

ВЛИЯНИЕ АЗОТНОГО УДОБРЕНИЯ И РИЗОТОРФИНА НА МОРФОЛОГИЮ СИМБИОТИЧЕСКОГО АППАРАТА ГОРОХА

М.А. Алёшин¹, А.А. Завалин²

¹ФГБОУ ВО «Пермский ГАТУ»

614000, Россия, г. Пермь, ул. Петропавловская, д. 23

²ФГБНУ «ВНИИ агрохимии»

127550, Россия, г. Москва, ул. Прянишникова, д. 31 А, Matvei0704@mail.ru

Представлены результаты полевого двухфакторного эксперимента по установлению сортовой отзывчивости гороха посевного (A_0 – Красноуфимский 11, A_1 – Вельвет) на дозы азота (B_0 – N_0 , B_1 – N_{15} , B_2 – N_{30} , B_3 – N_{45}) при инокуляции семян перед посевом биопрепаратом Ризоторфин. В 4 срока произведён учёт количества и массы клубеньков на корневой системе растений, установлена физиологическая активность клубеньков по интенсивности окрашивания бактериоидной ткани. Более выполненные клубеньки располагались на центральном корне и скелетных корнях 1- и 2-го порядков. При недостаточном количестве осадков и повышенной для условий Предуралья температуре прекращение функционирования и последующее отмирание клубеньков зафиксированы уже через 8 нед после посева. Внесение N-удобрения (N_{15-45}) не оттягивало время появления клубеньков на корневой системе растений и не ограничивало их физиологическую активность. За счёт привнесения N-удобрения происходило увеличение активности клубеньков на начальном этапе развития гороха. В последующем наблюдалось более быстрое обесцвечивание бактериоидной ткани. С появлением у растений гороха более сильных аттрагирующих центров в виде созревающих семян, к фазе зелёных (плоских) бобов количество клубеньков значительно уменьшилось или они исчезли вовсе.

Ключевые слова: симбиотический аппарат, горох посевной, сортовые особенности, Ризоторфин, азотное удобрение.

Для цитирования: Алёшин М.А., Завалин А.А. Влияние азотного удобрения и ризоторфина на морфологию симбиотического аппарата гороха// Плодородие. – 2023. – №1. – С. 4-8. DOI: 10.25680/S19948603.2023.130.01.

Морфоформы гороха с листьями усатого типа способны формировать слабо- или неполегающий стеблестой с улучшенными параметрами освещения, аэрации и общего фитосанитарного состояния. На единицу их массы приходится значительно меньше общего органического вещества. Это обеспечивает повышение устойчивости растений к полеганию и определяет важнейшие преимущества перед обычными листовыми формами в реализации генетического потенциала зерновой продуктивности в агроценозе, повышает технологичность их возделывания [1]. За счёт высокой устойчивости «усатых» сортов к полеганию обеспечивается более высокая продуктивность, снижаются потери при уборке. Благодаря сохранению архитектуры растения, листья нижних ярусов активно участвуют в ассимиляции запасяющих веществ для зёрен на заключительных этапах их созревания [2].

Видоизменение листьев в усы не только способствовало решению проблемы устойчивости агроценоза к полеганию, но и существенно изменило физиологический статус растений гороха. Принадлежность сортов гороха посевного к безлисточковому морфотипу определяет формирование ими не только морфологически, но и функционально различающихся симбиотических систем [3].

Цель исследований – более детально изучить взаимосвязь между процессами развития фотосинтетической поверхности и фиксации азота у растений гороха при использовании бактериального препарата Ризоторфин и внесении N-удобрения.

Методика. Для достижения поставленной цели на протяжении трех лет на опытном поле Пермского ГАТУ был заложен полевой эксперимент с сортами гороха

