

Э. С. АВУНДЖЯН, С. А. КАРАПЕТЯН

ВЛИЯНИЕ АЗОТА, КОМБИНИРОВАННОГО С ФОСФОРОМ,
НА ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ И
САХАРОВ У РАСТЕНИЙ ТАБАКА

В предыдущих работах одним из авторов (Авунджян) показано, что корни растений активно участвуют в метаболизме аминокислот и в своей пасоке передают ряд окислительных ферментов в надземные органы растения, тем оказывая влияние на общий ход обмена веществ в последних.

Многими авторами (из-за ограниченности места, литература не приводится) установлено, что разные источники азотного питания вызывают значительные изменения в ходе окислительно-восстановительных процессов и метаболизма важнейших органических веществ. При этом нитратный азот, как его более окисленная форма, благоприятствует окислительным процессам, образованию и накоплению более окислительных соединений, как органических кислот. В противоположность этому под влиянием аммиачного источника азота усиливаются редуцирующие процессы, а также образование и накопление восстановительных продуктов обмена веществ подобно каучуку и никотину. Кроме того, разные источники азотного питания оказывают неодинаковое влияние на те или иные процессы жизнедеятельности. Так, например, корни овса и ячменя при аммиачном питании поглощают больше фосфора из почвенного раствора, чем при нитратном питании. Проростки ячменя при даче аммиачного азота накапливали в основном амиды, особенно при калийном голодании. В случае нитратного питания они в основном образуют аминокислоты. При нитратном питании наблюдалось более интенсивное накопление массы соломки льна и больше выхода волокна, чем при аммиачном. Однако наилучший эффект получается при одновременном внесении обеих форм азота [11]. В условиях нитратного питания в растениях накапливается больше сахаров, чем при аммиачном. При нитратном питании, в случае исключения фосфора, восстановление азота почти полностью прекращается и процессы синтеза аммиака, амидов, аминокислот и белков лимитируются скоростью редукции нитратов. В условиях же фосфорного голодания и аммиачного питания в растениях содержание амидов и аминокислот увеличивается, но синтез белков прекращается.

В условиях песчаной культуры табака внесение нитратного азота увеличивало урожай, но содержание амидов, белков и общего азота было больше при аммиачном питании. Наконец, питание растений различными источниками азота вызывало существенное расхождение в составе продуктов фотосинтеза.

Приведенные данные показывают, что в биологической литературе отсутствуют систематические данные относительно динамики образования и метаболизма аминокислот и сахаров в разных органах растений, в зависимости от влияния различных источников азота, комбинированного с фосфором. Настоящая работа является попыткой ближе подойти к разрешению вопроса о том, в какой мере корни растений участвуют в метаболизме аминокислот и сахаров в условиях дифференцированного питания нитратным и аммиачным азотом, комбинированного с фосфором.

Объектом наших исследований служил табак сорта Самсун 935. Удобрение этой культуры, как известно, требует особого внимания, ввиду необходимости получения вместе с высоким урожаем также сырья определенного качества. Высокая пластичность табачного растения позволяет регулировать как урожай, так и качество сырья с помощью правильной агротехники и азотного питания. В связи с этим данная работа была проведена с целью выяснения действия удобрений на метаболизм свободных аминокислот и углеводов.

Растения выращивались в 3-литровых вегетационных сосудах Кирсанова с определенным питательным составом, бедной почвой и кварцевым песком.

Нормы удобрений (согласно питательной смеси Прянишникова) и схема разных вариантов по удобрению приведены в табл. 1.

Таблица 1

Схема удобрения растения

Виды удобрений	Варианты по удобрению	Количество удобрений п г на 1 сосуд (3 кг почвы)	Применяемые соли
Контроль	0	—	—
Аммиачный азот	1/2 NH ₄	0,59 N	(NH ₄) ₂ SO ₄
	3 NH ₄	3,54 N	
Нитратный азот	1/2 NO ₃	0,76 N	NaNO ₃
	3 NO ₃	4,56 N	
Аммиачный азот + фосфор	1/2 NH ₄ P	0,59 N, 0,23 P	(NH ₄) ₂ SO ₄ , Na ₂ HPO ₄
	3 NH ₄ P	3,54 N, 1,38 P	
	1/2 NH ₄ , 3 P	0,59 N, 1,38 P	
	3 NH ₄ , 1/2 P	3,54 N, 0,24 P	
Нитратный азот + фосфор	1/2 NO ₃ P	0,76 N, 0,23 P	NaNO ₃ , NaH ₂ PO ₄
	3 NO ₃ P	4,56 N, 1,38 P	
	1/2 NO ₃ , 3 P	0,76 N, 1,38 P	
	3 NO ₃ , 1/2 P	4,56 N, 0,23 P	

С целью более полного использования удобрений растениями, часть их (около 1/3) давалась в начале опыта, а остальная часть — в виде слабых растворов, в качестве подкормки, по мере роста и развития растений. Пробы для анализов брались после двухмесячного вегетативного роста, когда контрольные растения достигли средней высоты 44 см, а лучше всех растущие растения, получившие 3NO₃P — 124 см. Растения фиксировались в условиях текучего пара и высушивались в вакуум-сушильнике при 50°. Листья для анализа брались с верхних (4—5) и нижних (2—3) ярусов.

