АКАДЕМИЯ НАУК СССР

ЯКУТСКИЙ ФИЛИАЛ

ДОКЛАДЫ
НА ВОСЬМОЙ НАУЧНОЙ СЕССИИ

БОТАНИКА, ПОЧВОВЕДЕНИЕ,
ЗООЛОГИЯ, ЗООТЕХНИЯ

ЯКУТСК ★ 1958

ССРС НАУКАЛАРЫН АКАДЕМИЯТА

САХА СИРИНЭЭҔИ ФИЛИАЛ

АХСЫС НАУЧНАЙ СЕССИЯҔА ДАКЫЛААТТАР

БОТАНИКА, ПОЧВОВЕДЕНИЕ, ЗООЛОГИЯ, ЗООТЕХНИЯ

САХА СИРИНЭЭҔИ КИНИГЭ ИЗДАТЕЛЬСТВОТА

Якутскай — 1957

АКАДЕМИЯ НАУК СССР

ЯКУТСКИЙ ФИЛИАЛ

ДОКЛАДЫ
НА ВОСЬМОЙ НАУЧНОЙ СЕССИИ

БОТАНИКА, ПОЧВОВЕДЕНИЕ,
ЗООЛОГИЯ, ЗООТЕХНИЯ

ЯКУТСКОЕ КНИЖНОЕ ИЗДАТЕЛЬСТВО
Якутск — 1957

Ответственный редактор
кандидат сельскохозяйственных наук
Я. Л. ГЛЕМБОЦКИЙ

В. П. ДАДЫКИН

НЕКОТОРЫЕ ДАННЫЕ ОБ АЗОТНОМ ОБМЕНЕ У РАСТЕНИЙ

Изучение особенностей поведения растений в природных условиях Крайнего Севера, проведенное на предыдущем этапе работ, позволило отказаться от широко распространенных представлений о физиологической сухости холодных почв, как главной причине плохого роста растений на почвах с низкой температурой. Ряд опытов и лабораторных исследований привели к убеждению, что основной причиной плохого роста растений в условиях холодных почв является затруднение с использованием азота. Низкая температура в зоне корней, повидимому, не столько препятствует поглащению азота из почвы или питательного раствора, сколько нарушает протекание синтетических процессов в корнях. (В. П. Дадыкин, 1952.)

Установление действительной причины угнетенного роста растений на холодных почвах позволило, не ожидая полной расшифровки нарушений в сложных биохимических процессах, протекающих в растениях в целом и в их корнях, предложить агротехнический прием, смягчающий вредное влияние холодной почвы. Речь идет о рекомендации внекорневой подкормки азотом. Проверка этой рекомендации в различных районах нашего Севера показала высокую его эффективность и этот прием находит все более и более широкое применение в практике совхозов и колхозов северных областей Союза. (В. П. Дадыкин, 1955, П. П. Пасечник, 1955.)

Однако многое в проблеме использования растением азота, в азотном обмене—в широком понимании этого термина, продолжает оставаться неясным и сейчас трудно предугадать какие перспективы откроются для практики при полной расшифровке всего сложного цикла процессов превращения веществ, в первую очередь азотистых, в растительном организме.

В настоящем сообщении сделана попытка подойти к расшифровке превращения азотистых веществ в растениях.

Несколько лет назад Д. А. Сабининым (1940, 1949) был высказан взгляд на корень растения не только, как орган поглощения веществ и воды, но и как на орган, в котором происходит процесс синтезирования. Эти представления о корне в последнее время получили новые подтверждения в ряде экспериментальных работ (Курсанов, Туева и Верещагин, 1954. Колосов и Ухина, 1954, Ильин, 1955). В настоящее время такие представления о роли корневой системы стали общепризнанными. В частности, рядом исследований последнего времени показано, что именно в корнях образуются аминокислоты, служащие основным компонентом при образовании белковой молекулы. Исключительная важность белка для всего живого не требует доказательств.

Как известно, при гидролизе белок распадается на смесь аминокислот. Большая часть их представляет собой производное жирных кислот, в которых у α— углеродного атома один атом водорода замещен аминной группой NH_2.

Аминокислоты относятся к группе амфотерных электролитов и играют важную роль в качестве буферных веществ, регулирующих в организме концентрацию водородных ионов.

В настоящее время известно более 40 различных по своему составу аминокислот. Однако только 23 из них обязательны и постоянно присутствуют в белковой молекуле.

