

УДК 633.34:631.441.52:581.115.035

**ЭНЕРГОЕМКОСТЬ СИМБИОТИЧЕСКОЙ АЗОТФИКСАЦИИ У СОИ  
ПРИ РАЗНЫХ УРОВНЯХ ОСВЕЩЕННОСТИ**

**Н. Н. ТРЕТЬЯКОВ, М. В. МОТОРИНА, Г. С. ПОСЫПАНОВ, Е. И. КОШКИН,  
Г. Х. ДЖАМРО**

(Кафедра физиологии растений и кафедра растениеводства)

Размеры симбиотической фиксации азота клубеньками бобовых в значительной мере определяются поступлением в них энергии от окисления ассимилятов растения-хозяина [3, 5, 6]. Установить энергоемкость процесса азотфиксации можно двумя способами [2, 4]. В первом случае сравниваются скорости накопления сухой биомассы и азота бобовыми растениями, использующими в качестве источника азота  $N_2$  и  $NO_3$ . Во втором — производится расчет расхода энергии на дыхание нодулированных растений с включением в них затрат на рост, поддержа-

ние сформировавшихся структур и азотфиксацию. При этом общие затраты энергии на дыхание интактных корней и клубеньков можно считать по следующей формуле [7]:

$$R = R_m W + R_g dW/dt + R_{fix(N)},$$

где  $R$  — общее дыхание;  $W$  — сухая масса корней с клубеньками;  $R_m$ ,  $R_g$ ,  $R_{fix(N)}$  — соответственно коэффициенты дыхания на поддержание, рост и азотфиксацию,  $t$  — время.

Для вычленения расхода энергии на азотфиксацию сравнивали дыхание нодулированных и ненодулированных корней. При этом исходили из того, что разность затрат на их дыхание связана с азотфиксацией и что на выделение 1 мг  $CO_2$  расходуется 0,68 мг углеводов. Однако полученные таким образом значения энергоёмкости азотфиксации включают и дополнительный расход ассимилятов на формирование клубеньков, их жизнедеятельность и передвижение фиксированного азота [8, 9]. Вследствие этого они получаются завышенными и колеблются в разных опытах в значительных пределах (0,4—50,0 мг углеводов на связывание 1 мг  $N_2$ ). Однако указанный недостаток методики компенсируется возможностью многократных непрерывных измерений дыхания корней и азотфиксации за короткие промежутки времени. Это позволяет пренебречь затратами на формирование и жизнедеятельность клубеньков.

В ряде работ [7, 8 и др.] показано влияние некоторых факторов среды (температуры, концентрации  $CO_2$ ) на энергоёмкость симбиотической азотфиксации. Вместе с тем в литературе крайне мало данных о зависимости этого показателя от уровня освещенности растений.

Цель настоящих исследований — установить энергоёмкость симбиотической азотфиксации у сои, выращенной при разной освещенности, путем одновременной регистрации фотосинтеза, дыхания надземной части и корней и определения размеров симбиотической азотфиксации.

### Материал и методика

Объектом исследований была соя (*Glicinia hispida* Max) сорта Северная 5. Растения выращивали в камере лаборатории искусственного климата Тимирязевской академии под люминесцентными лампами. Освещенность составляла 5 и 10 тыс. лк. Длина дня 16 ч, дневная температура 20°, ночная 18°. В сосуд емкостью 1 л на питательную смесь Хогланда с содержанием азота 0,2 нормы помещали одно растение. Раствор меняли 2 раза в неделю. Половина растений в каждом варианте освещенности была инокулирована активным штаммом *Rhizobium*. Ежедневно с 8 до 22 ч корнеобитаемую среду принудительно аэрировали. С появлением первого тройчатого листа и до полного созревания бобов через каждые 10 дней проводили биометрический анализ, определяли общую и активную поверхность корней (по Сабинину и Колосову), изучали

дневной ход фотосинтеза, динамику дыхания надземных и подземных органов растения, интенсивность симбиотической азотфиксации. Активность фотосинтеза и темнового дыхания регистрировали одновременно на разных ярусах листьев с помощью инфракрасного газоанализатора ГИП-10МБ2, используя камеры-прищепки. Этим же прибором измеряли интенсивность дыхания корневищ системы, для чего подземную часть изолировали от надземной и через корнеобитаемую среду с определенной скоростью продували наружный воздух. Поток воздуха, обогащенный углекислотой в результате дыхания корней, подавали затем с той же скоростью в камеру газоанализатора. Интенсивность азотфиксации определяли ацетиленовым методом.