Состав свободных аминокислот в листьях определялся по методике, описанной нами раньше. Нанесенное на бумаге пятно соответствовало 20 мг сухого вещества. Методика определения состава свободных сахаров заключалась в следующем. Фиксированный и высушенный материал трехкратно экстрагировался кипящим 80% этанолом. Белки и прочие вещества, находящиеся в фильтрате, удалялись 10% основным уксуснокислым свинцом, избыток которого устранялся 10% сернокислым натрием. Профильтрованный раствор пропусклся соответственно через катионит КУ-1 и анионит ЭДЭ-10П. Раствор в значительно очищенном и осветленном виде выпаривался при 50°, оставшийся сухой остаток растворялся в минимальном количестве теплого 10% изопропанола. В тех случаях, когда раствор оказывался мутным, профильтровывался или центрифугировался, после чего уже был готов для хроматографии. Нанесенный на бумаге раствор соответствовал 30 мг сухого вещества. Хроматограмма была однородная восходящая, растворитель — Н-бутанол, ледяная уксусная кислота, вода (4 : 1 : 5). Для проявки сахаров высушенная хроматограмма погружалась в раствор, состоящий из 0,930 г свежее-перегнанного анилина и 1,660 г химически чистой фталевой кислоты, растворенной в смеси 95 мл ацетона и 5 мл воды. После воздушного высушивания хроматограмма погружалась в горячий парафин при 105—110° на 2—3 мин. Сахара проявлялись в виде компактных, устойчивых, коричневых (альдозы) или красных (пентозы) пятен. Для идентификации кетоз, мы одновременно пользовались реактивом Денондера.

На рис. 1 иллюстрирован состав свободных аминокислот в корнях табака, выращенного в условиях различного источника азота, комбинированного с фосфорным удобрением. Как видно из этой хроматограммы, состав свободных аминокислот изменяется довольно резко в корнях табака в зависимости от режима питания. При одностороннем аммиачном питании как число (общий набор), так и количество отдельных аминокислот достигает своего максимума. При фосфорном голодании накопление свободных аминокислот отмечено также рядом авторов. Интересно отметить, что по данным хроматограммы в условиях одностороннего нитратного питания восстановление нитратов и дальнейший синтез аминокислот идет довольно нормально в корнях табака. Этот факт, по всей вероятности, можно объяснить способностью корней усваивать ничтожные запасы фосфора, находящиеся в почве. Фосфор, как известно, является элементом, способствующим восстановлению нитратов. Необходимость фосфора в процессах восстановления нитратов и связанного с этим синтеза аминокислот, амидов и белков отмечается многими. Это обстоятельство видно и в нашей хроматографии у вариантов, получивших высокие дозы аммиачного или нитратного азота, в сочетании с низкой дозой фосфора. У них общий набор и количество отдельных свободных аминокислот больше. Кроме того, наблюдается, что при высоких дозах фосфора содержание и число свободных аминокислот довольно резко падает.

В корнях подопытных растений, при даче разных источников азота, заметная разница в составе свободных аминокислот наблюдается только в

