

Улучшенная биологическая фиксация азота

С.К.А. Дансо и Д.Л. Эскью*

За последние несколько десятилетий сельскохозяйственное производство значительно возросло, но население земного шара также увеличивается, и в следующем десятилетии потребуется еще большее увеличение производства хлебных продуктов. 50% достигнутого увеличения хлебной продукции можно отнести на счет усиленного использования неорганических удобрений.

Среди питательных элементов, поставляемых неорганическими удобрениями, азот является наиболее важным. В некоторых случаях его доля в увеличении урожая достигает 75%. Для удовлетворения будущих потребностей в продовольствии, очевидно, надо все шире использовать неорганические азотные удобрения. Однако эти удобрения дороги и они могут стать причиной загрязнения окружающей среды. Промышленные процессы производства неорганических азотных удобрений требуют высоких температур и давлений, получаемых за счет сжигания природного газа и других видов ископаемого топлива. Поэтому производство неорганических азотных удобрений требует наибольшей затраты энергии во всех системах производства хлебопродуктов от наименее до наиболее механизированных: в настоящее время 2% от мирового потребления ископаемого топлива используется для этой цели. Развивающиеся страны, испытывающие недостаток ископаемого топлива, должны использовать готовые азотные удобрения или ископаемое топливо, что создаст серьезную утечку ограниченных запасов иностранной валюты.

Обычно только от 30 до 50% применяемых неорганических азотных удобрений используются злаками. Остальная часть теряется за счет испарений, денитрификации или выщелачивания азота почвенными водами. В промышленно развитых странах, где высокий коэффициент использования неорганических удобрений, загрязнение питьевой воды нитратами иногда представляет источник серьезной опасности для здоровья. По этим причинам необходимо наиболее эффективным образом использовать неорганические азотные удобрения и только там, где это необходимо. Несколько координированных исследовательских программ (КИП), реализованных Секцией плодородия почв, ирригации и возделывания сельскохозяйственных культур Объединенного отдела ФАО/МАГАТЭ, были сконцентрированы на поиске наиболее эффективного

* Авторы являются сотрудниками Секции плодородия почв, ирригации и возделывания сельскохозяйственных культур Объединенного отдела ФАО/МАГАТЭ.

способа применения азотных удобрений для различных злаков, с использованием в качестве меченого атома ^{15}N . Результаты этих исследований были использованы многими странами мира, что позволяет ежегодно экономить азотные удобрения на много миллионов долларов. Позднее КИП были сфокусированы на проблеме улучшения естественного процесса фиксации природного азота.

До того, как химические удобрения стали широко применяться, производство сельскохозяйственных культур зависело от биологической фиксации азота. После развития промышленного процесса Хабера-Боша возросла зависимость производства сельскохозяйственных культур от выпуска удобрений, и по некоторым оценкам количество азота, зафиксированного промышленным методом, приближается к уровню биологически зафиксированного азота. Хороший урожай большинства культур достигается, если содержание азота составляет около 200 кг/га, но хотя 78% земной атмосферы состоит из газообразного азота и, таким образом, на каждый гектар земной поверхности сотни тонн азота, азот является наиболее лимитированным питательным элементом в системе производства сельскохозяйственных культур. Этот парадокс возникает по той причине, что растения не способны непосредственно усваивать газообразный азот (N_2) из атмосферы. Очень устойчивая связь между двумя атомами азота в природном азоте должна быть разорвана, и азот должен войти в состав нитрата или аммиачного соединения прежде, чем он может быть усвоен растениями. Как следует из вышесказанного, это может быть достигнуто либо при промышленном процессе, либо путем биологической фиксации природного азота. Хотя никакие растения не могут самостоятельно осуществлять биологическую фиксацию азота, природа создала несколько простейших микроорганизмов, способных осуществлять биологическую фиксацию азота. Вступая в симбиоз с этими микроорганизмами, некоторые растения приобретают способность косвенно использовать атмосферный азот для улучшения роста. К сожалению, такие жизненные сообщества или вообще не образуются, или только слабо развиты в таких хлебных злаках, как рис, пшеница и кукуруза, которые обеспечивают основную долю продуктов питания. Таким образом, с помощью биологической фиксации невозможно полностью заменить производство минеральных удобрений. Должны быть найдены наилучшие комбинации растений и микроорганизмов и разработаны сельскохозяйст-

