

УДК 633.31/37:576.85

**ИЗМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ЛЕГГЕМОГЛОБИНА В КЛУБЕНЬКАХ
ЗЕРНОБОБОВЫХ КУЛЬТУР ПО ФАЗАМ РАЗВИТИЯ
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ ВЫРАЩИВАНИЯ**

Л. А. БУХАНОВА, Г. С. ПОСЫПАНОВ, Т. П. КОБОЗЕВА
(Кафедра растениеводства)

Исследования проводились с одиннадцатью видами однолетних зерновых бобовых культур. Установлено, что концентрация леггемоглобина определяется анатомическим строением клубеньковой ткани: чем плотнее оболочки клубеньков и чем глубже расположены в них бактериоды, тем ниже концентрация леггемоглобина. Под влиянием инокуляции активным штаммом *Rhizobium* концентрация леггемоглобина возрастает, при внесении азотных удобрений она уменьшается. Динамика концентрации леггемоглобина, активности нитрогеназы и интенсивности фотосинтеза у сои имеет аналогичный характер, что указывает на тесную связь между этими процессами.

В симбиотических азотфиксирующих системах фиксация азота осуществляется в результате сложного взаимодействия микроорганизма и высшего растения. По данным [11], почти треть углеводов, образованных в процессе фотосинтеза гороха, перемещалась в клубеньки.

Между процессами фотосинтеза и азотфиксации отмечается тесное взаимодействие. Снижение интенсивности фотосинтеза сопровождается немедленным резким падением азотфиксации [10]. И напротив, усиление фотосинтетической деятельности растений стимулирует этот процесс [14].

Известно, что механизм азотфиксации обусловлен наличием бактериодов и леггемоглобина в клубеньках. В настоящее время подавляющее большинство исследователей [2—6] увязывают активность симбиоза с массой активных клубеньков и концентрацией леггемоглобина.

Клубеньки, образующиеся на корнях разных видов бобовых, различаются по количеству в них леггемоглобина [5, 7, 8], а концентрация его изменяется по фазам развития [1, 7]. Имеются сведения о снижении количества леггемоглобина [9] и переходе его в неактивную форму [12] при добавлении в среду связанного азота. Более часто в литературе встречаются данные об отрицательном влиянии мине-

рального азота на активность нитрогеназы в условиях симбиоза [9, 12, 13].

Целью нашей работы было выявить видовую специфичность концентрации леггемоглобина и ее зависимость от условий выращивания. В задачу исследований входило установить динамику изменения концентрации леггемоглобина в течение вегетации в сопоставимых условиях у широко распространенных зерновых бобовых культур, проследить изменение этого показателя под влиянием внесения азотных удобрений и инокуляции.

Методика

Опыты проводили на опытном поле лаборатории растениеводства ТСХА в 1980—1986 гг. Почвы опытного участка дерново-подзолистые среднесуглинистые, содержание гумуса 2,0 %, обеспеченность фосфором и калием высокая, $pH_{\text{сол}} =$

В качестве объекта исследования были взяты следующие зерновые бобовые культуры: горох посевной сорта Немчиновский 846, пелюшка Фаленская 42, вика посевная Льговская 61, чечевица Петровская 4, бобы кормовые Уладовские фиолетовые, люпин узколистный Немчиновский 766, люпин желтый Быстрорастущий 4, люпин белый Старт, соя Северная 5, фасоль Мотольская белая, нут Краснокутский. Культуры высевали на делянках площадью 10 м² в 4-кратной повторности, размещение делянок рендомизированное. Агротехника общепринятая. Перед посевом семена инокулировали специфичными

активными штаммами Rhizobium: горох посевной и полевой — штаммом 250, вика — штаммом 145, чечевицу — штаммом 752, бобы кормовые — штаммом 96, люпин узколистный, белый и желтый — штаммом 37, сою — штаммом 634, фасоль — штаммом 682, нут — штаммом 521, полученными из ВНИИ биотехнологии. Зависимость концентрации леггемоглобина от доз азотных удобрений и активности штаммов изучали на сое в микрополевых опытах. Площадь делянки 10 м², повторность 4-кратная при рендомизированном размещении вариантов. Концентрацию леггемоглобина и нитрогеназную активность определяли по методикам, описанным в работе [6].

Метеорологические условия в годы опытов были различными. Наиболее засушливым был 1983 год, наиболее влажным — 1980 год.

