

НЕКОТОРЫЕ ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ О СПЕЦИФИЧЕСКИХ ОРГАНАХ ФИКСАЦИИ АЗОТА – КОРНЕВЫХ КЛУБЕНЬКАХ, ОБРАЗУЮЩИХСЯ В РЕЗУЛЬТАТЕ СИМБИОЗА ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM L.*) И КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ (РОДА *RHIZOBIUM*)

М.Ю. РЯБЦЕВА,

аспирант, Воронежский ГПУ, г. Воронеж

Ключевые слова: горох посевной, азот, симбиоз, клубеньковые бактерии, корневые клубеньки.

Горох посевной (горох пищевой) *Pisum sativum L.* относится к семейству бобовых (Leguminosae, Fabaceae) подсемейства мотыльковых (Papilionaceae L.). Одна из основных зернобобовых культур, имеющих продовольственное (зерно, крупа, мука), овощное, консервное и кормовое значение (зерно, зеленый корм, сено, силос, травяная мука, брикеты). Горох зарекомендовал себя как хороший предшественник озимых культур, не уступающий другим парозанимающим культурам. Горох оказывает заметное влияние на урожайность других культур при введении его в полевые севообороты [1].

Важным дополнительным источником азота является биологический азот, накапливаемый в почве бактериями, связывающими молекулярный азот воздуха. Можно сказать, что азот, получаемый почвой в результате жизнедеятельности азотфикссирующих микроорганиз-

мов, является даровым азотом [2].

Горох улучшает структуру почвы, так как клубеньковые бактерии, образующиеся на его корнях, способны фиксировать азот из воздуха и накапливать его в почве. За период вегетации гороха в почве накапливается до 100 кг азота, что соответствует 12-16 т навоза. Азотфикссирующей способностью бобовые обладают благодаря клубеньковым бактериям, которые живут с ними в симбиозе [3].

Клубеньковые бактерии представляют собой грамотрицательные от короткого до среднего размера палочки (0,5-0,9 мкм шириной, 1-3 мкм длиной), подвижные, аэробы. Для большинства культур клубеньковых бактерий оптимальное значение pH среды находится в пределах 6,5-7,5, а при pH 4,5-5 и 8 их рост приостанавливается. Оптимальная температура для большинства культур – около 24-26°C. При темпера-



туре ниже 5 и выше 37°C их рост прекращается. Специфические органы фиксации азота – корневые (реже – стеблевые) клубеньки – образуются в результате взаимодействия бобовых растений с бактериями родов *Rhizobium*, *Bradrhizobium*, *Azorhizobium* [4].

Механизмы инфекции резобиумами растений-хозяев варьируют, но наиболее распространенным способом является проникновение их в корень через корневые волоски [5].

Проникая в клетки корневого волоска, бактерии образуют в них характерные образования – так называемые инфекционные нити (тяжи), которые представляют собой бактерии, заключенные в выделенную ими слизь. Проникновению бактерий в корневые волоски всегда предшествует характеристическое их закручивание [6].

Клетки клубеньковых бактерий, перешедшие в цитоплазму растительных клеток, растут, делятся, а затем трансформируются в своеобразные

Sowing campaign peas, nitrogen, symbiosis, tubercles bacteria, root tubercle.

Агрономия

образования бактериоидов. Этим заканчивается процесс инфицирования (примерно через 3-4 недели после заражения) [5].

Бактериоиды в 3-5 раз больше по размерам, чем обычные клетки. Бактериоиды не делятся. Они составляют до 50% массы клубенька. Клубеньковые бактерии в клетках растения располагаются в вакуолях, окруженных перибактериоидной мембраной – производным плазмалеммы растительной клетки. Бактериоиды содержат больше полив-гидроксимиасляной кислоты, гликогена и полифосфатов, чем обычные клетки клубеньковых бактерий, но меньше ДНК. Фактически бактериоиды становятся азотфиксирующими органеллами клеток бобового растения-хозяина, поэтому их называют азотсомами. Этот симбиоз является внутриклеточным. Ткань клубенька, заполненная бактериоидами, обычно приобретает красноватую окраску благодаря пигменту леггемоглобину, родственному гемоглобину. Обычно такая окраска характерна для клубеньков, хорошо фиксирующих азот. Леггемоглобин – один из важнейших продуктов симбиоза. В его образовании участвуют оба партнера – растение и бактерии. Простетическая группа (протогем) синтезируется бактериями, а белковый компонент (апогемоглобин) образуется при участии растения. Клубеньки, образовавшиеся при инфицировании неактивными клубеньковыми бактериями, содержат мало леггемоглобина и имеют зеленоватый цвет. Клубеньки, образованные активными штаммами, окрашены в розовый цвет. Кроме того, клубеньки неодинаково распределены по корневой системе