Симбиоз бобовые – Rhizobium

Бактерии Rhizobium заражают корни бобовых растений и вызывают появление новообразований типа опухолевых, получивших название узелки. Центр каждого зрелого узелка заполнен миллионами азотофиксирующих бактерий. Бобовое растение-хозяин, аккумулируя в процессе фотосинтеза солнечную энергию, обеспечивает энергию, необходимую для осуществления фиксации азота. Общая эффективность этого сложного симбиоза, таким образом, зависит от индивидуальной эффективности как бобового растения, так и бактерий. Поэтому очень важны как генетические свойства растения-хозяина и бактерий, так и способ их взаимодействия. Кроме того, на общую эффективность симбиоза влияют любые факторы питания или окружающей среды, затрагивающие участника симбиоза. Сложность симбиоза обуславливает насущную необходимость проведения в полевых условиях исследований, учитывающих все факторы.

венные приемы для более эффективного использования биологической фиксации азота.

Наиболее важным и самым известным видом симбиоза является жизненное сообщество бактерии типа Rhizobium с бобовыми (см. Приложение). Горох, соевые бобы и земляные орехи являются крупно-зерновыми культурами из семейства бобовых (также известны как бобовые) и выращиваются в качестве зернопродуктов. В Латинской Америке и Африке обычные бобы и коровий горох являются важными источниками белка в пище человека. В общем потреблении продуктов бобовые занимают второе место, уступая только зерновым культурам. Люцерна и клевер являются примером бобовых культур, имеющих важное значение в качестве подножного корма для скота, некоторые бобовые деревья также используются в качестве фуражных культур.

Бобы используются в сельском хозяйстве уже в течение сотен лет и только на рубеже нашего столетия было обнаружено, что благодаря жизненному сообществу с Rhizobium они могут усваивать атмос-

