

УДК 633.31:631.847.095.337

АЗОТФИКСИРУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ ЛЮЦЕРНЫ И ПОТРЕБЛЕНИЕ ЕЮ ЭЛЕМЕНТОВ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ ПРИ ОБРАБОТКЕ СЕМЯН РАСТВОРАМИ СОЛЕЙ МОЛИБДЕНА И КОБАЛЬТА

Б. А. ЯГОДИН, И. Г. ЗАХАРОВА

(Кафедра агрономической и биологической химии)

Зеленая масса люцерны представляет собой высококачественный корм для сельскохозяйственных животных, превосходящий по содержанию протеина не только все злаковые растения, но и клевер. Среди бобовых культур люцерна является одним из лучших фиксаторов молекулярного азота атмосферы: за вегетационный период ее посевы могут накопить до 300 кг азота на 1 га пашни [3]. Улучшение питания люцерны и других бобовых культур биологическим азотом позволит сэкономить большое количество азотных удобрений. К факторам оптимизации питания растений относятся обеспечение их микроэлементами, которые, оказывая разнообразное действие на многие физиологические процессы, в том числе на проницаемость клеточных мембран, вызывают существенные изменения в динамике поступления всех элементов минерального питания [8]. Предпосевная обработка семян позволяет обеспечить растения микроэлементами с самого начала их развития, вызывая определенную перестройку процессов жизнедеятельности зародыша и тем самым оказывая влияние на дальнейший рост и развитие растений [7]. В связи с этим весьма актуальны исследования действия микроэлементов на бобовые культуры с целью разработки способов повышения уровня фиксации молекулярного азота.

Нами изучалось влияние обработки семян Mo и Co на накопление сухой массы, азотфиксирующую способность, содержание леггемоглобина в клубеньках люцерны сорта Северная гибридная и на элементный состав золы растений.

Материал и методика исследований

В 1981 и 1982 гг. было заложено 2 вегетационных опыта с люцерной. Растения выращивали в очищенном кварцевом песке в сосудах Вагнера емкостью 6 кг. В 1981 г. применяли полную питательную смесь (ППС) следующего состава (мг на 1 кг песка): N—40, P—105, K—260, Ca—200, Mg—105, Fe—14, Cu—0,05, Zn—0,1, Mn—0,6, Co—0,03, Mo—0,1, B—0,5. В 1982 г. ППС имела тот же состав, но норма N была увеличена до 60 мг на 1 кг песка. Азот вносили в виде меченой ¹⁵N кальциевой селитры с исходным обогащением 15 ат. %.

Схема опыта в 1981 г.: 1—ППС; 2—ППС+обработка семян Co; 3—ППС+обработка семян Mo; 4—ППС без Mo; 5—ППС без Mo+обработка семян Mo. Повторность опыта при закладке 8-кратная.

В опыте 1982 г. было три первых вари-

анта¹. Повторность опыта при закладке 10-кратная.

Семена люцерны перед посевом инокулировали активным штаммом *Rhizobium meliloti* и в соответствующих вариантах замачивали в 0,02 % растворе сернистого кобальта и 0,05 % растворе молибденовокислого аммония в течение 6 ч. В контроле и в варианте без Mo семена замачивали в дистиллированной воде.

В 1981 г. пробы для анализа брали дважды—в период бутонизация—начало цветения и в фазу зеленых бобов, что связано с ускоренным созреванием растений в жаркое засушливое лето; в 1982 г.—трижды—в фазы бутонизации, цветения и зеленых бобов. Урожай убирали в фазу зеленых бобов. Изучали элементный состав растений, а также устанавливали количество использованного растениями азота

¹ В 1982 г. из схемы опыта были исключены 4-й и 5-й варианты из-за отсутствия полноценного фона для питания растений (отсутствие Mo в питательной среде).

удобрений и размеры фиксации ими азота атмосферы. В указанных фазы определяли суточную динамику активности азотфиксации ацетиленовым методом и содержание леггемоглобина в клубеньках, содержание в растениях общего азота — по Кьельдалю, изотопный состав азота — на масс-спектрометре МИ-1305, количество фосфора — колориметрически, зольных макроэлементов и микроэлементов — атомно-абсорбционным методом на приборе "Perkin — Elmer". Нитрогеназную активность люцерны определяли ацетиленовым методом 7 раз в течение суток дважды за ве-

гетацию. Растения помещали под полиэтиленовый герметичный колпак, оборудованный специальным устройством для отбора проб воздуха, в которых измеряли концентрацию этилена на газовом хроматографе «Хром-42». Леггемоглобин выделяли из свежих клубеньков методом абсорбционной хроматографии на колонках окиси алюминия [2]. Элюцию леггемоглобина проводили раствором сернокислого аммония 50 % насыщения при pH 8,0. Содержание леггемоглобина определяли колориметрически при длине волны 540 нм.

