

УДК 635.267:633.358:581.138.1:631.461.5

ИЗУЧЕНИЕ НОДУЛЯЦИИ И АЗОТФИКСАЦИИ У РАЗНЫХ ОДНОЛЕТНИХ ВИДОВ И СОРТОВ ЧИНЫ, РОД *LATHYRUS*

© 2012 г. К.К. Сидорова¹, Г.Д. Левко², В.К. Шумный¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: sidorova@bionet.nsc.ru;

² Всероссийский научно-исследовательский институт селекции и семеноводства
овощных культур РАСХН, Московская область, Россия

Поступила в редакцию 6 февраля 2012 г. Принята к публикации 16 марта 2012 г.

Изучены симбиотические признаки – количество корневых клубеньков и активность азотфиксации (по активности нитрогеназы) у 5 однолетних видов чины: *Lathyrus sativus*, *L. tingitanus*, *L. chlorantus*, *L. ochrus* и *L. odoratus*, включающих 9 сортов. Установлено, что все сорта чины существенно уступают гороху *Pisum sativum* по активности азотфиксации. Выявлены видовые и сортовые различия по характеру нодуляции (число, размеры клубеньков и расположение их на корне) и активности азотфиксации. По активности азотфиксации внимания заслуживают сорта чины душистой (*L. odoratus*) – Алиса и Ноктюрн, а также два сорта – Анна и Розовый фламинго – чины танжерской (*L. tingitanus*).

Ключевые слова: чина, *Lathyrus*, нодуляция, азотфиксация, видовые и сортовые различия.

ВВЕДЕНИЕ

Род *Lathyrus* – один из самых больших в трибе *Viciae* семейства бобовых. Известно более 100, а некоторые авторы считают, что их около 200, однолетних и многолетних видов чины.

Чина посевная (*Lathyrus sativus*) – ценная зернобобовая культура. Ее используют на зерно, сено, и зеленую массу. По содержанию основных питательных веществ растения чины превосходят многие другие зернобобовые культуры. Содержание белка, незаменимых аминокислот и каротина в зеленой массе у чины посевной выше, чем у других однолетних зернобобовых культур. В семенах чины посевной содержится большое количество калия, кальция, магния, железа, меди, цинка, марганца, фосфора, кобальта и никеля. Чина посевная уступает самой распространенной в нашей стране зернобобовой культуре – гороху – только по развариваемости и вкусовым качествам (Вавилов, Посыпанов, 1983).

По сравнению с другими зернобобовыми культурами растения чины более устойчивы к

целому ряду болезней и насекомым-вредителям, в том числе гороховой зерновке.

Благодаря высокой засухоустойчивости чину посевную успешно выращивают в районах Среднего и Нижнего Поволжья, в Башкирии, Челябинской и Воронежской областях, в левобережье Украины, в Закавказье и Средней Азии.

В Российской Федерации допущено к использованию только 2 вида чины кормового назначения – чина посевная *L. sativus* и чина лесная *L. sylvestris*; а также 4 вида декоративного назначения: *L. odoratus* (чина душистая), *L. tingitanus* (чина танжерская), *L. chlorantus* (желто-зеленая) и 2 сорта чины посевной – Ривьера и Подарок маме (Вишнякова, Бурляева, 2006). В последние годы садоводы активно используют сорта чины душистой (душистый горошек) в декоративных целях. Главным селекционным центром по этой культуре является Всероссийский научно-исследовательский институт селекции и семеноводства овощных культур РАСХН (ВНИИССОК).

Растения чины, как и других бобовых культур, способны вступать в симбиоз с клубень-

ковыми бактериями *Rhizobium* и фиксировать азот воздуха. Установлено, что у однолетних бобовых культур – соя, горох, фасоль и др. – уровень азотфиксации составляет от 70 до 100 кг N₂/га/год (Симаров, Аронштам, 1987).

Симбиогенетика бобовых растений как наука стала активно развиваться с 1980-х гг. Большие успехи достигнуты по таким культурам, как горох и соя (Биологическая фиксация азота, 1991; Gresshoff, 1993; Генетика симбиотической азотфиксации, 1998; Сидорова, Шумный, 2003; Сидорова и др., 2006). Чину как объект для изучения симбиогенетики до сих пор не использовали.

