

УДК 581.132+631.51

## ФОТОСИНТЕЗ РАСТЕНИЙ И НЕСИМБИОТИЧЕСКАЯ ФИКСАЦИЯ АЗОТА В КОРНЕВОЙ ЗОНЕ

Г. В. ГОДОВА, Л. К. НИЦЭ, М. В. МОТОРИНА  
(Кафедры микробиологии и физиологии растений)

На интенсивность жизнедеятельности свободноживущих азотфиксаторов влияет ряд природных и антропогенных факторов, среди которых особую роль играет растительный покров. По имеющимся литературным данным, активность азотфиксации в почве под растениями значительно выше, чем без них [6, 7, 23]. Растения посредством фотосинтеза обеспечивают материальную и энергетическую базу несимбиотическим азотфиксаторам [10].

Известно, что микрофлора ризосферы использует в качестве источника энергии и питания корневые выделения и продукты разложения отмерших корней. В свою очередь количество корневых выделений зависит от фотосинтетической активности растений [9].

Из всех микроорганизмов, способных фиксировать атмосферный азот (*Klebsiella*, *Azotobacter*, *Rhodospirillum*, цианобактерии), особое значение имеют анаэробные бактерии рода *Clostridium* [5]. Наша работа была посвящена изучению взаимодействия между фотосинтетической активностью растений, азотфиксирующей активностью в корневой зоне и развитием *Clostridium*.

### Объекты и методы исследований

В вегетационном опыте, заложенном на Опытной станции полеводства ТСХА в 1980 и 1981 гг., использовали растения с различной интенсивностью фотосинтеза: кукуруза сорта Краснодарский 334 ВЛ и овес сорта Львовский 1026. Семена высевали в полиэтиленовые сосуды, заполненные 5 кг дерново-подзолистой почвы. Питательные элементы (N, P и K) были даны в форме  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ ,  $\text{KNO}_3$  по 0,5 г д. в. на сосуд. Известь вносили по полной гидролитической кислотности. Влажность почвы поддерживали на уровне 65—70 % полной влагоемкости.

Образцы ризосферной почвы и ризопланы отбирали по методу, описанному Д. Г. Звягинцевым с соавторами [4].

Азотфиксирующую активность почвенно-ризосферного образца и ризопланы определяли ацетиленовым методом [20], который основан на способности азотфиксирующего ферментного комплекса — нитрогеназы — восстанавливать, помимо  $\text{N}_2$ , широкий круг соединений, имеющих в молекуле тройную связь, а именно: закись азота, азид, циан-

нитрил, изонитрил и ацетилен [14, 24]; актуальную азотфиксацию корневой зоны растений — по методу, предложенному Баландро и Доммерком [10].

Развитие анаэробных азотфиксаторов изучали на модифицированной среде Виноградского следующего состава (г/л): глюкоза — 20,  $K_2HPO_4$  — 1,0,  $MgSO_4$  — 0,5,  $NaCl$  — 0,5,  $FeSO_4$ ,  $MnSO_4$  — следы, цистин — 0,3, дрожжевой экстракт — 1,0,  $CaCO_3$  — 20,0,  $H_2O$  — 1000 мл. Среду разливали по 30 мл во флаконы емкостью 50 мл и после посева инкубировали при 30°. Через трое суток определяли связанный азот ацетиленовым методом. Для этого ватные пробки заменяли резиновыми (предварительно простерилизованными 20-минутным кипячением) и фиксировали их металлическими зажимами, затем вводили ацетилен (5% от объема флакона) и ставили в термостат при 28–30° на 24 ч, после чего определяли этилен на газовом хроматографе «Хром-106».

Для разделения газов использовали окись алюминия с щелочной пропиткой, которой заполняли металлическую колонку длиной 1,2 м и диаметром 3 мм. В качестве газоносителя использовали аргон, постоянная скорость тока которого 40 мл/мин. Фиксацию азота определяли по концентрации образовавшегося этилена. Нитрогеназную активность измеряли одновременно с регистрацией интенсивности фотосинтеза на приборе ГИП-10МБ2 методом учета количества  $CO_2$  в токе воздуха, прошедшего мимо листа, заключенного в специальную камеру [2, 19].

### Интенсивность фотосинтеза растений и нитрогеназная активность в корневой зоне

Известно, что при естественной концентрации углекислоты в воздухе растения разных видов значительно различаются по интенсивности фотосинтеза. Последняя зависит также от условий освещения, температуры, концентрации, углекислоты, возраста растений и листьев и колеблется в широких пределах.

Растения по типу метаболизма углерода делятся на две группы:  $C_3$ - и  $C_4$ -растения, различающиеся по анатомическому строению, интенсивности фотосинтеза, фотодыханию, активности карбоксилазы и т. д. [12].

