения меченых алкалоидов [5]. Учитывая также зависимость синтеза белковых веществ бобовыми растениями от клубеньковых бактерий, живущих в их клетках, мы ставили задачу установить и проследить ее в слабоалкалоидных растениях люпина, инокулированных разными по эффективности штаммами клубеньковых бактерий.

Объекты и методы исследований

Люпин желтый сортов Быстрорастущий 4 и Академический 1, узколистный сорта Немчиновский 846 инокулировали штаммами *Rhizobium lupini* — активным 359 и неактивным 400 (получены из коллекции культур ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии).

Семена перед проращиванием стерилизовали концентрированной серной кислотой в течение 3 мин по Натману. Растения выращивали в условиях вегетационных опытов в лаборатории искусственного климата Тимирязевской академии в водных культурах на среде Кнопа (0,25 нормы азота; раствор меняли каждые 5—6 суток).

Об эффективности клубеньковых бактерий судили по содержанию общего азота в растениях, определяемому методом Кьельдаля (табл. 1), и продуктивности (табл. 2). Повторность опыта 5-кратная.

Содержание алкалоидов определяли нефелометрическим методом (в модификации Бойко) в 4-кратной повторности [4] по фазам развития люпина желтого сорта Быстрорастущий 4 в надземной массе и корневой системе, у других сортов — в фазу полного цветения. Чувствительность метода — 1 мкг алкалоидов в 50 мл раствора. Разница между вариантами считалась значимой, если она превышает допустимую разницу между данными параллельных определений, указанную в методике для каждого анализа, не менее чем в 1,5 раза.

Анализ на содержание лизина проводили также в онтогенезе люпина желтого сорта Быстрорастущий 4 в надземной массе и корневой системе микробиологическим методом [3], основанным на использовании *Leuconostoc mesenteroides* штамма Р 60; на содержание триптофана — по фазам бутонизации, цветения, конца вегетации и полной спелости зерна [11].

Результаты исследований и обсуждение

В процессе роста и развития люпина содержание алкалоидов, лизина и триптофана, а также белка в растениях значительно изменяется. Как видно из табл. 1, где приведены данные одного из вегетационных опытов, при активном симбиозе накопление алкалоидов в зеленой массе желтого люпина сорта Быстрорастущий 4 увеличивалось от фазы бутонизации (0,046%) к фазе полного цветения (0,072%) и достигало максимальной величины в фазу полной спелости семян (0,215%). В период начала активной азотфиксации (в фазу бутонизации) содержание алкалоидов в зеленой массе растений, различающихся по эффективности симбиозов, было почти одинаковым (0,0462 и 0,0477%). Содержание алкалоидов у растений при неэффективном симбиозе в фазу цветения оставалось на том же уровне, что и в фазу бутонизации. Семена растений, разных по активности симбиоза, резко различались по содержанию алкалоидов. Больше алкалоидов в зерне накапливалось при активном бобово-ризобийном симбиозе (0,215%), меньше — при неактивном (0,181%).

Изменения в содержании алкалоидов в фазу полного цветения прослеживались и на других сортах люпина. Значительно большее накопление алкалоидов при активном симбиозе (на ~0,0200%) в фазу полного цветения, когда особенно усиливается симбиотическая деятельность, наблюдалось у сортов Академический 1 и Немчиновский 846 (табл. 1).

Таблица 1

Содержание алкалоидов и общего азота в растениях при инокуляции штаммами клубеньковых бактерий разной степени эффективности (% на абсолютно сухое вещество)

Сорт люпина	Штамм ризобий	Бутонизация		Полное цветение		Полная спелость зерна	
		алкалоиды	общий азот	алкалоиды	общий азот	алкалоиды	общий азот
Быстрорастущий 4	359	0,046	2,80	0,072	1,73	0,215	5,78
	400	0,048	1,63	0,048	1,26	0,181	4,82
Академический 1	359			0,083	2,62		
	400			0,062	1,73		
Немчиновский 846	359			0,045	1,95		
	400			0,030	1,66		

Большее накопление алкалоидов в растениях при эффективном симбиозе, по-видимому, можно объяснить реакцией растений на более активный штамм клубеньковых бактерий. Возможно, это защитная реакция их на инокуляцию. Данное предположение согласуется с мнением ряда исследователей [1, 8] о том, что для растения не безразлично внедрение ризобий и что в начале этого внедрения они, как правило, проявляют реакцию отграничивания бактерий [1]. Возможно также, что эта реакция усиливается в случае активного симбиоза, когда деятельность ризобий более интенсивна [2].

Динамика развития люпина желтого сорта Быстрорастущий 4 в зависимости от эффективности клубеньковых бактерий

Эффективность бобово-ризобияльного симбиоза	Количество зеленой массы на сосуд в среднем по варианту, г						Длина растений в среднем на сосуд, см		
	сырой			сухой			бутонизация	цветение	конец вегетации
	бутонизация	цветение	конец вегетации	бутонизация	цветение	конец вегетации			
Активный	46,54	60,89	24,85	5,09	8,19	8,33	46,10	83,80	80,00
Неактивный	28,68	31,84	17,14	3,31	4,37	4,98	38,20	67,50	69,70
D/тД	5,0	10,2	—	4,4	10,5	—	4,0	3,2	—

Использование определенной расы клубеньковых бактерий может дать возможность воздействовать на метаболизм веществ таким образом, чтобы уменьшить образование алкалоидов. Для разработки приемов, позволяющих управлять накоплением алкалоидов, необходимо изучать алкалоидообразовательный процесс в растении, выявлять его закономерности.

Данные, полученные на люпине желтом сорта Быстрорастущий 4, свидетельствуют о том, что накопление лизина и триптофана при разной активности симбиоза происходит неодинаково: в периоды наивысшей азотфиксации — фазы бутонизации и цветения — при активном симбиозе накопление аминокислот в растениях в 2—3 раза выше, чем при неактивном (табл. 3).