Цель исследования – изучить симбиотические признаки – нодуляцию и азотфиксацию – у разных форм чины, сравнить симбиотические показатели у чины с аналогичными у гороха *Pisum sativum* – самого близкого к чине вида в систематическом отношении. У гороха и чины одинаковое число хромосом. Оба вида вступают в симбиоз с одним и тем же видом клубеньковых бактерий *Rhizobium leguminosarum*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В опыт были включены пять видов чины: посевная – *L. sativus*; танжерская – *L. tingitanus*; желтая – *L. ochrus*; зеленоцветковая – *L. chloranatus* и душистая – *L. odoratus*. Большинство форм чины получены из Всероссийского научно-исследовательского института селекции и семеноводства овощных культур РАСХН (ВНИИССОК). Для сравнения в опыте изучали два сорта гороха *Pisum sativum* – Торсдаг и Рондо.

Опыты проводили в теплице Института цитологии и генетики СО РАН (ИЦиГ СО РАН), где контролируются основные факторы, влияющие на рост и развитие растений – температура, питание, свет. Растения выращивали в сосудах объемом 10 л каждый. Субстрат – ке-

рамзит. Повторность 2-кратная. Анализировали по 10 растений в каждом варианте.

Применяли стандартное минеральное питание для бобовых культур: Ca(NO₃)₂, K₂SO₄, KH₂PO₄, MgSO₄; микроэлементы: H₃BO₃, MnSO₄, CuSO₄, ZnSO₄, (NH₄)₂MoO₄, FeSO₄. (Чесноков, Базырина, 1957; Справочник агрохимика, 1980). В начальный период роста азот вносили в количестве 20 % от полной нормы с целью создания благоприятных условий для формирования клубеньков. Режим освещения 16 : 8 ч (день : ночь), температура 22–24 °С днем и 13–15 °С ночью.

Семена чины имеют очень твердую оболочку, поэтому перед посевом их скарифицировали.

Количество клубеньков и активность азотфиксации определяли в фазу начала цветения по активности нитрогеназы ацетиленовым методом на газовом хроматографе «Цвет 500» (Hardy *et al.*, 1968).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сорта гороха Торсдаг и Рондо характеризуются хорошей нодуляцией и активной азотфиксацией. В наших многолетних исследованиях по симбиогенетике гороха их использовали как эталоны для сравнения сортов (табл. 1).

У всех форм чины симбиотические показатели были существенно ниже, чем у гороха. По характеру нодуляции и активности азотфиксации у чины выявлены межвидовые и сортовые различия (рис. 1).

Чина посевная (*L. sativus*) (рис. 2, б) по показателю «число клубеньков» превысила сорт Торсдаг (рис. 2, а). У нее было 250 ± 20 клубеньков на одно растение, но клубеньки были очень мелкие, расположенные по всему корню. По активности азотфиксации чина посевная уступала сорту Торсдаг во много раз. Этот показатель у нее был равен 227 ± 18 нмоль C₂H₄/растение/ч (рис. 1).

Таблица 1

Количество клубеньков и активность азотфиксации у гороха

Сорт	Высота, см	Число клубеньков/растение	Активность нитрогеназы, нмоль C ₂ H ₄ /растение/ч
Торсдаг	86,8 ± 3,3	194,8 ± 22,4	10633 ± 948
Рондо	40,4 ± 0,7	114,6 ± 10,1	9290 ± 1032

Два сорта чины танжерской (*L. tingitanus*) – Анна (рис. 2, в) и Розовый фламинго (рис. 2, г) – по нодуляции и активности азотфиксации показали сходные результаты. Корневая система обоих сортов чины была развита слабее, чем у гороха сорта Торсдаг. Клубеньки крупнее, чем у гороха, и образуют небольшие кораллы. По активности азотфиксации эти сорта уступали гороху, но значительно превышали по этому показателю большинство сортов чины. Активность азотфиксации у сорта Анна составила 1682 ± 265 нмоль C_2H_4 /растение/ч; у сорта Розовый фламинго – 1364 ± 371 нмоль C_2H_4 /растение/ч (рис. 1). Такая азотфиксация была при небольшом количестве клубеньков соответственно по сортам – $6,3 \pm 0,6$ и $7,6 \pm 0,5$ /растение.

Сильно развитая корневая система отмечена у чины зеленоцветковой (*L. chloranthus*) (рис. 3, б). Клубеньки расположены в верхней части корня в виде кораллов в количестве

$35,6 \pm 5,7$ на одно растение. Активность азотфиксации составила 1102 ± 191 нмоль C_2H_4 /растение/ч (рис. 1).