посевного (А) разных направлений использования: A_0 – Красноуфимский 13 (зернового), A_1 – Вельвет (кормового) и следующих доз N-удобрения (В), кг д.в./га: B_0 – N_0 , B_1 – N_{15} , B_2 – N_{30} , B_3 – N_{45} . Весь семенной материал перед посевом обрабатывали биопрепаратом Ризоторфин. Повторность в опыте 4-кратная. Постановку опыта проводили методом расщепленных делянок. Общая площадь делянки 112,5 м², учётная – 33 м². В качестве азотного удобрения использовали аммонийную селитру (34,4% д.в.). Для определения интенсивности развития фотосинтетического и симбиотического аппарата гороха, по фазам развития растений (3-4 листьев, ветвления стебля, бутонизации – начала цветения, зелёных бобов) в случайном порядке отбирали по 10 растений, следуя по диагонали каждой делянки. Определение интенсивности развития симбиотического аппарата на корневой системе гороха проводили согласно [4]. Почва для закладки опыта дерново-мелкоподзолистая среднесуглинистая с низким содержанием гумуса (2,74%), слабокислой реакцией среды (рН_{KCl} 5,2-5,5). Сумма обменных оснований и ёмкость катионного обмена высокие. Обеспеченность подвижными формами фосфора и калия – высокая и очень высокая. Погодные условия в вегетационные периоды 2017-2019 г. были схожи, хотя по декадам имелись некоторые различия.

Результаты и их обсуждение. Влияние бактериализации семян перед посевом препаратом Ризоторфин и внесения N-удобрения, с учётом принадлежности сортов гороха (Красноуфимский 11, Вельвет) к усатому морфотипу, можно проследить по морфобиометрическим параметрам фотосинтетического и симбиотиче-

ского аппаратов растений и охарактеризовать следующим образом:

1. Благодаря возможности сопоставить полученные изображения, можно достаточно точно установить время начала формирования симбиотического аппарата на корнях растений гороха. К моменту появления 5-6 листа на корневой системе гороха, не зависимо от сортовой принадлежности растений, фиксировалось наличие до 40 клубеньков. Об их физиологической активности можно было судить по наличию бледно-розовой окраски на срезе. Внесение N-удобрения (N_{15-45}) не оттягивало время появления клубеньков на корневой системе растений и не ограничивало их физиологическую активность.

2. Расположение на корневой системе и форма клубеньков соответствуют видовой принадлежности растения-хозяина. Более крупные клубеньки располагались на центральном корне. На скелетных корнях 1-2-го порядков располагались единичные клубеньки с ровной, не сморщенной поверхностью, правильной и слегка удлинённой формы.

3. Сохранность структуры и активной функциональности клубеньков на более поздних этапах развития гороха указывает на наличие стимулирующего влияния со стороны N-удобрения. Наличие макро- и микроэлементов в почве обуславливает устойчивое функционирование корневой системы и всего растения. Благодаря этому наблюдается формирование полноценной асси-

милирующей листовой поверхности. В свою очередь, это обеспечивает устойчивый приток продуктов фотосинтеза к центрам их запасаения и активного использования, наличие субстрата для дыхания и необходимый объём энергии для функционирования ключевых механизмов в растительном организме, включая поддержание высокой активности бактериоидов и собственно процесс азотфиксации.

Морфобиометрические параметры и активность ризобияльного симбиотического аппарата, формируемого на корневой системе у бобовых культур, отражают условия их минерального питания и физиологическое состояние растений. От развития клубеньковых бактерий во многом зависят азотфиксирующая способность, развитие и интенсивность функционирования фотосинтетического аппарата зернобобовых культур. Благоприятные условия для формирования симбиотического аппарата создаются при устойчивом гидротермическом обеспечении, низком или среднем содержании нитратного азота и достаточных запасах продуктивной влаги в почве перед посевом [5].

Наиболее информативными параметрами для оценки влияния N-удобрения на фоне использования бактериального препарата Ризоторфин являются общее количество активных коневых вздутий (клубеньков) и их масса в пересчёте на 1 растение (рис. 1).