Белки различаются между собой по аминокислотному составу. Аминокислотный состав белков может подвергаться значительным колебаниям. Установлено, что эти колебания связаны с внутренними процессами развития организма, а также явлением изменяющихся условий среды.

Содержание аминокислот очень чувствительно к изменениям условий среды, поэтому представляет несомненный интерес проследить за их образованием в корнях растений, воспитывавшихся в условиях низких температур.

Следует напомнить, что аминокислоты, как и белки, в живых растительных организмах являются чрезвычайно лабильными соединениями. Это обстоятельство сильно затрудняет ведение исследований в этой области.

Только после разработки метода распределительной хроматографии на бумаге стало доступно в условиях эксперимента быстро, надежно, достаточно точно и, что также очень важно, довольствуясь весьма малым количеством материала, следить за составом аминокислот в растениях.

Метод хроматографического анализа на бумаге, как известно, основан на принципе, избирательности растворения,

или различий веществ по их коэффициенту распределения между двумя жидкостями.

Исследуемое вещество наносится в виде капли на лист фильтровальной бумаги, один конец которой помещается в лоток с растворителем. Бумага с каплей испытуемого раствора и лоток с растворителем помещены в герметически закрытой стеклянной камере, насыщенной парами воды и растворителя.

Применяемый нами растворитель, состоящий из смеси бутилового спирта, воды и ледяной уксусной кислоты, движется по фильтровальной бумаге и вымывает своим движением аминокислоты, находящиеся в нанесенной капле анализируемого раствора. Аминокислоты движутся с фронтом растворителя по бумаге, причем каждой аминокислоте свойственна своя скорость движения, или, как говорят, свой коэффициент распределения (Rf), в силу чего, местоположение каждой аминокислоты на бумаге всегда вполне закономерно. После прохождения фронта растворителя до конца полосы бумаги, последняя извлекается из камеры, сушится и проявляется раствором нингидрина или изатина. После проявления на бумаге появляются пятна аминокислот, имеющие различную окраску.

Первые рекогносцировочные исследования аминокислотного состава в растениях были выполнены в 1954 году совместно с В. Д. Шалицкой и Л. Ф. Матэрных на двух объектах: кукурузе и капусте кочанной. Тридцатипятидневные растения капусты и пятидесятидневные кукурузы в середине июня были посажены в стеклянные вегетационные сосуды и помещены на месяц в охлаждающие ванны термовегетационной установки. Устройство первой термовегетационной установки описаны мною в 1952 г., а на Чучур-Муранской станции Якутского филиала АН СССР Торговкиной в 1 выпуске трудов института биологии (1955). Температура почвы во время опыта у исследуемых растений поддерживалась в 6—8°, у контроля 22—28° С. Надземные части обоих вариантов были в одинаковых температурных условиях порядка 25—32°. Через месяц растения были срезаны и была собрана пасока, вытекающая из пеньков. В пасоке было хроматографически определено содержание аминокислот.

Оказалось, что в пасоке кукурузы обнаруживается до 13 различных аминокислот. Причем у «холодных» растений обычно обнаруживалось на 1—2 аминокислоты больше, чем у контроля. Интенсивность окраски пятен контрольных растений была в 3—4 раза больше.

В пасоке капусты оказалось 10 аминокислот. При этом у «холодных» растений капусты обнаружено на три аминокислоты меньше, чем у контроля.

По-видимому, различная реакция этих растений на низкую температуру в почве может быть объяснена их генотипическими различиями. Этот опыт еще раз отчетливо показал важную роль температуры почвы в жизни растений, именно—влияние этого фактора на наличие азотистых соединений, транспортируемых из подземной части растения к листьям.

Однако анализ содержимого пасоки не может дать достаточно отчетливой картины образования аминокислот в рабочем органе растения—в его корне. В пасоке обнаруживается то, что выталкивается из корней после завершения всех процессов, происходящих в корнях.

Следующая серия выполненных опытов преследовала цель проследить за образованием аминокислот в корнях пшеницы, выращивавшейся при изолированном питании.

Растения яровой пшеницы выращивались методом «изолированных температур» в последней усовершенствованной модификации с использованием трехлитровых квадратных стеклянных сосудов, монтировавшихся рядом, как показано на схеме (рис. 1). Один из сосудов был помещен в охлаждающую ванну, другой был вне её. Это дало возможность отдельные питательные вещества давать при различной температуре. Температура во время опыта в охлажденном сосуде была около 6,5°, в неохлажденном 15° С.

