

УДК 633.31:631.811.1

СОДЕРЖАНИЕ ЛЕГГЕМОГЛОБИНА И АКТИВНОСТЬ ДЕГИДРОГЕНАЗ В КЛУБЕНЬКАХ ЛЮЦЕРНЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ ВЫРАЩИВАНИЯ

Г. С. ПОСЫПАНОВ, Б. А. ЧЕРНОВ, В. И. ЧЕРНОВА

(Кафедра растениеводства ТСХА, Государственная
сельскохозяйственная опытная станция Коми АССР)

В окислительно-восстановительных процессах, проходящих при симбиотической фиксации атмосферного азота в клубеньках бобовых, важная роль принадлежит леггемоглобину [3] и ферментам дегидрогеназам [4].

На образование леггемоглобина (Лб), а также активность дегидрогеназ существенное влияние оказывают обеспеченность растений элементами минерального питания и почвенно-климатические условия. Так, повышенное содержание в почве доступных калия и фосфора увеличивает концентрацию красного пигмента [7, 10] и активность дегидрогеназ [5, 7], а повышенное содержание азота снижает их и ингибирует образование клубеньков [7, 10]. Активность дегидрогеназ уменьшается и по мере роста и развития растений [6, 9].

Микроэлементы — молибден, бор, кобальт, медь — способствуют повышению концентрации Лб [1, 11], а высокое содержание в почве подвижного цинка (5 мг на 100 г почвы) снижает ее в 9 раз [12].

Кислая реакция почвенного раствора, низкие температуры почвы и воздуха, длительная недостаточная освещенность сдерживают образование Лб или способствуют необратимому переходу его в неактивные пигменты [7, 13].

При интродукции люцерны в хозяйства Коми АССР важно знать, как влияют кислотность почвы, обеспеченность растений фосфором, калием и азотом на содержание леггемоглобина и активность дегидрогеназ в клубеньках люцерны в разные годы ее жизни в новых для нее климатических условиях.

Методика

Опыты с люцерной Северная гибридная 69 проводили в 1974—1978 гг. в экспериментальном хозяйстве Государственной сельскохозяйственной опытной станции Коми АССР на подзолистых среднесуглинистых почвах, различающихся по плодородию. В окультуренной почве содержалось подвижных фосфора и калия 37 и 16—30 мг, в слабоокультуренной почве на вновь освоенном участке из-под леса — соответственно 10—13 и 8—13 мг на 100 г почвы. В первом случае $pH_{\text{соль}}$ 6,3—6,8, во втором — 4,5—5,2 (после известкования — 6,0). Схема опытов следующая: 1 — контроль, 2 — известкование, далее по извест-

кованию: 3 — РК, 4 — $\text{PKN}_{1/3}$, 5 — $\text{PKN}_{2/3}$, 6 — PKN_1 .

Опыты заложены методом рендомизированных блоков в 4-кратной повторности. Учетная площадь делянок 25 (окультуренная почва) и 100 м² (слабоокультуренная почва). Осенью предшествующего года проведена зяблевая вспашка, внесена доломитовая мука в дозах соответственно 5 и 12 т/га. Дозы удобрений по опытам следующие: P_2O_5 — 20 и 152, K_2O — 89 и 115 кг/га в год. Полная доза азота под укос составляла 109—165 кг/га.

Простой суперфосфат, хлористый калий на все годы использования трав и бор в

расчете 1 кг/га вносили как основное удобрение, аммиачную селитру — рано весной и после укосов (кроме последнего).

1974, 1975 и 1977 годы отличались сравнительно теплыми для данной широты вегетационными периодами и значительным дефицитом влаги, 1976 год был уме-

ренно теплым с обильными неравномерными осадками, 1978 год — самый холодный и влажный.

Содержание Лб и активность дегидрогеназ в клубеньках определяли по методике, приведенной в [1, 2]. Пробы отбирали по фазам вегетации.

Результаты и их обсуждение

Как показали наши исследования, в условиях Коми АССР на окультуренных почвах наибольшее влияние на концентрацию Лб в клубеньках люцерны оказывает водообеспеченность. При недостатке влаги в первый год жизни растений (1974) на корнях образовались единичные мелкие клубеньки серого цвета. Лб не был обнаружен даже в начале бутонизации, а появился лишь к концу вегетации, когда периодически выпадающие осадки поддерживали влажность почвы на оптимальном уровне (выше 80 % ППВ). Концентрация его достигла 14,5 мг на 1 г сырых клубеньков (табл. 1).

