

Продуктивность кормовых и лекарственных растений

УДК 633.1/.2:581.132:631.559.2:631.461.5

АЗОТФИКСАЦИЯ И ИНТЕНСИВНОСТЬ ФОТОСИНТЕЗА В ЛЮПИНО-ЯЧМЕННОМ АГРОЦЕНОЗЕ

А.С. КОНОНОВ

В условиях Брянской области в полевых опытах сравнили показатели фотосинтетической активности у растений в одновидовых и смешанных люпино-злаковых посевах (люпин узколистный *Lupinus angustifolius* L. сорта Белозерный 110 и ячмень *Hordeum sativum* L. сорта Зазерский 85), а также на фоне применения препаратов клубеньковых бактерий и ассоциативных микроорганизмов (*Rhizobium lupine* штамм 363а, мизорин и флавобактерин). Установлено, что интенсивность фотосинтеза в бобово-злаковом гетерогенном агроценозе выше, чем в одновидовых посевах, и эти различия сохраняются при инокуляции семян клубеньковыми и ассоциативными ризобактериями. Содержание хлорофилла в листьях у ячменя повышалось в 1,6 раза по сравнению с вариантами без применения бактериальных препаратов. В смешанных посевах доля азота, поглощенного ячменем из корневых выделений люпина, составляла более 25 % от всего количества азота, полученного злаковой культурой.

Ключевые слова: *Lupinus angustifolius*, азотфиксация, ризобактерии, фотосинтез, смешанные посевы, хлорофилл.

Keywords: *Lupinus angustifolius*, nitrogen fixation, rhizobacteria, photosynthesis, mixed crops, chlorophyll.

Полноценные концентрированные корма со сбалансированным соотношением лизина и метионина можно получать за счет выращивания смешанных люпино-злаковых посевов (1), одной из основных проблем при конструировании которых остается питание растений.

О прижизненном обмене метаболитами в фитоценозе через соседствующие корневые системы известно давно (2). До 30-50 % от общего количества продуктов фотосинтеза за вегетационный период отчуждается с корневыми выделениями (3).

Содержание свободных аминокислот в корневых выделениях существенно различается у злаковых и бобовых культур, причем у последних оно выше (4). Например, у пелюшки в корневых выделениях обнаружено 18 аминокислот. В среднем за сутки одно растение выделяет до 152 мг аминокислот, что составляет 10-17 кг аминного азота за вегетацию (4). В корневых выделениях люпина преобладает аспарагиновая кислота, которая способна легко усваиваться другими растениями (Е.И. Ратнер с соавт., 1961). В корневой сфере смешанных посевов люпина со злаками она служит источником дополнительного азотного питания для последних.

По расчетам А.М. Гродзинского (1965), водорастворимые органические выделения корней могут составлять 30-40 ц/га при общем урожае сухого вещества корневой системы 60-70 ц/га. Поступающие в почву через корни органические вещества активизируют деятельность как diaзотрофов, так и гетеротрофов, разлагающих гумус. Эффективность мобилизации азота в системе почва—микроорганизмы—растение за счет его связывания из атмосферы и извлечения из гумусовых веществ определяется наличием легкодоступного азота. Так, с увеличением соотношения углерода и азота в почве усиливается азотфиксация, а повышение фотосинтетической активности растений приводит к возрастанию степени минерализации гумуса.

В последние 40 лет опубликованы фундаментальные работы по проблеме азотфиксации у автотрофных растений (5-15). В этот период важ-

нейшим направлением было изучение азотфиксации как процесса, лимитирующего у бобовых остальные реакции метаболизма азота, а также установление взаимосвязи азотфиксации с фотосинтезом. В частности, поступление фотоассимилянтов из листьев в клубеньки рассматривалось как главный фактор, ограничивающий восстановление молекулярного азота и его ассимиляцию (Е.Н. Мишустин, 1968; Н.Г. Федулова, 1980; В.И. Романов, 1983).

