

УДК 631.367:631.811.1:581.132

## ФОТОСИНТЕЗ И ФИКСАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО АЗОТА У ЛЮПИНА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УРОВНЯХ АЗОТНОГО ПИТАНИЯ

Б. А. ЯГОДИН, Ю. Я. МАЗЕЛЬ, Ю. Г. САЗОНОВ  
(Кафедра агрономической и биологической химии)

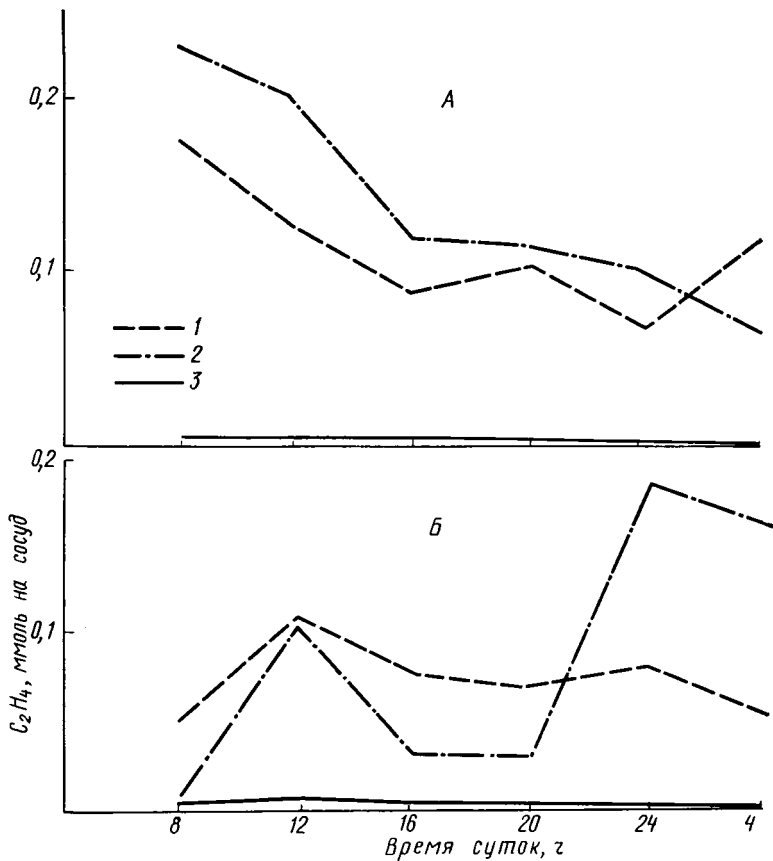
В настоящее время исследователями широко обсуждается вопрос о необходимости внесения азотных удобрений под бобовые культуры. Одни авторы [3, 7, 8] утверждают, что благодаря азотфиксирующей способности клубеньков бобовые могут полностью удовлетворить свою потребность в азоте. При наличии в среде минерального азота клубеньковые бактерии не фиксируют молекулярный азот. Другие исследователи [1, 11] считают, что клубеньковые бактерии не всегда способны полностью обеспечить растение азотом, и поэтому в почву с удобрениями целесообразно вносить и азот. Чаще всего рекомендуется давать лишь небольшие стартовые нормы азота. В некоторых работах [5, 6] указывается на эффективность и сравнительно высоких норм азотных удобрений.

Имеются данные [14, 16] о том, что развитие клубеньков и азотфиксирующая способность клубеньковых бактерий определяются интенсивностью фотосинтеза и условиями оттока углеводов в корневую систему. Для поддержания максимальной активности нитрогеназы у некоторых видов бобовых клубеньки нуждаются в непрерывном притоке продуктов фотосинтеза [15]. Увеличение скорости фотосинтеза за счет дополнительного освещения приводит к усилению азотфиксации, тогда как обработка дефолиантами и затенение растений, снижающие скорость фотосинтеза, приводят

к ее ослаблению. Продукты фотосинтеза, поступив в клубеньки, быстро включаются в обмен веществ [10]. Однако взаимосвязь процессов фотосинтеза и фиксации молекулярного азота на различных уровнях азотного питания бобовых до сих пор не исследована. Недостаточно исследованы и суточные ритмы симбиотической азотфиксации у бобовых культур [9, 10]. Указанные вопросы изучались нами в ряде вегетационных опытов.