Схема опыта предусматривала снабжение растений из охлажденного раствора азотом, фосфором и калием. Одновременно остальные компаненты питательной смеси предоставлялись растениям из неохлаждавшегося сосуда.

Растения были убраны в стадии молочной спелости. Из всех вариантов опыта были взяты равными порциями корни и в них хроматографически определено содержание свободных аминокислот. Аминокислоты экстрагировались из материала кипящим этиловым спиртом.

В корнях пшеницы было обнаружено до 8—9 различных аминокислот.

Во всех вариантах опыта в той половине корней, которая охлаждалась, найдено гораздо меньше аминокислот как по количеству, так и по содержанию каждой из них, чем в неохлаждавшейся половине корней. При поступлении из охлажденного раствора калия аминокислоты в охлажденных корнях в условиях этого опыта вовсе не были обнаружены (рис. 2).

В пряди корней, получавшей из охлажденного раствора азот (первый вариант) найдено всего 3 аминокислоты: аспа-

рагин, аланин и пролин. В другой половине корней тех же растений обнаружено 5 аминокислот. Во втором варианте, где охлаждавшаяся половина корней получала фосфор, обнаружены те же аминокислоты и такое же их количество как и в первом случае (азот на холоду). Следовательно, низкая температура питательного раствора нарушила синтетическую деятельность в корнях и вызвала резкое уменьшение состава и количества аминокислот в них.

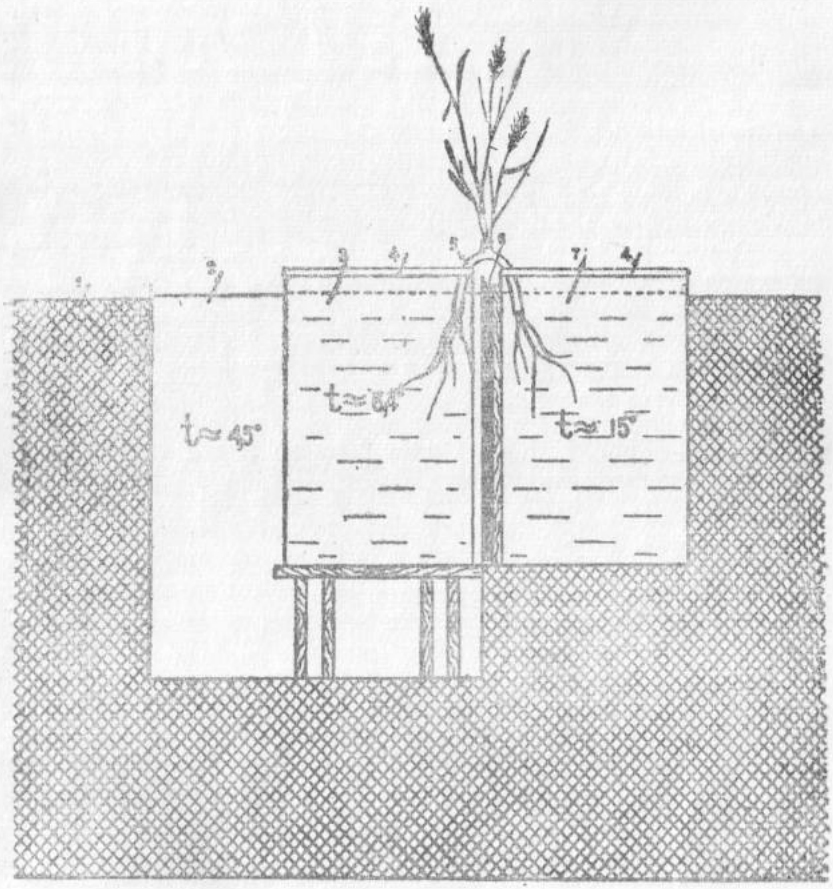

Рис. 1. Схема монтировки сосудов при работе методом „изолированных температур".

1—тепловая изоляция; 2—охлаждающий раствор в ванне; 3—питательный раствор в охлаждаемом сосуде; 4 — крышка сосуда; 5 — стеклянная трубка; 6 — войлочная прокладка для тепловой изоляции; 7—неохлажденный питательный раствор без охлаждения.