Согласно современным представлениям, существует высокочувствительный механизм, контролирующий активность нитрогеназы, непосредственно связанный как с фотосинтетическими возможностями бобового растения, так и с его потребностями в азоте (12, 16), и растению принадлежит ведущая роль в регуляции эффективности симбиотической азотфиксации. В первую очередь, от макросимбионта бактерии получают углеводы, необходимые для роста и фиксации азота атмосферы — в расчете на одну молекулу N_2 требуется 15 молекул АТФ (или на 1 мг N_2 — 10,3 мг углеводов). При активной азотфиксации около 30 % углеводов, синтезированных в процессе фотосинтеза, затрачивается клубеньками на связывание азота воздуха (6), при этом 42 % передается корням, несущим клубеньки, и только 26 % используется для синтеза сухого вещества надземной массы (Е.П. Старченко, 1987). Передвижению углеводов в растении способствует калий, поэтому на фоне калийных удобрений масса и азотфиксирующая способность клубеньков возрастают (6).

По мнению А.Л. Кокориной и А.П. Кожемякова (15), эффективность симбиоза в значительной степени определяется не только площадью фотосинтезирующей поверхности, но и количеством хлорофилла. На мутантах гороха доказано, что при низком содержании хлорофилла (3 % от нормы) у растений формировался нормальный симбиотический аппарат, однако фиксация молекулярного азота не происходила (17). С увеличением количества пигмента активность нитрогеназы повышалась, и при содержании хлорофилла 40-60 % от нормы различий по нитрогеназной активности практически не наблюдали. На ограничение фотосинтеза или роста симбиотическая система бобового растения отвечает падением количества фиксируемого азота. Например, при затемнении у люпина в клубеньках нитрогеназная активность резко уменьшалась уже после 1-х сут, через 3-5 сут ацетилен-восстанавливающая способность снижалась до 3-5 % по сравнению с показателем у растений, находящихся на свету. При уменьшении притока фотоассимилянтов к клубенькам, вызванном затемнением, в них заметно снижалось содержание леггемоглобина (18). Таким образом, процессы азотфиксации и фотосинтеза у бобовых тесно взаимосвязаны, поэтому применение биопрепаратов, способных оптимизировать рост и развитие растений, рассматривается в качестве перспективного приема повышения урожайности (7, 13-15, 19-21).

Цель настоящей работы — изучить влияние клубеньковых бактерий и ассоциативных микроорганизмов на интенсивность фотосинтеза в смешанных люпино-злаковых посевах.

Методика. Наблюдения проводили в 1998-2007 годах в условиях опытного поля (г. Брянск). Почвы — серые лесные легкосуглинистые с содержанием гумуса по Тюрину 2,4-3,1 %, подвижного фосфора P_2O_5 по Кирсанову — 22-28 мг и обменного калия K_2O по Масловой — 14-20 мг на 100 г почвы, $pH_{\text{сол.}}$ 5,2-5,8, структура — комковато-зернистая, переходящая в верхнем слое в комковато-пылеватую, способную заплывать после дождей. Климатические факторы в целом благоприятные: осадки в течение года выпадают относительно равномерно, отсутствует длительное переувлажнение.

ние и систематические засухи. Годовая сумма осадков — 550-600 мм, за вегетационный период (апрель-сентябрь) — 320-350 мм, гидротермический коэффициент — 1,3-1,6, сумма активных температур — от 1970 до 2340 °С. В некоторые месяцы могут создаваться как засушливые условия, так и избыточное увлажнение, что отрицательно сказывается на формировании урожая в смешанных посевах.