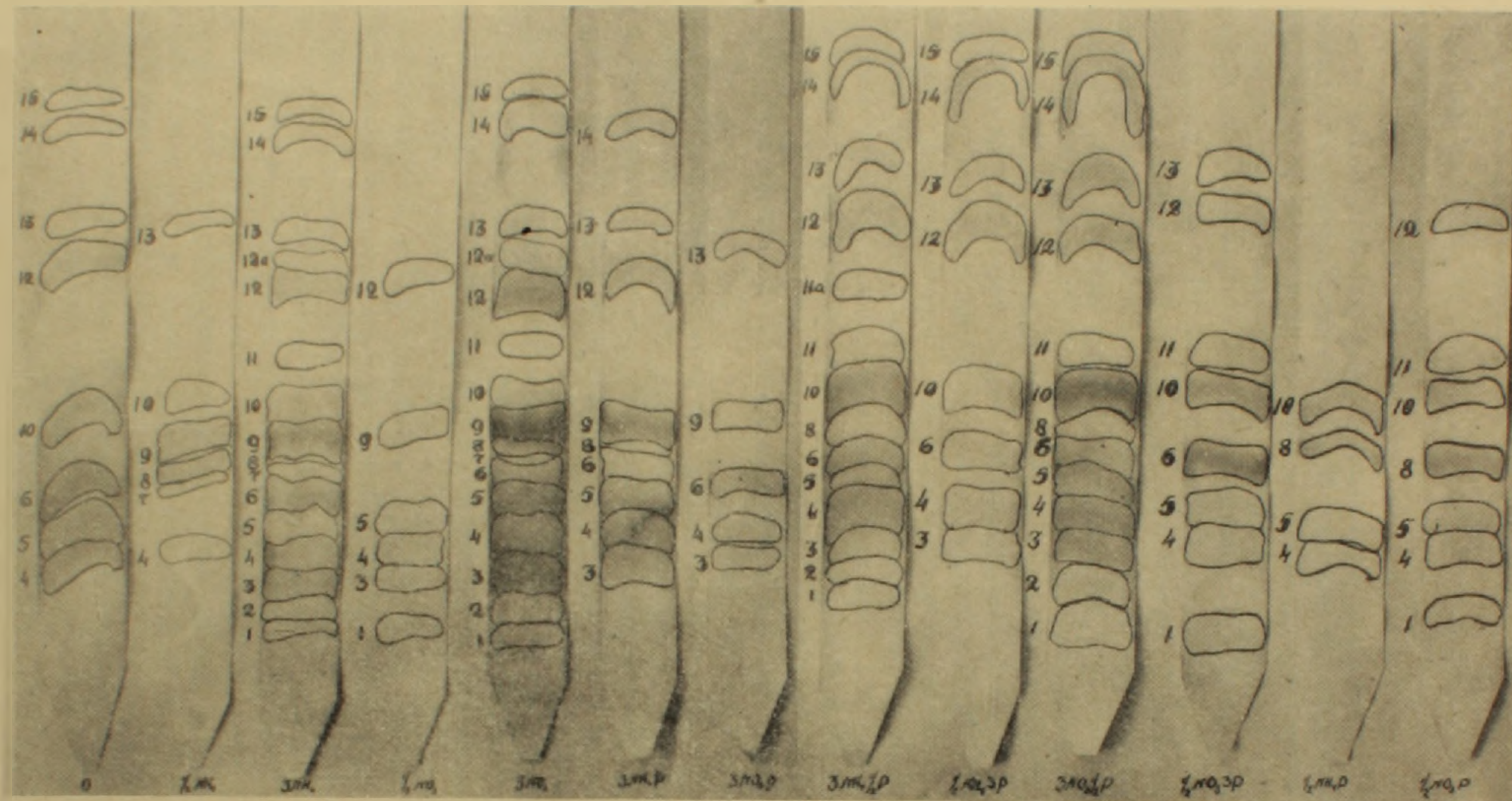


Рис. 1 Хроматограмма свободных аминокислот в корнях: 1) лизин, 2) аргинин, 3) аспарагин, 4) аспарагиновая кислота, 5) серин, 6) глицин, 7) glutаминовая кислота, 8) треонин, 9) α-аланин, 10) пролин, 11) γ-аминомасляная кислота, 12) тирозин, 13) валин, 14) фенилаланин, 15) лейцин.

условиях питания низкими дозами нитратного или аммиачного азота. Так, например, у вариантов, получивших $\frac{1}{2}$ NO_3 , в корнях обнаружались: лизин, гистидин, серин и тирозин, в то время как корни растений, получивших $\frac{1}{2}$ NH_4 , содержали лизин, глютаминовую кислоту, пролин и валин. Только две аминокислоты — аспарагиновая кислота и α -аланин оказались общими для обоих вариантов. Далее, корни растений, получивших $\frac{1}{2}$ NO_3 ЗР и $\frac{1}{2}$ NH_4 ЗР, также проявляли значительную разницу в составе свободных аминокислот. Однако эта разница, вызванная в результате влияния низких доз нитратного или аммиачного питания, почти полностью уравнивается при внесении в почву большой дозы (3 нормы) нитратного или аммиачного азота. В условиях высоких доз одностороннего азотного (особенно нитратного) питания в корнях увеличивалось количество лизина, аргинина и аспарагина. Эти соединения, как известно, довольно богаты амино-группами.

На следующей хроматограмме (рис. 2) приводится состав свободных аминокислот в листьях исследуемых растений. Как видно из хроматограммы, состав свободных аминокислот листьев резко меняется под влиянием фосфорного питания. Так, например, в условиях отсутствия или даже недостатка фосфора в листьях, набор свободных аминокислот значительно больше, по сравнению с теми вариантами, которые получили высокую дозу фосфора. Обращает на себя внимание тот факт, что в отличие от корней, общий набор и количество отдельных аминокислот в листьях значительно больше при даче аммиачного азота, по сравнению с нитратным питанием, вне зависимости от уровня даваемого фосфора.

При внесении в почву высоких доз азота (особенно аммиачного) в листьях увеличивалось количество следующих аминокислот и амидов: лизина, аргинина, аспарагина, глютамина, глютаминовой кислоты и пролина, являющихся хорошими «резервуарами» для избыточных амино-группировок. О значении амидов и основных аминокислот как источника аминных групп указывал ряд авторов.

Состав свободных аминокислот в стеблях этих же вариантов иллюстрирован на рис. 3. Из хроматограммы видно, что стебли табака являются самыми богатыми органами в отношении содержания свободных аминокислот. Этот факт становится понятным, если обратить внимание на то, что стебли являются путями передвижения аминокислот и других веществ от листьев к корням и конусам нарастания. Казалось бы, что стебель, являясь путем передвижения ассимилятов, не должен был влиять на состав аминокислот. Однако, как следует из приведенной хроматограммы, под действием фосфорного питания он довольно заметно изменяется, что указывает на важное значение этого элемента в процессах передвижения и метаболизма аминокислот в стеблях. В условиях отсутствия или недостатка фосфора наблюдалось довольно большое накопление свободных аминокислот в стеблях табака.

С целью лучшего понимания влияния источника азота (комбинированного с фосфором) на интенсивность синтеза и распада сложных азот-органических соединений (содержащих связанные аминокислоты), мы