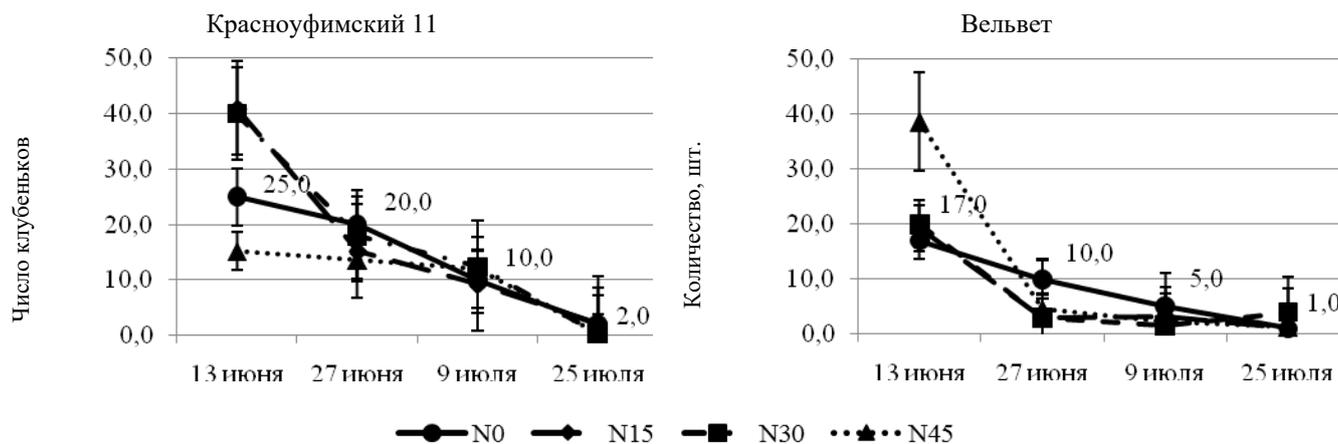


Рис. 1. Влияние доз N-удобрения и инокуляции семян препаратом Ризоторфин на количество клубеньков на корневой системе гороха разных сортов

Количество клубеньков, не зависимо от сорта, достигало максимума в фазе бутонизации – начала цветения. К фазе зелёных (плоских) бобов количество клубеньков значительно уменьшилось или они исчезли вовсе. Это связано с прекращением вегетативного развития, активного функционирования и последующим отмиранием корневых систем; со снижением ассимилирующей способности листового аппарата и оттока питательных веществ к корням, «старением» растения.

Менее длительный период функционирования ризобияльного симбиотического аппарата и способность к последующей нодуляции зафиксированы у сорта Вельвет уже в третьей декаде июня. При этом существенного влияния азотного удобрения на этот параметр не отмечено. На сорте Красноуфимский 11, начиная с 27 июня, значения в вариантах N_{15} и N_{30} соответствовали контролю или несущественно отличались от него. В свою очередь, в варианте N_{45} наблюдалось значительное ингибирование формирования клубеньковых вздутий, даже на начальных этапах развития растений, что указывает на существенные

различия между сортами в отношении использования азота из минеральных удобрений.

Выявлено наличие прямой коррелятивной связи между величиной и активностью симбиотического аппарата, а также уровнем урожая и его качеством [6]. Эти выводы подтверждены многочисленными последующими исследованиями с бобовыми культурами в различных экологических условиях. Интенсивность функционирования симбиотического аппарата бобовых культур зависит не только от количества корневых вздутий, но и от их биометрических размеров, а также массы (рис. 2).

На сорте Красноуфимский 11 существенные различия в массе клубеньков на корневой системе отмечены 27 июня и 9 июля за счёт внесения азотного удобрения в дозах 30 и 45 кг д.в/га. На последующем этапе развития чётких различий не отмечено. Существенное влияние на массивность симбиотического аппарата у сорта Вельвет оказали все изучаемые дозы азотного удобрения (N_{15-45}) только на начальных этапах развития (13 июня).