Объектами исследований были сорта люпина узколистного (*Lupinus angustifolius* L.) Белозерный 110 и ячменя (*Hordeum sativum* L.) Зазерский 85. В монокультуре норма высева (млн всхожих семян на 1 га) для люпина составила 1,2, для ячменя — 5,5, в смешанных посевах — 1,0 (люпин) + 1,6 (ячмень). В качестве микросимбионтов использовали препараты клубеньковых бактерий рода *Rhizobium lupine* штамм 363а (ризоторфин), а также ассоциативных ризобактерий (мизорин и флавобактерин). Препараты были предоставлены Всероссийским НИИ сельскохозяйственной микробиологии (г. Санкт-Петербург—Пушкин).

При изучении накопления азота растениями в смешанных фитоагроценозах (без применения микробиологических препаратов) контролями служили одновидовые посевы. Для определения интенсивности фотосинтеза и содержания хлорофилла в листьях под влиянием клубеньковых и ассоциативных ризобактерий сравнивали следующие варианты: контроль 1, контроль 2 и контроль 3 — соответственно одновидовые и смешанный посевы без обработки ризобактериями; опыт — смешанные посевы на фоне обработки одним из бактериальных препаратов (ризоторфин, флавобактерин или мизорин) либо при совместном применении ризоторфина и флавобактерина или ризоторфина и мизорина. В день высева семена обрабатывали препаратами согласно схеме опыта из расчета 200 г ризоторфина, 400 г мизорина или флавобактерина на 1 га.

Интенсивность фотосинтеза оценивали при помощи прибора, предложенного Ивановой и Коссович (Ф.Д. Сказкин с соавт., 1953), количество хлорофилла в листьях — на фотоэлектроколориметре КФК-2 (Россия) в фазу бутонизации, концентрацию веществ в растворе — по градуировочным графикам. Коэффициент симбиотической азотфиксации вычисляли методом сравнения с небобовой культурой (22). Содержание общего азота определяли по Кьельдалю (ГОСТ 13496.4-93), фосфора и калия — соответственно ванадо-молибдатным (ГОСТ 26657-97) и пламенно-фотометрическим (ГОСТ 30504-97) методом (23-25).

Для статистической обработки данных применяли дисперсионный анализ (26).

Результаты. Использованные в качестве объекта исследования сорта люпина и ячменя — наиболее распространенные в юго-западной части Нечерноземной зоны. В смешанном люпино-ячменном агроценозе на фоне внесения клубеньковых и ассоциативных ризобактерий улучшалось минеральное питание растений, что благоприятно влияло на формирование урожая. Содержание азота в расчете на единицу площади посева увеличилось на 11-19, фосфора — на 17-49, калия — на 34-55 %. Листовой индекс в люпино-ячменном агроценозе был на 17-23 % больше, чем в среднем по одновидовым посевам.

Вместе с тем в смешанных посевах растения люпина к фазе бутонизации испытывали дефицит инсоляции из-за затенения верхним ярусом листьев более высокорослых на этот период растений ячменя. Можно предположить, что преобразование фосфоглицериновой кислоты (ФГК) в фосфоглицериновый альдегид (ФГА) в цикле Кальвина лимитировано недостатком НАДФН, вызванным затенением, и ФГК при этом превра-

щается в пировиноградную кислоту (ПВК) (27). ПВК в присутствии NH_3 образует аланин, а в цикле Кребса — ряд органических кислот. Аминокислоты и амиды, синтезируемые в растении люпина в условиях затенения, в результате водного стресса выделяются в ризосферу, а затем ассимилируются корнями ячменя. Водный стресс в смешанных посевах возникает вследствие интенсивной транспирации. Как показали наши исследования, суммарное испарение влаги люпином и ячменем с единицы площади смешанного посева было на 75 % выше, чем у люпина в одновидовом посеве.

Экзосмос азотистых веществ из клеток корней бобового растения обеспечивал злаки дополнительным азотом. Доля азота, который поступал в ячмень из корневых выделений люпина, составляла более 25 % от всего количества, поглощенного ячменем (табл. 1). При этом в смешанном посева на фоне усиления азотного питания площадь фотосинтезирующих органов у ячменя увеличивалась примерно в 1,5-2,2 раза. Листовой индекс у люпина, напротив, уменьшался в 2,5-2,6 раза по сравнению с показателем в одновидовом фитоценозе.