Результаты исследований

В 1981 г. растения на питательной смеси без Mo (4-й вариант) в первые фазы заметно отставали в росте и накоплении сухой массы как надземной части, так и корней (табл. 1). В фазу зеленых бобов растения при дефиците Mo в питательной среде накапливали большую корневую и меньшую вегетативную массу по сравнению с контролем. Обработка семян Mo на фоне дефицита этого элемента в питательной смеси (5-й вариант) не была эффективной, а на фоне ППС (3-й вариант) оказала положительное действие на накопление общей биомассы растений в оба года.

У растений, полученных из обработанных Co семян, в 1981 и 1982 гг. вегетативная масса была значительно больше, чем в других вариантах.

Несмотря на то, что к концу вегетационного периода растения в варианте без Mo (4-м) накапливали достаточную вегетативную массу, потребление ими азота в расчете на сосуд было меньше, чем в других вариантах (табл. 2). Обработка семян Co положительно сказалась на поступлении азота в растения в 1981 и 1982 гг. При внесении большего количества азота с удобрением (1982 г.) в варианте с обработкой семян Mo потребление азота люцерной резко возросло; особенно много его накапливалось в корнях. При дефиците Mo в питательной среде этот прием не дал положительного результата. Представляло интерес изучить суточную динамику азотфиксации у люцерны, выяснить размеры симбиотической азотфиксации по вариантам и в разное время суток и сопоставить эти данные с данными о соотношении биологического и минерального азота в питании люцерны, полученными при использовании стабильного изотопа азота ¹⁵N.

Т а б л и ц а 1

Динамика накопления сухой массы люцерны (г воздушно-сухого вещества на сосуд; в числителе — надземная масса, в знаменателе — корни)

Вариант	1981 г. (4 растения)		1982 г. (5 растений)		
	бутионизация — начало цветения	зеленые бобы	бутионизация	цветение	зеленые бобы
1	5,2	5,7	3,2	5,6	6,1
	5,5	9,7	1,2	7,1	7,4
2	5,2	6,4	4,0	6,0	8,2
	4,7	10,8	1,6	8,5	10,2
3	4,8	5,1	5,6	7,6	8,3
	4,4	11,5	2,1	9,1	9,5
4	4,2	5,0	—	—	—
	3,9	11,0	—	—	—
5	4,7	4,9	—	—	—
	4,4	9,4	—	—	—
НСР ₀₅	0,4	0,4	1,2	0,5	0,8
	0,4	0,5	0,5	0,6	0,7

Потребление азота люцерной (мг/сосуд; в числителе — надземная масса, в знаменателе — корни)*

Вариант	1981 г.		1982 г.		
	бутонизация — начало цветения	зеленые бобы	бутонизация	цветение	зеленые бобы
1	113,4	128,3	131,8	155,7	167,8
	47,3	98,9	33,5	151,2	185,7
2	118,0	122,2	144,4	193,8	226,3
	58,3	121,0	38,7	176,8	215,2
3	103,7	89,8	217,8	208,2	236,6
	48,0	110,4	60,7	177,5	220,4
4	99,1	82,0	—	—	—
	45,2	112,2	—	—	—
5	111,9	97,0	—	—	—
	48,0	92,1	—	—	—

* В отношении азота лучше пользоваться термином «потребление», а не «вынос», поскольку учитывается и фиксированный азот [4].

В фазу бутонизации люцерны самый высокий уровень азотфиксации наблюдался утром, самый низкий — ночью (рис. 1). Максимальное количество фиксированного азота было в варианте с обработкой семян Co , минимальное — при использовании ППС и ППС без Mo .

В фазу цветения, как и в предыдущую фазу, интенсивность азотфиксации была выше в дневное время, а наибольшая азотфиксация от-