У  $C_4$ -растений вследствие способности «концентрировать»  $CO_2$  в клетках обкладок, тесно примыкающих к окончаниям проводящих пучков, интенсивность фотосинтеза в обычных условиях более высокая, чем у  $C_3$ -видов.

Первые адаптированы к жаркому тропическому климату, однако при изменении условий среды могут терять свое преимущество перед последними, адаптированными к прохладному умеренному климату.

В холодное лето 1980 г. при обилии осадков и низкой освещенности (рис. 1) интенсивность фотосинтеза кукурузы оказалась меньше, чем у овса (максимальные значения соответственно 20 и 26  $mg\ CO_2/dm^2 \cdot ch$ ). Соответственно и активность нитрогеназы в корневой зоне овса оказалась выше, чем у ку-

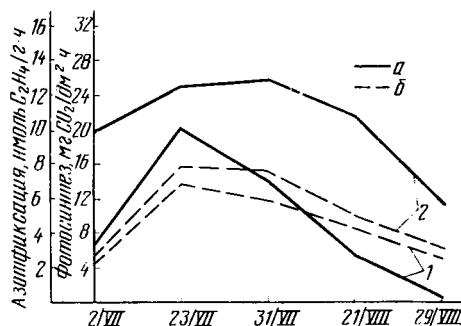


Рис. 1. Изменение фотосинтетической активности растений (а) и азотфиксации в корневой зоне (б) за вегетацию в 1980 г.

1 — кукуруза; 2 — овес.

курузы. Графически фотосинтез и азотфиксацию в этот вегетационный период можно представить одновершинной кривой с максимумом, приходящимся примерно на его середину. Таким образом, при низкой освещенности интенсивность фотосинтеза пропорциональна интенсивности света. Однако при высокой освещенности фотосинтез практически не зависит от интенсивности света, а температура сильно влияет на него [1].

Лето 1981 г. было очень жарким и солнечным. В начале вегетации и у овса, и у кукурузы фотосинтез сразу же достиг максимальных значений (рис. 2) — соответственно 28 и 52  $mg\ CO_2/dm^2 \cdot ch$ . К концу июля интенсивность фотосинтеза резко снизилась. Это можно объяснить тем, что при хорошо развитом листовом аппарате в условиях достаточно интенсивного фотосинтеза ассимиляты не успевают эвакуироваться из листа, задерживая дальнейший ход фотосинтеза, т. е. осуществляется эндогенная регуляция фотосинтеза [3, 8].

В этот же период наблюдалось небольшое снижение нитрогеназной активности в корневой зоне. Это неполное соответствие фотосинтеза и азотфиксации в середине и конце вегетации растений объясняется, по-видимому, тем, что, кроме углеродсодержащих соединений корневых выделений, свободноживущие азотфиксаторы могут использовать в качестве источника энергии отмершие

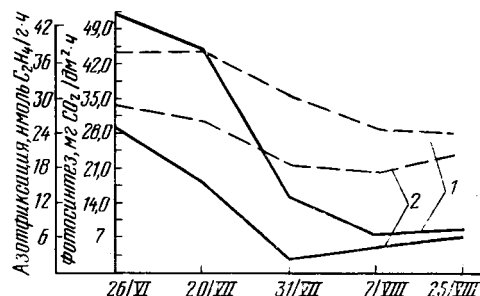


Рис. 2. Изменение фотосинтетической активности растений и азотфиксации в корневой зоне за вегетацию в 1981 г.

Обозначения те же, что на рис. 1.

Таблица 1

Актуальная нитрогеназная активность (нмоль  $C_2H_4/г \cdot ч$ )  
корневой зоны растений в 1980 и 1981 гг.

Вариант	Время суток в 1980 г.				Время суток в 1981 г.			
	6	12	18	24	6	12	18	24
	2/VII				26/VI			
Парующая почва	0,3	0,5	0,6	0,2	0,0	4,5	4,4	2,2
Кукуруза	1,8	2,5	2,0	2,1	12,9	76,5	26,7	36,4
Овес	2,0	2,8	2,2	2,4	10,1	45,0	18,5	24,3
	23/VII				20/VII			
Парующая почва	0,6	0,9	0,7	0,3	1,0	4,2	4,0	2,0
Кукуруза	4,8	9,9	6,1	6,6	11,5	77,5	27,3	36,5
Овес	5,0	11,1	7,3	8,1	8,5	41,3	18,0	20,6
	31/VII				31/VII			
Парующая почва	1,1	1,3	1,0	1,0	1,0	2,7	2,0	1,0
Кукуруза	4,3	8,5	5,4	5,7	9,7	52,5	20,5	30,7
Овес	4,9	10,6	7,1	7,9	5,7	34,0	15,3	21,5
	21/VIII				7/VIII			
Парующая почва	0,9	1,0	1,0	0,3	0,0	2,0	1,5	0,5
Кукуруза	3,0	6,9	3,9	4,3	7,5	47,2	17,5	28,3
Овес	3,7	7,9	4,3	4,6	5,8	37,5	14,5	23,4
	29/VIII				25/VIII			
Парующая почва	0,5	0,9	0,8	0,3	0,6	2,3	1,0	0,8
Кукуруза	1,7	4,2	2,3	2,8	5,7	48,7	15,7	28,0
Овес	2,0	6,1	2,2	2,5	6,1	36,9	15,9	22,7