В третьем варианте, где охлаждавшиеся пряди корней получали калий и не получали непосредственно азот и фосфор, аминокислоты совсем не обнаружены.

Чрезвычайно интересно обнаружение значительного количества различных аминокислот в неохлаждавшейся половине корней первого варианта (получавших из питательного раствора фосфор и калий, но не получавших азота). Для образования аминокислот эта часть корней должна была получать азот или в порядке переноса его из второй половины корней, или в порядке оттока из надземных частей. Последнее могло происходить, как указывает А. Л. Курсанов, при вторичном использовании аммиака, освобождающегося в растении при перестройке белковых веществ и поступающего в корни.

При исключении из питательного раствора калия аминокислотный состав в неохлажденной половине корней не уменьшается, а, напротив, становится особенно разнообразным.

Таким образом, низкая температура в зоне корней подавляет синтез аминокислот в них, что, по-видимому, является одной из основных причин затрудненного роста растений на холодной почве.

Отсутствие аминокислот в пряди корней, получавшей из охлажденного раствора калий, позволяет предположить о более быстром образовании белка из того небольшого количества аминокислот, которое образуется при пониженной температуре. Из работ Д. Н. Прянишникова и его школы известно, что калий активизирует синтез белков в растительном организме.

Для более определенных суждений об угнетении синтетических процессов под влиянием низкой температуры в зоне корней необходимо было выяснить, как идет образование аминокислот в различных частях растений при изолированном питании в условиях нормальной и одинаковой температуры для обеих половин корневой системы. Поскольку подобного рода данных в литературе не удалось найти, было проведено три серии опытов с молодыми растениями пшеницы и ржи, выращивавшимися методом изолированного питания. Эти опыты проведены в зимнее время при искусственном освещении люминесцентными лампами. В этих опытах принимали участие Г. С. Горбунова и З. С. Игумнова.

Схемой предусматривалась изоляция и отдельное снабжение опытных растений всеми питательными веществами: азотом, фосфором и калием; кроме того, был вариант с погружением половины корней в раствор с полной питательной смесью и половины в дестиллированную воду.

К началу выхода в трубку (при 5 листьях) опыты прекра-

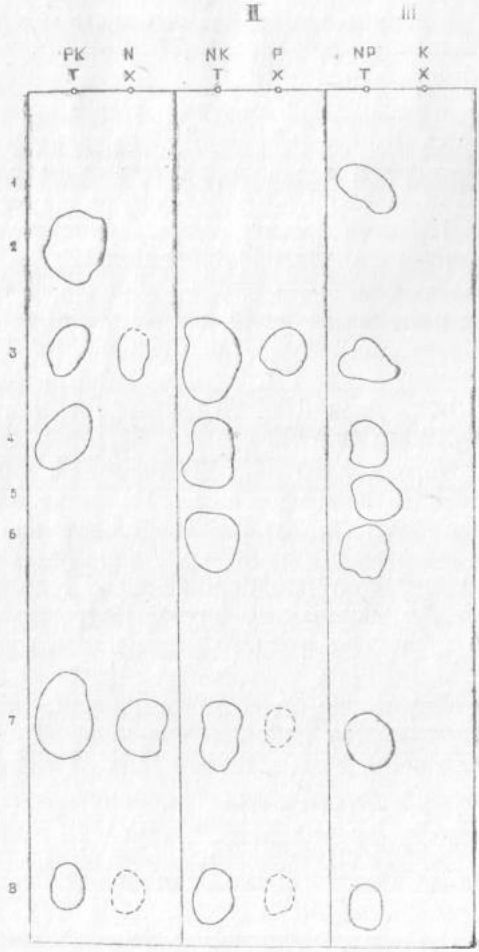

Рис. 2. Схема хроматограммы содержания аминокислот в корнях пшеницы, выращенной методом „изолированных температур".

Условные обозначения:

I. PK—из неохлажденного раствора, N — из охлажденного раствора;

II. NK — из теплого раствора, P — из охлажденного раствора.

III. NP — из теплого раствора, K — из охлажденного раствора.

1 — гистидин; *2* — аргинин; *3* — аспарагин; *4* — серин *5* -глицин; 6—глютаминовая к-та; *7*—аланин; *8*—пролин.

щались. В каждой половине корней и в листьях хроматографически определялось содержание свободных аминокислот, экстрагируемых кипящим этанолом.

Результаты выполненных анализов у пшеницы представлены на схеме (рис. 3).