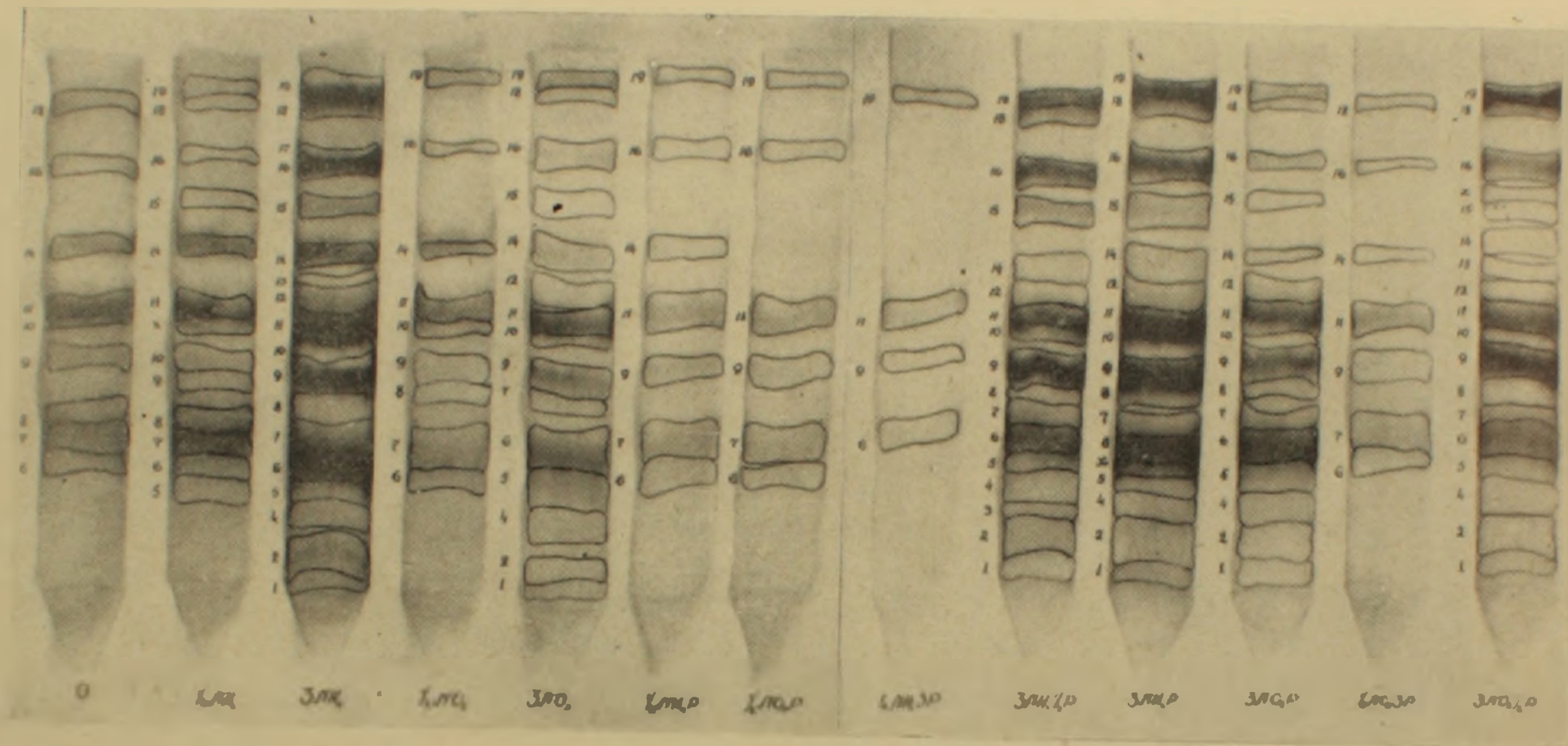


Рис. 2. Хроматограмма свободных аминокислот в листьях; 1) лизин, 2) аргинин, 3) гистидин, 4) аспарагин, 5) аспарагиновая кислота, 6) глютамин, 7) серин, 8) глицин, 9) глютаминовая кислота, 10) треонин, 11) α -аланин, 12) пролин, 13) β -аланин, 14) γ -аминомасляная кислота, 15) тирозин, 16) валин, 17) триптофан, 18) фенилаланин, 19) лейцин.

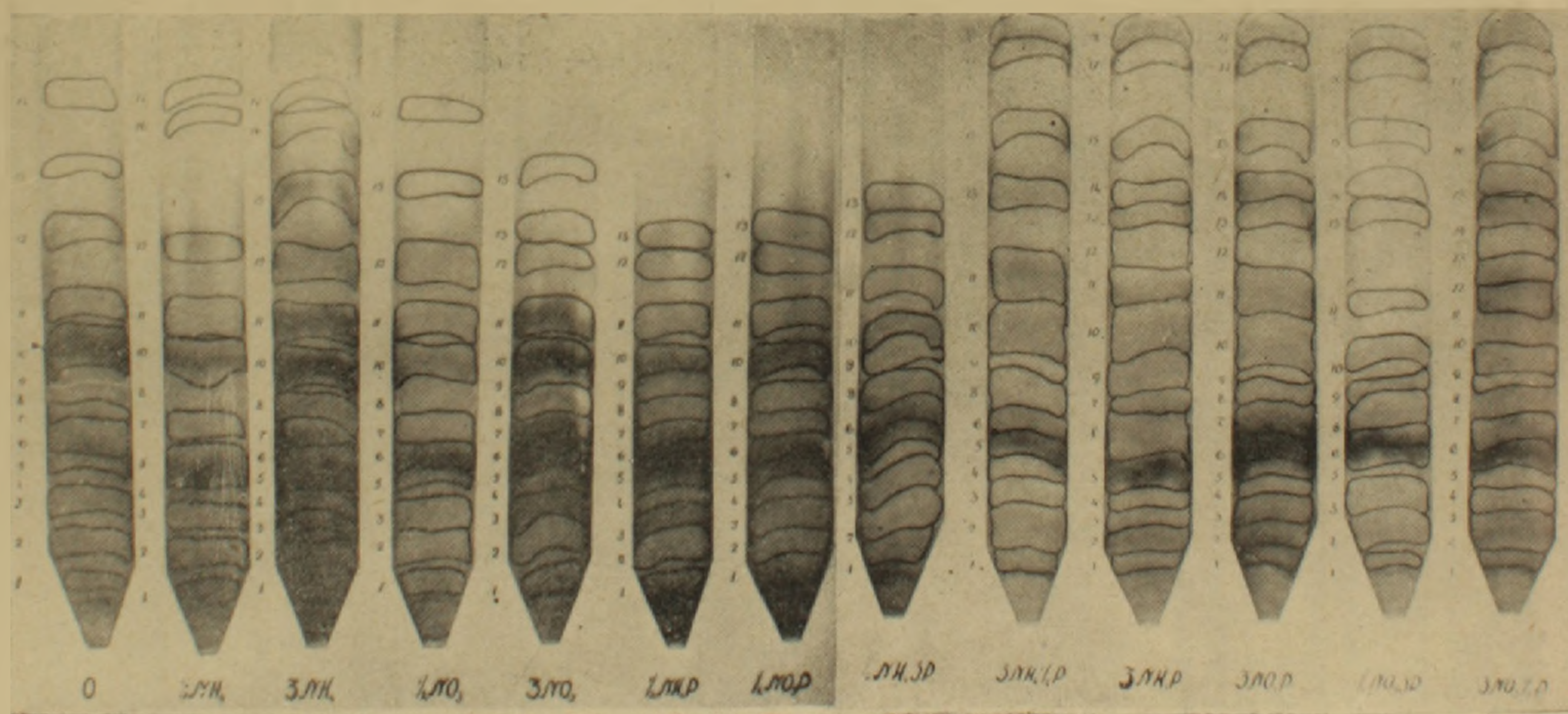


Рис. 3. Хроматограмма свободных аминокислот в стеблях; 1) лизин, 2) аргинин, 3) аспарагин, 4) аспарагиновая кислота, 5) глютамин, 6) серин, 7) глицин, 8) глютаминовая кислота, 9) треонин, 10) α-аланин, 11) пролин и β-аланин, 12) γ-аминомасляная кислота, 13) тирозин, 14) триптофан, 15) валин, 16) фенилаланин, 17) лейцин, 18) транслейцин.