клетки корневого эпидермиса, которых в это время значительно больше, чем в первые фазы развития растений. В пользу данного предположения говорит и тот факт, что в контрольном варианте (парующая почва) нитрогеназная активность была значительно ниже, чем в ризосфере изучаемых растений (табл. 1).

Из табл. 1 следует также, что на данный показатель заметно влияют метеорологические условия. Так, даже в почве без растений азотфиксация в 1981 г. была в среднем больше, чем в 1980 г. Особенно сильно эти условия воздействовали на нитрогеназную активность в ризосфере кукурузы: в конце июля 1980 г. среднесуточная фиксация азота составляла лишь 6,8 нмоль  $C_2H_4/г \cdot ч$ , а в 1981 г. она возросла до 38,2 нмоль  $C_2H_4/г \cdot ч$ .

Согласно представлению ряда авторов [15],  $C_4$ -растения путем фиксации  $CO_2$  стимулируют азотфиксацию у бактерий в корневой зоне. Предполагается, что у  $C_4$ -злаков накопление малата — первичного продукта фотосинтеза [13] — в надземной массе и перемещение его избытка к корням способствуют фиксации азота [17]. Наши наблюдения показали (рис. 1), что в 1981 г. нитрогеназная активность в корневой зоне кукурузы ( $C_4$ ) была выше, чем у овса ( $C_3$ ), и это коррелировало с активностью фотосинтетической деятельности растений.

Более тесный параллелизм фотосинтеза растений и азотфиксации выявлен при су-

точном наблюдении за указанными процессами [9]. Из рис. 2 и 3 следует, что в суточной динамике нитрогеназной активности имеется два пика: более высокий (пример-

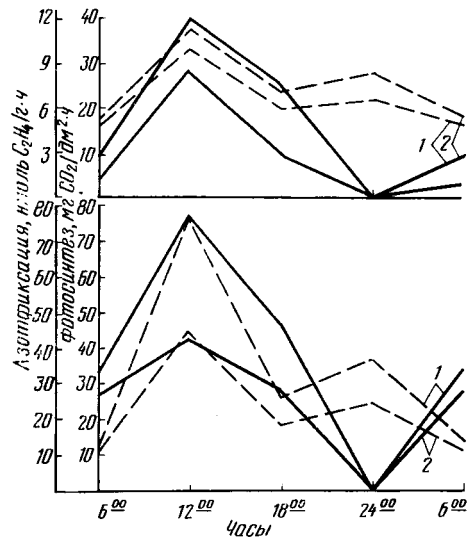


Рис. 3. Суточный ход фотосинтеза и азотфиксации 31 августа 1980 г. (верху) и 26 июня 1981 г.

Обозначения те же, что на рис. 1.

Нитрогеназная активность (нмоль  $C_2H_4$ /г·ч) в корневой зоне растений в 1981 г.

Вариант	20/VI	20/VII	31/VII	7/VIII	25/VIII	В среднем
Контроль (парующая почва)	350	330	277	244	230	281
Кукуруза:						
ризоплан	327	402	376	286	253	329
ризосфера	1560	1710	1658	1523	1490	1588
Овес:						
ризоплан	247	294	275	270	290	275
ризосфера	930	1030	1040	825	798	925

но около 12 ч), который характеризует дневную активность, и более низкий (около 24 ч), характерный для ночного периода. В остальное время азотфиксация более низкая или даже отсутствует (вариант с парующей почвой).

Монтени [11] выявил всего одну фазу повышения активности фотосинтеза — в интервале между 8 и 14 ч, затем она снижалась, а к концу дня начиналась другая фаза — фаза передвижения (транслокации) углерода, образованного растением в течение дня за счет фотосинтеза.

Два полученных нами максимума нитрогеназной активности легко объяснить, если допустить определенное время для миграции продуктов фотосинтеза от листьев к корням: первый максимум обусловлен притоком продуктов фотосинтеза в виде корневых выделений; второй — связан, видимо, с выделением продуктов гидролиза запасных углеводов, накопленных в течение дня [16].