1. Накопление азота в биомассе в одновидовых и смешанных посевах люпина узколистного *Lupinus angustifolius* L. (сорт Белозерный 110) и ячменя *Hordeum sativum* L. (сорт Зазерский 85) (опытное поле, г. Брянск, 1998-2007 годы)

| Культура | Число растений, шт/м ² | Поглощено азота в биомассе растений, г/м ² | | | Коэффициент поглощения симбиотического азота биомассой растений, % |
|---------------------------|-----------------------------------|---|--------------------------|-------|--|
| | | молекулярного азота воздуха | минерального азота почвы | всего | |
| Одновидовой агрофитоценоз | | | | | |
| Бобовая | 75 | 20,02 | 6,51 | 32,53 | 80,0 |
| Злаковая | 264 | 0,00 | 24,37 | 24,37 | 0,0 |
| Смешанный агрофитоценоз | | | | | |
| Бобовая | 70 | 7,59 | 5,81 | 13,40 | 56,6 |
| Злаковая | 130 | 6,06 | 17,94 | 24,00 | 25,3 |

Уменьшение листового индекса у бобового растения в смешанном агрофитоценозе — результат регуляторного взаимодействия его компонентов, характерного для гетерогенной биосистемы. Это уменьшение не оказывало отрицательного влияния на общую интенсивность фотосинтеза в агроценозе. Поглощение CO_2 на единицу площади листовой поверхности у люпина оставалось таким же, как в одновидовом посева (табл. 2).

2. Интенсивность фотосинтеза и содержание хлорофилла в листьях у растений в смешанных посевах люпина узколистного *Lupinus angustifolius* L. (сорт Белозерный 110) и ячменя *Hordeum sativum* L. (сорт Зазерский 85) под влиянием препаратов клубеньковых и ассоциативных ризобактерий (опытное поле, г. Брянск, среднее за 2005-2007 годы)

| Вариант | Интенсивность фотосинтеза, мг $\text{CO}_2 \cdot \text{дм}^{-2} \cdot \text{ч}^{-1}$ | | Содержание хлорофилла в листьях, мг/мл | |
|---|--|--------|--|--------|
| | люпин | ячмень | люпин | ячмень |
| Люпин без обработки (контроль 1) | 132,8 | | 1,52 | |
| Ячмень без обработки (контроль 2) | | 25,0 | | 1,27 |
| Люпин + ячмень без обработки (контроль 3) | 122,8 | 38,3 | 1,44 | 1,42 |
| Люпин + ячмень + ризоторфин | 129,4 | 42,1 | 1,62 | 1,69 |
| Люпин + ячмень + флавобактерин | 118,1 | 50,3 | 1,48 | 1,84 |
| Люпин + ячмень + мизорин | 125,1 | 56,3 | 1,71 | 2,08 |
| Люпин + ячмень + ризоторфин + флавобактерин | 121,2 | 53,2 | 1,78 | 2,11 |
| Люпин + ячмень + ризоторфин + мизорин | 123,8 | 59,3 | 1,66 | 2,28 |
| НСР ₀₅ | 8,3 | 11,4 | 0,09 | 0,22 |

В одновидовых посевах интенсивность фотосинтеза у растений люпина в 5,3 раза превышала аналогичный показатель у ячменя.

При инокуляции семян клубеньковыми и ассоциативными ризо-

бактериями в смешанном посеве интенсивность фотосинтеза в вариантах с применением штамма 363а совместно с флавобактерином или мизорином увеличивалась в 2,3 раза по сравнению со средним показателем по одновидовым посевам (см. табл. 2).