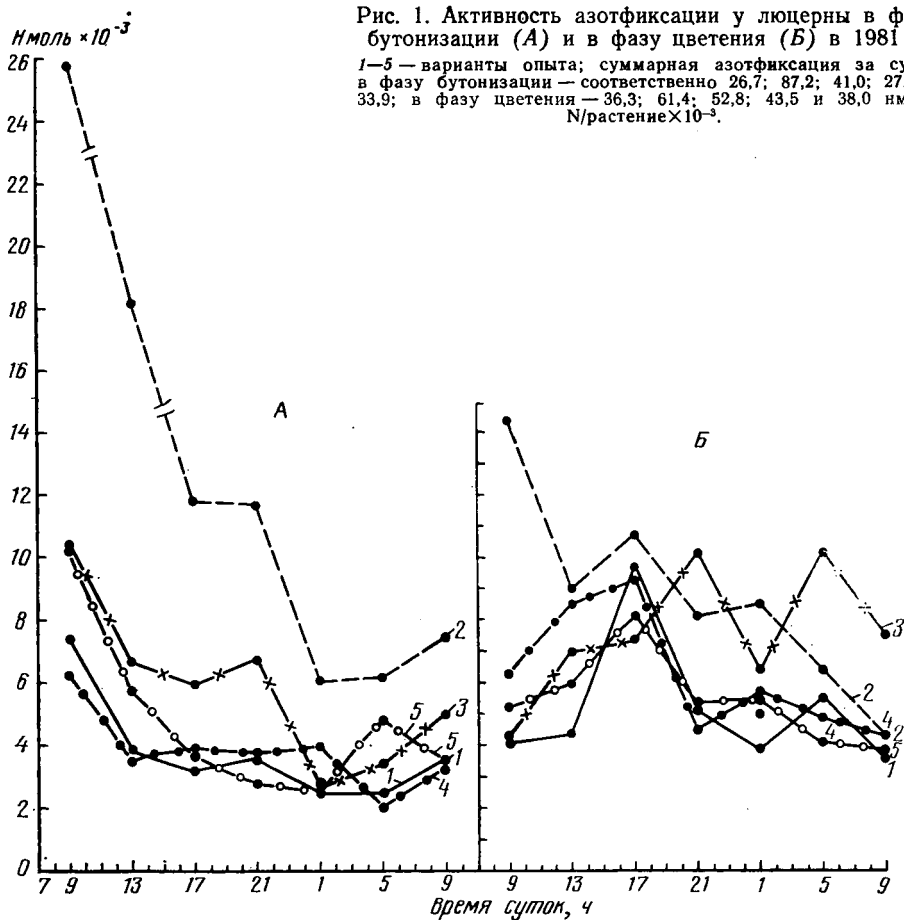


Рис. 1. Активность азотфиксации у люцерны в фазу бутонизации (А) и в фазу цветения (Б) в 1981 г.

1—5 — варианты опыта; суммарная азотфиксация за сутки в фазу бутонизации — соответственно 26,7; 87,2; 41,0; 27,0 и 33,9; в фазу цветения — 36,3; 61,4; 52,8; 43,5 и 38,0 нмоль N/растение $\times 10^{-3}$.

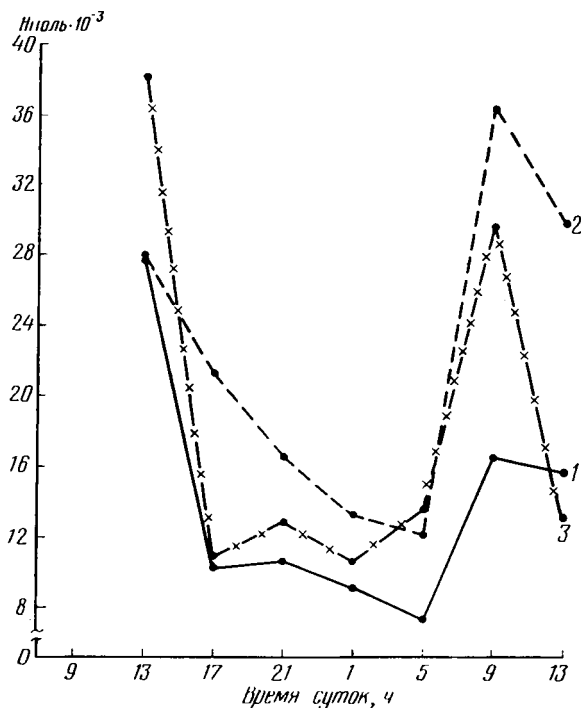


Рис. 2. Активность азотфиксации у люцерны в фазу бутонизации в 1982 г.

1—3 — варианты опыта, суммарная азотфиксация за сутки — соответственно 98,4, 158,5 и 130,0 ммоль N/растение × 10⁻³.

мечена также в варианте с обработкой семян Со, хотя в целом разница по вариантам несколько сглаживалась. В результате обработки семян Мо на фоне ППС азотфиксирующая способность люцерны возросла (рис. 2). Азотфиксация при обработке семян Со также была максимальной.