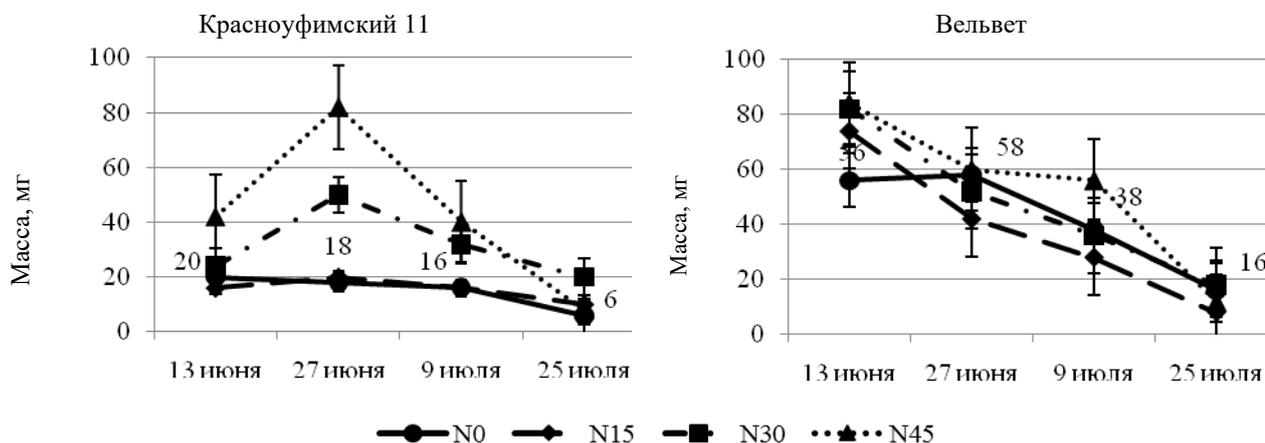


Рис. 2. Влияние доз N-удобрения и инокуляции семян препаратом Ризоторфин на массу клубеньков на корневой системе гороха

Важной характеристикой эффективности работы симбиотического аппарата является крупность клубеньков. Большое количество мелких клубеньков, как правило, не эффективно, и чаще всего они просто паразитируют на растении. Корневые клубеньки отдельных бобовых культур имеют совершенно разную конфигурацию и размеры. По этому критерию выделяют бобовые трибы фасоловых (*Phaseoleae*) и растения галегаидного комплекса (трибы *Fabeae*, *Galegae*, *Trifolieae*), имеющие детерминированные и недетерминированные клубеньки соответственно [7]. Для последних характерно наличие общего пути ассимиляции почвенного и фиксированного азота [8]. Это достаточно серьезно ограничивает эффективность усвоения растениями фиксированного азота и практически исключает миксотрофный тип питания [9]. Для гороха характерно сохранение деления инфицированных растительных клеток только в периферической области, наряду с индукцией дифференцировки бактериоидов при помощи NCR-белков [10]. Механизм сходный с факторами защиты растений от патогенных объектов [11]. Это приводит к непрерывному возобновлению пула N_2 -фиксирующих клеток и требует существенных затрат метаболической энергии. Рост недетерминированных клубеньков следует из постоянного увеличения числа инфицированных клеток и их размеров, поэтому клубеньки имеют удлиненную форму.

Формирование клубеньков у гороха начинается в фазе 2-4 настоящих листьев. Их основная масса расположена на местах ответвления боковых корней от центрального проводника и может принимать весьма «причудливые» формы [13]. Формирование мелких и неактивных клубеньков на корнях происходит, когда недополучено достаточное количество углеводов, накапливаемых в процессе фотосинтеза. Важными критериями, указывающими на физиологическую активность корневых клубеньков, относительно фиксации атмосферного азота, являются интенсивность цвета и характер их окраски [4]. Эти параметры связаны с заполнением цитоплазмы клеток N_2 -фиксирующей зоны клубенька белком леггемоглином, что придает им розовую окраску. Так, сорт клевера лугового Дымковский на дерново-слабоподзолистой почве фиксировал минимальное количество азота атмосферы ($105 \text{ кг } N_2/\text{га}$) из-за того, что он формировал на боковых корнях в основном мелкие клубеньки зеленого цвета. Сорт Новичок, с розовыми клубеньками и высоким содержанием элементов питания в их составе, фиксировал максимальное количество азота ($160 \text{ кг } N_2/\text{га}$).

Количество розовых клубеньков достигает пика в

период бутонизации – начала цветения [7]. В процессе жизнедеятельности происходят снижение количества леггемоглобина и обесцвечивание бактериоидной ткани (рис. 3, 4), что приводит к прекращению симбиотической азотфиксации.

Внесение связанного азота с удобрением способствовало увеличению доли равномерно окрашенных розовых клубеньков на срезе на начальном этапе развития гороха. Однако в последующем, при внесении азотного удобрения, наблюдалось более быстрое обесцвечивание бактериоидной ткани. Зафиксированы отмирание и прекращение функционирования клубеньков уже через 8 нед после посева. В период с 27 июня по 9 июля происходили последующее угасание активности клубеньков и сокращение масштабов симбиотического аппарата, доля обесцвеченных клубеньков по вариантам составила 62,5-80,9%. На последующем этапе развития, при внесении азотного удобрения в дозах 30 и 45 кг N/га, отмечено более быстрое отмирание клубеньков.

На начальном этапе развития (13 июня) внесение азота в составе удобрения способствовало увеличению доли равномерно окрашенных розовых клубеньков, что указывает на высокую их активность.