растений. Активные расы клубеньковых бактерий образуют многочисленные клубеньки на главном корне, а на боковых их бывает мало. По мере старения и дегенерации клубеньки отмирают. Лизис бактериоидов по окончании активной жизни клубеньков обычно совпадает с некрозом клубеньков, następuющим после цветения растения-хозяина. Бактерии, сохранившиеся в неразвившихся инфекционных нитях, выходят в почву, где могут довольно долго (от года до 20 лет) существовать в отсутствии растения-хозяина. У однолетних растений клубеньки также однолетние. У многолетних клубеньки могут функционировать в течение ряда лет. К концу сезона бактериоидная ткань клубеньков многолетних растений разрушается, но клубеньки не отмирают, а на следующий год начинают функционировать. Фиксация азота атмосферы осуществляется только в бактериоидах и около 90% связанного азота переходит из них в виде ионов аммония в цитоплазму корня бобового растения. Передача связанного азота из тканей клубенька в наземную часть растения происходит в период, когда бактериоиды жизнеспособны. Определенное количество усвоенного растениями азота выделяется корнями в почву с продуктами корневых выделений, например, с аминокислотами (аспарагиновой кислотой) [5].

Количество клубеньков у бобовых растений всегда бывает более или менее ограниченным. Это обстоятельство хорошо объясняет Натман (Nutman, 1949). Он считает, что клубеньки возникают лишь в тех участках, где происходит активное образование меристемы, то есть в точках

возможного роста боковых корней. У видов бобовых растений, развивающихся в короткий период времени, способность к образованию клубеньков более ограничена, чем у видов с длительным периодом роста [6].

Исследования клубеньков проводились на разных сортах гороха посевного (*Pisum sativum L.*) на полях агрофирмы «Луч» (с. Орлово, Новоусманский район, Воронежская область), а также на селекционных участках НИИ сахарной свеклы и сахара им. А.Л. Мазлумова (п.г.т. Рамонь, Воронежская область). Полевой эксперимент осуществлялся по методикам Б.А. Доспехова (1979), Ф.А. Юдина (1980) и В.Ф. Моисеевиченко (1996). Клубеньки рассматривались в течение двух лет. Отбор растительных проб проводился в утренние часы после спада росы до наступления жары (с 7 до 11 часов) методом прохода по диагонали с отбором точечных проб через равное расстояние [7].

Определялись количество и масса клубеньков гороха посевного разных сортов и делались соответствующие выводы. Выяснялась зависимость клубеньковых бактерий разных сортов гороха посевного от условий произрастания. Особенность полевого опыта состоит в том, что культурное растение изучается со всей совокупностью почвенных, климатических и агротехнических факторов. Зависимость роста клубеньков гороха посевного от климатических условий произрастания можно установить только в полевой обстановке [8].

Село Орлово возникло в 1646 году как сторожевая крепость на Белгородской защитной черте. Оно находится в пределах Новоусманского района Воронежской области [9]. Агрофирма «Луч» расположена в с. Орлово Новоусманского района Воронежской области. В 2007 и 2008 годах было засеяно 941 га горохом посевным двух сортов: Таловец 70 и Фокор. Как предшественника озимой пшеницы горох посевной выращивают на семена. Тип почвы – чернозем типичный. Через проправитель семян растения гороха посевного обрабатывают ризоторфином (штаммы клубеньковых бактерий). При посеве вносят азотно-фосфорно-калийные удобрения в соотношении 8:8:8. Кислотность почвы (рН почвы) – 5,6-6 (среднекислая).

Рамонь – поселок городского типа в Воронежской области, центр Рамонского района в 60 км к северу от Воронежа. Расположен на реке Воронеж (приток Дона) в 2 км от одноименной ж.-д. станции [10]. Рамонская опытно-селекционная станция основана в 1922 году и расположена в южной части лесостепи на водораздельной стрелке рек Дона и Воронежа. Горох сеется в четырехпольном севообороте: озимая пшеница – овес – пропашные (сахарная свекла, кукуруза, подсолнечник) –



Рисунок 1. Клетки *Rhizobium* (швермеры) со жгутиками на поверхности инфицированного корневого волоска бобового растения (по Dant, Mercer) по Мишустину, Шильниковой (1968)



Рисунок 2. Клубеньки на корнях бобовых растений: 1 – клевера, 2 – сои, 3 – люцерны, 4 – люпина, 5 – вики, 6 – клубеньковые бактерии под микроскопом по Е.Ф. Березовой (1960)