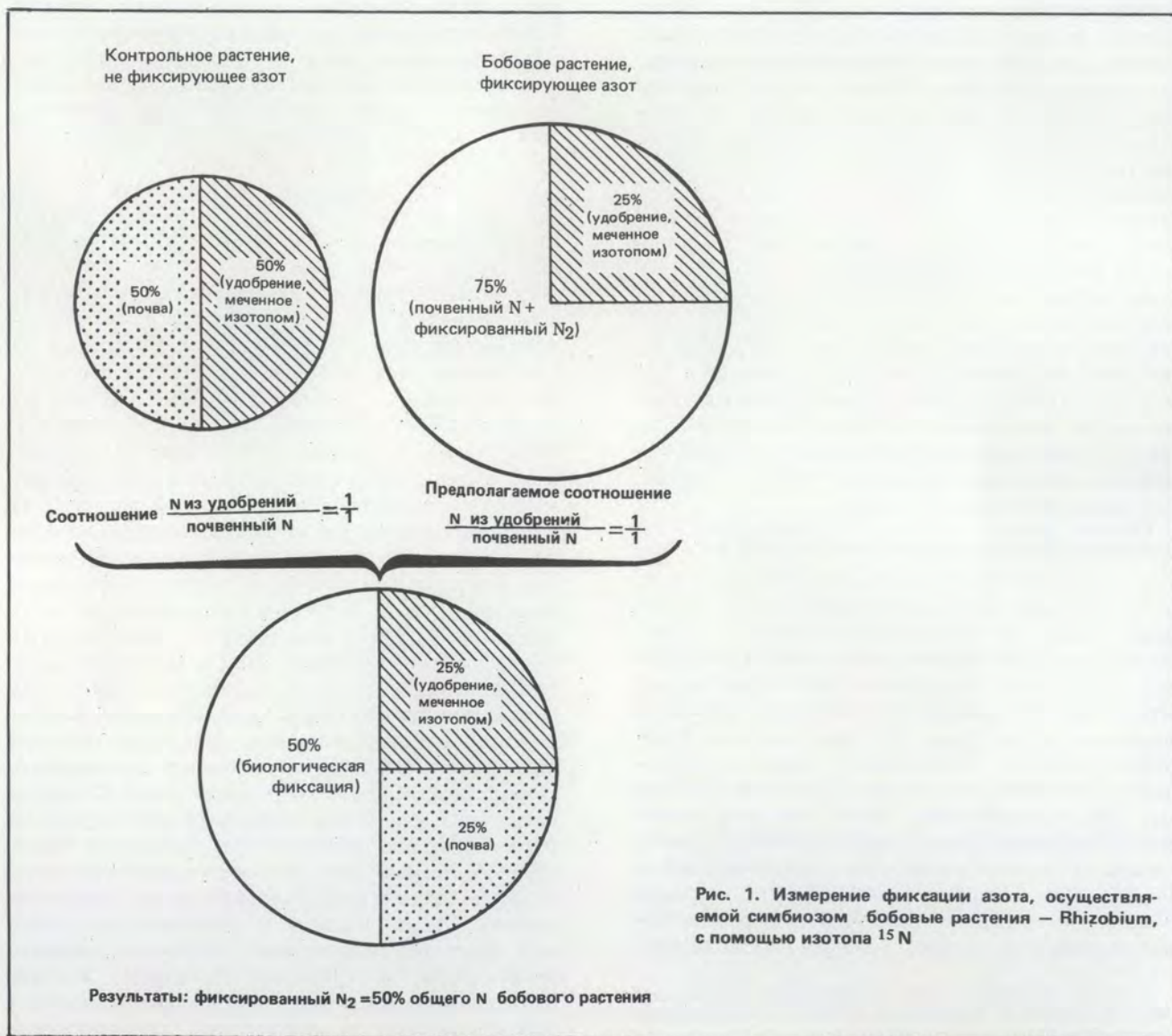


Рис. 1. Измерение фиксации азота, осуществляемой симбиозом бобовые растения – Rhizobium, с помощью изотопа ^{15}N

ферный азот непосредственно. С тех пор при участии биохимии ферментов были достигнуты большие успехи в понимании генетических особенностей растений и бактерий, регулирующих симбиоз. Однако вследствие двух основных причин остаются трудности в определении действительного количества азота, который фиксируется в полевых условиях. Первая причина состоит в том, что симбиоз возникает в узелках корней растений в глубине почвы и для того, чтобы произвести измерения, необходимо разрушить систему, вырвав растение. Еще одна проблема заключается в том, что бобовые, как и другие растения, используют почвенный азот и азотные удобрения так же хорошо, как и азот, получаемый в результате симбиоза. Как только почвенный азот или азотное удобрение попало в бобовые растения, то оказывается невозможным отличить этот азот от азота, получаемого в результате симбиоза. Таким образом, трудно отличить эффект, производимый в растениях азотом, фиксированным биологическим путем, от эффекта за счет азота, получаемого растением из удобрений или из почвы.

Секция плодородия почв, ирригации и возделывания сельскохозяйственных культур совместно с Секцией почв Сельскохозяйственной биотехнологической лаборатории ФАО/МАГАТЭ в Зайберсдорфе внесли важный вклад в развитие полевой технологии, основанной на использовании изотопа ^{15}N , которая позволяет производить более простые и более точные оценки биологической фиксации природного азота по сравнению с ранее существовавшими методами [1].

Удобрение, помеченное изотопом ^{15}N , используется для „контрольных” растений, не фиксирующих азот, с целью определения использования почвенного азота и азота из удобрений; затем бобовые растения, фиксирующие азот, выращиваются с использованием того же самого удобрения, помеченного изотопом ^{15}N , для определения фиксации.