Результаты

Исследования показали, что концентрация леггемоглобина значительно меняется в течение вегетации. У очень молодых клубеньков она невысокая, затем увеличивается по мере их развития и достигает максимума для большинства культур в фазу цветения, постепенно снижаясь по мере образования бобов и налива семян. В последние фазы при увеличении общей массы клубеньков леггемоглобин, как правило, начинает постепенно разрушаться и переходить в неактивную форму — холеглобин, который имеет зеленовато-желтый цвет (табл. 1).

Концентрацию леггемоглобина определяли в общей массе клубеньков, не разделяя их на активные и неактивные, поскольку при анализе зеленых клубеньков, которые обычно относят к неактивным, был обнаружен леггемоглобин в концентрации 0,098 мг/г сырых клубеньков. Из этого можно заключить, что визуальная оценка активности клубеньков по их окраске на активные (розовые) и неактивные (зеленые) не совсем точна, так как и в зеленых клубеньках, имеющих леггемоглобин, возможно восстановление азота. Таким образом, мы считаем, что концентрация леггемоглобина является более надежным критерием для характеристики биологической активности клубеньков и всего симбиотического аппарата.

В ходе наблюдений за зерновыми бобовыми культурами в полевом опыте 1986 г. было установлено, что масса клубеньков на корнях этих культур увеличивалась до периода образования бобов — начало налива семян. Затем при увеличении общей массы клубеньков масса активных (розовых) клубеньков начинала постепенно уменьшаться (табл. 2). Особенно хорошо это было заметно у бобов кормовых, люпина узколистного и фасоли. Так, если от фазы образования бобов до налива семян у кормовых бобов масса всех клубеньков увеличилась

Таблица 1

Концентрация леггемоглобина
в клубеньках зерновых бобовых культур
за вегетацию (мг/г сырых клубеньков).
Полевой опыт 1986 г.

Культура	3-й настоя- щий лист 3-я пара листьев	Цветение	Образование бобов	Налив семян
Чечевица	1,63	3,12	1,88	—
Бобы кормовые	1,25	1,33	1,26	1,09
Люпин узко- лиственный	0,78	0,85	0,52	0,71
Люпин желтый	0,30	1,18	1,05	—
Люпин белый	0,27	0,47	0,41	0,40
Соя	3,12	3,07	2,83	2,27
Фасоль		0,57	1,13	2,02

на 24 кг/га, то масса активных снизилась на 36 кг, у люпина узколистного — соответственно на 146 кг и 85 кг/га. Что же касается фасоли, то у нее отмечалось снижение как общей массы клубеньков, так и массы активных клубеньков.

Однако если активность симбиотического аппарата рассматривать в связи с массой леггемоглобина на единицу площади, то можно увидеть, что последняя продолжает увеличиваться до фазы полного налива семян, т. е. симбиотический аппарат, по-видимому, несколько дольше сохраняет активность, чем можно предполагать исходя из визуальной оценки (табл. 3). Этим, видимо, можно объяснить и то обстоятельство, что максимум концентрации леггемоглобина в течение вегетации наступает несколько раньше, чем максимум активности нитрогеназы на единице площади.

Наиболее полная картина изменения концентрации леггемоглобина в течение вегетации дана в табл. 4 на примере сои.

В условиях оптимального увлажнения 1984, 1985 гг. наивысшая за вегетацию концентрация леггемоглобина была отмечена в фазу цветения — соответственно 2,79 и 3,92 мг/г сырых клубеньков; она несколько снижалась в период образование бобов — начало налива семян. В 1983 г., когда в фазу бутонизации наблюдался недостаток вла-

Таблица 3

Масса леггемоглобина (г/га)
у зерновых бобовых культур.
Полевой опыт 1986 г.

Культура	3-й настоя- щий лист	Цветение	Образование бобов	Налив семян
Чечевица	8	22	16	0
Бобы кормовые	23	43	133	142
Люпин узко- лиственный	1	59	60	186
Люпин желтый	17	111	129	—
Люпин белый	26	46	116	293
Соя	21	170	—	—
Фасоль	0	43	68	919

Таблица 2

Развитие симбиотического аппарата (кг/га)
у зерновых бобовых культур (в числителе —
всего, в знаменателе — активные клубеньки).
1986 г.