Т а б л и ц а 1

Содержание леггемоглобина (мг/г сырых клубеньков) в клубеньках люцерны

Фаза развития	Контроль	Известь	По извести			
			РК	РК _{N₁/3}	РК _{N₂/3}	РК _{N₁}
Окультуренная почва						
1974 г.						
Начало бутонизации	0	0	0	0	0	0
Конец вегетации	11,4	12,5	14,5	13,4	11,1	10,4
1975 г.						
Весеннее отрастание	11,8	11,6	11,7	5,6	2,5	2,5
Стебление	21,4	23,1	23,7	15,9	7,4	8,4
Бутонизация	20,1	22,5	22,1	17,8	17,4	13,2
Отрастание после 1-го укоса	0	0	0	0	0	0
1976 г.						
Весеннее отрастание	8,3	11,8	12,4	0	0	0
Стебление	9,3	7,4	10,7	6,4	6,0	0
Бутонизация	5,0	6,8	7,0	6,2	6,6	1,3
Отрастание после 1-го укоса	3,4	3,5	4,9	3,0	2,8	0
1977 г.						
Весеннее отрастание	2,5	2,9	3,4	1,0	0	0
Бутонизация и отрастание после укоса	0	0	0	0	0	0
Слабоокультуренная почва						
1975 г.						
Стебление	0	Сл.	Сл.	0	0	0
Бутонизация	4,3	6,8	8,5	7,7	8,0	6,9
1976 г.						
Стебление	9,1	12,4	13,7	11,2	10,4	9,8
Бутонизация (1-й укос)	3,0	6,2	6,7	5,5	4,6	4,5
Отрастание после укоса	0	Сл.	Сл.	0	0	0
Бутонизация (2-й укос)	7,5	9,6	12,7	7,8	7,0	8,0
1977 г.						
Весеннее отрастание	0	1,5	1,9	1,1	0	0
Бутонизация	0	0	0	0	0	0

На следующий год почти до конца июня влажность пахотного горизонта почвы удерживалась на уровне около 80 % ППВ и содержание Лб было самым высоким — до 24 мг/г. В начале июля влажность почвы снизилась до 38, а далее — до 27 % ППВ, Лб перешел в холеглобин, до конца вегетации клубеньки имели серо-зеленый цвет, и большая часть их разрушилась.

В 1977 г. невысокая концентрация красного пигмента была отмечена лишь в мае в течение 14 дней в фазу отрастания, когда влажность почвы составляла около 80 % ППВ. Со снижением влажности почвы клубеньки приобрели серый цвет и Лб больше не образовывался.

Аналогичная зависимость концентрации Лб от влагообеспеченности наблюдалась и на слабоокультуренной почве.

Таким образом, даже в условиях Коми АССР для поддержания в течение вегетации высокой концентрации Лб в клубеньках люцерны, а значит, и высокой активности симбиоза необходимо орошение, обеспечивающее влажность пахотного слоя почвы в пределах 75—100 % ППВ.

Известкование кислых почв ($pH_{\text{сол}} 4,5—5,2$) резко повышает концентрацию Лб. Даже на окультуренных почвах ($pH_{\text{сол}} 6,3—6,8$) внесение извести всегда увеличивает содержание Лб.

Фосфорно-калийные удобрения во всех случаях повышают содержание красного пигмента, особенно накопление его в расчете на гектар (табл. 2). При совместном воздействии извести и РК количество Лб на гектаре увеличивалось в 9—13 раз.

В вариантах с минеральным азотом концентрация Лб снижалась на обоих типах почв, и тем сильнее, чем выше была его доза. Особенно сильно уменьшалось содержание Лб в фазу весеннего отрастания, т. е. сразу после внесения азота. Так, в этих вариантах на окультуренной почве его содержалось в 5,1—11,5 раза меньше, чем в варианте РК, на слабоокультуренной почве Лб вообще отсутствовал.

В 1976 г. в период весеннего отрастания люцерны на окультуренной почве в вариантах с азотом леггемоглобина не было до фазы стеб-

Т а б л и ц а 2

Содержание и накопление леггемоглобина в клубеньках люцерны в зависимости от минеральных удобрений и плодородия почвы (среднее за 1975—1977 гг.)