Наибольшее обилие и разнообразие аминокислот в корнях обнаружено в той ее части, которая получала один азот (в варианте N и PK). Здесь проявилось 13 аминокислот, из которых одна осталась не индентифицированной.

Как упоминалось ранее, в опыте по аналогичной схеме, но с охлаждением половины корней в этом же варианте (азот из охлажденного раствора) было обнаружено лишь три аминокислоты: аспарагин, аланин и пролин. Из этого сравнения отчётливо видна роль низкой температуры среды в затормаживании синтеза аминокислот.

Вторая половина корней этих же растений, получавшая из питательного раствора фосфор и калий, содержала 9 аминокислот.Поскольку для образования любой аминокислоты необходим азот, а азота из питательного раствора эта часть корней не получала, естественно предположение об использовании для этих целей азота, поглощаемого другой половиной корней этих же растений и транспортируемого через надземную часть растений.

В этом отношении еще более яркая картина обнаруживается при сравнении между собой аминокислотного состава в обеих половинах корней из варианта NPK, PK и H_2O.

Состав аминокислот в обеих половинах корней растения этого варианта оказался тождественным как по числу, так и по количеству каждой аминокислоты. Это позволяет высказать предположение о транспортировке составных частей, необходимых для образования аминокислот, в ту прядь корней, которая находилась в дестиллированной воде. Возможность быстрого (в течение нескольких минут) переноса фосфора во все части растений показана в недавних экспериментальных работах с использованием радиоактивных изотопов И. И. Колосовым и Ухиной (1954) и в работе А. В. Петербургского и Н. К. Сидоровой (1956).

Последними авторами высказано положение о наличии интенсивных процессов обмена веществ между отдельными стеблями одного растения картофеля через материнский клубень. Очевидно, можно говорить о быстрой транспортировке веществ, происходящей между отдельными частями корней одного растения.

Наличие обменных процессов внутри растения и транспор-

тировка азота из одной половины корней в другую устанавливается и в других вариантах опыта.

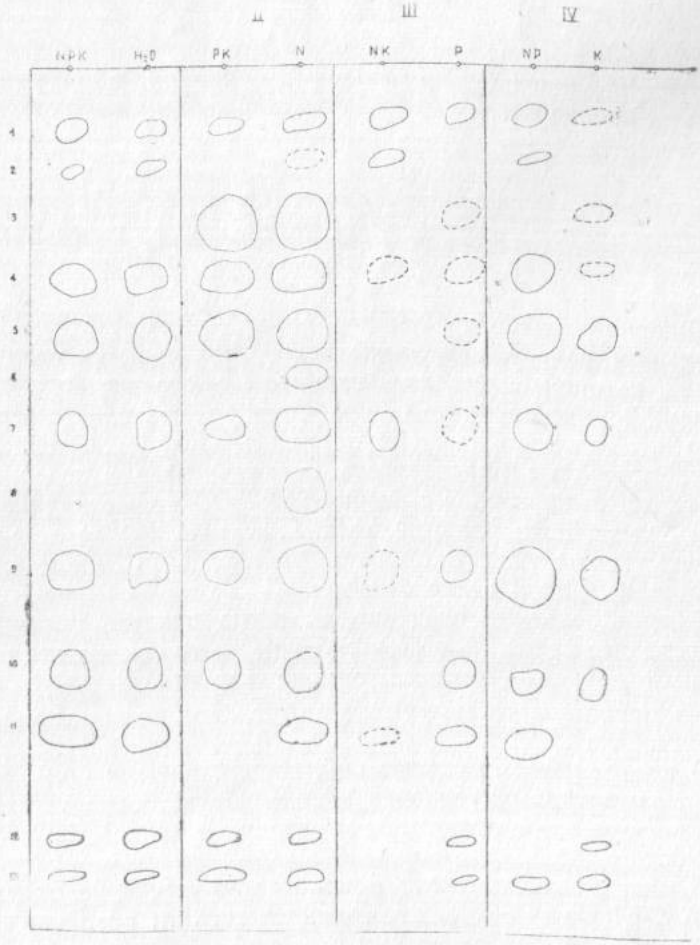

Рис. 3. Схема хроматограммы содержания аминокислот в корнях пшеницы, выращенной по методу „изолированного питания".