У чины желтой (*L. ochrus*) (рис. 2, д) корневая система была менее развита. Особенно она выделялась отсутствием мелких и тонких корневых веточек. Клубеньки мелкие, расположены в верхней и средней частях корня в количестве $29,4 \pm 4,0$ на одно растение. Активность азотфиксации у этого вида чины самая низкая из исследованных нами форм и составила 42 ± 6 нмоль C_2H_4 /растение/ч (рис. 1).

У сорта Ноктюрн (*L. odoratus*) (рис. 3, в) клубеньки в виде кораллов, в количестве $5,4 \pm 0,7$ на одно растение. Активность азотфиксации – 1151 ± 98 нмоль C_2H_4 /растение/ч (рис. 1).

В образце чины Смесь окрасок (*L. odoratus*) наблюдали расщепление по высоте стебля. Выделены высокорослые растения 176 ± 18 см и низкорослые – 22 ± 2 см. У всех растений корневая система очень хорошо развита (рис. 3, д, е). Клубеньки крупные в виде кораллов, расположены в основном в верхней части главного корня в количестве: у высокорослых $6,5 \pm 0,5$, у низкорослых – $2,0 \pm 0,3$ на одно растение. Активность азотфиксации – у высокорослых 1257 ± 55 , у низкорослых – 462 ± 12 нмоль C_2H_4 /растение/ч (рис. 1).

Из сортов чины душистой (*L. odoratus*) самая высокая азотфиксация отмечена у сорта Алиса (рис. 3, е) – 1780 ± 200 нмоль C_2H_4 /растение/ч (рис. 1) при количестве клубеньков 9 ± 3 /растение.

У сорта ZIG-ZAG (*L. odoratus*) (рис. 3, ж) так же, как и у сорта Алиса (*L. odoratus*) (рис. 3, е), клубеньки сформировались только в верхней части корня в количестве 1–4 на одно растение, активность азотфиксации – 817 ± 45 нмоль C_2H_4 /растение/ч (рис. 1).

При сравнении симбиотических признаков у чины и гороха следует иметь в виду, что сорта гороха Торсдаг и Рондо за длительный период культивирования и отбора хорошо отселектированы. Они имеют широкий по почвенно-климатическим условиям ареал возделывания, а сорта чины, особенно вида *Lathyrus odoratus*, более молодые и имеют короткий период возделывания. Однако и среди сортов чины душистой (*L. odoratus*) можно выделить образцы с более высокой азотфиксацией, например сорта Алиса

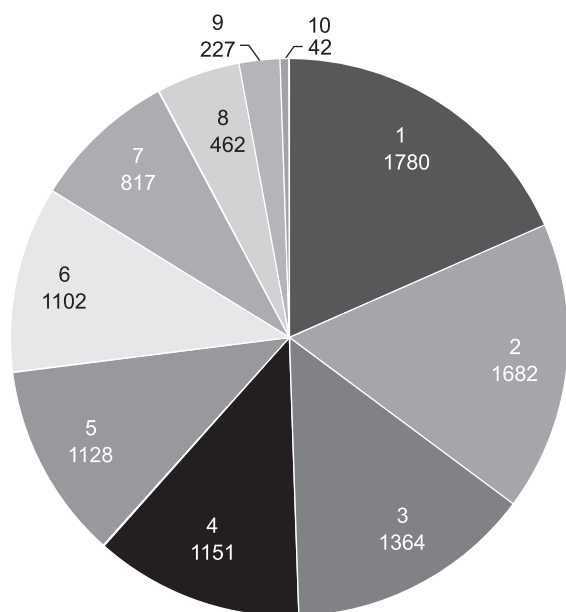


Рис. 1. Активность нитрогеназы у разных форм чины, нмоль C_2H_4 /растение/ч.

1 – душистая (*L. odoratus*) сорт Алиса; 2 – танжерская (*L. tingitanus*) сорт Анна; 3 – танжерская (*L. tingitanus*) сорт Розовый фламинго; 4 – душистая (*L. odoratus*) сорт Ноктюрн; 5 – душистая (*L. odoratus*) сорт Смесь окрасок (высокорослые); 6 – зеленоцветковая (*L. chloranthus*) сорт Маленький принц; 7 – душистая (*L. odoratus*) сорт Zig Zag; 8 – душистая (*L. odoratus*) сорт Смесь окрасок (низкорослые); 9 – посевная (*L. sativus*); 10 – желтая (*L. ochrus*).