Культура	3-й настоя- щий лист 3—4-я пара листьев	Цветение	Образование бобов	Налив семян
Чечевица	5 5	7 7	9 9	0 0
Бобы кормовые	19 19	33 33	106 104	130 88
Люпин узколистный	2 2	70 70	116 116	262 201
Люпин желтый	56 56	94 94	122 122	— —
Люпин белый	94 94	99 99	282 282	733 733
Соя	7 7	56 56	88 —	— —
Фасоль	4 0	75 75	60 60	46 46

Таблица 4

Концентрация леггемоглобина
(мг/г сырых клубеньков)
в клубеньках сои за вегетацию
(1982—1986 гг.)

Год	3-й настоя- щий лист	Бутонизация	Цветение	Образование бобов — нача- ло налива семян
1982	1,35		2,15	1,56
1983	2,36	0,92	2,08	1,39
1984	1,63	2,27	2,79	1,83
1985	1,96	2,83	3,92	2,92
1986	3,12	2,37	3,07	2,27
Среднее	2,08	2,10	2,80	1,99

ги в почве, концентрация леггемоглобина в клубеньках снижалась с 2,36 до 0,92 мг/г. В 1986 г., характеризующемся неравномерным выпадением осадков, в фазу бутонизации этот показатель также был меньше, чем в фазу 3-го настоящего листа. Таким образом, концентрация леггемоглобина в условиях нашего опыта оказалась сравнительно чувствительной, как и вообще симбиотический аппарат, к недостатку влаги в почве.

В более засушливые и жаркие 1981 и 1986 гг. концентрация леггемоглобина в период цветения — образование бобов была несколько меньше, чем в более благоприятном по увлажнению 1982 г. Так, в 1982 г. у гороха посевного она оказалась почти в 2,4 раза больше, чем в 1981 г., у пелюшки — в 3,8, у вики — в 3,9, у чечевицы — в 4,6, у люпина узколистного — в 1,4, желтого — в 1,5 раза больше (табл. 5). Лишь по более засухоустойчивым культурам, таким как люпин белый, соя, фасоль и нут, не наблюдалось таких значительных различий.

Следует отметить также, что концентрация леггемоглобина в клубеньках зависит и от видовых особенностей культуры и связана, по-видимому, со строением клубеньков и размещением их по корневой системе. Горох посевной, пелюшка, вика, чечевица имеют ветвистые клубеньки с тонкими оболочками, через которые просвечивает леггемоглобин. Они характеризуются сравнительно высокой его концентрацией — до 3—4 мг/г сырых клубеньков в благоприятные для симбиоза годы. Почти на таком же уровне концентрация леггемоглобина и в сравнительно крупных (до 6—8 мм в диаметре) шаровидных клубеньках сои и фасоли, которые хотя и имеют более плотные оболочки, но характеризуются очень компактным расположением бактериальной ткани в клубеньке. У нута и бобов кормовых этот показатель более низкий — от 1,15 до 2,40 мг/г. Как и все бобовые культуры с перистыми листьями, они имеют ветвистые кистевидные клубеньки, но с более плотными оболочками, что, по-видимому, обуславливает более низкую концентрацию леггемоглобина в них. Особое положение в этой группе занимают люпины. Концентрация леггемоглобина в клубеньках люпина белого и узколистного редко превышает 1 мг/г сырых клубеньков, чаще она составляет 0,8—0,9 мг. Это связано с тем, что клубеньковая ткань расположена под корой корня и клубеньки отделяются от корня вместе с плотными оболочками. Люпин желтый характеризуется более компактным размещением клубеньков. Они сосредоточены на главном корне, как правило, в верхней его части, плотно примыкая друг к другу, и за счет того, что в анализируемую массу попадает меньше

Таблица 5

Изменение концентрации леггемоглобина (мг/г сырых клубеньков) в клубеньках зерновых бобовых культур по годам

Культура	1981	1982	1986	Средняя за
				5 года
Горох посевной	0,91	2,21	1,56	1,53
Пелюшка	1,01	3,80	—	2,41
Вика посевная	0,67	2,66	1,17	1,50
Чечевица	0,77	3,58	4,10	2,85
Бобы кормовые	—	2,40	1,33	1,87
Люпин узколистный	0,80	1,13	0,85	0,93
Люпин желтый	1,58	2,45	1,18	1,70
Люпин белый	1,04	0,80	0,89	0,91
Соя	—	3,12	3,12	3,12
Фасоль	3,56	1,69	2,02	2,42
Нут	—	1,15	1,15	1,15

Таблица 6
Масса клубеньков, леггемоглобина и количество фиксированного азота воздуха соей в зависимости от обеспеченности растений минеральным азотом по фазам развития. 1984 г.