Ниже приводятся средние результаты двух серий опытов.

### Формирование корневой системы и симбиотического аппарата сои. Дыхательный газообмен подземных органов

Наиболее интенсивное формирование корневой системы и клубеньков у сои начинается с 30-дневного возраста — начало цветения (рис. 1, А). Среднесуточные приросты сухой массы корней в этот период достигают до 0,05 г на 1 растение. Высокая интенсивность накопления корневой массы сохраняется до фазы полного созревания бобов. Она примерно одинакова у нодулированных и ненодулированных корней.

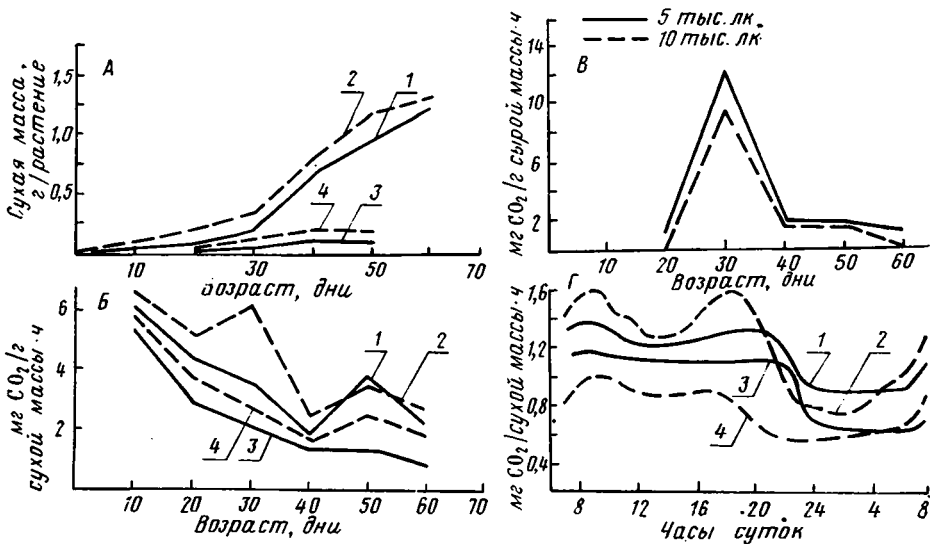


Рис. 1. Накопление сухой массы корней и клубеньков (А), дыхание корней (Б) и клубеньков (В) в онтогенезе сои и суточный ход дыхания корней в возрасте 50 дней (Г).

Для А: 1 и 2— корни, 3 и 4— клубеньки; для Б и Г: 1 и 2— нодулированные корни, 3 и 4— ненодулированные.

Масса клубеньков достигла максимума в период конец цветения — начало бобообразования. С увеличением освещенности масса корней и клубеньков возрастала. Это, видимо, можно объяснить поступлением дополнительного количества ассимилятов к подземным органам по мере улучшения радиационного режима растений.

Значительно изменялась в онтогенезе площадь активной поверхности корневой системы, она достигала максимума к концу вегетации

Таблица 1

Динамика площади активной поверхности корневой системы сои в течение вегетационного периода

Вариант освещенности, тыс. лк	Возраст, дни				
	20	30 (начало цветения)	40 (конец цветения — начало бобообразования)	50 (налив бобов)	60 (полная спелость)

Инокулированные растения

5	$\frac{3,9}{95}$	$\frac{12,1}{87}$	$\frac{33,4}{80}$	$\frac{72,0}{55}$	$\frac{70,0}{50}$
10	$\frac{4,1}{89}$	$\frac{12,4}{91}$	$\frac{33,9}{82}$	$\frac{79,6}{51}$	$\frac{75,7}{49}$

Неинокулированные растения

5	$\frac{3,7}{95}$	$\frac{12,0}{85}$	$\frac{38,7}{85}$	$\frac{74,9}{57}$	$\frac{74,8}{51}$
10	$\frac{4,2}{91}$	$\frac{12,3}{93}$	$\frac{36,9}{87}$	$\frac{75,3}{62}$	$\frac{80,8}{47}$

Примечание. В числителе — дм<sup>2</sup> на 1 растение, в знаменателе — % от площади общей поверхности.