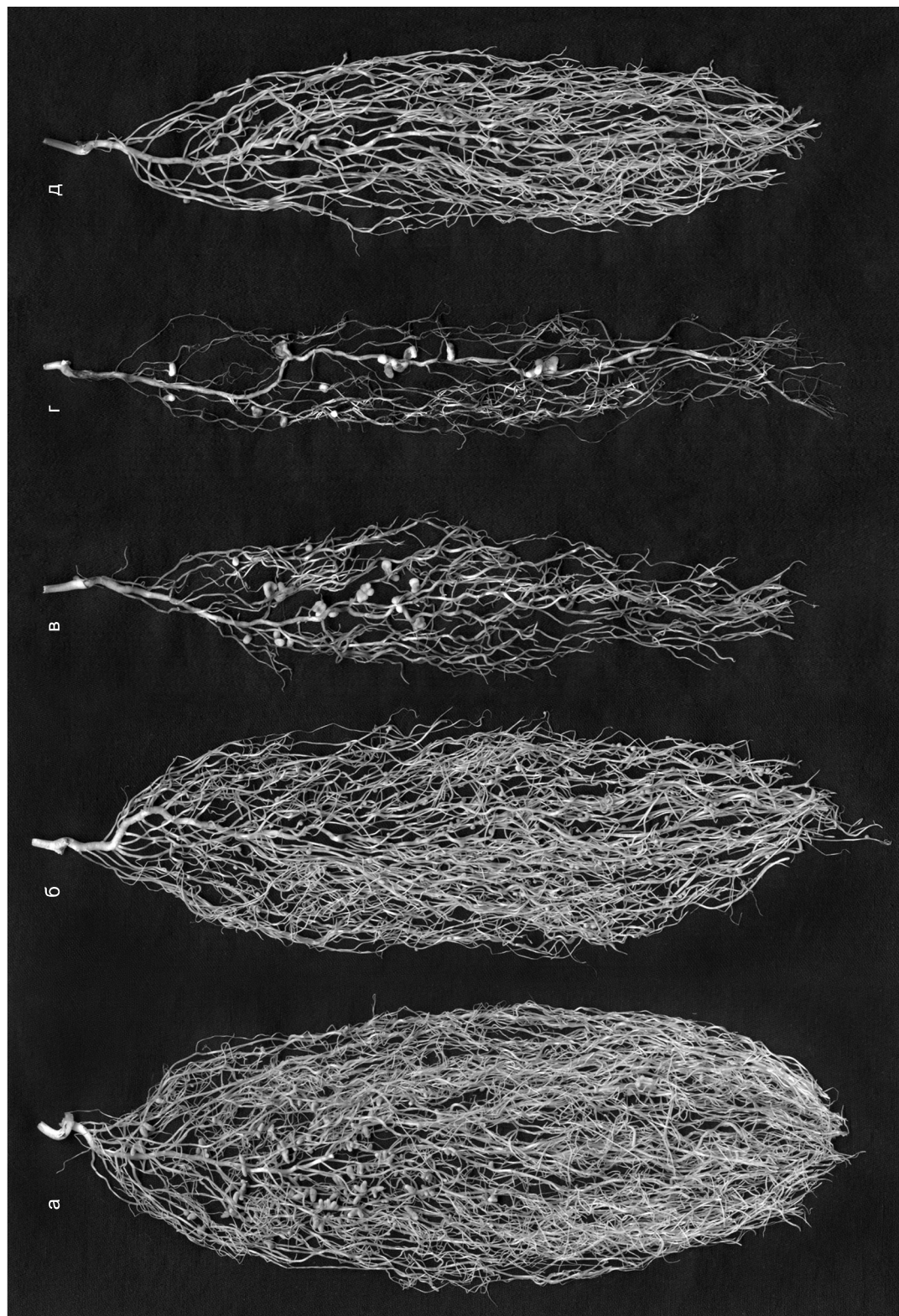


Рис. 2. Корневая система.

а – горох (*P. sativum*) сорт Торпеда; б – чина посевная (*L. sativus*); в – чина танжерская (*L. tingitanus*) сорт Анна, г – чина танжерская (*L. tingitanus*) сорт Розовый фламинго, д – чина желтая (*L. ochrus*).