У люпина в смешанном посеве интенсивность фотосинтеза снижалась на 2,5-11,1 % по сравнению с показателем в монокультуре (см. табл. 2). При инокуляции семян люпина и ячменя смесью ризобактерий (ризоторфин + мизарин) поглощение углекислоты в гетерогенном агроценозе составило $183,1 \text{ мг CO}_2 \cdot \text{дм}^{-2} \cdot \text{ч}^{-1}$, что на $25,3 \text{ мг CO}_2 \cdot \text{дм}^{-2} \cdot \text{ч}^{-1}$, или на 32,0 %, больше соответствующего суммарного показателя для одновидовых посевов без обработки ризобактериями. Клубеньки на корнях люпина в смешанном посеве имели розовую окраску, а их масса в расчете на растение была приблизительно равна средней в одновидовом посеве. У ячменя при совместном посеве с люпином количество поглощенного CO_2 в 1,5-2,4 раза превышало соответствующий показатель в одновидовом агрофитоценозе (см. табл. 2). Следовательно, в смешанном посеве злаковая культура потребляла CO_2 интенсивнее, чем люпин.

Обработка семян клубеньковыми и ассоциативными ризобактериями увеличивала количество хлорофилла в листьях у люпина на 18,7-23,6, у ячменя — на 46,5-60,5 % по сравнению с показателем в смешанном агрофитоценозе без обработки (см. табл. 2). При совместном посеве содержание хлорофилла в листьях у ячменя зависело от потребления азота в расчете на одно растение, которое в смешанном посеве было в 2 раза больше, чем в одновидовом. Кроме того, в смешанных посевах, где использовались клубеньковые и ассоциативные ризобактерии, содержание хлорофилла у люпина повысилось в 1,2-1,3 раза относительно значения для смешанного посева без применения бактериальных препаратов. При совместном использовании клубеньковых и ассоциативных ризобактерий содержание хлорофилла у ячменя увеличилось в 1,5-1,6 раза по сравнению с контролем (см. табл. 2).

Таким образом, интенсивность фотосинтеза в люпино-ячменном гетерогенном агрофитоценозе без применения ризобактерий в 2 раза выше, чем по двум одновидовым посевам (люпина и ячменя) в среднем. При инокуляции семян клубеньковыми и ассоциативными ризобактериями в смешанном посеве она увеличивается в 2,3 раза по сравнению с соответствующей средней по культурам-компонентам в одновидовых посевах и на 13,7 % — относительно показателя для смешанного посева без обработки ризобактериями. Интенсивность фотосинтеза и содержание хлорофилла прямо зависят от азотного питания обоих компонентов агрофитоценоза. В биомассе растений ячменя в смешанных посевах доля азота, поглощенного из корневых выделений люпина, составляет более 25 % от количества, полученного злаковой культурой. В смешанных посевах при использовании клубеньковых и ассоциативных ризобактерий содержание хлорофилла у ячменя в 1,6 раза выше, чем без применения бактериальных препаратов.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Кононов А.С. Люпин: технология возделывания в России. Брянск, 2003.
2. Гродзинский А.М. Аллелопатия растений и почвоутомление. Киев, 1991.
3. Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв. М., 1989.
4. Минько И.Ф. Изменение минерального питания растений в зависимости от структуры агрофитоценоза. В сб. тр.: Гумус и азот в земледелии Нечерноземной зоны РСФСР. Л., 1987: 62-74.
5. Мильто Н.И. Клубеньковые бактерии и продуктивность бобовых растений. Минск, 1982.