Изменение интенсивности дыхания корней сои в онтогенезе (мг CO<sub>2</sub> за сутки)

Вариант освещенности, тыс. лк	Возраст, дни				
	20	30	40	50	60
Инокулированные					
5	8,3	45,5	29,9	66,6	64,4
	$\frac{8,3}{104,0}$	$\frac{45,5}{82,7}$	$\frac{29,9}{42,6}$	$\frac{66,6}{67,6}$	$\frac{64,4}{51,2}$
10	12,5	77,2	49,6	110,8	78,0
	$\frac{12,5}{125,6}$	$\frac{77,2}{148,0}$	$\frac{49,6}{56,9}$	$\frac{110,8}{90,0}$	$\frac{78,0}{60,0}$
Неинокулированные					
5	6,3	25,0	21,8	33,8	29,6
	$\frac{6,3}{70,2}$	$\frac{25,0}{50,0}$	$\frac{21,8}{32,0}$	$\frac{33,8}{33,8}$	$\frac{29,6}{21,8}$
10	10,4	33,5	37,7	52,3	77,7
	$\frac{10,4}{104,3}$	$\frac{33,5}{80,0}$	$\frac{37,7}{46,5}$	$\frac{52,3}{61,1}$	$\frac{77,7}{50,7}$

П р и м е ч а н и е. В числителе — на растение, в знаменателе — на 1 г сухих корней.

(табл. 1). Доля активной поверхности корней в процентах от общей, напротив, по мере старения растений резко снижалась (в 2 раза), что отражает ослабление метаболических процессов в растении. Примерно так же изменялась и дыхательная активность корней. Так, в начале вегетации она составляла 6,0—7,0 мг CO<sub>2</sub> на 1 г сухой массы в час, а в фазу налива бобов она снизилась до 1,5—2,5 мг (рис. 1, Б). Видимо, углеводы в основном расходуются на дыхание клеток активных корней с интенсивной поглотительной деятельностью и в меньшей мере — на дыхание неактивных, выполняющих главным образом транспортные функции.

Под влиянием заражения активными штаммами *Rhizobium* значительно усиливалась дыхательная активность корней (табл. 2). Очевидно, это связано с перестройкой ферментативной системы растения в ответ на внедрение в меристему корня патогена, а также активным дыханием клубеньков, особенно в первую половину вегетации. Так, дыхательная активность клубеньков 30-дневных растений, которая рассчитывалась как разница интенсивностей дыхания нодулированных и ненодулированных корней, оказалась в 20—30 раз выше, чем у корней, и составляла 95—121 мг CO<sub>2</sub> на 1 г сухой массы в час. Поэтому в период образования клубеньков и их активной азотфиксирующей деятельности корни и клубеньки выделяют примерно одинаковое количество CO<sub>2</sub>, хотя масса последних в сравнении с массой корней незначительна (табл. 2, рис. 1, В).

Максимальная дыхательная активность клубеньков у сои отмечалась в 30-дневном возрасте (рис. 1, В). К концу вегетации она резко снижалась (в 8—10 раз) и составляла 0,1—10,0 мг CO<sub>2</sub> на 1 г сухой массы в час. По-видимому, в это время значительная доля продуктов фотосинтеза перехватывается органами, расположенными в непосредственной близости от фотосинтезирующих листьев, в данном случае — бобами. В результате клубеньки быстро стареют и их азотфиксирующая способность резко снижается. В целом за вегетацию нодулированные корни выделяют примерно в 1,5—2 раза больше CO<sub>2</sub>, чем ненодулированные.