Упрощенный пример представлен на рис. 1. В верхней левой части показан гипотетический случай, когда контрольное растение без биологической фиксации азота получает половину усваиваемого азота из почвы, а половину из удобрения, помеченного изотопом ^{15}N . Нужно предположить, что бобовое растение будет использовать азот из почвы и из удобрения, помеченного изотопом ^{15}N , в соотношении 1:1. В крайнем случае, когда не происходит биологической фиксации азота, содержание изотопа ^{15}N в контрольных и в обычных растениях должно быть одинаковым. Верхняя правая часть рис. 1 иллюстрирует тот случай, когда бобовые растения, в которых происходит биологическая фиксация азота, берут часть азота из атмосферы. Объединяя информацию, представленную на двух верхних диаграммах, можно определить относительную долю почвенного азота, азота из удобрений и атмосферного азота в общем количестве азота, содержащемся в бобовом растении, что показано на нижней части диаграммы. Величина уменьшения в пропорции части азота, полученного растением из удобрения, помеченного изотопом ^{15}N , таким образом, прямо-

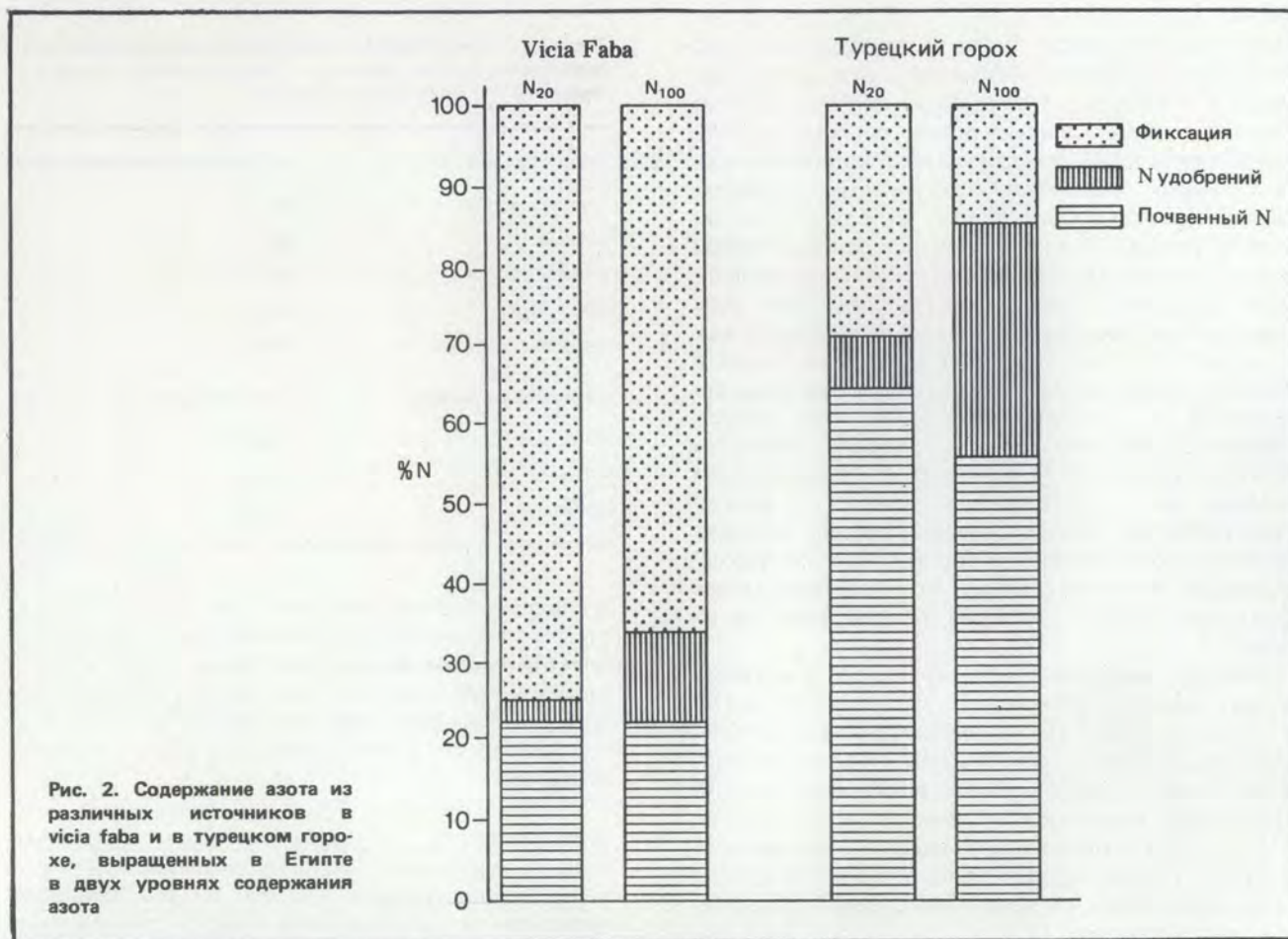
Таблица 1. Способности к биологической фиксации азота различных сортов *Phaseolus* (обыкновенная фасоль) в Бразилии и соевых бобов в Греции