провели специальные анализы у растений вышеуказанных вариантов. При этом нами велись определения общего содержания как свободных, так и связанных аминокислот. Последние освобождались после 24 ч. гидролиза с 6N HCl. Определения велись следующим образом: исследуемый раствор аминокислот приготавлился таким же образом, как при хроматографировании. На 1 мл этого раствора определенной концентрации добавлялся 1 мл 0.5% раствора нингидрина в ацетоне и после взбалтывания держали (3—5 мин.) на кипящей водяной бане до получения устойчивого цвета от нингидрина, затем колориметрическим путем определялось количество аминокислот. Стандартом служила смесь аминокислот, состоящая из 10 распространенных аминокислот в табаке. Данные этих анализов приведены в табл. 2.

Таблица 2

Влияние источника азота и комбинированного с ним фосфорного питания на содержание свободных и связанных аминокислот в разных органах табака (в % аминокислотного N на абс. сухой вес)

Варианты питания	Корень				Лист				Стебель			
	свободных	связанных	связанных	свободных	свободных	связанных	связанных	свободных	свободных	связанных	связанных	свободных
0	0.04	0.30	7.50	0.13	0.52	4.00	0.73	0.70	0.96			
1/2 NH ₄	0.03	0.25	8.33	0.08	0.84	10.50	0.66	0.56	0.85			
3 NH ₄	0.17	0.26	1.53	0.71	0.46	0.65	0.96	0.64	0.67			
1/2 NO ₃	0.05	0.49	9.80	0.07	0.58	8.28	0.62	0.50	0.80			
3 NO ₃	0.24	0.49	2.04	0.40	0.58	0.97	1.09	0.68	0.62			
1/2 NH ₄ P	0.06	0.52	8.66	0.07	0.48	6.85	0.88	0.55	0.63			
3 NH ₄ P	0.07	0.62	8.86	0.12	0.68	5.67	0.60	0.50	0.83			
1/2 NH ₄ 3 P	0.04	0.64	16.00	0.09	0.65	7.22	0.48	0.75	1.57			
3 NH ₄ 1/2 P	0.14	0.48	3.43	0.60	0.74	1.23	0.76	0.52	0.69			
1/2 NO ₃ P	0.09	0.88	9.77	0.95	0.88	0.92	0.54	0.60	1.11			
3 NO ₃ P	0.06	0.74	13.00	0.82	0.96	1.17	0.44	0.47	1.07			
1/2 NO ₃ 3 P	0.03	0.49	16.33	0.09	0.60	6.67	0.56	0.82	1.46			
3 NO ₃ 1/2 P	0.15	0.58	3.87	0.96	0.88	0.92	0.72	0.52	0.72			

Данные таблицы прежде всего показывают, что корни табака по сравнению с надземными органами, отличаются большим содержанием связанных и меньшим содержанием свободных аминокислот, вследствие чего соотношение связанных аминокислот к свободным наивысшее в корнях, независимо от режима питания.

Данное соотношение всегда выше в корнях при нитратном источнике питания, нежели при аммиачном. В условиях сочетания с фосфорным питанием, соотношение становится еще выше, достигая своего максимума (16, 33) в корнях растений, получивших 1/2 NO₃ 3P, в то время как в корнях растений, получивших 3 NH₄, оно равно 1,54.

Далее из данных таблицы видно, что величина этого соотношения в листьях ниже. Но в отличие от корней, в листьях она выше при аммиачном, по сравнению с нитратным питанием, а при одновременном внесе-

нии фосфорного удобрения она вновь увеличивается, как это имело место в листьях.

Наконец выясняется, что самым низким соотношением связанных аминокислот к свободным обладают стебли. По-видимому, это связано с тем, что подавляющее направление действия протеаз в стеблях гидролитическое. В отличие от корней и листьев, в стеблях внесение того или иного источника азота не вызывает определенного эффекта в изменении величины данного соотношения, ибо в ряде случаев более высокое соотношение получилось в условиях нитратного, а в других — в условиях аммиачного источника азота. Роль фосфора в синтезе сложных соединений, содержащих связанные аминокислоты, менее выражена в стеблях, чем в других органах.

На рис. 4 приведена хроматограмма сахаров в корнях тех же растений. Как видно из хроматограммы, основным видом сахара в корнях табака является сахароза. При отсутствии или недостатке фосфора накопление сахаров, и, особенно, сахарозы наибольшее. Накопление сахаров при фосфорном голодании также отмечено рядом авторов. Количество разных сахаров в корнях незначительно больше при нитратном, чем при аммиачном питании. Мальтоза в корнях обнаружена нами только в условиях одностороннего нитратного питания. Что касается фруктозы, то ее присутствие не подвергается никакой закономерности в корнях, так как она обнаружена в корнях следующих вариантов ($0, \frac{1}{2} \text{NH}_4$, $\frac{1}{2} \text{NO}_3$ и $3\text{NO}_3\text{P}$). Сахароза и глюкоза присутствуют в корнях при всех комбинациях удобрений.