Не исключено, что продукты метаболизма симбиотического аппарата в системе клубеньки — корень непосредственно стимулируют дыхание последнего. Косвенным подтверждением этого предположения мо-

жет служить значительная активизация дыхательной деятельности корней в момент заражения их бактериями и появления клубеньковых бургов.

В суточном ходе дыхания нодулированных и ненодулированных корней сои наблюдалось два максимума: от 8 до 10 ч и от 18 до 20 ч и резкое падение активности дыхания в ночное время (на 20—60%), что особенно заметно у нодулированных корней (рис. 1, Г и рис. 2, В). Отмеченное явление, видимо, связано прежде всего с прекращением доступа ассимилятов к клубенькам в ночной период и некоторым понижением температуры (на 1—2°).

Улучшение радиационного режима выращивания усиливает дыхание корней, что, по-видимому, также связано с лучшей обеспеченностью корней дыхательным субстратом.

### Фотосинтетический и дыхательный газообмен сои и формирование урожая

Ассимиляционная деятельность растений определяется в основном интенсивностью фотосинтеза, характером развития ассимиляционного аппарата и дыханием растений в течение вегетационного периода. Имеющиеся в настоящее время данные о возрастных изменениях фотосинтетической активности отдельных листьев в меняющихся или факторостатных условиях выращивания не дают возможности оценить газообмен всего растения как функцию комплексного действия радиационных режимов в посеве, изменяющихся по мере нарастания площади листьев, и возрастных изменений самих растений.

Т а б л и ц а 3

Характеристика фотосинтетической и дыхательной деятельности растений в течение вегетации

Вариант освещенности, тыс. лк	Возраст, дни	Поглощено CO <sub>2</sub> за световой период	Выделено CO <sub>2</sub> при дыхании за сутки*	Поглощено CO <sub>2</sub> за сутки	Отношение дыхания к фотосинтезу, %	Отношение дыхания надземной части к дыханию корней, %
		мг/растение				
Инокулированные растения						
5	20	98,3	9,9	88,4	10	21
	30	416,0	59,1	356,9	14	30
	40	503,9	38,6	465,3	8	29
	50	355,2	83,2	272,0	23	25
	60	333,7	77,5	256,2	23	22
10	20	110,8	15,7	95,1	14	25
	30	394,2	102,7	291,5	26	33
	40	619,8	62,8	557,0	10	27
	50	560,0	133,4	426,6	24	20
	60	560,0	133,4	426,6	24	20
Неинокулированные растения						
5	20	87,4	7,8	79,6	9	23
	30	234,5	33,2	201,3	14	33
	40	268,8	31,1	237,7	12	42
	50	273,1	46,3	226,8	27	37
	60	269,1	32,5	236,6	12	45
10	20	110,8	14,0	96,8	13	27
	30	337,0	46,0	291,0	13	43
	40	394,7	53,1	346,6	13	41
	50	297,4	74,7	222,7	26	43
	60	308,4	100,9	207,5	33	24

\* Дыхание горня за сутки + темновое дыхание надземной части растения.

## Фотосинтетическая поверхность и интенсивность фотосинтеза сои в онтогенезе

Вариант освещенности, тыс. лк	Фотосинтетическая поверхность, $\text{дм}^2/\text{растение}$					Поглощено $\text{CO}_2$ , $\text{мг}/\text{дм}^2 \cdot \text{ч}$				
	возраст, сут									
	20	30	40	50	60	20	30	40	50	60
Инокулированные растения										
5	1,90	3,06	3,38	3,74	3,38	3,23	8,45	9,30	5,91	6,16
10	2,40	3,62	3,62	3,22	3,26	2,89	6,79	10,67	10,76	10,70
Неинокулированные растения										
5	2,20	2,54	2,88	3,20	3,38	2,48	5,71	5,85	3,39	5,05
10	2,36	2,94	3,00	3,10	3,00	2,89	7,32	8,23	5,94	6,42

В наших опытах, проведенных в постоянных условиях выращивания, установлено, что в ходе поглощения  $\text{CO}_2$  растением за вегетационный период имеется один максимум, приходящийся на 40—50-дневный возраст (табл. 3). Именно к этому времени листовая поверхность достигает 2,9—3,7  $\text{дм}^2$  на 1 растение (табл. 4), а интенсивность фотосинтеза — 9,3—10,7  $\text{мг CO}_2/\text{дм}^2 \cdot \text{ч}$  (табл. 5). В дальнейшем наблюдалось значительное снижение активности ассимиляционного аппарата, что связано с возрастными изменениями и ухудшением освещенности листьев нижних ярусов.