Условные обозначения:

I; *II*; *III*; *IV* — варианты опыта, предусматривающие дачу элементов питания каждой половине корней пшеницы в сочетании: NPK и H_2O; PK и N; NK и P; NP и K;

1 — гистидин; *2* — аргинин; *3* — аспарагин; *4* — аспарагиновая к-та; *5*—серин; *6* — глицин; *7* — глютаминовая к-та; *8* — треонин; *9* — аланин; *10* — пролин; *11* — х-ам. к-та; *12* — валин; *13* — метеонин.

Самое малое количество аминокислот было обнаружено в части корней, получавшей из питательного раствора азот и калий (в варианте NK и P). Здесь зафиксировано всего 6 аминокислот. Слабая интенсивность окраски пятен на хроматограммах в этом варианте по сравнению с другими вариантами говорит о значительно меньшем содержании обнаруженных здесь аминокислот.

Ответственность за это уменьшение числа и количества аминокислот мы возлагаем на специфическую роль калия как стимулятора образования белков. Очевидно, образующиеся свободные аминокислоты в присутствии достаточного количества калия быстрее связываются в белковую молекулу в процессах роста.

Такие же слабоокрашенные пятна, свидетельствующие о небольшом содержании аминокислот, получены в той части корней, которая снабжалась из питательного раствора одним калием. В этом варианте общее число аминокислот составило 9, но интенсивность окраски пятен была слабая. Эти данные также позволяют предполагать наличие связи в содержании свободных аминокислот с физиологической ролью калия. Очевидно, выяснению роли калия в синтетической деятельности корневых систем растений надо будет уделить особое внимание в дальнейших исследованиях.

Таковы основные экспериментальные данные, полученные за последнее время по весьма важному и трудному для исследований вопросу—азотного обмена растений.

Из приведенного материала могут быть сделаны следующие выводы:

В пасоке различных растений, воспитываемых при различных температурных условиях в зоне корней, обнаруживается различное число аминокислот и различное количество каждой из них.

В одних случаях число и количество аминокислот уменьшается, в других случаях увеличивается. Эти различия связаны с видовыми особенностями растений.

Как общее правило, низкая температура в зоне корней подавляет в них синтез аминокислот, что, по-видимому, является одной из основных причин затрудненного роста растений на холодной почве.

Установлена способность корней растений образовывать разнообразные аминокислоты в тех частях корня, которые получали из питательного раствора фосфор и калий или получали только воду, но не получали азота. Последнее свидетельствует о возможности достаточно быстрого переноса ве-

ществ из одной половины корней в другую через надземные органы растений.

Констатировано уменьшение числа аминокислот и количества каждой аминокислоты в тех частях корней, которые получали из питательного раствора калий с азотом или один калий, что нами связывается с активной ролью калия как стимулятора образования белка.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. П. Дадыкин. Особенности поведения растений на холодных почвах. Изд. АН СССР, 1952.

2. В. П. Дадыкин. О применении внекорневой подкормки в районах Крайнего Севера. Сборник „Внекорневая подкормка сельскохозяйственных растений". Сельхозгиз, 1955.

3. П. П. Пасечник. Опыт получения 500 ц кормовых корнеплодов с гектара в Магаданской области. Труды Института биологии Якутского филиала АН СССР, вып. 1, 1955.

4. Д. А. Сабинин. О значении корневой системы в жизнедеятельности растений. IX Тимирязевское чтение. Изд. АН СССР, 1949.

5. Д. А. Сабинин. Минеральное питание растений. Изд. АН СССР, 1940.

6. А. Л. Курсанов, О. Ф. Туева и А. Г. Верещагин. Углеводно-фосфорный обмен и синтез аминокислот в корнях тыквы. Физиология растений, т. 1, вып. 1, 1954.

7. И. И. Колосов и Е. Ф. Ухина. О роли корневой системы в усвоении минеральных веществ растениями. Физиология растений, т. 1, вып. 1, 1954.

8. Г. С. Ильин. Роль корня табака в синтезе никотина. Физиология растений, т. II, вып. VI, 1955.

9. В. П. Дадыкин, В. Д. Шалицкая и Л. Ф. Матэрных. О влиянии температуры почвы на содержание аминного азота в растениях. ДАН, т. 101, № 2, 1955

10. Е. Е. Торговкина. Термовегетационная установка. Труды. Института биологии Якутского филиала АН СССР, вып. 1, 1955.

11. А. В. Петербургский и Н. К. Сидорова. ДАН, т. 105, вып. 5, 1955.