Варианты	Содержание Лб в сырых клубеньках, мг/г				Накопление, кг/га			
	фаза							
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Окультуренная почва								
Контроль	7,53	10,21	8,37	6,60	1,63	3,02	1,61	0,32
Известь	8,77	12,67	9,97	6,07	1,98	3,18	2,02	0,42
Известь +РК	9,17	11,46	9,71	5,87	2,28	3,82	2,28	0,52
» +РК $N_{1/3}$	1,85	7,44	8,00	4,27	0,30	1,26	1,22	0,14
» +РК $N_{2/3}$	0,83	4,47	7,99	4,71	0,09	0,51	0,76	0,13
» +РК N_1	0,83	2,80	4,84	3,36	0,06	0,27	0,30	0,08
Слабоокультуренная почва								
Контроль	0,0	2,28	1,79	1,30	0,0	0,06	0,08	0,01
Известь	0,38	3,09	3,25	2,29	0,0	0,54	1,51	0,17
Известь +РК	0,50	3,42	3,50	3,02	0,01	0,78	1,97	0,35
» +РК $N_{1/3}$	0,28	2,79	3,75	1,92	0,0	0,42	0,96	0,09
» +РК $N_{2/3}$	0,0	2,61	3,44	1,58	0,0	0,34	0,66	0,05
» +РК N_1	0,0	2,46	2,49	1,64	0,0	0,16	0,44	0,02

П р и м е ч а н и е. I — весеннее отрастание, II — стебление, III — бутонизация, IV — отрастание после укоса.

левания, а в варианте РК его количество достигло 12,4 мг на 1 г сырых клубеньков. В среднем за 3 года содержание Лб после весенней подкормки азотом при дозе $N_{1/3}$ было в 5 раз, при дозе N_1 — в 11 раз ниже, чем в варианте РК. Однако к фазам стеблевания и бутонизации, когда значительная часть минерального азота удобрений использовалась растениями и закреплялась в почве, эти различия несколько сглаживались. Даже при полной дозе азота Лб было всего в 2—4 раза меньше, чем в варианте РК.

При поукосной подкормке азотными удобрениями содержание Лб снижалось так же, как и при весенней подкормке. В среднем за 3 года в период послеукосного отрастания количество Лб (кг/га) в варианте с полной дозой азота на окультуренной почве было в 7, а на слабоокультуренной — в 17 раз меньше, чем в варианте РК.

Следовательно, азотная подкормка люцерны в любых дозах, подавляя азотфиксацию в клубеньках, задерживает и образование в них леггемоглобина, особенно в первые дни после внесения азота.

Динамика накопления Лб в зависимости от условий выращивания показана на рисунке. На кислых почвах даже при внесении полной нормы азота на фоне известкования и фосфорно-калийных удобрений его количество на гектаре было в 5,5 раза больше, чем на неизвесткованной почве без азотных удобрений. Этот факт говорит о том, что для активной фиксации азота воздуха люцерной известкование имеет первостепенное значение.

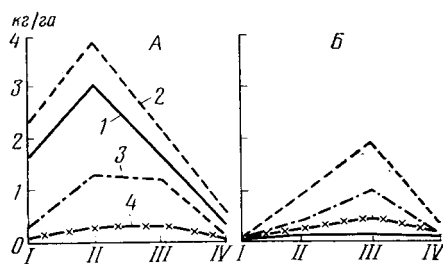
При благоприятной водообеспеченности на окультуренной почве концентрация леггемоглобина в клубеньках и накопление его на гектаре повышаются от начала весеннего отрастания растений до бутонизации (до укоса). После укоса из-за резкого уменьшения притока углеводов к клубенькам эти показатели ниже, чем в фазу бутонизации, на окультуренной почве в 4 раза, а на слабоокультуренной — от 3 до 20 раз.

При многоукосном использовании люцерны содержание Лб в клубеньках, а также накопление его на гектаре можно представить синусоидальными кривыми с постепенно уменьшающимися амплитудами колебаний. В отличие от однолетних бобовых культур у люцерны концентрация Лб в клубеньках остается достаточно высокой до конца вегетации, клубеньки имеют розовый цвет и фиксируют азот воздуха.

Аналогичные закономерности отмечены нами и в опытах с люцерной в Московской области [7].