Вариант удобрения	Масса клубеньков, кг/га		Масса леггемоглобина, г/га		Фиксировано N, г/га•ч	
	бутонизация	цветение	бутонизация	цветение	бутонизация	цветение
Без N	566	630	1344	1544	115	245
102N	144	244	328	445	81	26
204N	66	39	106	50	22	39

Таблица 7

Концентрация леггемоглобина
в клубеньках сои(мг/г сырых клубеньков)
при внесении азотных удобрений. 1984 г.

Вариант удобрения	Цветение	Образование бобов	Налив семян
Без N	2,91	2,45	1,96
102N	2,25	1,84	1,88
204N	1,54	1,19	1,24

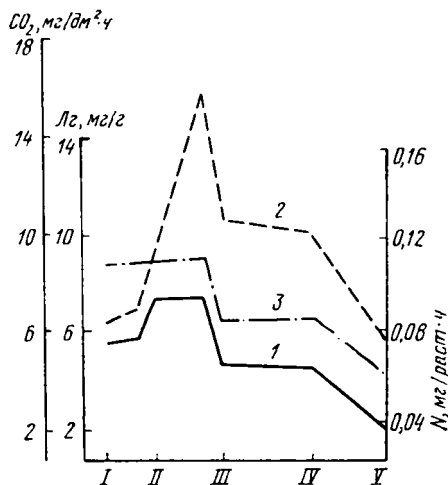
ТСХА) содержание леггемоглобина в фазу бутонизации соответственно составило 1,66 и 2,40 мг, в фазу начала образования бобов — 2,85 и 3,54, налива семян — 2,53 и 2,90, начала созревания семян — 2,10 и 2,11 мг/г сырых клубеньков.

Известно, что азотные удобрения угнетают симбиоз, причем тем сильнее, чем больше их доза. Следовательно, экономически более целесообразно создавать там, где это возможно, благоприятные условия

для фиксации атмосферного азота, нежели использовать дорогостоящий минеральный азот.

Под влиянием азотных удобрений резко уменьшалось количество клубеньков, их размеры и масса. Связано это с тем, что бобовые культуры при достаточной обеспеченности азотом почвы переходят на минеральный тип питания, и азотфиксация резко снижается.

В табл. 6 приведены данные об изменении массы клубеньков и количества фиксированного азота воздуха посевами сои в зависимости от обеспеченности растений азотом. При внесении азотных удобрений в дозе 102N масса клубеньков на 1 га уменьшалась в 3,9 раза по сравнению с вариантом без азотных удобрений, а при внесении 204N — в 8,6 раза, при этом количество азота, фиксированного на 1 га посева, в первом случае было в 1,4 раза, во втором — в 5,2 раза меньше. Эта



Содержание леггемоглобина (1), активность нитрогеназы (2) и интенсивность фотосинтеза (3) сои по фазам развития. 1980 г.

I — бутонизация; II — цветение; III — образование бобов; IV — рост бобов; V — налив семян.

закономерность сохранялась и в фазу цветения. По мере повышения доз минерального азота снижалась и концентрация леггемоглобина в клубеньках (табл. 7).

При разработке мероприятий по повышению урожайности зерновых бобовых культур важно знать связь показателей фотосинтетической и симбиотической деятельности посевов в полевых условиях. В наших исследованиях характер изменения по фазам развития содержания леггемоглобина в клубеньках, интенсивности фотосинтеза и активности нитрогеназы был аналогичным (рисунок). Снижение интенсивности фотосинтеза по мере старения растений шло почти одновременно с разрушением бактериоидов, уменьшением в них содержания леггемоглобина. Уменьшение концентрации леггемоглобина и притока энергетического материала в клубеньки за счет замедления фотосинтеза вызывало падение нитрогеназной активности. Последнее, в свою очередь, способствовало затуханию процессов фотосинтеза.

Выводы

1. Концентрация леггемоглобина в клубеньках бобовых зерновых культур значительно меняется в течение вегетации. У большинства культур в фазу 3-го листа она невысокая (0,27—1,63 мг/г сырых клубеньков), в фазу цветения достигает максимума (0,47—3,12 мг/г) и в период образование бобов — налив семян снижается (0,41—2,83 мг/г). Этот показатель в значительной мере зависит от условий увлажнения. Так, при недостатке влаги в фазу бутонизации (1983, 1986 гг.) он снижался на 0,44—0,75 мг/г.