Выводы. Учитывая сортовые особенности развития симбиотического ризобияльного аппарата на корневой системе сортов гороха, можно отметить ряд важных моментов.

Ко времени появления 5-6-го листа на корневой системе гороха, независимо от сорта, фиксировалось наличие до 40 клубеньков на растении. Более выполненные клубеньки располагались на центральном корне. Единичные клубеньки с ровной, не сморщенной поверхностью, правильной и слегка удлиненной формы также располагались на скелетных корнях 1-2-го порядков. При недостаточном количестве осадков и повышенной для условий Предуралья температуре, прекращение функционирования и последующее отмирание клубеньков зафиксированы уже через 8 нед после посева.

Внесение N-удобрения (N_{15-45}) не оттягивало время появления клубеньков на корневой системе растений и не ограничивало их физиологическую активность. Наблюдалось формирование полноценной ассимилирующей листовой поверхности, за счёт чего обеспечивались устойчивый приток продуктов фотосинтеза к центрам их запаса и активного использования, а также наличие субстрата для дыхания и необходимый объём энергии для функционирования ключевых механизмов в растительном

организме, включая поддержание высокой активности

бактероидов и собственно процесс азотфиксации.

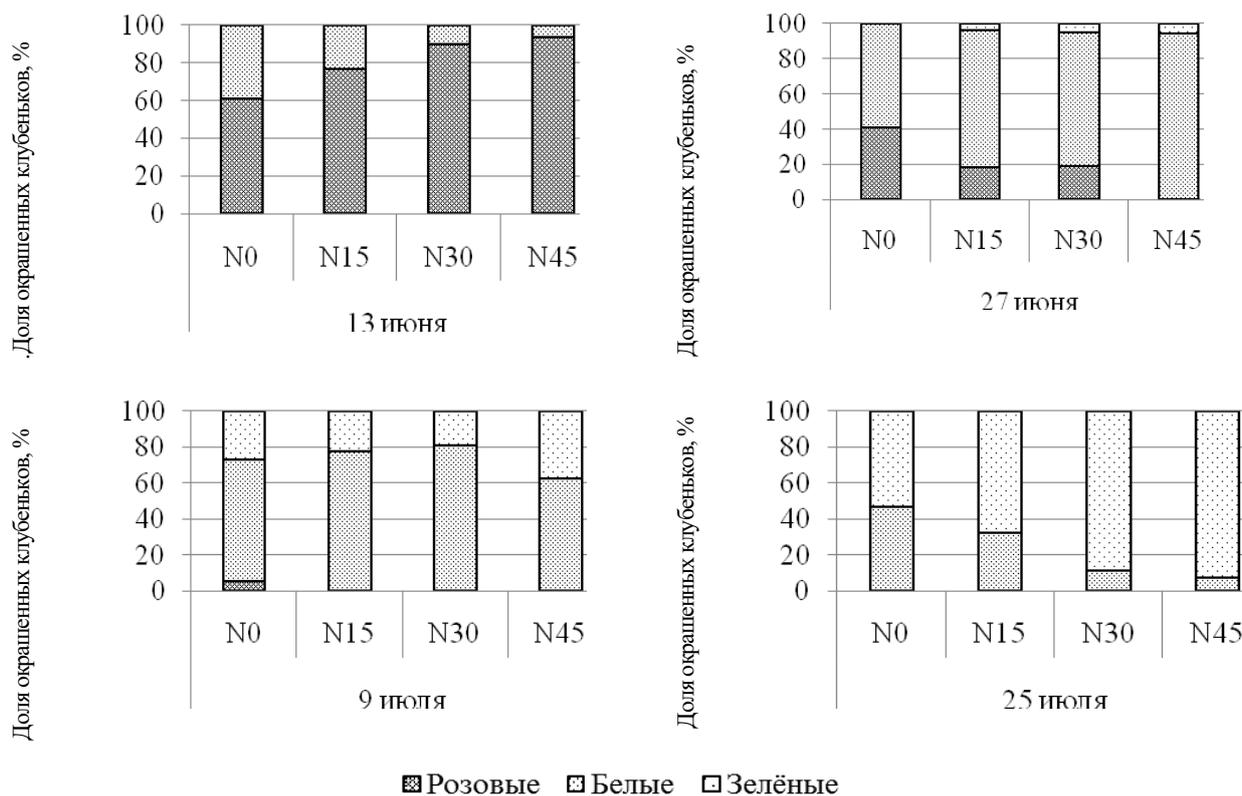


Рис. 3. Влияние N-удобрения и инокуляции семян препаратом Ризоторфин на физиологическую активность (окрашивание) клубеньков на корневой системе гороха (сорт Красноуфимский 13)