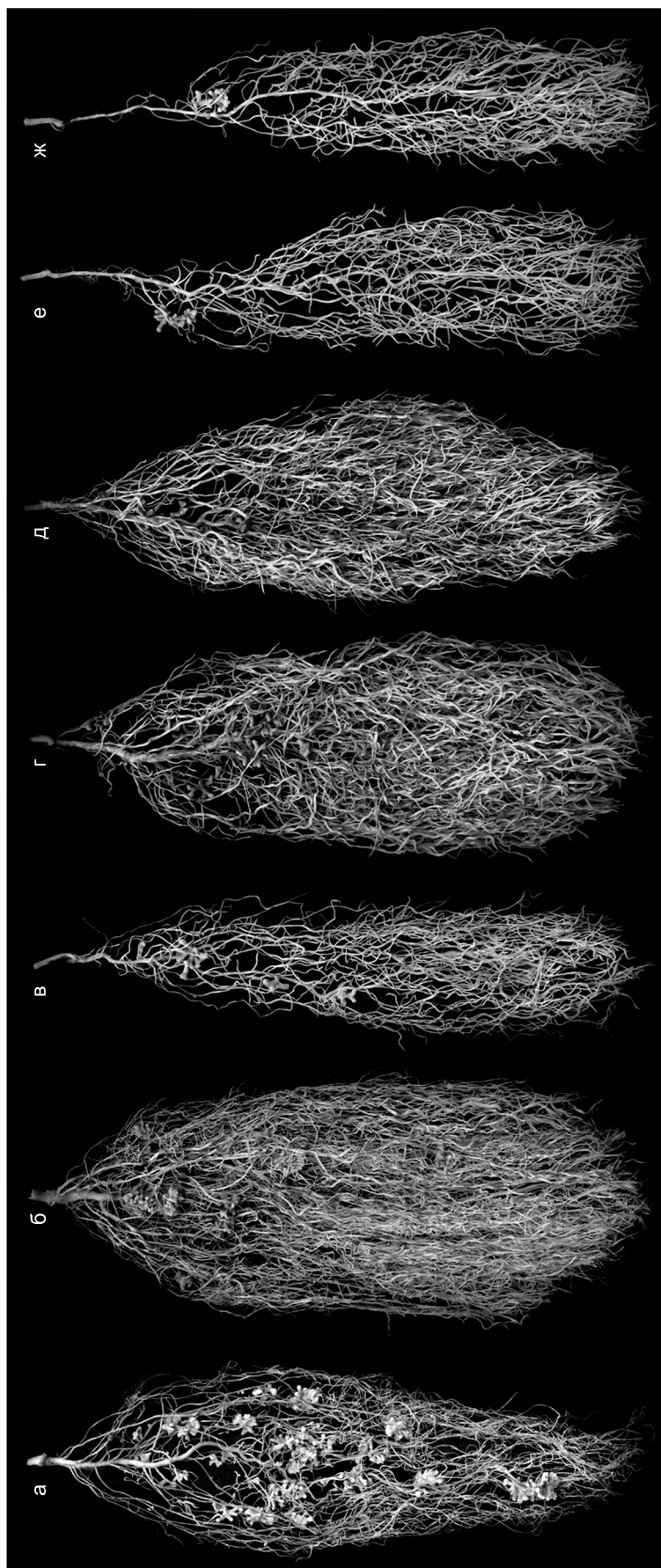


Рис. 3. Корневая система.

а – горох (*P. sativum*) сорт Рондо; б – чина зеленоцветковая (*L. chloranthus*); в – чина душистая (*L. odoratus*) сорт Нокторн; г – чина душистая (*L. odoratus*) сорт Смесь окрасок вы-сокорослые; д – чина душистая (*L. odoratus*) сорт Алиса; ж – чина душистая (*L. odoratus*) сорт ZIG-ZAG.

и Ноктюрн. Внимания заслуживают и два сорта чины танжерской (*L. tingitanus*) – Анна и Розовый фламинго.

Характер клубенькообразования у чины сходен с таковым у гороха. У некоторых сортов гороха, например у сорта Торсдаг и чины посевной (*L. sativus*), каждый клубенок формируется отдельно. У гороха сорта Рондо и многих сортов чины душистой (*L. odoratus*): ZIG-ZAG, Алиса, Ноктюрн и другие клубеньки образуют кораллы.

Результаты опытов по изучению изменчивости по активности азотфиксации у разных видов и сортов чины позволяют выделить формы, ценные для дальнейших исследований по симбиогенетике чины.