2. Концентрация леггемоглобина в клубеньках зерновых бобовых культур определяется анатомическим строением клубеньковой ткани: чем плотнее оболочки у клубеньков и глубже расположены в них бактериоды, тем она ниже. По концентрации леггемоглобина в клубеньковой ткани изученные зерновые бобовые культуры можно расположить в следующий убывающий ряд: соя, чечевица, фасоль, пелюшка, бобы кормовые, люпин желтый, горох посевной, вика, нут, люпин узколистный и белый.

3. На дерново-подзолистых среднесуглинистых почвах при внесении азотных удобрений (аммиачная селитра) концентрация леггемоглобина уменьшалась по мере возрастания их доз.

4. При инокуляции семян активным штаммом *Rhizobium* концентрация леггемоглобина от фазы бутонизации до фазы налива семян была значительно выше, чем при инокуляции неактивным штаммом.

5. Содержание леггемоглобина, активность нитрогеназы и интенсивность фотосинтеза у сои достигала максимума в период цветение — начало образования бобов; характер изменения этих показателей в течение вегетации был идентичным, что указывает на тесную связь между указанными процессами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жизневская Г. Я. Медь, молибден и железо в азотном обмене бобовых растений. — М.: Наука, 1972. — 2. Мелик-Саркисян С. С., Райхинштейн М. В., Владзиевская Л. П. и др. Влияние леггемоглобина на дыхание и азотфиксирующую активность бактериодов люпина в процессе развития растений. — Физиология растений, 1976, т. 23, вып. 2, с. 274—278. — 3. Мишустин Е. Н., Шильникова В. К. Биологическая фиксация атмосферного азота. — М.: Наука, 1968. — 4. Посыпанов Г. С. Белковая продуктивность бобовых культур при симбиотрофном и автотрофном типах питания. — Автореф. докт. дис. Л., 1983. — 5. Посыпанов Г. С., Буханова Л. А., Делаев У. А. и др. Видовая специфичность многолетних бобовых трав в усвоении атмосферного азота. — Изв. ТСХА, 1985, вып. 5, с. 24—32. — 6. Посыпанов Г. С., Буханова Л. А., Федоров В. Ф. Влияние предпосевной обработки фунгицидами и инокуляции семян на показатели симбиотической деятельности посевов сои. — Изв. ТСХА, 1987, вып. 1, с. 48—53. — 7. Троицкая Г. Н., Кудрявцева Н. Н., Ильясова В. Б. и др. Особенности азотфиксирующих систем клубеньков различных видов бобовых растений. — Физиология растений, 1979, т. 26, вып. 2, с. 1011—1022. — 8. Шильникова В. К. Азотфиксирующие бактерии. — В кн.: Жизнь растений. Т. 1. М.: Просвещение, 1974. — 9. Bisseling T. R. S., Van Den Bos, Van Kammen A. — *Biochim et biophys. acta*, 1978, vol. 539, N 1, p. 1—11. — 10. Hardy R. W. F., Criswell J. G., Havelka U. D. — Recent developments in nitrogen fixation. — Acad. press, L., N.-Y., San Francisco, 1977, p. 451—467. — 11. Minchin F. R., Pate I. S. — *Exper. Bot.*, 1973, vol. 24, N 79, p. 259—271. — 12. Rigand I., Puppo A. — *Biochem. et biophys. acta*, 1977, vol. 497, p. 702—706. — 13. Streeter I., Bloster M. — *Plant. Sci. Lett.*, 1976, vol. 7, N 5, p. 321—328. — 14. Streeter L. G. — *Plant Physiology supplement*, N 4, 1978.

Статья поступила 15 октября 1987 г.

SUMMARY

Eleven species of annual grain legumes were studied. It is found that leghemoglobin concentration is defined from anatomic structure of nodule tissue: the thicker are the nodule coats and the deeper in them are bacteroids, the lower is the concentration of leghemoglobin. As a result of inoculation with the active *Rhizobium* strain the concentration of leghemoglobin increases, while after application of nitrogenous fertilizers it gets lower. The dynamics of leghemoglobin concentration, nitrogenase activity, and photosynthesis intensiveness in soybean is of the same nature, which indicates that these processes are closely connected.