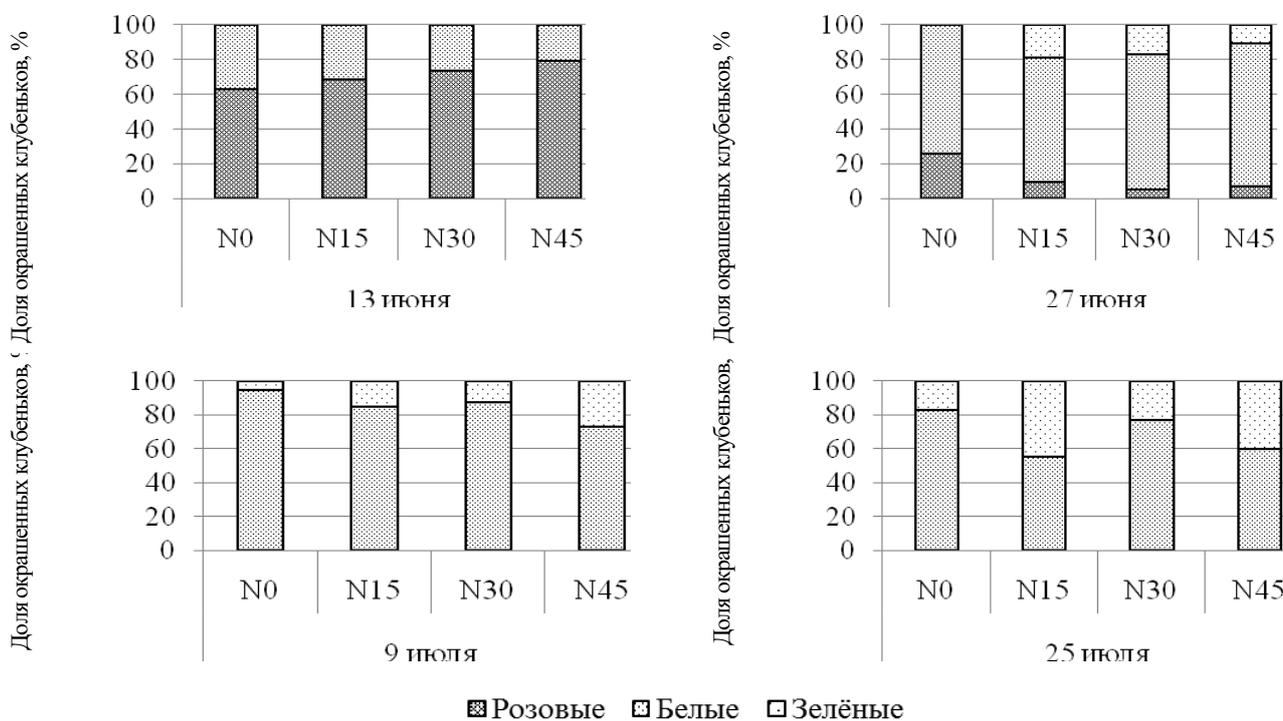


Рис. 4. Влияние доз азота и предпосевной инокуляции семян препаратом Ризоторфин на физиологическую активность (окрашивание) клубеньков на корневой системе гороха (сорт Вельвет)

За счёт внесения N-удобрения происходило увеличение активности клубеньков на начальном этапе развития гороха. Существенное влияние на массивность симбиотического аппарата у сорта Вельвет, на начальных этапах развития, оказали все изучаемые дозы азотного удобрения (N₁₅₋₄₅). Внесение N₄₅ на сорте Красноуфимский 11 обуславливало снижение количества клу-

беньков во второй и последующие месяцы развития растений. Это указывает на значительные различия между сортами по влиянию на них N-удобрения и использованию азота. Однако сохранность части структуры симбиотического аппарата и активное функционирование корневой системы на более поздних этапах развития горо-

ха указывают на наличие стимулирующего влияния со стороны «стартовых доз» N-удобрения.