Содержание лизина и триптофана в корневой системе люпина в фазу его бутонизации в обоих рассматриваемых вариантах симбиоза

Таблица 3

Динамика алкалоидов, лизина, триптофана и белка в онтогенезе люпина желтого сорта Быстрорастущий 4 при различной активности симбиоза (%)

Показатели	Активный		Неактивный	
	зеленая масса	корневая система	зеленая масса	корневая система
Бутонизация				
Алкалоиды	0,046	—	0,048	—
Лизин	0,010	0,005	0,005	0,006
Триптофан	0,124	0,090	0,064	0,096
Белок	17,50	11,25	10,19	11,25
Полное цветение				
Алкалоиды	0,072	0,030	0,048	0,023
Лизин	0,006	0,007	0,003	0,004
Триптофан	0,038	0,112	0,020	0,091
Белок	10,81	11,38	7,88	9,75
Конец вегетации				
Лизин	0,002	0,007	0,002	0,006
Триптофан	0,052	0,095	0,048	0,083
Белок	4,69	12,13	4,69	10,25
Полная спелость зерна				
Алкалоиды		0,215		0,181
Триптофан		0,248		0,200
Белок		36,13		30,12

было практически одинаковым, в фазу полного цветения — выше при активном симбиозе. К концу вегетации содержание как лизина, так и триптофана в зеленой массе и корневой системе в обоих рассматриваемых случаях симбиоза выравнивалось (табл. 3).

Итак, в период активной фиксации азота — в фазу полного цветения — синтез алкалоидных соединений возрастает при активном симбиозе, что при предварительном отборе штаммов ризобий может служить критерием их эффективности.

Различия в количестве накапливаемых алкалоидов у люпина одного сорта при заражении разными по активности штаммами клубеньковых бактерий следует учитывать при селекции. При выведении сортов безалкалоидного люпина для инокуляции необходимо брать строго определенную расу активных клубеньковых бактерий и исключать влияние спонтанного заражения и использования в сортоиспытании разных по активности штаммов, поскольку это может осложнять селекционную работу.

Резкое снижение содержания лизина и триптофана в фазу цветения и максимальное накопление алкалоидов в этот период в зеленой массе люпина могут служить подтверждением гипотезы об образовании алкалоидов из аминокислот. Большой уровень лизина и триптофана в корневой системе в случае активного симбиоза по сравнению с их уровнем при неактивном симбиозе в фазу цветения, когда наблюдается максимальное накопление алкалоидов зеленой массы растений, подтверждает результаты исследований [6], показывающие, что биосинтез алкалоидов не локализован только в листьях и других зеленых частях растений, а связан с деятельностью корней.

Выводы

1. Повышенное (в 2 раза) содержание лизина и триптофана в зеленой массе в фазу бутонизации и цветения у слабоалкалоидного люпина при активном симбиозе может быть использовано в качестве критерия эффективности штаммов ризобий при их предварительном отборе.

2. При выведении сортов безалкалоидного люпина необходимо для инокуляции использовать строго определенную расу активных клубеньковых бактерий, исключать влияние спонтанного заражения и применения в сортоиспытании разных по активности штаммов, поскольку это может осложнять селекционную работу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гойман Э. Инфекционные болезни растений. М., ИЛ, 1954. — 2. Мамедов К. Ю., Шильникова В. К., Хайлова Г. Ф. Взаимодействие клеток *Rhizobium meliloti* с каллусами корней люцерны. «Изв. АН СССР», сер. биол., 1978, № 6, с. 849—855. — 3. Методика микробиологического определения аминокислот в кормах, тканях животных и продуктах обмена. Дубровицы. Отдел ин-та информации, 1969. — 4. Методические материалы. Вып. 4, М., «Колос», 1968, с. 10—20. и 137—142. — 5. Мироненко А. В. Биохимия люпина. Минск, «Наука и техника», 1975. — 6. Мироненко А. В., Казанович Я. Н. О роли отдельных органов в биосинтезе алкалоидов люпина. «Бюл. Ин-та биологии», 1958, № 3, с. 121—124. — 7. Мироненко А. В., Носович Л. С. Влияние основных элементов минерального питания на накопление алкалоидов в люпине. «Бюл. Ин-та биологии», 1958, № 3, с. 125—128. — 8. Мишустин Е. Н., Шильникова В. К. Клубеньковые бактерии и инокуляционный процесс. М., «Наука», 1973. — 9. Прянишников Д. Н. Об использовании в пищу белка люпинов. «Изв. Петровск. с.-х. акад.», 1920, вып. 1—4, с. 260—264. — 10. Садыков А. С., Аспанов Х. А., Кушмуратов Ю. К., Алкалоиды хинолизидинового ряда. М., «Наука», 1975. — 11. Химический метод определения триптофана в зерне некоторых злаков. Методические указания ВИРА. 1973.

Статья поступила 14 июля 1978 г.

SUMMARY

In greenhouse experiments with lupines — yellow of Bystrorastushchy 4 variety, yellow of Academichesky I variety, narrow-leaved of Nemchinovsky 846 variety, bacterized strains of nodule bacteria with the efficiency of different degree, it has been established that the amount of lysin and tryptophane amino acids in the green mass in the budding stage and blooming stage in case of efficient symbiosis is 2 times higher. It may be used as a criterium of the efficiency in the preliminary selection of rhizobia strains.

In breeding alkaloid-free varieties of lupine it is necessary to ensure the inoculation of plants by a strictly definite race of active nodule bacteria, to exclude the effect of spontaneous inoculation and the use of strains with different activity in the strain testing, as it can make the breeding more complicated.