Агрономия

Таблица 1

Метеорологические показатели по метеоданным НИИ сахарной свеклы и сахара им. А.Л. Мазлумова, п.г.т. Рамонь, Воронежская область

Месяц	Средняя температура воздуха, °C	Температура почвы, °C			Количество осадков, мм	Относительная влажность, %
		минимальная	на глубине 5 см	на глубине 10 см		
2007 г.						
Январь	0	-18	0	6	64,9	92
Февраль	-4,1	-16	-5	1	87,6	86
Март	4,9	-5	5	22	17,1	87
Апрель	8,6	-5	9	27	12,2	66
Май	19,2	0	17,7	16,4	24,5	59
Июнь	22,1	10,1	25,2	24,3	100,9	66
Июль	21,4	10	24,2	23,4	85,3	62
Август	24,0	8,7	27,3	26,5	34,3	57
Сентябрь	15,2	5	16	30	65,2	75
Октябрь	9,3	-3	9	22	18,7	79
Ноябрь	-1,5	-13	-2	10	88,8	89
Декабрь	-4,1	-16	-5	1	87,6	86
2008 г.						
Январь	-7,9	-31	-9	2	100,3	86
Февраль	-1,6	-19	-3	4	75,8	87
Март	4,2	-4	4	18	24,2	87
Апрель	12,6	0	11,7	11,0	31,5	67
Май	15,6	2	16,9	16,1	55	67
Июнь	20,1	1	23,7	23,0	23,3	62
Июль	23,5	10	24,6	24,4	78,8	65
Август	23,8	6	25,0	24,9	10,4	58
Сентябрь	14,4	0	15	43	55,6	75
Октябрь	10,2	-1	10	25	13,4	81
Ноябрь	2,7	-7	2	12	67,8	83
Декабрь	-6,3	-21	-8	0	88	87

Таблица 2

Число клубеньковых бактерий на горохе посевном в фазу цветения (агрофирма «Луч», с. Орлово, Новоусманский район, Воронежская область)

Дата проведения полевого эксперимента	Высота растения, см	Количество листьев, шт.	Количество междуузлий	Число клубеньков на стержневом корне, шт./раст.	Число клубеньков на боковых корнях, шт./раст.	Число клубеньков на растении, шт./раст.	Масса клубеньков на растении, мг
Сорт гороха Таловец 70							
15 июня 2007 г.	51	26	14	9	7	16	30
14 июня 2008 г.	60,8	32	18	14	7	21	45
Сорт гороха Фокор							
15 июня 2007 г.	40	25	15	2	5	7	20
14 июня 2008 г.	47	28	17	9	9	18	40

Таблица 3

Число клубеньковых бактерий на горохе посевном в фазу цветения. (Всероссийский НИИ сахарной свеклы и сахара им. А.Л. Мазлумова, п.г.т. Рамонь, Воронежская область)

Сорт гороха посевного	Высота растения, см	Количество листьев на растении, см	Количество междуузлий на стебле	Число клубеньков на стержневом корне, шт./раст.	Число клубеньков на боковых корнях, шт./раст.	Число клубеньков на растении, шт./раст.	Масса клубеньков на растении, мг
Дата проведения исследования – 18.06.2007 г.							
Зенит	39	15	13	0	2	2	–
Рамбел	35	31	13	5	3	8	–
Таловец 50	68	40	14	5	14	19	33
Дата проведения исследования – 18.06.2008 г.							
Зенит	44	16	13	10	27	37	60
Рамбел	51	43	19	1	7	8	–
Таловец 50	75	36	10	13	27	40	78

горох. Площадь, занятая под посевами гороха – 18 га. Тип почвы – чернозем типичный. В данной статье приведены результаты исследований клубеньков 3 сортов гороха посевного: Зенит, Рам-

бел и Таловец 50. Сорт гороха Рамбел – детерминантный сорт, заканчивается плодоносящим узлом, районирован в 2004 году. Сорт короткостебельный, среднеспелый, разновидность – вуль-

гара детерминантная, средняя устойчивость к болезням и растрескиванию бобов, цвет зерна – розовый. Зенит выведен в НИИ сахарной свеклы и сахара им. А.Л. Мазлумова в лаборатории селекции гороха авторами К.В. Амелиной и Л.И. Земенковой. Сорт усатый, короткостебельный, среднеспелый, районирован в 2007 году, среднеустойчивый к болезням, разновидность – вульгаре усатая, цвет зерна – розовый. Таловец 50 – сорт докучаевской селекции, высокостебельный, среднеспелый, устойчивый к болезням, окраска семян – зеленая.