### Материал и методика

Вегетационные опыты проводили с люпином сорта Быстрорастущий 4 в песчаной культуре при трех уровнях питания: без азота, половинная и двойная его норма по питательной смеси Ринькиса. Перед посевом семена инокулировали активным штаммом *Rhizobium lupini* 359a путем замачивания их в суспензии штамма. Интенсивность фотосинтеза регулировали затенением. Длительность затенения 1; 3 и 6 сут. Освещенность изменялась в 1000 раз. В каждую фазу вегетации одновременно во всех вариантах определяли азотфиксирующую активность клубеньков ацетиленовым методом [13]. Для этого их навеску (1 г) помещали в пенициллиновый пузырек, герметично закрывали и вводили 1 мл ацетилена. После 30 мин экспозиции отбирали 1 мл газовой смеси на хроматограф. Об



Азотфиксация у люпина в течение суток.

А — в фазу бутонизации; Б — в фазу цветения. 1 — без азота; 2 — половинная норма; 3 — двойная норма азота.

интенсивности азотфиксации судили по количеству образованного этилена. Ход суточной азотфиксации определяли на целых растениях ацетиленовым методом. Растения инкубировали под герметичными колпаками из полиэтилена с ацетиленом в течение 2 ч. Интервалы между определениями составляли 4 ч. «Метод колпаков» [9] позволяет исследовать симбиотическую азотфик-

сацию без нарушения жизнедеятельности растений.

Применение метода радиоактивных индикаторов позволило нам определить, как влияют условия азотного питания на передвижение ассимилятов в растения. Для этого растения люпина выращивали при двух уровнях питания: без азота и двойная его норма по питательной смеси Ринькиса.

Т а б л и ц а 1

Изменение азотфиксирующей активности клубеньков люпина (мкмоль на 1 г сырой массы клубеньков за 1 ч) по фазам вегетации (в числителе — затенение, в знаменателе — без затенения)

Вариант опыта	Бутонизация			Цветение			Образование зеленых бобиков		
	1	3	6	1	3	6	1	3	6
Без азота	0,32	0,02	0,01	0,58	0,13	0,01	0,47	0,06	0,01
	0,55	1,54	3,74	4,14	24,52	17,63	10,41	7,24	0,52
1/2 нормы азота	0,18	0,04	0,01	0,31	0,09	0,00	0,33	0,04	0,00
	0,64	3,23	4,19	5,79	18,69	10,20	7,60	6,33	0,42
2 нормы азота	0,08	0,01	0,01	0,18	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00
	0,24	0,26	1,17	1,44	0,85	0,94	1,04	1,19	0,41

Распределение  $^{14}\text{C}$  по органам люпина в варианте без азота (числитель)  
и при внесении его двойной нормы (знаменатель)

Орган растения	30 мин		1,5 ч		2,5 ч	
	имп/с на сосуд	% от общей активности	имп/с на сосуд	% от общей активности	имп/с на сосуд	% от общей активности
Клубеньки	104	0,37	244	0,91	567	2,17
	16	0,07	103	0,49	77	0,35
Корни	287	1,03	259	0,96	684	2,62
	391	1,71	614	2,91	134	0,59
Стебли	2900	10,31	4700	17,46	5900	22,61
	3000	13,03	2200	10,53	2700	11,91
Листья	25000	88,29	22000	80,86	19000	71,57
	20000	85,20	18000	86,07	19800	87,15

П р и м е ч а н и е. Общая активность: без азота — 28000, в варианте с двойной нормой азота — 23000 имп/с на сосуд.

Целые растения с корневыми системами помещали в камеру с радиоактивной углекислотой  $^{14}\text{CO}_2$  и тщательно изолировали от внешнего воздуха. После 30-минутной экспозиции проводили отбор образцов через 30 мин, 1,5 и 2,5 ч. Корневые клубеньки, корни, листья и стебли по отдельности измельчали. Радиоактивность органов определяли счетчиком Т-25 БФЛ на установке РПС 2-03Т.