#### Нитрогеназная активность ризосферы и ризопланы

Из табл. 2 видно, что уровни нитрогеназной активности в ризосфере и ризоплане совершенно различны.

У кукурузы в ризосфере наиболее высокая нитрогеназная активность составляла в среднем 1588 нмоль этилена на 1 г почвы в час, в ризоплане — всего 329. Подобные различия наблюдались и в корневой зоне овса.

В то же время изучаемые растения существенно отличались друг от друга по уровню активности нитрогеназы в корневой зоне. У кукурузы он был заметно выше, чем у овса. Это вполне объяснимо, поскольку кукуруза как  $C_4$ -растение обладает более высокой фотосинтетической активностью.

Таким образом, разница в интенсивности фотосинтеза и в связи с этим различные количества корневых выделений определяют различия несимбиотической фиксации азота в корневой зоне растений.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Баславская С. С. Фотосинтез (избр. гл. по физиологии и биохимии процесса). М.: МГУ, 1974, с. 13. — 2. Беликов П. С., Моторина М. В., Куркова Е. Б. Опыт применения инфракрасного газоанализатора (ГИП-5) для опре-

деления интенсивности фотосинтеза. — Изв. ТСХА, 1960, № 3, с. 30—39. — 3. Курсанов А. П. Транспорт ассимилятов в растениях. М.: Наука, 1976. — 4. Методы почвенной микробиологии и биохимии. / Под ред. Д. Г. Звягинцева. — М.: МГУ, 1980, с. 39—40. — 5. Мишустин Е. Н., Емцев В. Т. Почвенные азотфиксирующие бактерии рода *Clostridium*. М.: Наука, 1974. — 6. Прянишников Д. Н. Азот в жизни растений и земледелии СССР. М.: АН СССР, 1945. — 7. Рыжова И. М., Умаров М. М. Динамика азотфиксации в луговом биоценозе. — Почвоведение, 1979, № 8, с. 39—42. — 8. Физиол. с.-х. растений. / Гл. ред. Рубин Б. А. М.: МГУ, 1967, т. I. — 9. Balandreau J. P., Dommerquer Y. R. — C. R. Acad. Sci. Paris., 1971, ser. D., D., N 273, p. 2020—2023. — 10. Balandreau J. P., Dommerquer Y. R. — Bull. Ecol. Comm. Stockholm, 1973, vol. 17, N 2, p. 247—254. — 11. Balandreau J. P., Willemain G. — Revue d'ecologie de biologie du sol., 1976, t. 10, p. 29. — 12. Black C. C. — Annual. Rev. Plant Physiol., 1973, vol. 24, p. 253. — 13. Chollet R. a. Ogren W. L. — Bot. Rev., 1975, vol. 41, p. 147—149. — 14. Dilworth M. J. — Biochem. Biophys. Acta, 1966, N 127, p. 285—284. — 15. Döbereiner J., Day J. M., Dart P. J. — J. Gen. Microbiol., 1972, vol. 71, p. 103—116. — 16. Döbereiner J., Day J. M. — Internat. Biol. Programme Series. Cambridge, England, 1975, vol. 6, p. 343—347. — 17. Döbereiner J. — In: Recent developments in nitrogen fixation. Academic Press. L., 1977, p. 513—522. — 18. Dommerquer Y. R., Balandreau J. P., Rinando G. — Soil Biol. Biochem. 1972, vol. 5, p. 83—85. — 19. Egle K., Ernst A. — Naturforsch, 1949, Bd 4, H. 6. — 20. Hardy R. W. F., Holsten R. D., Jackson E. K. — Plant Physiol., 1968, vol. 43, p. 2285—1207. — 21. Hatch M. D., Slack C. R. — Ann. Rev. Plant Physiol., 1970, vol. 21, p. 141. — 22. Ludlow M. M. — In: Water and Plant Life, 1976. Berlin-Heidelberg. — N. J., p. 364. — 23. Welson A. D., e. a. — Canad. J. Microbiol., 1976, vol. 22, N 2, p. 226—232. — 24. Schöllhorn R., Burris R. H. — Proceedings of the National Acad. of Sci., USA, 1967, vol. 58, p. 213—216.

Статья поступила 21 июля 1982 г.

## Summary

Results of pot experiments showed the existence of connection between photosynthetic activity and nitrogen fixation in the root zone of corn ( $C_4$  type) and oats ( $C_3$  type). Levels of nitrogenous activity in rhizosphere and rhizoplan are sharply different. The process of non-symbiotic fixation of nitrogen is most energetic in rhizosphere of plants and is in close connection with the intensity of photosynthesis.