Рассчитанный нами потенциал леггемоглобина (ПЛб) — обобщающий показатель его количества на гектаре и продолжительности функционирования в клубеньках — был выше на окультуренной почве (табл. 3).

Наиболее высокий ПЛб во все годы исследований наблюдался в варианте РК и составлял в среднем 89 кг·дней/га. При внесении азотных удобрений на окультуренной почве в среднем за годы опытов он уменьшился в 6,9, на слабоокультуренной — в 3,6 раза по сравнению с вариантом РК. Подкормки даже малыми дозами азотных удобрений ($1/3$ дозы) снижали ПЛб в несколько раз. Так, в 1975 г., благоприят-



Динамика накопления Лб в клубеньках люцерны (среднее за 1975—1977 гг.). А — окультуренная почва; Б — слабоокультуренная почва. I — весеннее отрастание; II — стеблевание; III — бутонизация; IV — отрастание после укоса; 1 — контроль; 2 — известь+ПК; 3 — известь+ПКН $_{1/3}$; 4 — известь+ПКН $_1$.

ном для симбиоза, на окультуренной почве при дозе азота 36 кг/га, внесенной за 2 раза равными долями, потенциал ПЛб уменьшился в 3 раза, а в 1977 г. на слабоокультуренной почве — в 17 раз.

В 1977 г. при дефиците влаги в почве ПЛб в варианте РК был низким и при внесении как $\frac{2}{3}$, так и полной дозы азота на обеих почвах снижался до нуля.

Т а б л и ц а 3

Потенциал леггемоглобина (кг-дней/га)
на почвах различной окультуренности

Год	Контроль	Известь	По извести			
			РК	РК $N_{1/3}$	РК $N_{2/3}$	РК N_1
Окультуренная почва						
1974	22	23	36	28	26	25
1975	216	220	233	89	37	25
1976	43	48	70	18	12	0
1977	3	7	16	5	0	0
Средний	71	74	89	35	19	13
Слабоокультуренная почва						
1975	1	6	8	5	6	5
1976	4	53	71	36	29	21
1977	0	13	17	1	0	0
Средний	2	24	32	14	12	9

Активность дегидрогеназ на окультуренной почве была значительно выше, чем на слабоокультуренной. В первом случае во время весеннего отрастания люцерны и формирования молодых клубеньков, когда леггемоглобин только начинал появляться, она была максимальной (табл. 4), с возрастом растений снижалась и в послеуборочный период уменьшалась в 3,5 раза. На слабоокультуренной почве малочисленные мелкие клубеньки на корнях люцерны весной имели бледную окраску, активности дегидрогеназ в них не отмечено.

Известкование кислых почв и внесение фосфорно-калийных удобрений повышали концентрацию леггемоглобина и дегидрогеназ.

Под влиянием азотных удобрений активность ферментов снижалась. Так, в фазу бутонизации полная доза азота уменьшала концентрацию леггемоглобина и активность дегидрогеназ в 2 раза. Аналогичная закономерность отмечена и на слабоокультуренной почве в 1978 г.

Являясь переносчиком электронов и водорода к активированному азоту в процессе азотфиксации дегидрогеназы при внесении азотных удобрений резко снижают свою активность, в результате ослабляется или даже прекращается полностью симбиотическое усвоение азота.

Т а б л и ц а 4

Изменение активности дегидрогеназ в клубеньках люцерны в онтогенезе под влиянием минеральных удобрений (мг формазана на 1 г сырых клубеньков, в среднем за 1975, 1978 гг.)

Фаза развития	Контроль	Известь	По извести			
			РК	РК $N_{1/3}$	РК $N_{2/3}$	РК N_1
Окультуренная почва						
Весеннее отрастание	4,07	5,78	6,96	1,50	1,52	0,98
Стеблевание	2,07	2,56	2,86	0,91	0,92	0,90
Бутонизация	2,80	2,90	2,99	1,56	1,50	1,41
Отрастание после укоса	1,28	1,94	1,93	1,94	1,72	1,57
Слабоокультуренная почва						
Стеблевание	0,93	1,59	1,77	0,85	0,78	0,77
Бутонизация	1,21	2,53	3,45	2,31	1,92	1,56

На слабоокультуренной почве в ранневесенний период холодного 1978 г. ферментные системы дегидрогеназ не проявили активности до фазы стеблевания люцерны, т. е. до образования леггемоглобина.