#### Результаты исследований

Затенение растений приводило к снижению азотфиксации, но в большей степени при внесении минерального азота (табл. 1). Так, после 6-суточного затенения азотфиксация в варианте без азота уменьшилась более чем в 40 раз, в варианте с половинной его нормой она полностью прекратилась, при двух нормах азота ее не было уже после 3-суточного затенения. Максимум интенсивности азотфиксации наблюдался в фазу цветения в вариантах без азота и с половинной нормой. В фазу бутонизации при внесении половинной нормы азота она была выше, чем в варианте без азота. Это объясняется тем, что небольшая стартовая норма азота способствует хорошему развитию клубеньков в ранние фазы вегетации. Затем происходит некоторое ослабление азотфиксации. Уже в фазу цветения в варианте без азота изучаемый показатель был выше, чем в вариантах с азотом.

Ход суточной азотфиксации у люпина в фазу бутонизации и цветения приведен на рисунке.

В течение суток интенсивность азотфиксации у люпина складывалась следующим образом. В фазу бутонизации максимум ее приходился на утренние часы (8 ч), причем в варианте с половинной нормой азота фиксация происходила интенсивнее, чем в варианте без азота. В фазу цветения максимум отмечался в полдень. В этом случае она была наибольшей в варианте без азо-

та. Повышенная норма азота снижала данный показатель во все фазы развития.

Как видно из табл. 2, более активное поступление продуктов, меченных  $^{14}\text{C}$ , наблюдалось в варианте без азота. При двойной норме азота оно было на 20 % ниже. Уже спустя 30 мин после экспозиции метка обнаружена в клубеньках обоих вариантов (соответственно 0,37 и 0,07 от общей активности). За 2,5 ч в варианте без азота в клубеньки поступило в 7 раз больше продуктов, меченных  $^{14}\text{C}$ , чем в варианте с азотом, в корни — в 5, и в стебли — в 2 раза больше.

Неодинаковая интенсивность притока продуктов фотосинтеза в корневые клубеньки при различных уровнях азотного питания сказалась на интенсивности азотфиксации. Благодаря значительному накоплению продуктов фотосинтеза в клубеньках в варианте без азота азотфиксация не ослаблялась даже после 6-суточного затенения, тогда как при меньшем поступлении продуктов фотосинтеза в варианте с азотом затенение в течение 3 сут полностью подавило азотфиксирующую активность клубеньков.

Из табл. 3 видно, что наиболее благоприятное действие на урожайность люпина оказывала половинная норма азота. Однако люпин хорошо развивался и в вариан-

Т а б л и ц а 3

#### Урожайность люпина (г/сосуд) при различных уровнях азотного питания

Вариант опыта	Зерно		Солома	
	1978	1979	1978	1979
Без азота	10,6	9,8	28,9	26,3
$1/2$ нормы азота	11,9	10,3	30,9	29,5
2 нормы азота	7,7	6,7	23,9	20,9
$\text{HCP}_{05}$	0,9	1,1	3,6	3,0

те без азота. Двойная норма азота привела к торможению роста и развития люпина в течение всего периода вегетации, что отрицательно сказалось на урожае зерна и соломы.

### Выводы

1. Затенение люпина приводит к снижению фиксации молекулярного азота, но в варианте с минеральным азотом в большей степени, чем в варианте без азота.
2. Максимум интенсивности азотфиксации приходился на фазу цветения.

3. При увеличении нормы азота азотфиксация снижалась.

4. Максимум азотфиксации в течение суток наблюдался в фазу бутонизации в утренние часы, в фазу цветения в полдень.

5. Наиболее активное поступление продуктов фотосинтеза в корневые клубеньки отмечалось в варианте без азота, при внесении двойной нормы азота оно было на 20 % меньше.