Сорт <i>Phaseolus</i>	кг/га фиксированного азота
Goiana precoce	24,6
Moruna	37,1
Carioca precoce	46,2
Costa Rica	57,9
Carioca	65,0
Сорт соевых бобов	кг/га фиксированного азота
Chippewa	54,0
Williams	215,6
Amsoy-71	247,4

пропорциональна количеству азота, полученному из атмосферного воздуха, в данном случае она составляет 50%. Этот метод в настоящее время находит широкое признание во всем мире, как наиболее простой и удобный для количественного определения биологически фиксированного азота в полевых условиях.

Метод измерения фиксированного азота с помощью изотопа ^{15}N уже использовался и используется в некоторых координированных исследовательских программах Секции плодородия почв, ирригации и возделывания сельскохозяйственных культур. Он был использован в программе по зернобобовым культурам для оценки влияния азотных и фосфорных удобрений на фиксацию азота и для сравнения способности различных сортов зернобобовых фиксировать азот. В настоящее время он используется для измерения азота, поступающего от некоторых зернобобовых в систему зернопроизводства, где бобовые растут либо попеременно с кукурузой или с другими злаками, либо сменяют эти злаки в разные сезоны. Такой подход основан на концепции, что фиксированный бобовыми растениями азот может быть использован повторно зерновыми культурами. С помощью ^{15}N можно определить количество азота и подбирать зерновые культуры так, чтобы получить максимальную выгоду. Методы с использованием изотопа ^{15}N также находят применение в программе по улучшению организации пастбищ, поддерживаемой правительством Италии. Для увеличения количества белка в кормах на пастбищах бобовые культуры обычно используются попеременно с травой. Совсем недавно была начата реализация программы по использованию симбиоза *Azolla-Anabaena* для осуществления подпитки азотом при культивировании риса.

Ценность метода измерения биологически фиксированного азота с использованием изотопа ^{15}N иллюстрируется тем фактом, что многие результаты, полученные в ходе реализации программ по зернобобовым культурам, не могли бы быть получены с помощью других методов. В 1979 году при



поддержке Шведского международного агентства развития (SIDA) была начата реализация координированной исследовательской программы по фиксации природного азота в зернобобовых культурах. Научное участие в этой программе приняли 13 государств-членов. Самым важным результатом реализации этой программы явилось открытие, что способность к биологической фиксации азота различна у разных видов бобовых культур, и эта разница существует у разных сортов одного вида. Кроме того, при проведении опытов во многих странах было установлено, что эта разница сохраняется в широком диапазоне условий окружающей среды. Например, обыкновенная фасоль (*Phaseolus vulgaris*), которая широко распространена в Латинской Америке, считается плохим фиксатором азота с коэффициентом от 30 до 60 кг/га в Мексике, Кении и Бразилии. На другом конце шкалы находится полевой или конский боб (*vicia faba*), который, как показали исследования в Египте и Австралии, имеет высокий коэффициент фиксации азота от 150 до 300 кг/га. Ранее другими методами были получены аналогичные результаты, но количество информации из небольшого количества источников было весьма ограничено. На основе результатов, полученных в