Следовательно, наряду с концентрацией леггемоглобина в клубеньках степень дегидрогеназной активности может быть использована в качестве косвенного показателя при определении интенсивности процесса азотфиксации у люцерны.

Заключение

Содержание леггемоглобина в клубеньках люцерны зависит от плодородия почвы, фазы развития растений, условий азотного питания. Оно выше на хорошо окультуренной известкованной почве с высоким содержанием подвижного фосфора и калия. Азотные удобрения, подавляя развитие клубеньков, снижали концентрацию в них леггемоглобина. Максимальной она была в период стеблевания — бутонизация, минимальной — после укоса. При недостаточной влагообеспеченности леггемоглобин в клубеньках разрушается.

Активность дегидрогеназ также наиболее высокой была на окультуренной почве и при достаточном увлажнении. На кислых почвах известкование и внесение фосфорно-калийных удобрений значительно повышало активность ферментов. Она снижалась с возрастом растений, а также при подкормке люцерны азотными удобрениями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жизневская Г. Я., Дмитриева М. И., Ягодин Б. А., Васильева А. В. Действие меди и кобальта на содержание леггемоглобина в клубеньках люпина и кормовых бобов. — Изв. АН СССР. Сер. биол., 1967, № 2, с. 203. — 2. Жизневская Г. Я., Бороденко Л. И., Дмитриева М. И. О влиянии меди на малат-дегидрогеназную и сукцинат-дегидрогеназную активность в клубеньках люпина. — Агрохимия, 1969, № 6, с. 96—105. — 3. Жизневская Г. Я. Медь, молибден и железо в азотном обмене бобовых растений. М.: Наука, 1972. — 4. Мишустин Е. Н., Шильникова В. К. Биологическая фиксация атмосферного азота. М.: Наука, 1968. — 5. Пейве Я. В., Жизневская Г. Я., Ягодин Б. А., Дубова Л. Н. Изучение активности дегидрогеназ в клубеньках кормовых бобов в связи с проблемой участия микроэлементов в азотфиксации. — Агрохимия, 1964, № 12, с. 27—32. — 6. Пейве Я. В. Биохимия микроэлементов и проблемы азотного питания растений. — Вестн. АН СССР, 1965, № 1, с. 42. — 7. Посыпанов Г. С., Чернова В. И., Кашин М. А. Формирование симбиотического аппарата и содержание леггемоглобина в клубеньках люцерны. — Докл. ТСХА, 1977, вып. 234, с. 25—30. — 8. Чернов Б. А. Изучение приемов повышения азотфиксации многолетних бобовых трав на дерново-подзолистой почве. — Автореф. канд. дис. Кострома, 1970. — 9. Шильникова В. К., Поглазова М. Н. Дегидрогеназная активность клубеньковых бактерий различной эффективности в условиях симбиоза. — Изв. ТСХА, 1966, вып. 5, с. 41—45. — 10. Haghparast-Tahna M. — Fertilizer Use, 1975, p. 169—178. — 11. Mulder E. G. — Plant and Soil, 1954, vol. 5, N 4, p. 368. — 12. Tilak K. — Acta Agron. Acad. Sci. Hung., 1973, vol. 22, N 1/2, p. 185—188. — 13. Virtanen A. L., Leine L. — Nature, 1946, vol. 157, N 3975, p. 25.

Статья поступила 30 апреля 1980 г.

SUMMARY

In field experiments on cultivated and low-cultivated soils in the middle taiga of the Kommi ASSR, variations in the dynamics of leg-hemoglobin and the activity of dehydrogenase enzymes in alfalfa with soil acidity, supply of phosphorus and potassium and different rate of nitrogenous fertilizers were studied for the first time.

On the average during 3 years the highest accumulation (3.8 kg/ha) and leg-hemoglobin potential (89 kg-days/ha) on cultivated soil were found in the version with liming and application of phosphoric and potash fertilizers, the activity of dehydrogenases being the highest, too. On acid soils these values were several times lower. The application of nitrogenous fertilizers in spring and after each cutting resulted in the lower values, the reduction being the higher, the higher the rate of nitrogen. Dehydrogenase activity was the highest in the period of spring aftergrowth, it decreased by the phase of cutting maturity, and after cutting it was 3.5 times lower than in spring. On low-cultivated soil these enzymes were not active in spring and after cutting.