На рис. 5 приведена хроматограмма сахаров в листьях растений, получивших дифференцированный нитрат-аммиак-фосфорное удобрение. Отличительной чертой этой хроматограммы является то, что в листьях глюкоза преобладает над всеми видами сахаров. Состав сахаров меняется незначительно под действием разного источника азота. Лишь количество глюкозы сравнительно больше в листьях при нитратном питании. Обращает на себя внимание тот факт, что мальтоза, как продукт гидролиза крахмала, обнаружена в листьях тех вариантов растений, у которых вследствие отсутствия или недостатка фосфора синтез крахмала и других полисахаридов подавлялся. Это обстоятельство особенно хорошо выражено в листьях растений, получивших одностороннюю высокую дозу аммиачного азота. Фруктоза обнаружена в листьях некоторых вариантов, обладающих меньшим количеством фосфора.

Изменение состава сахаров в стеблях этих растений приведено на рис. 6. Из этой хроматограммы видно, что в стеблях табака, как и в его листьях, преобладающим видом сахара является глюкоза. Кроме глюкозы, в стеблях обнаружены сахароза и фруктоза в довольно больших количествах. Состав сахаров, как и состав аминокислот, подвергается незначительному изменению под влиянием питательного режима, примененного нами. Только в стеблях растений, получивших аммиачный азот, обнаружена мальтоза, указывающая на усиление гидролиза крахмала у данных вариантов. Присутствие галактозы у некоторых вариантов едва ли закономерно. В заключение можно сделать следующие выводы:

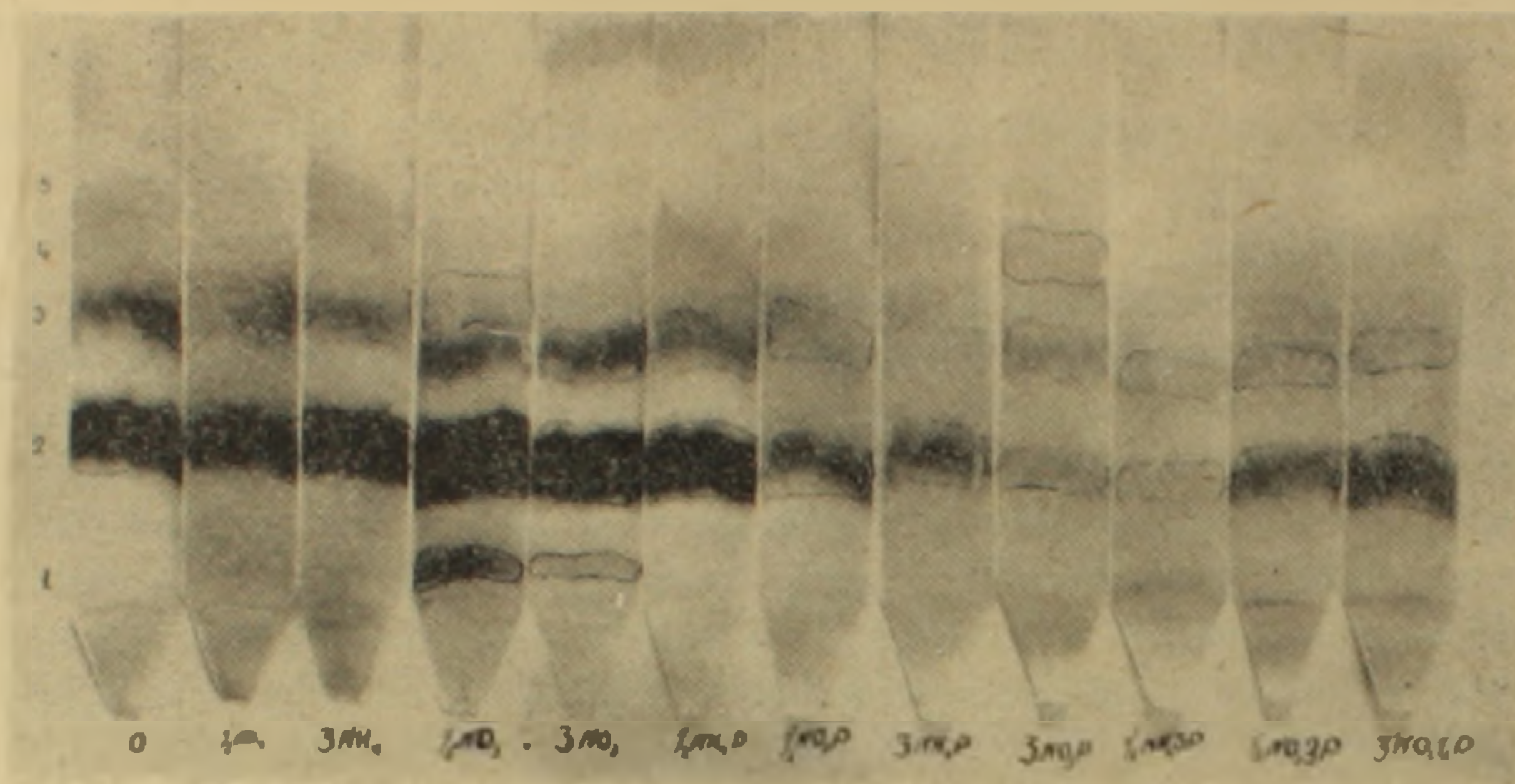


Рис. 4. Хроматограмма свободных сахаров в корнях: 1) мальтоза, 2) сахароза, 3) глюкоза, 4) фруктоза, 5) ксилоза.