ходе этой программы, в настоящее время можно сконцентрировать усилия на улучшении фиксации азота в тех зерновых культурах, где это наиболее необходимо. В настоящее время начата реализация программы по улучшению фиксирующей способности фасоли (*Phaseolus*).

Методом с использованием изотопа ¹⁵N установлено, что как различные сорта одного и того же бобового растения, так и различные виды бобовых растений имеют различную способность поддерживать фиксацию азота. В таблице 1 представлен пример сравнения сортов фасоли *Phaseolus* в Бразилии [2] и соевых бобов в Греции. Даже для ограниченного количества сортов, использовавшихся в эксперименте, была зафиксирована разница в способности фиксировать азот в 2,6 раза для фасоли и в 4,6 раза — для соевых бобов.

Количество азота, фактически фиксированного бобовыми растениями, зависит не только от генетики бактерий и растения-хозяина, но также от условий окружающей среды и сельскохозяйственных приемов. Среди обычных сельскохозяйственных приемов наиболее значительное влияние на фиксацию азота оказывает использование в качестве удобрений P и N. В Кении использование 150 кг фос-



Рис. 3. Способность *Azolla* к быстрому росту показана на растениях в этих двух лотках: справа на две недели старше

форных удобрений на один га бобов *Phaseolus* повышает урожайность на 62% и увеличивает фиксацию азота в среднем с 8 до 60 кг/га. В эксперименте с фасолью маш в Пакистане увеличение используемых фосфорных удобрений с 25 до 35 кг/га вызвало усиление фиксации азота с 20 до 48 кг/га. В этом случае возможность отдифференцировать с помощью изотопного метода азот почвенный от азота фиксированного была особенно важна, так как общее содержание азота увеличилось незначительно. Таким образом, для фасоли маш увеличение количества фосфорных удобрений приводит к уменьшению потребления почвенного азота за счет усиления фиксации.

Стало общеизвестным фактом, что если бобовые растения произрастают на почвах с высоким содержанием доступного азота, то степень фиксации азота уменьшается. Однако, если бобовые растения выращиваются смешанным образом или в системе зернопроизводства, то часто все же необходимо добавлять азотные удобрения для небобовых компонентов системы. Таким образом, необходимо выделить те виды и сорта бобовых растений, которые продолжают фиксировать атмосферный азот даже

при добавлении азотных удобрений. При сравнении влияния 20 и 100 кг/га азота на полевую горох (*vicia faba*) и на мелкий турецкий горох в Египте было установлено, что способность к биологической фиксации азота у турецкого гороха снижается сильнее, чем у *vicia faba* (рис. 2). Можно сделать вывод, что *vicia faba* предпочтительнее для использования в системе зернопроизводства, чем турецкий горох.

Доказано, что методы, основанные на использовании изотопа ^{15}N , представляют большую ценность при изучении симбиоза бобовых — *Rhizobium*, позволяя проводить намного больше экспериментов, чем раньше, и получать много новой информации, имеющей практическое значение. Секция почв в настоящее время работает над расширением области использования этих методов на другие типы азотофиксирующего симбиоза.