6. Урожайность люпина была самой высокой при половинной норме азота. Двойная норма азота тормозила рост и развитие люпина в течение всего периода вегетации.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Алпатов К. Л. К истории вопроса об изучении эффективности удобрений под зернобобовые культуры. — Науч. тр. ВНИИ зернобобовых культур, 1971, т. 3, с. 290—308. — 2. Гукова М. М. Азотфиксация у бобовых растений при внесении азотных удобрений. — Изв. ТСХА, 1971, вып. 3, с. 87—95. — 3. Доросинский М. М., Афанасьева Л. М. Размеры симбиотической фиксации азота бобовыми культурами и методы ее определения. — Изв. АН СССР, сер. биол., 1972, № 3, с. 355—360. — 4. Мишустин Е. Н., Шильникова В. К. Биологическая фиксация атмосферного азота. М.: Наука, 1968. — 5. Неунылов Б. А., Слабко Ю. И. Азотное удобрение сои. — Агрохимия, 1967, № 11, с. 45—51. — 6. Посыпанов Г. С. Потребление питательных веществ и формирование урожая некоторых зернобобовых культур на разном уровне питания минеральным азотом. — Автореф. канд. дис. М., 1970. — 7. Трепачев Е. П., Атрашкова Н. А., Хабарова А. И. Размеры фиксации атмосферного азота бобовыми растениями и методы их определения. — Агрохимия, 1967, № 8, с. 10—18. — 8. Федоров М. В., Ласло Д. — Азотфиксирующая активность клубеньковых бактерий гороха и вики в клубеньках в разные фазы развития бобового растения. — Изв. ТСХА, 1956, вып. 2, с. 61—82. — 9. Чундерова А. И., Алисова С. М. Суточная динамика активности симбиотической азотфиксации у гороха в фазу бутонизации и цветения. — Физиол. раст., 1979, т. 26, вып. 3, с. 593—598. — 10. Шапошников Г. А., Евстигнеева З. Г., Асеева К. Б., Кретович В. А. Изменение интенсивности фиксации молекулярного азота, содержания свободных аминокислот и аммиака в клубеньках люпина в течение суток. — Физиол. раст., 1975, № 22, с. 786—793. — 11. Шевчук В. Е. Удобрение бобовых культур в Восточной Сибири. Иркутск: Вост.-Сиб. изд-во, 1977. — 12. Ягодина М. С., Веревкин Е. Л. Интенсивность азотфиксации у люпина желтого в условиях различной обеспеченности минеральным азотом. — Изв. АН СССР, сер. биол., 1978, № 5, с. 754—760. — 13. Ягодин Б. А., Савич М. С., Ильясова В. Б., Гришина Л. Г. Изучение азотфиксирующей активности клубеньков люпина в связи с содержанием в них продуктов фиксации. — Физиол. раст., 1975, № 22, вып. 6, с. 1195—1198. — 14. Bach M. K., Magee W. E., Burris R. H. — Plant Physiol., Lancaster, 1958, vol. 33, N 2, p. 118—123. — 15. Lawn R. I., Brun W. A. — Crop Sci., 1974, vol. 14, N 1, p. 11—16. — 16. Lindstrom E. S., Newton J. W., Wilson P. W. — Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1952, vol. 38, N 5, p. 392—396.

Статья поступила 4 июля 1980 г.

### SUMMARY

In pot trial with lupine of Bystrorastushchy-4 variety in sandy culture, variations in the intensiveness of photosynthesis and molecular nitrogen fixation at different levels of nitrogenous nutrition (1/2 rate of nitrogen according to Rink's nutrient mixture and 2 rates of nitrogen) were studied. In shade nitrogen fixation in plant gets lower in the version with mineral nitrogen than in the version without nitrogen. The highest nitrogen fixation was observed at the blooming stage. The higher rate of nitrogen results in lower nitrogen fixation. During 24 hours the highest nitrogen fixation in the budding stage is observed in the morning, and in the blooming stage—in the afternoon.

The intensiveness of coming of photosynthesis products into root nodules varies with the level of nutrition: they come most intensively without nitrogen, in the version with 2 rates of nitrogen the intensiveness is by 20% lower than without nitrogen. Application of 1/2 rate of nitrogen produces favourable effect on the yield of lupine. The double rate inhibits the growth and development of lupine during the whole growing period.