Внесение связанного азота с удобрением способствовало увеличению доли равномерно окрашенных розовых клубеньков на срезе на начальном этапе развития гороха. Однако в последующем наблюдалось более быстрое обесцвечивание бактериоидной ткани. К фазе зелёных (плоских) бобов количество клубеньков значительно уменьшилось или они исчезли вовсе. Это связано со снижением ассимилирующей способности листового аппарата и оттока питательных веществ к корням, прекращением функционирования корневых систем, появлением в растении более сильных аттрагирующих центров в виде созревающих семян.

Литература

1. Алёшин М.А. Влияние минеральных удобрений на взаимодействие компонентов смешанных агроценозов в условиях дерново-подзолистой почвы Предуралья // Проблемы агрохимии и экологии. – 2020. – №3. – С. 33-38.
2. Бугрей И.В., Авдеенко А.П. Продуктивность и причины полегания сортов гороха с разными морфотипами листа // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – №1. – С. 287.
3. Моисеенко Ю.В., Кузмичева Ю.В., Петрова С.Н., Парахин Н.В. Роль сорта в увеличении производства высокобелкового зерна // Вестник ОрёлГАУ. – 2011. – №5. – С. 108-111.
4. Посыпанов Г.С. Методы изучения биологической фиксации азота воздуха. – М.: Агропромиздат, 1991. – 300 с.

5. Озякова Е.Н., Свинкина Е.В., Огородникова А.С. [и др.] Особенности формирования симбиотического аппарата и урожайность сортообразцового гороха посевного // Россия молодая. – 2011. – №2. – С. 242-245.
6. Вавилов П.П., Посыпанов Г.С. Бобовые культуры и проблема растительного белка. – М.: Россельхозиздат, 1983. – 256 с.
7. Кадермас И.Г., Поползухина Н.А., Асанов А.М., Омелянюк Л.В. Фотосинтетическая активность, клубенькообразующая способность и урожайность гороха посевного в условиях южной лесостепи Западной Сибири // Омский научный вестник. – 2013. – №1 (118). – С. 193-196.
8. Проворов Н.А., Андронов Е.Е., Кимеклис А.К. [и др.] Эволюционная география клубеньковых бактерий: видообразование, направляемое растениями-хозяевами // Микробиология. – 2020. – Т. 89. – №1. – С. 3-16.
9. Sprent J.I. Evolving ideas of legume evolution and diversity: a taxonomic perspective on the occurrence of nodulation // New Phytol., 2007. Vol.174 (1). pp.11-25. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02015.x>.
10. Проворов Н.А., Онищук О.П. Эколого-генетические основы конструирования высокоэффективных азотфиксирующих микробно-растительных симбиозов // Экологическая генетика. – 2019. – Т. 17. – №1. – С. 11-18. <https://doi.org/10.17816/ecogen17111-18>.
11. Maunoury N., Kondorosi A., Kondorosi E., Mergaert P. Cell Biology Of Nodule Infection And Development. In: Dilworth M.J., James E.K., Sprent J.I., Newton W.E. (eds) Nitrogen-fixing Leguminous Symbioses. Nitrogen Fixation: Origins, Applications, and Research Progress, 2008. Vol.7. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3548-7_6
12. Mergaert P., Uchiyumi T., Alunni B. [et al.] Eukaryotic control on bacterial cell cycle and differentiation in the Rhizobium-legume symbiosis // Proc. Nat. Acad. Sci. USA., 2006. Vol.103. pp. 5230-5235.
13. Посыпанов Г.С. Кобозева Т.П., Тазин И.И. [и др.] Современные методы определения количества фиксированного азота воздуха в полевых условиях // Известия ТСХА. – 2006. Вып. 2. – С. 129-134.

MORPHOLOGY OF THE SYMBIOTIC APPARATUS OF PEA VARIETIES USING THE BACTERIAL PREPARATION RHIZOTORPHIN AND N-FERTILIZER

M. A. Alyoshin^{a#}, A. A. Zavalin^b

^aPerm State Agro-Technological University Named after D.N. Pryanishnikov
23, Petropavlovskaya St., Perm, Russia, 614990 Russia

^bAll-Russian Scientific Research Institute of Agrochemistry named after D.N. Pryanishnikov,
31a, Pryanishnikova St., Moscow 127550, Russia, #E-mail: matvei0704@mail.ru