Анализируя данные таблиц 1 и 2, можно сделать следующие выводы:

1. Количество и масса клубеньков, сформировавшихся на корневой системе гороха посевного в засушливый период (15 июня 2007 года), меньше числа и массы клубеньков, образовавшихся в более увлажненный год (14 июня 2008 года). Эта разница наиболее заметна на растениях гороха посевного сорта Фокор: 7 шт./раст. в 2007 году – 18 шт./раст. в 2008 году. Соответственно, вместе с количеством клубеньков увеличилась и их масса в 2 раза.

2. Число и масса клубеньков на растениях гороха посевного сорта Таловец 70 также напрямую зависит от температуры и влажности воздуха и почвы, количества выпавших за вегетационный период осадков. В достаточно увлажненный период средние количество и масса клубеньков на растении гороха сорта Таловец 70 преобладают над числом и массой клубеньков в засушливый год (соответственно, 21 шт./раст. – 45 мг в 2008 году и 16шт./раст. – 30 мг в 2007 году).

Симбиотическая активность гороха посевного и клубеньковых бактерий зависит от влажности почвы [11]. В условиях засушливого климата и при резком снижении влажности почвы с 20 до 12,5% происходит массовое отмирание клубеньков у гороха посевного, поэтому полив почв в засушливой зоне создает благоприятные условия для образования клубеньков и эффективной симбиотической фиксации атмосферного азота [12].

Из таблицы 3 вытекают следующие выводы:

1. Среднее число и масса клубеньков на растении гороха посевного сорта Зенит в 2007 году составляло 2 шт./раст., а в 2008 году – 37 шт./раст. (33 мг). Также в значительной степени увеличились количество и масса клубеньков на растении гороха посевного сорта Таловец 50 (с 19 шт./раст. – 33 мг в 2007 году до 40 шт./раст. – 78 мг в 2008 году). Количество клубеньков на растении гороха сорта Рамбел осталось неизменным.

2. В период сева и первые 10-15 дней после сева (в фазу ветвления гороха посевного) большое значение имеют условия увлажнения. В сухой

Агрономия

почве клубеньковые бактерии быстро отмирают и клубеньки не образуются. Так как в апреле 2007 года в фазу цветения гороха посевного выпало всего 12,2 мм осадков, а в апреле 2008 года – 31,5 мм, этим объясняется зна-

чительно меньшее количество клубеньков на корнях гороха посевного в 2007 году по сравнению с 2008 годом.

В 2007 году минимальная температура почвы за вегетационный период

гороха посевного (апрель – начало августа) достигала -5°С, что могло способствовать снижению и прекращению роста теплолюбивых клубеньковых бактерий.

Литература

1. Медведев П. Ф., Сметанникова А. И. Кормовые растения европейской части СССР : справочник. Л. : Колос, Ленингр. изд-ние, 1981. С. 78-80.
2. Сидоров М. И. Плодородие и обработка почвы. Воронеж : Центр.-Чернозем. кн. изд-во, 1981. С. 3-10.
3. Тютюнников А. И., Фадеев В. М. Повышение качества кормового белка. М. : Россельхозиздат, 1984. С. 89-93.
4. Доросинский Л. М. Роль клубеньковых бактерий в азотном питании бобовых растений и первоочередные задачи повышения эффективности нитрогенизации // Изв. АН ССР. Сер. биол. 1962. № 5. С. 364-501.
5. Емцев В. Т., Мишустин Е. Н. Микробиология : уч. для вузов. Изд. 5-е, перераб. и доп. М. : Дрофа, 2005. С. 219-224.
6. Мишустин Е. Н., Шильникова В. К. Биологическая фиксация азота атмосферы. М. : Наука, 1968. С. 64-65, 90-91.
7. Юдин В. Е. Организация и обеспечение контроля качества растениеводческой продукции : уч. пособие. М. : РосНИИкадры, 1998. С. 13-14.
8. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). Изд. 4-е, перераб. и доп. М. : Колос, 1979. С.17.
9. Мильков Ф. Н. Подворонежье. Воронеж : Изд-во ВГУ, 1973. С. 185-186.
10. Ильинский Н. В. Рамонь. Воронеж : Центр.-Чернозем. кн. изд-во, 1984. С. 5-9.
11. Мишустин Е. Н. Микроорганизмы и плодородие почвы. М. : Академия наук СССР, 1956. С. 27.
12. Вавилов П. П., Посыпанов Г. С. Бобовые культуры и проблема растительного белка. М. : Россельхозиздат, 1983. С. 65-68.