При обработке семян Со растения потребляли практически столько же азота удобрения, как в контроле, а количество фиксированного азота заметно возрастало (табл. 3). В варианте с обработкой семян Мо на фоне ППС потребление люцерной азота удобрения снижалось, а общее количество фиксированного азота и накопление его в фазу бутонизации увеличивались. При дефиците Мо в питательной среде уровень фиксированного азота значительно снижался на фоне общего уменьшения азотонакопления. Обработка семян Мо в этом случае отрицательно сказалась на потреблении азота удобрения и мало влияла на азотфиксацию.

Необходимые условия для активного функционирования нитрогеназного комплекса создаются при эффективной работе целого ряда систем, от которых зависит интенсивность фиксации молекулярного азота бактериями рода *Rhizobium* в клубеньках бобовых растений. К таким системам относится кислородная защита нитрогеназы [9]. Основным ее компонентом, предохраняющим от кислорода работающий в

Таблица 3

Соотношение биологического и минерального азота в биомассе люцерны в 1981 г.

Вариант	Бутонизация — начало цветения			Зеленые бобы		
	азот удобрений, мг	азот фиксированный		азот удобрений, мг	азот фиксированный	
		мг	% от общего		мг	% от общего
1	78,5	82,2	51,2	98,6	128,6	56,6
2	77,8	98,5	55,9	100,0	143,2	58,9
3	44,4	107,3	70,7	74,6	125,6	62,7
4	65,4	78,9	54,7	97,1	97,1	50,0
5	44,7	115,2	72,0	68,8	120,3	63,6

анаэробных условиях фермент нитрогеназу, является железосодержащий белок леггемоглобин [1]. Следует отметить, что содержание леггемоглобина в клубеньках различных видов бобовых не может служить критерием интенсивности азотфиксации, но при изучении данного процесса у определенных видов и сортов бобовых растений оно может быть использовано в качестве показателя эффективности азотфиксации на протяжении вегетации [5]. Имеются сведения о положительной корреляции в течение вегетации активности азотфиксации и содержания леггемоглобина в клубеньках [10].

Из данных табл. 4 видно, что в период активной азотфиксации (бутонизация — начало цветения) максимальное количество леггемоглобина содержалось при обработке семян Со, минимальное — при дефиците Мо в питательной среде. В фазу зеленых бобов наблюдалась общая тенденция к снижению количества леггемоглобина в клубеньках; в варианте с обработкой семян Со этот показатель все еще остается высоким, что согласуется с литературными сведениями [2].

Как весьма важный показатель кормовой ценности люцерны был изучен элементный состав золы вегетативной массы и корней растений (табл. 5).

Полученные данные свидетельствуют о повышении кормовой ценности люцерны под действием обработки семян микроэлементами, так как обработка семян Со привела к увеличению процентного содержания и выноса K_2O как надземной массой, так и корнями растений. Аналогичное действие на содержание K_2O в биомассе оказала и предпо-

Т а б л и ц а 4
Содержание леггемоглобина
в клубеньках люцерны в течение вегетации
(мг на 1 г сырой массы)

Вариант	1981 г.		1982 г.	
	бутонизация — начало цветения	зеленые бобы	бутонизация	зеленые бобы
1	1,4	0,9	1,0	0,8
2	2,6	2,2	2,2	2,1
3	1,8	1,0	1,5	1,1
4	1,1	0,6	—	—
5	2,0	0,9	—	—

Т а б л и ц а 5
Содержание зольных макро- и микроэлементов (%) и их вынос растениями (мг/сосуд) в фазу зеленых бобов в 1982 г. (в числителе — надземная масса, в знаменателе — корни)

Элемент	Вариант					
	1		2		3	
	%	мг/сосуд	%	мг/сосуд	%	мг/сосуд
P (P_2O_5)	0,37	67,0	0,40	98,1	0,32	85,5
	0,60		0,64		0,62	
K (K_2O)	1,88	203,5	2,07	321,7	2,03	297,7
	1,20		1,49		1,36	
Mg	0,11	13,7	0,11	18,6	0,10	17,3
	0,10		0,10		0,09	
Zn	0,002	0,17	0,002	0,36	0,001	0,17
	0,0007		0,002		0,0009	
Fe	0,10	7,3	0,03	4,7	0,03	4,7
	0,02		0,02		0,02	
Cu	0,0002	0,097	0,0005	0,048	0,0009	0,084
	0,0001		0,0001		0,0004	
Mn	0,005	0,45	0,003	0,42	0,003	0,37
	0,002		0,002		0,001	
Mo	0,004	0,50	0,004	0,66	0,006	0,84
	0,004		0,003		0,003	
Co	0,0006	0,051	0,0003	0,060	0,0002	0,041
	0,0003		0,0003		0,0002	

севная обработка семян Мо. В результате обработки семян Со увели- чились общий вынос P_2O_5 , Mg, Мо, вынос и концентрация Zn в корнях, а вынос Fe и Cu снизился. При обработке семян Мо также увеличился вынос P_2O_5 , Mg и Мо и снизились концентрация и вынос Fe.