С увеличением освещенности до 10 тыс. лк фотоассимиляция  $\text{CO}_2$  повысилась за вегетационный период на 25—30%. Это в значительной

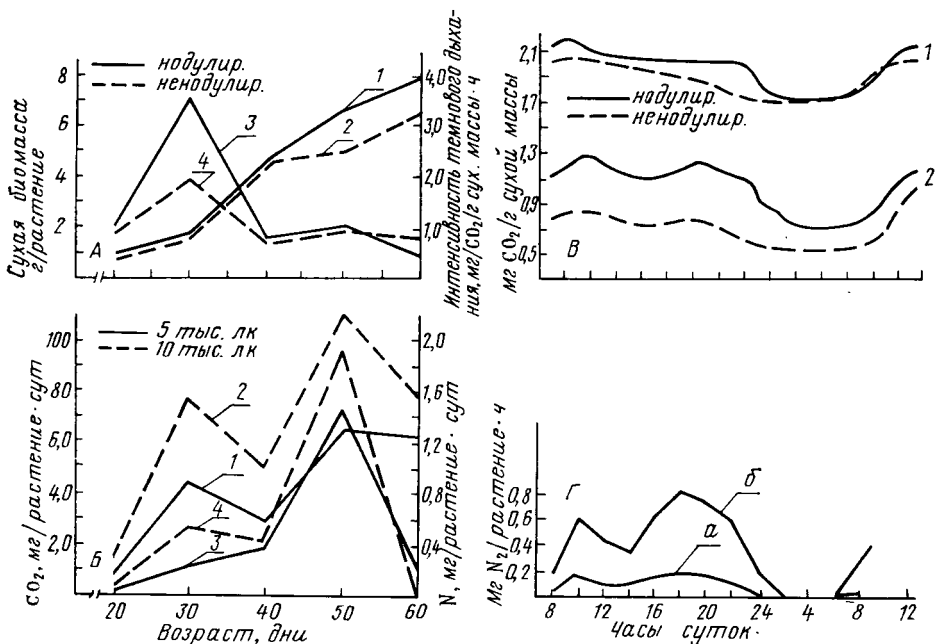


Рис. 2. Накопление биомассы, интенсивность темного дыхания сои при освещенности 10 тыс. лк (А); дыхание нодулированных корней и симбиотическая азотфиксация (Б) в онтогенезе; суточный ход дыхания корней сои (В) в возрасте 20 (1) и 40 (2) дней; суточный ход азотфиксации сои (Г) в возрасте 40 (а) и 50 (б) дней.

Для А: 1 и 2—накопление биомассы, 3 и 4—интенсивность темного дыхания; для Б: 1 и 2—дыхание, 3 и 4—азотфиксация.

Накопление сухой биомассы и интенсивность темного газообмена сои  
в онтогенезе

Вариант освещенности, тыс. лк	Сухая биомасса, г/растение					Выделено CO <sub>2</sub> , мг/г сухой массы				
	возраст, сут									
	20	30	40	50	60	20	30	40	50	60
Инокулированные растения										
5	0,59	1,19	3,59	4,78	6,26 (0,72)	0,95	3,03	0,65	1,01	0,69
10	0,89	1,80	4,76	6,64	7,67 (0,94)	1,02	3,61	0,78	1,12	0,69
Неинокулированные растения										
5	0,57	1,20	4,02	4,80	6,87 (0,60)	0,78	1,73	0,52	0,63	0,43
10	0,79	1,60	4,65	5,14	6,73 (0,68)	0,90	1,95	0,75	0,97	0,82
НСР <sub>05</sub>					0,39 (0,08)					

Примечание. В скобках сухая масса бобов в граммах.