The results of a field 2-factor experiment to establish the varietal responsiveness of seeded peas (A_0 – Krasnoufimsky, A_1 – Corduroy) are presented for nitrogen doses (B_0 – N_0 , B_1 – N_{15} , B_2 – N_{30} , B_3 – N_{45}) during inoculation of seeds before sowing with the biological preparation Risotorphin. In 4 terms, the number and mass of nodules on the root system of plants were taken into account, the physiological activity of nodules was established by the intensity of staining of the bacteroid tissue. More complete nodules were located on the central root and skeletal roots of the 1st and 2nd orders. With insufficient precipitation and elevated temperature for the conditions of the Urals, the cessation of functioning and subsequent death of nodules was recorded as early as 8 weeks after sowing. The introduction of N-fertilizer (N_{15-45}) did not delay the time of the appearance of nodules on the root system of plants and did not limit their physiological activity. Due to the introduction of N-fertilizer, there was an increase in the activity of nodules at the initial stage of pea development. Subsequently, a more rapid discoloration of the bacteroid tissue was observed. With the appearance of stronger attenuating centers in pea plants in the form of ripening seeds, by the phase of green (flat) beans, the number of nodules has significantly decreased or disappeared altogether.

Keywords: symbiotic apparatus, seed peas, varietal characteristics, Rhizotorphin, nitrogen fertilizer.

References

1. Alyoshin M.A. The influence of mineral fertilizers on the interaction of components of mixed agroecosystems in the conditions of sod-podzolic soil of the Urals // Problems of agrochemistry and ecology, 2020. No. 3. pp. 33-38.
2. Bugrey I.V., Avdeenko A.P. Productivity and causes of lodging of pea varieties with different leaf morphotypes // Modern problems of science and education, 2012. No. 1. p. 287.
3. Moiseenko Yu.V., Kuzmicheva Yu.V., Petrova S.N., Parakhin N.V. The role of the variety in increasing the production of high-protein grain // Bulletin of the OrelGAU, 2011. No. 5. pp. 108-111.
4. Posypanov G.S. Methods of studying biological fixation of air nitrogen. – М.: Агропромиздат, 1991. 300 p.
5. Ozyakova E.N., Svinikina E.V., Ogorodnikova A.S. [et al.] Features of the formation of the symbiotic apparatus and the yield of varietal peas // Young Russia, 2011. No. 2. pp. 242-245.
6. Vavilov P.P., Posypanov G.S. Legumes and the problem of vegetable protein. – М.: Россельхозиздат, 1983. 256 p.
7. Kadermas I.G. Formation of photosynthetic and symbiotic apparatuses of plants and their contribution to increasing the productivity of agroecosystems of seed peas (*Pisum sativum* L.): abstract ... cand. biol. nauk, 2014. 20 p.
8. Provorov N.A., Andronov E.E., Kimeklis A.K. [et al.] Evolutionary geography of nodule bacteria: speciation directed by host plants // Microbiology, 2020. Vol. 89. No. 1. pp. 3-16.
9. Sprent J.I. Evolving ideas of legume evolution and diversity: a taxonomic perspective on the occurrence of nodulation // New Phytol., 2007. Vol.174 (1). pp.11-25. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02015.x>.
10. Provorov N.A., Onishchuk O.P. Ecological and genetic foundations of the design of highly effective nitrogen fixing microbial-plant symbioses // Ecological Genetics, 2019. Vol. 17. No. 1. pp. 11-18. <https://doi.org/10.17816/ecogen17111-18>.
11. Maunoury N., Kondorosi A., Kondorosi E., Mergaert P. Cell Biology Of Nodule Infection And Development. In: Dilworth M.J., James E.K., Sprent J.I., Newton W.E. (eds) Nitrogen-fixing Leguminous Symbioses. Nitrogen Fixation: Origins, Applications, and Research Progress, 2008. Vol.7. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3548-7_6
12. Mergaert P., Uchiyumi T., Alunni B. [et al.] Eukaryotic control on bacterial cell cycle and differentiation in the Rhizobium-legume symbiosis // Proc. Nat. Acad. Sci. USA., 2006. Vol.103. pp. 5230-5235.
13. Posypanov G.S. Kobozeva T.P., Tazin I.I. [et al.] Modern methods for determining the amount of fixed nitrogen in the air in the field // Izvestiya TSKHA, 2006. Issue 2. pp. 129-134.