Симбиоз свободноплавающего водяного папоротника *Azolla* (известно шесть видов) с фиксирующей азот бледно-зеленой водорослью (известной так же, как цианобактерия) *Anabaena azollae* может обеспечить большое количество азота для орошаемого риса [3]. Фиксирующая азот бледно-

зеленая водоросль живет в пустотах листьев папоротника и обеспечивает его азотом. Этот симбиоз обладает способностью к очень быстрому росту в средах, которые не содержат химически связанный азот (рис. 3). При хороших условиях 30 кг/га могут быть зафиксированы за две недели. Хотя потенциальные возможности симбиоза совсем недавно привлекли международное внимание, он использовался в течение столетий в Южном Китае и во Вьетнаме как источник азота для орошаемого риса. Так как фиксированный азот усваивается в биомассе папоротника, он не доступен непосредственно для растений риса. Растения папоротника *Azolla* должны вноситься в почву и подвергнуться распаду, прежде чем азот станет доступен для использования растениями риса. Новая координированная исследовательская программа будет использовать изотопные методы с ^{15}N для определения количества азота, фиксированного с помощью симбиоза *Azolla*, в

реальных полевых условиях, и будет сделана попытка разработать оптимальные методы для улучшения эффективности использования азота, фиксированного с помощью *Azolla*, рисовыми растениями.

References

- [1] M. Fried and H. Broeshart. *An independent measure of the amount of nitrogen fixed by a legume crop.* Plant and Soil **43**, pp 707–711 (1975).
- [2] A.P. Ruschel, P.B. Vose, E. Matsui, R.L. Victoria, and S.M.T. Saito. *Field evaluation of N_2 -fixation and N-utilization by Phaseolus bean varieties determined by ^{15}N isotope dilution.* Plant and Soil **65**, 397–407 (1982).
- [3] I. Watanabe, B. Kezhi, N.S. Berja, C.R. Espinas, O. Ito, and B.P.R. Subudhi. *The Azolla-Anabaena complex and its use in rice culture.* IIRRI Research Paper Series 69 (1981).

Предстоящие конференции, симпозиумы ...

Дата	Тема	Место проведения
------	------	------------------

1984 год

10–14 сентября	Симпозиум АЯЭ/МАГАТЭ по ядерной ответственности третьей стороны, статусу страхования и перспектив	Мюнхен, ФРГ
12–19 сентября	10-я международная конференция по физике плазмы и исследованиям в области управляемого термоядерного синтеза	Лондон
8–12 октября	Международный симпозиум по дозиметрии больших доз	Вена
22–26 октября	Международная конференция по радиофармацевтическим и индикаторным препаратам	Токио
29 октября – 2 ноября	Международный симпозиум по сводам и правилам по безопасности (ПРНБ АЭС) в свете текущих проблем безопасности	Вена
19–23 ноября	Международный симпозиум по оценкам внутреннего радиоактивного загрязнения человека	Париж

1985 год

14–18 января	Международная конференция по исследованиям нейтронного рассеяния в 90-х годах	Юлих, ФРГ
4–8 марта	Международный симпозиум ФАО/МАГАТЭ по облучению пищевых продуктов	Орландо, шт. Флорида, США
6–10 мая	Международный симпозиум по успехам в области надежности, обслуживания и эксплуатации атомных электростанций	Мюнхен, ФРГ

... и семинары МАГАТЭ

1984 год

16–27 июля	Семинар МАГАТЭ/ЮНЕСКО по применению изотопных методов при разведке водных ресурсов в Латинской Америке	Буэнос-Айрес
2–5 октября	Семинар МАГАТЭ/АЯЭ по дистанционно управляемому оборудованию для установок ядерного топливного цикла	Харуэлл, Великобритания
22–26 октября	Региональный учебный семинар по ИНИС для стран Азии и района Тихого Океана	Токио
5–8 ноября	Семинар по практическим вопросам, возникающим при транспортировании радиоактивных веществ в рамках деятельности по обеспечению гарантий	Вена
12–16 ноября	Семинар ФАО/МАГАТЭ по применению изотопов в исследованиях биологической фиксации азота растениями для развивающихся стран Среднего Востока и Африки	Анкара
26–30 ноября	Семинар по организации эксплуатации атомных электростанций	Вена

Более подробную информацию по указанным совещаниям можно получить в МАГАТЭ или в соответствующих органах каждого государства-члена: организации, занимающейся вопросами атомной энергии, или в министерстве иностранных дел.