мере обусловлено лучшим развитием ассимиляционного аппарата в первой половине вегетации, что обеспечило более благоприятные условия для интенсивного газообмена и накопления биомассы (табл. 4, 5, рис. 2, А). При низкой освещенности отмечался довольно медленный рост листовой поверхности, который продолжался до конца вегетации.

У инокулированных растений интенсивность фотосинтеза в течение всего вегетационного периода при обоих уровнях освещения была выше, чем у неинокулированных. Очевидно, с появлением клубеньков на корнях в растениях возникает необходимость в увеличении интенсивности фотосинтеза для обеспечения нового потребителя ассимилятами. У тех и других растений листовая поверхность была примерно одинаковой, но последние из-за более низкой интенсивности фотосинтеза в течение всей вегетации поглотили примерно в 1,5 раза меньше CO<sub>2</sub>, чем первые. У растений с клубеньками общее поглощение CO<sub>2</sub>, рост сухой надземной массы и урожай бобов выше, чем у растений без клубеньков. Так, при низкой освещенности масса бобов у инокулированных растений была на 20 % больше, чем у неинокулированных, а при более высокой — на 50 %.

Суммарное поглощение CO<sub>2</sub> растениями за вегетационный период наряду с фотосинтезом зависит также от интенсивности дыхания надземных и подземных органов растений и ее изменения в онтогенезе. В настоящее время считается установленным, что этот показатель зависит от обеспеченности тканей дыхательным субстратом.

Онтогенетическая динамика дыхательной активности целого растения объясняется многими факторами, в том числе старением тканей, сменой дыхательных систем, изменением соотношения фототрофных и гетеротрофных органов [1].

По нашим данным, с возрастом и нарастанием биомассы происходит усиление дыхания целого растения, но интенсивность дыхания единицы биомассы существенно снижается, что особенно заметно во вторую половину вегетации (табл. 5, рис. 2, А).

Дыхательная активность инокулированных растений выше, чем у неинокулированных. Она достигала максимума, как и у растений без клубеньков, в 30-дневном возрасте и составляла 3,03 мг CO<sub>2</sub> на 1 г сухой массы в час при освещенности 5 тыс. лк, и 3,61 — при 10 тыс. лк. Примечательно, что максимумы дыхательной активности целого ноду-

Энергоемкость симбиотической азотфиксации сои при разном уровне освещенности  
(числитель — 5 тыс. лк, знаменатель — 10 тыс. лк)

Показатели	Возраст растений, сут					В среднем за веге- тацию
	20	30	40	50	60	
Израсходовано углеводов на азотфиксацию, мг/раст·сут	1,36	13,97	5,48	22,98	22,98	695
	1,41	29,71	8,13	39,98	—	792
Связано азота, мг N <sub>2</sub> /раст·сут	—	0,20	0,40	1,30	0,30	22
	—	0,55	0,40	1,95	—	29
Энергоемкость азотфиксации, мг углеводов на 1 мг N <sub>2</sub>	—	69,85	13,70	17,14	76,0	59
	—	54,00	20,30	20,19	—	27

лированного растения и клубеньков совпадают, что указывает на важный вклад дыхания клубеньков в темновое дыхание растения. Следует отметить, что отношение интенсивности дыхания к уровню фотосинтеза у целого растения в онтогенезе возрастает (табл. 3) и выше оно у нодулированных растений. Видимо, это объясняется ослаблением фотосинтеза к концу вегетации и усилением дыхания. В среднем за вегетацию выделение CO<sub>2</sub> при дыхании растений мало различалось по вариантам и составляло 16—20% от количества углекислоты, поглощенной при фотосинтезе. Отношение дыхания надземной части к дыханию корней, напротив, у нодулированных ниже. Очевидно, большая интенсивность дыхания таких растений необходима для обеспечения энергией процесса симбиотической азотфиксации. Действительно, наши исследования показывают, что периоды высокой дыхательной активности нодулированных корней и интенсивного связывания атмосферного азота совпадают (рис. 1, Г и 2, В, Г), т. е. фиксация азота бактероидами в клубеньках в значительной мере определяется поступлением ассимилятов от растения-хозяина. Кривая суточного хода азотфиксации сои следует за кривой суточного хода дыхания в соответствующие фазы с максимумами в 8 и 18 ч (рис. 2, Г). Интенсивность азотфиксации возрастает от конца цветения до начала налива бобов (50-дневный возраст) и резко снижается в фазу созревания бобов (табл. 6).

