

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

М. В. ФЕДОРОВ и И. В. КОЗЛОВ

**АЗОТФИКСИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ КЛУБЕНЬКОВЫХ
БАКТЕРИЙ В КЛУБЕНЬКАХ СОИ В РАЗНЫЕ ФАЗЫ
РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЯ**

(Представлено академиком А. Л. Курсановым 26 III 1954)

Для понимания характера взаимоотношений между клубеньковыми бактериями и бобовыми растениями существенное значение имеет точное определение интенсивности усвоения атмосферного азота бактериями по отдельным фазам развития растений. Такого рода данные представляют не только теоретический, но и практический интерес, поскольку отдельные бобовые растения широко используются для кормовых целей и в качестве зеленого удобрения. Кроме того, существенное значение имеет и установление стадии развития бактерий, в которую они наиболее интенсивно усваивают атмосферный азот.

В этом отношении мнения исследователей пока еще сильно расходятся. М. Корсакова и А. Конокотина ⁽¹⁾, Фред ⁽⁴⁾ и ряд других авторов считают, что наибольшее усвоение атмосферного азота связано со стадией бактериоидов. К. Рудаков ⁽²⁾, М. Федоров ⁽³⁾ и другие полагают, что клубеньковые бактерии фиксируют атмосферный азот начиная с первых дней образования клубеньков и до конца активного роста растения, т. е. практически во всех стадиях развития клубеньковых бактерий. Для уточнения данного вопроса применительно к сое, нами были поставлены описываемые ниже опыты.

В наших опытах растения сои выращивались на питательной смеси Геллригеля с 0,2 и 0,4 нормы азота в условиях песчаной культуры. Азот вносился сразу при набивке сосудов. Повторность опытов была 6-кратная. В каждом сосуде выращивалось четыре растения. Перед посевом песок стерилизовался в автоклаве при 1,5 атм. давления пара в течение 2 часов, семена стерилизовались крепкой серной кислотой в течение 2 минут и затем инокулировались клубеньковой бактерией сои (лабораторный штамм 637). Уборка опытных растений проводилась в три срока: 1) в период бутонизации, 2) в период образования бобиков и 3) во время созревания семян.

Полученные в ходе этих опытов результаты приводятся в табл. 1. При уборке в период бутонизации весь минеральный азот из сосуда был уже использован, а клубеньковые бактерии все еще недостаточно интенсивно снабжали растения азотом за счет атмосферы, особенно в варианте с 0,2 нормы минерального азота в среде. Об этой недостаточности можно судить хотя бы потому, что в этом варианте вес выросших растений отвечал только 11 г, а в варианте с 0,4 нормы азота он достиг 18,1 г. Хотя на корнях растений, произраставших на среде с 0,2 нормы азота к этому времени образовались хорошо сформировавшиеся, крупные клубеньки, расположенные по всей корневой системе растения (общим числом 256), однако они мало фиксировали азота из воздуха. На корнях же растений, произраставших на среде с 0,4 нормы азота, несмотря на то, что они имели в своем распоряжении больше нитратного азота, к этому времени

Таблица 1

Усвоение клубеньковыми бактериями азота из воздуха по фазам развития сои

Срок уборки	В а р и а н т	Дано азота на сосуд (мг)	Повторность	Вес воздушно-сухой массы в гр				Общий вес растений (средний)	Накопление азота в мг в том числе				Объем клубеньков в мл	Остаток азота в сосуде	Фиксировано азота из воздуха к моменту уборки	Фиксировано азота из воздуха всего
				корни	листья и стебли	бобовки	клубеньки		листья и стебли	корни	клубеньки					
28 VII	Питательная среда + 0,2 нормы азота	126	1 2 срeдн.	2,07 2,61 2,34	8,98 8,21 8,60	— — —	0,22 0,18 0,20	11,2 10,9 11,0	149,2 136,1 142,7	31,8 40,0 36,0	6,1 5,0 5,55	187 182 184,5	2,1 2,0 —	нет " "	64 54 59,0	64 59 61,5
	То же + 0,4 нормы азота	252	1 2 срeдн.	3,46 3,14 3,30	14,93 13,94 14,44	— — —	0,42 0,35 0,39	18,75 17,45 18,1	246,0 280,0 263,0	52,0 47,0 49,5	17,0 14,0 15,5	315 280 247,5	3,6 3,1 —	59 67 63	122 97 109,5	122 97 109,5
	Питательная среда + 0,2 нормы азота	126	1 2 срeдн.	2,47 2,54 2,50	9,90 10,10 10,00	0,60 0,62 0,61	0,20 0,25 0,22	13,10 13,5 13,3	162,0 173,0 167,0	38,0 41,0 39,5	11,0 13,0 12,0	235 353 244,0	2,3 2,4 —	нет " "	48 66 57,0	109 127 118,0
17 VIII	То же + 0,4 нормы азота	252	1 2 срeдн.	3,92 4,10 4,01	13,80 14,80 14,30	2,90 3,05 2,97	0,73 0,75 0,74	21,3 22,7 22,0	226,0 243,0 234,5	78,0 59,0 68,5	31,0 33,0 32,0	457 468 462,5	4,0 4,7 —	нет " "	108 119 113,5	205 216 211,5
	Питательная среда + 0,2 нормы азота	126	1 2 срeдн.	1,94 1,90 1,92	10,98 10,23 10,60	1,39 1,52 1,45	0,19 0,20 0,19	14,6 13,8 14,2	168,0 155,0 161,7	28,0 30,0 29,0	12,0 9,0 10,5	274 260 267,0	2,0 2,1 —	нет " "	30 16 23,0	148 134 141,0
	То же + 0,4 нормы азота	252	1 2 срeдн.	4,15 4,60 4,37	15,96 16,90 16,43	4,93 4,80 4,87	0,54 0,50 0,52	25,58 24,20 24,89	227,0 257,0 242,0	60,4 67,0 63,7	25,0 23,0 24,0	532 548 540,0	4,5 4,4 —	нет " "	69 85 77,0	280 296 288,0
18 IX																