Выводы

1. В результате предпосевной обработки семян 0,02 % раствором серноокислого кобальта достоверно увеличилась сухая масса люцерны в оба года исследований. Обработка семян Мо на фоне полной пита- тельной смеси (ППС) в 1981 г. обусловила повышение общей биомас- сы растений за счет увеличения массы корней, а в 1982 г. — за счет увеличения и массы корней, и надземной массы люцерны.

2. При обработке семян Со возросло потребление азота расте- ниями в оба года. Обработка семян Мо на фоне ППС в 1981 г., когда с питательной смесью было внесено 40 мг минерального азота на 1 кг песка, не привела к увеличению потребления азота. При этом снизи- лось его поступление из удобрения и заметно повысилась доля биоло- гического азота, а в 1982 г. на фоне полуторной нормы азота его по- требление значительно возросло.

3. Азотфиксация люцерны наиболее интенсивна в дневное время, наименее активен этот процесс ночью. При обработке семян Со азот- фиксирующая активность люцерны резко повышается. Обработка се- мян Мо на фоне ППС также приводит к повышению нитрогеназной активности.

4. Содержание леггемоглобина в клубеньках зависит от фазы раз- вития растений: оно максимально в период бутонизация — начало цве- тения и резко снижается к фазе зеленых бобов. В результате обра- ботки семян Со повышается содержание леггемоглобина в клубеньках и сохраняется на достаточно высоком уровне до фазы зеленых бобов, что положительно сказывается на продуктивности растений. Обработ- ка семян Мо на фоне ППС также увеличивает содержание леггемо- глобина в клубеньках в фазу бутонизации, но к фазе зеленых бобов в этом варианте, так же как и в контрольном, концентрация леггемогло- бина снижается.

5. Обработка семян Со приводит к значительному увеличению вы- нося многих элементов питания, улучшая тем самым качество зеленой массы люцерны.

6. При дефиците Мо в питательной среде замедляется развитие растений в начальные фазы, уменьшаются поступление азота, азот- фиксирующая активность и концентрация леггемоглобина в клубень- ках.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жизневская Г. Я. Леггемоглобин в клубеньках бобовых растений. — Изв. АН СССР. Сер. биол., 1976, № 3, с. 386—392. — 2. Жизневская Г. Я., Дмитриева М. И., Ягодин Б. А., Васильева А. В. Действие меди и кобальта на содержание гемоглобина в клубеньках люпина и кормовых бобов. — Изв. АН СССР. Сер. биол., 1967, № 2, с. 203—207. — 3. Прянишников Д. Н. Избр. тр. М.: Наука, 1976. — 4. Трепачев Е. П. О понятии «вынос азота» для бобовых культур. — Агрохимия, 1979, № 11, с. 21—24. — 5. Троицкая Г. Н., Кудрявцева Н. Н., Ильясова В. Б. и др. Особенности азотфиксирующих систем клу- беньков различных видов бобовых расте- ний. — Физиол. раст., 1979, т. 26, вып. 2, с. 294—301. — 6. Ягодин Б. А. Кобальт в жизни растений. М.: Наука, 1970. — 7. Ягодин Б. А. Микроэлементы в ово- щеводстве. М.: Колос, 1964. — 8. Яго- дин Б. А. О взаимном влиянии элементов минерального питания при их поступлении в растения. — Сб. высш. с.-х. шк., Прага, 1982, с. 57—63. — 9. Appleby C. A. — Leghemoglobin. — In: The biology of nitro- gen fixation/Ed. A. Quispel. Amsterdam, 1974, p. 550. — 10. Hardy R. W. F., Burns R. C., Hebert R. R. e. a. — Plant a. Soil, Spec. vol., 1971, p. 561.

Статья поступила 20 января 1984 г.

SUMMARY

The work shows effectiveness of seed treatment with cobalt in increasing yields, level of molecular nitrogen symbiotic fixation, raising leghemoglobin content in nodules, improving plant mineral nutrition. Treating seeds of alfalfa variety "Severnaya" with molybdenum under proper nitrogen nutrition considerably increased nitrogen content in plants, raised their nitrogen-fixing capacity, hemoglobin concentration in nodules and dry mass accumulation. Plant mineral nutrition also improved in this case. Molybdenum deficiency in nutritive substrate adversely affects development and nitrogen-fixing capacity.