При относительно низкой интенсивности освещения процесс азотфиксации растягивается.

Обращает на себя внимание чрезвычайно высокая энергоемкость связывания атмосферного азота в ранние фазы развития — 54,0—70,0 мг углеводов на 1 мг азота (табл. 6). Очевидно, это можно объяснить тем, что в данный период ассимиляты, поступающие от растения-хозяина, расходуются в большей мере на формирование новообразований в клубеньках. К концу вегетации показатель энергоемкости снижается в обоих вариантах до 17,0—20,0 мг. Видимо, именно эти значения затрат энергии на фиксацию молекулярного азота следует считать наиболее реальными.

При улучшении радиационного режима отмечается более эффективное использование ассимилятов на азотфиксацию. В среднем за вегетацию количество связанного азота в варианте с освещенностью 10 тыс. лк было в 1,3 раза выше, а энергоемкость азотфиксации на 14% ниже, чем при освещенности 5 тыс. лк (табл. 6).

### Выводы

1. Периоды наиболее активной фотосинтетической, дыхательной деятельности и симбиотической фиксации атмосферного азота у сои совпадают и приходятся на период цветения — налив бобов.



2. Дыхательная активность нодулированных корней сои была выше в 1,3—1,8 раза, а надземной части — на 20—40 %, чем ненодулированных. С улучшением радиационного режима дыхательные затраты растений возрастали в 1,2—1,7 раза.

3. С повышением освещенности ассимиляции  $\text{CO}_2$  растениями возрастала на 25—30 %, количество связанного азота — в 1,3 раза, а энергоемкость азотфиксации снижалась на 14 %.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Рубин Б. А., Ладыгина М. Е. Физиология и биохимия дыхания растений. М.: Изд-во МГУ, 1974. — 2. Bond G. — Ann. Bot., 1941, vol. 5, p. 313—337. — 3. Bethlenealvay G. J., Phillips D. A. — Plant Physiol., 1977, vol. 60, p. 868—871. — 4. Gibson A. H. — Austr. J. Biol. Sci., 1966, vol. 19, p. 499—513. — 5. Hardy R. W. F., Havelka U. D. — Sci., 1975, N 88, p. 633—643. — 6. Lawn R. Y., Brun W. A. — Crop. Sci., 1974, vol. 14, p. 11—16. — 7. Mahon I. D. — Plant Physiol., 1979, vol. 63, p. 830—838. — 8. Minchin F. R., Pate J. S. — J. Exp. Bot., 1973, vol. 24, p. 259—271. — 9. Rytle G. I., Powell A. C. E. — Ann. Bot., 1978, vol. 42, p. 637—648.

*Статья поступила 3 августа 1981 г.*

#### SUMMARY

The experiments were conducted at the Timiryazev Academy phytotron. In soya grown under stationary conditions and under illumination equally 5 and 10 thousand lx, the accumulation of biomass and the intensiveness of photosynthesis and leaf and root respiration, as well as that of nitrogen fixation during the growing period were studied.

It is found that periods of the most active photosynthetic and respiratory activity and symbiotic nitrogen fixation in soya coincide and fall on blooming-bean forming period. Respiration in roots having nodules is 1.3—1.8 times higher, and in the above-ground portion — 1.2—1.4 times higher than in plants without nodules. Under improved radiation conditions,  $\text{CO}_2$  absorption becomes 1.2—1.3 times higher, energy consumption for respiration increases 1.2—1.7 times, while that for nitrogen fixation decreases by 14 %.