сформировалось 723 клубенька, вес и объем которых в 1,5—2,0 раза превосходил вес и объем клубеньков растений в варианте опыта с 0,2 нормы азота. Более усиленное питание растений связанным азотом во втором случае не только не затормозило образования клубеньков, но даже, напротив, значительно его стимулировало. Видимо, для успешного формирования клубеньков растения должны обладать какой-то минимальной листовой поверхностью, осуществляющей процесс фотосинтеза. При наличии этой поверхности становится возможным снабжение клубеньковых бактерий достаточным количеством углеводов и обеспечение их энергетическим материалом для усиленного выполнения процесса усвоения азота атмосферы.

В этих двух вариантах опыта, несмотря на разницу в количестве образовавшихся клубеньков и в их размерах, клубеньковые бактерии оставались морфологически в однотипном состоянии — в форме мелких палочек без видимых признаков бактериоидности. Явно ветвистых клеток в исследованных клубеньках нам обнаружить не удалось.

Физиологическая активность бактерий также мало различалась. В варианте с 0,4 нормы азота в среде объем клубеньков был в два раза больше и они фиксировали примерно в два раза больше атмосферного азота. Видимо, фиксация атмосферного азота является функцией объема активной бактериоидной ткани клубенька, а не ее веса. Об этом можно судить по тому, что между объемом клубеньков и количеством фиксированного азота имеется прямая пропорциональность.

При уборке растений во второй срок, в фазу образования бобиков, было найдено на корнях растений обоих вариантов опыта значительно больше клубеньков, чем в первую фазу развития растений (соответственно 353 с 1064 клубенька). Объем клубеньков у растений, произрастающих на среде с 0,2 нормы азота, был равен 2,3 мл (при сухом весе 0,22 грамма), а у растений с 0,4 нормы азота — 4,6 мл (при сухом весе в 0,74 грамма). Фактическая фиксация азота атмосферы и в этот срок уборки оказалась прямо пропорциональной объему клубеньков. Отдача же фиксированного азота в промежуток между этими сроками уборки была весьма интенсивной. Если за первые 8 недель развития растений усвоение атмосферного азота в варианте опыта с 0,2 нормы азота отвечало 61 мг, а с 0,4 нормы азота — 122 мг, то за последующие 3 недели было усвоено 57 мг в первом варианте и 120 мг азота во втором варианте опыта. Столь значительная прибавка азота в растениях показывает, что в период цветения клубеньковые бактерии особенно активно фиксируют азот атмосферы и быстро отдают его бобовому растению.

Исследование содержимого клубеньков под микроскопом показало, что и в эту фазу бактериоидная ткань клубеньков густо набита вполне жизнедеятельными бактериями. Этот факт указывает на то, что бобовые растения усваивают не продукты переваривания бактерий, а продукты их жизнедеятельности. В обоих вариантах опыта бактерии находились в клубеньках в форме палочек или же «опоясанных» палочек равной степени изгиба. Изредка встречались также крупные палочки 0,7—0,9 μ в ширину и 3—6 μ в длину.

Последняя уборка была произведена 10 IX, в стадию созревания бобиков. В это время бобики нижнего яруса имели уже бурый цвет и содержали твердые семена. Большая часть листьев пожелтела и опала. Анализы показали, что и в последние 3½ недели фиксация азота атмосферы была довольно интенсивной. За этот период в первом варианте опыта было усвоено 22 мг азота, а во втором — 67 мг. Эти цифры показывают, что хотя фиксация азота в этот период и была значительно ниже, чем в фазу цветения, однако она продолжалась еще со значительной интенсивностью.

При микроскопическом исследовании содержимого клубеньков в третью фазу развития растений было обнаружено, что клубеньковые бак-

терии в обоих вариантах опыта имеют вид удлиненных, слегка закругленных палочек с зернышками внутри. Многие из них имели незначительные вздутия и красились неравномерно, хотя сильно уродливых ветвистых форм и в этот период не было обнаружено.

В связи с тем, что поступление азота из клубенька в бобовое растение наиболее интенсивно идет в период цветения растений и формирования ими бобиков, эту стадию необходимо использовать и при культуре сои на силос или на сухой корм. Довольно успешная фиксация атмосферного азота во все фазы развития бобового растения указывает на отсутствие прямой связи между бактериоидной стадией развития клубеньковых бактерий и их азотфиксирующей активностью. Бактерии фиксируют азот атмосферы во все стадии своего развития, хотя и с разной интенсивностью. Прямая зависимость, наблюдающаяся только между объемом активной бактериоидной ткани клубенька и фиксацией азота, указывает на симбиотический характер взаимоотношений между клубеньковыми бактериями и бобовыми растениями.

Московская сельскохозяйственная Академия
им. К. А. Тимирязева

Поступило
23 III 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ М. Корсакова, А. Конокотина, Тр. Всесоюз. инст. сельскохоз. микроб., 8, в. 2, 5 (1936). ² К. Рудаков, Микробиология, 19, в. 5, 447 (1950). ³ М. Федоров, Биологическая фиксация азота атмосферы, М., 1952. ⁴ E. Fred, I. Baldwin, E. McCoy, Root nodule bacteria and leguminous plants, 1932.