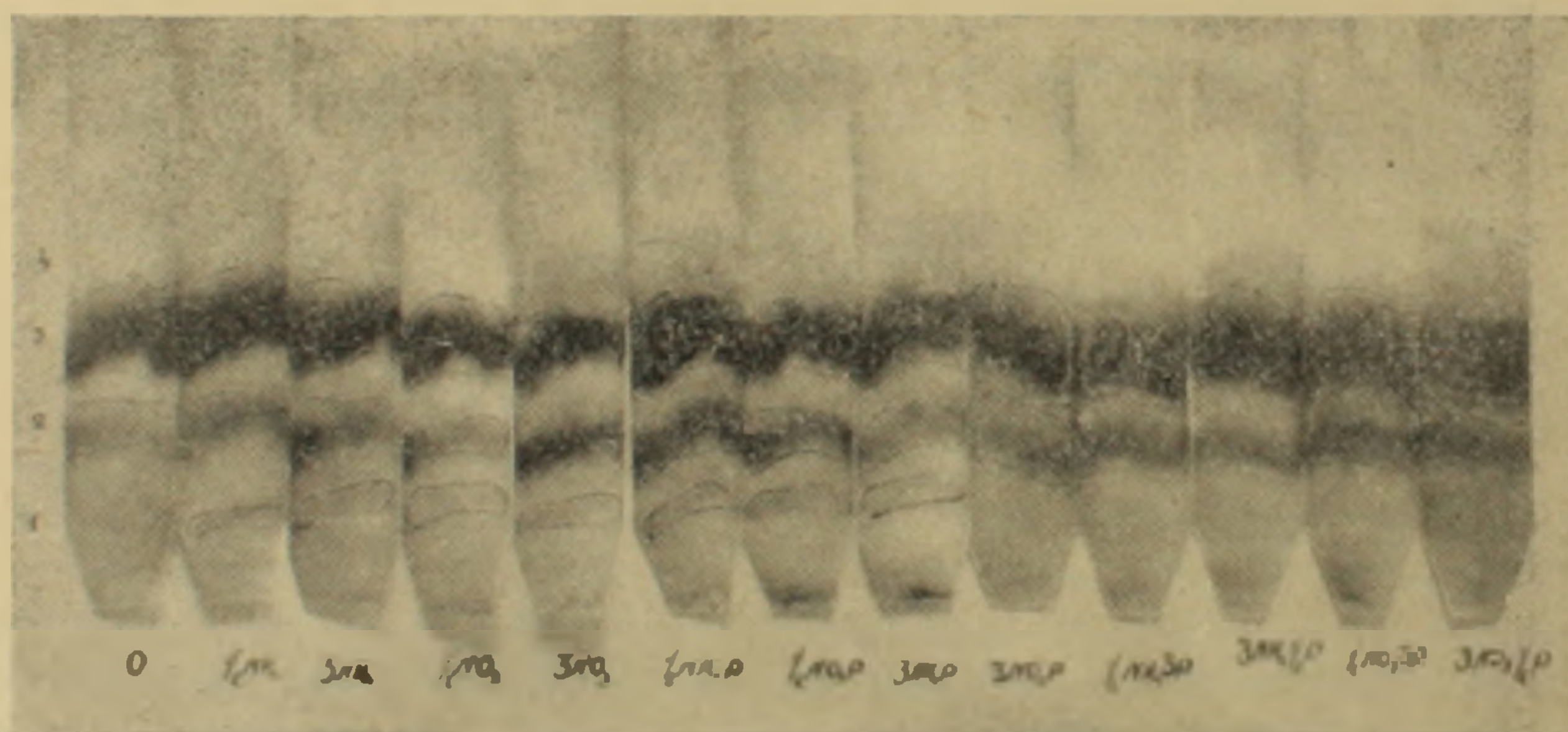


Рис. 5. Хроматограмма свободных сахаров в листьях: 1) мальтоза, 2) сахароза, 3) глюкоза, 4) фруктоза.