Для расширения разнообразия форм по симбиотическим признакам и выявлению генов, их контролирующих, целесообразно использовать симбиотические мутанты, индуцированные методом экспериментального мутагенеза. Спектр симбиотических мутантов, изученный нами на горохе, довольно широкий. Для селекции на повышение активности азотфиксации особое внимание заслуживают супер- и гиперклубеньковые формы. С использованием таких мутантов, полученных на горохе, нами разработан метод селекции на повышение у бобовых азотфиксации. В основе этой технологии лежит взаимодействие доминантных и рецессивных аллелей разных симбиотических генов в одном генотипе (Сидорова и др., 2010).

Разработанные на горохе методы индуцирования симбиотических мутантов и использования их в селекции приемлемы для чины.

Работа частично финансировалась по программе Президиума РАН № 25 подпрограммы 11.9. Биоразнообразие и динамика генофондов, проект № 26.27.3.

Авторы выражают благодарность за участие в проведении экспериментов сотрудникам ИЦиГ СО РАН: М.Н. Гляненко, Т.М. Мищенко и Е.Ю. Власовой.

ЛИТЕРАТУРА

- Биологическая фиксация азота / Ред. В.К. Шумный, К.К. Сидорова. Новосибирск: Наука, 1991. 270 с.
- Вавилов П.П., Посыпанов Г.С. Бобовые культуры и проблема растительного белка. М.: Россельхозиздат, 1983. 255 с.
- Вишнякова М.А., Бурляева М.О. Потенциал хозяйственной ценности и перспективы использования российских видов чины // С.-х. биология. 2006. № 6. С. 85–97.
- Генетика симбиотической азотфиксации с основами селекции / Ред. И.А. Тихонович, Н.А. Проворов. СПб.: Наука, 1998. 194 с.
- Сидорова К.К., Шумный В.К. Создание и генетическое изучение коллекции симбиотических мутантов гороха (*Pisum sativum* L.) // Генетика. 2003. Т. 39. № 4. С. 501–509.
- Сидорова К.К., Шумный В.К., Назарюк В.М. Симбиотическая азотфиксация: генетические, селекционные и эколого-агрохимические аспекты // Новосибирск: Акад. изд-во «Гео», 2006. 134 с.
- Сидорова К.К., Шумный В.К., Гончарова А.В., Гончаров П.Л. Использование симбиотических мутантов гороха для повышения нодуляции и азотфиксации // Докл. АН. 2010. Т. 434. № 3. С. 427–429.
- Симаров Б.В., Аронштам А.А. Биотехнология симбиотической азотфиксации // С.-х. биология. 1987. Т. 22. № 11. С. 104–110.
- Справочник агрохимика. М.: Россельхозиздат, 1980. 285 с.
- Чесноков В.А., Базырина Е.Н. Выращивание растений без почвы на искусственных средах // Вестн. с.-х. науки. 1957. № 4. С. 121–128.
- Gresshoff P.M., Molecular genetic analyses of nodulation genes in soybean // Plant Breed. Rev. 1993. V. 11. P. 275–318.
- Hardy R.W.F., Holsten R.D., Jackson E.K., Burns R.C. The acetylene–ethylene assay for N_2 -fixation: laboratory and field evolution // Plant Physiol. 1968. V. 43. No. 8. P. 1185–1207.

**STUDY OF NODULATION AND NITROGEN FIXATION IN ANNUAL SPECIES
AND VARIETIES OF VETCHLING, GENUS *LATHYRUS*****K.K. Sidorova¹, G.D. Levko², V.K. Shumny¹**¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: sidorova@bionet.nsc.ru;² All-Russia Research Institute of Vegetable Breeding and Seed Production, Moscow oblast, Russia**Summary**

The number of root nodules and nitrogen fixation rate (judged from nitrogenase activity) have been studied in nine varieties of five annual vetchling species: *Lathyrus sativus*, *L. tingitanus*, *L. chloranthus*, *L. ochrus*, and *L. odoratus*. All vetchling varieties are inferior to pea *Pisum sativum* in nitrogen fixation rate. A variation in nodulation pattern (nodule number, size, and location on roots) and nitrogen fixation rate among species and varieties has been detected. With regard to nitrogen fixation, Alisa and Nokturn varieties of sweet pea (*L. odoratus*) and Anna and Pink Flamingo of Tangier pea (*L. tingitanus*) deserve special attention.

Key words: vetchling, *Lathyrus*, nodulation, nitrogen fixation, interspecific and intervarietal variation.