6. Вавилов П.П., Посыпанов Г.С. Бобовые культуры и проблема растительного белка. М., 1983.
7. Берестецкий О.А., Возняковская Ю.М., Доросинский Л.М., Круглов Ю.В., Муромцев Г.С., Тарвис Т.В., Туев Н.А., Чундерова А.И. Биологические основы плодородия почв. М., 1984.
8. Мишустин Е.Н. Минеральный и биологический азот в земледелии СССР. М., 1985.
9. Кротович В.Л. Усвоение и метаболизм азота у растений. М., 1987.
10. Кожемяков А.П., Доросинский Л.М. Роль нитрагинизации в повышении урожая и накоплении белка бобовыми культурами. Тр. ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, 1987, 57: 7-15.
11. Кравченко Л.В., Кравченко И.К., Боровков А.В., Пшикрил З. Возможность биосинтеза ауксинов ассоциативными азотфиксаторами в ризосфере пшеницы. Микробиология, 1991, 60(5): 927.
12. Тихонович И.А., Проворов Н.А. Сельскохозяйственная микробиология как основа экологически устойчивого агропроизводства: фундаментальные и прикладные аспекты. Сельскохозяйственная биология, 2011, 3: 3-9.
13. Завалин А.А. Биопрепараты, удобрения и урожай. М., 2005.
14. Тихонович И.А., Кожемяков А.П., Чеботарь В.К. Биопрепараты в сельском хозяйстве. М., 2005.
15. Новые технологии производства и применения биопрепаратов комплексного действия /Под ред. А.А. Завалина, А.П. Кожемякова. СПб, 2010.
16. Minchin F.R. The regulation of nitrogen fixation in legumes. In: New approaches and techniques in breeding sustainable fodder crops and amenity grasses. Vena, 1999: 3-16.
17. Тихонович И.А., Романов В.И., Алисова С.М. Азотфиксация и фотоассимиляты в клубеньках хлорофилльных мутантов гороха. Генетика, 1985, 21: 1021-1025.
18. Белима Н.И., Шипота А.К. Функциональная активность бактериоидов в зависимости от условий обеспечения растительными ассимилятами. В сб.: Биологическая фиксация молекулярного азота. Киев, 1983: 157-161.
19. Васюк Л.Ф. Азотфиксирующие организмы на корнях небобовых растений и их практическое использование. В сб.: Биологический азот в сельском хозяйстве СССР. М., 1989: 88-98.
20. Завалин А.А., Алметов Н.С. Применение биопрепаратов и биологический азот в земледелии Нечерноземья. М., 2009.
21. Кокорина А.Л., Кожемяков А.П. Бобово-ризобияльный симбиоз и применение микробиологических препаратов комплексного действия — важный резерв повышения продуктивности пашни. СПб, 2010.
22. Посыпанов Г.С. Методы изучения биологической фиксации азота воздуха: справ. пос. М., 1991.
23. ГОСТ 13496.4-93. Межгосударственный стандарт. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания азота и сырого протеина. Минск, 1993.
24. ГОСТ 26657-97. Межгосударственный стандарт. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания фосфора. Минск, 1999.
25. ГОСТ 30504-97. Межгосударственный стандарт. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Пламенно-фотометрический метод определения содержания калия. Минск, 1997.
26. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М., 1985.
27. Кротович В.Л. Биохимия растений. М., 1986.

ФГБОУ ВПО Брянский государственный
университет им. академика И.Г. Петровского,
241036 г. Брянск, ул. Бежицкая, 14,
e-mail: as-kon@yandex.ru

Поступила в редакцию
15 марта 2011 года

NITROGEN FIXATION AND PHOTOSYNTHESIS ACTIVITY IN LUPINE-BARLEY AGROCENOSIS

A.S. Kononov

S u m m a r y

The intensity of photosynthesis was estimated in mixed lupine-cereals sowing, including the seed treatment by nodule bacteria and associative microorganisms. It was established, that the photosynthesis intensity in legumes-cereals heterogeneous agrocenosis is higher, than it is in homospecific sowing. After seed inoculation by nodule and associative rhizobacteria in mixed lupine-barley sowing the photosynthesis intensity increases also. The chlorophyll content in barley leaves increased to 1.6-fold their values without application of bacterial preparations. In mixed sowing the nitrogen part, absorbed by barley from lupine roots, is more 25 % from total nitrogen volume, obtained by cereal crop.