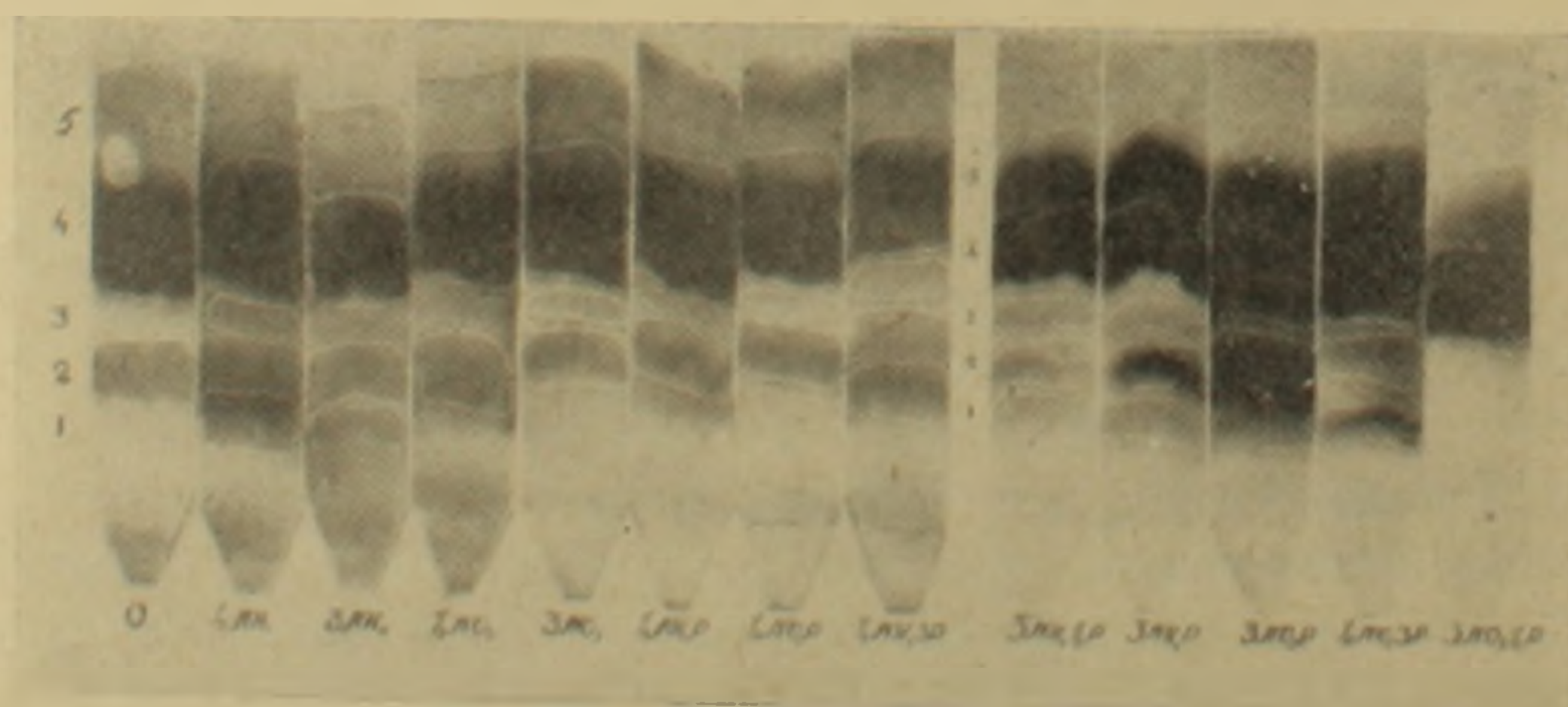


Рис. 6. Хроматограмма свободных сахаров в стеблях: 1) мальтоза, 2) сахароза, 3) галактоза, 4) глюкоза, 5) фруктоза.

1. Корни табака, при всех комбинациях удобрения, отличаются наибольшим соотношением $\frac{\text{связанных}}{\text{свободных}}$ аминокислот, а стебли наименьшим.

2. Увеличение доз азота (особенно аммиачного) понижает, а увеличение доз фосфора (особенно при низких дозах азота) повышает данное соотношение во всех органах табака.

3. Заметная разница в составе свободных аминокислот в корнях проявляется только при низких дозах нитратного и аммиачного азота. Эта разница более четко выражена в листьях и проявляется как при низких, так и высоких дозах. В стеблях же внесение разного источника азота вызывает незначительную разницу в составе свободных аминокислот.

4. При фосфорном голодании (отсутствии или недостатке) наблюдается значительный прирост в числе и количестве свободных аминокислот в разных органах табака.

5. Количество аминокислот в тех или иных органах растений больше при аммиачном, а количество сахаров при нитратном источнике азота.

6. Независимо от режима питания, преобладающим видом сахара в корнях является сахароза, а в надземных органах — глюкоза.

Ботанический институт
АН АрмССР

Поступило 3.VII 1960 г.

Է. Ս. ՀԱՎՈՐՆՋՅԱՆ, Ս. Ա. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ.

ԱԶՈՏԻ ԵՎ ՆՐԱ ՀԵՏ ԿՈՄԲԻՆԱՅՎԱԾ ՖՈՍՓՈՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՄԵԱԿՈՏԻ ԲՈՒՅՈՒ ԱԶԱՏ ԱՄԻՆՈԹԹՈՒՆԵՐԻ ՈՒ ՀԱՔԱՐՆԵՐԻ ԿԱԶՄԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ներկա աշխատության նպատակն է եղել պարզարանել նիտրատային և ամիակային սննդառության տարբեր դոզաների (ինչպես միակողմանի, այնպես էլ ֆոսֆորի հետ կոմբինացված) ազդեցությունը ապատ ամինոթթուների ու շաքարների կազմի փոփոխության վրա, բույսի տարբեր օրգաններում:

Փորձերը կատարվել են ծխախոտի «Սամսոն» 935 սորտի վրա: Բույսերը աճեցվել են 3 լիտրանոց կիրսանովի վեղետացիոն անոթներում լցված հալտնի քաղաղրությամբ աղքատ հողի և ավազի խառնուրդով: Պարարտանյութերի նորմաները վերցված են ըստ Պրյանիշնիկովի լուծույթի: Ամինոթթուների և շաքարների կազմը որոշվել է թղթի քրոմատոգրաֆիայի օգնությամբ:

Ստացված տվյալները հեղինակներին բերել են հետևյալ եզրակացություններին՝

1. Կապված և ազատ ամինոթթուների քանակական հարաբերությունը ուղիղ համեմատական է ֆոսֆորի դոզային և հակադարձ համեմատական՝ ազոտի (հատկապես ամիակ ազոտի) դոզային:

2. Ծխախոտի արմատներում ամինոթթուների կազմի մեջ զգալի տարբերություն է նկատվում միայն նիտրատային կամ ամիակային սննդառու-

թիւն ցածր դոզաների պայմաններում: Այդ տարրերութիւնը ավելի ցալտուն է արտահայտւում տերեւներում՝ ցածր, ինչպէս նաեւ բարձր դոզաներով սրնէլու դեպքում:

Բույսերը ազտաի տարբեր աղբյուրներով սնելու ժամանակ նրանց ցողունների ամինոթթվալին կազմում նկատուի տարրերութիւններ շեն առաջանում:

3. Ֆոսֆորալին քաղցի պայմաններում նկատվում է ամինոթթուների թվի քանակի զգալի ւճ ձիւաիւոտի տարրեր որգաններում:

4. Միւաիւոտի տարրեր որգաններում ամինոթթուների քանսւլն ավելանում է ամիակալին. իսկ շաքարների քանակը նիւրաւտալին սննդաոութլան պայմաններում:

5. Անկաիւ սննդաոութլան ուժիմից, ձիւաիւոտի արմատներում շաքարների դերիշիոդ տեսակը հանդիսանում է սաիւարոդան, իսկ վերերկրլս որգաններում՝ զլլուկոզան: