

Д. М. МИХЛИН, П. С. БЕЛИКОВ, З. С. БРОНОВИЦКАЯ и К. В. ПШЕНОВА

**О ВЛИЯНИИ НИТРАТНОГО И АММОНИЙНОГО ПИТАНИЯ
НА СОДЕРЖАНИЕ КАУЧУКА И НА АКТИВНОСТЬ
ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ У КОК-САГЫЗА**

(Представлено академиком А. И. Опариным 3 II 1951)

Работами Д. Н. Прянишникова (1), его учеников и сотрудников было доказано влияние азотистого питания на развитие различных растений, а также на азотистый обмен в растениях. В этих исследованиях были изучены также разнообразные факторы, физического и химического характера, обуславливающие в одних случаях преимущество нитратного питания, в других — аммонийного. К этим факторам относятся: количество вводимого азота, реакция почвы, катионы, возраст растения и т. д.

Но в живом организме пути обмена переплетаются между собой. Поэтому можно было ожидать, что влияние нитрата или аммония будет сказываться также и на углеводном обмене. И действительно, в лабораторных опытах, в зависимости от многих условий, кормление растения нитратным или аммонийным соединением сказывается на количестве и характере углеводных соединений.

В опытах с песчаными культурами А. В. Владимиров (2) нашел, что содержание органических кислот в листьях махорки, питавшихся в продолжение 10 дней нитратами, значительно превышает содержание этих соединений в растениях, питавшихся аммонийным азотом. Такое влияние нитрата объясняется Владимировым не скоростью ассимиляции азота или других элементов, но окислительным действием за счет кислорода нитрата. Кислоты рассматриваются как окисленные соединения.

Исходя из этих соображений, можно было ожидать, что на образование каучука, этого сильно восстановленного соединения, нитрат будет оказывать отрицательное влияние по сравнению с аммонием. И действительно, Владимиров получил в корнях кок-сагыза, питавшихся в течение 10 дней нитратным азотом, на 18% меньше каучука, чем в аммонийных растениях.

Нам казалось, что такой эффект нитрата едва ли может объясняться только его окислительным действием. До настоящего времени отсутствуют какие бы то ни было количественные данные об удельном весе нитратного кислорода в общем окислительном балансе растений, в частности, в дыхании кок-сагыза. Но работами Д. М. Михлина и З. С. Броновицкой (3), а также Д. М. Михлина и К. В. Пшеновой (8) доказано присутствие в латексе кок-сагыза весьма активной полифенолоксидазы. В корнях кок-сагыза функционирует также и другой окислительный фермент — пероксидаза. Прямыми опытами нами было установлено, что в растертых тканях кок-сагыза окисление нитратом даже такого обычного акцептора нитратного кислорода, как уксусный альдегид, идет очень вяло. Об интенсивности окисления альдегида можно судить по восстановлению нитрата.

Восстановление нитрата производилось уксусным альдегидом в присутствии растертых листьев и корней кок-сагыза, а также свежего

латекса. Длительность экспозиции 30 мин. при 55°; рН 6,8. Определение нитрита по Гриссу. При этом получены следующие результаты (γ NO₂ на 1 г сыр. массы):

Латекс	0
Листья кок-сагыза	0,6; 1,4; 1,5; 1,2
Корни	0,3; 0,2; 0,3

Для сравнения были взяты 7-дневные проростки пшеницы. С ними получено было 2,0—2,2 γ нитрита на 1 г сырой массы растения. Для клубня картофеля получено 160 γ . В отдельном опыте было установлено, что нитрит растертыми тканями кок-сагыза не разрушается.

Таким образом, оказалось, что окислительный эффект нитрата по отношению к альдегиду у кок-сагыза очень незначителен. Между тем, альдегиды относятся к наиболее вероятным естественным акцепторам

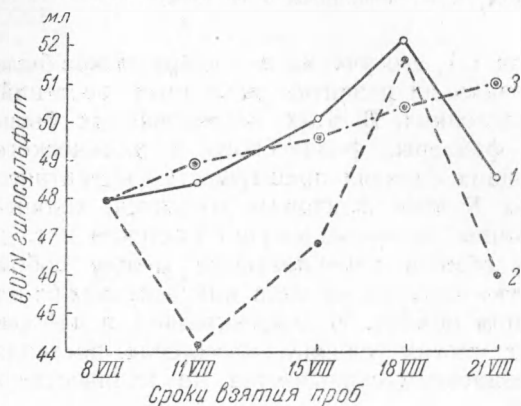


Рис. 1. Активность каталазы на 1 г абс. сух. веса. 1 — вода, 2 — нитрат, 3 — аммиак

нитратного кислорода. В естественных условиях, где концентрация нитрата в растениях значительно меньше, чем в опытных, удельный вес нитратного окисления окажется еще менее значительным. Но даже в песчаных культурах А. С. Оканенко и Б. И. Бернштейн ((⁴), табл. 2, стр. 318) нашли выход каучука у кок-сагыза, выросшего на аммиаке, лишь на 3% выше, чем при нитратном питании. Известно, что при несовершенстве методов определения каучука эта разница в 3%

находится в пределах ошибок самого метода.

С точки зрения биохимической вопрос о механизме действия нитратов или аммония на обмен в растении не может быть отделен от вопроса о влиянии, которое нитрат *in vitro* оказывает на некоторые ферменты, а именно: на каталазу и пероксидазу. Влияние нитрата на активность каталазы, открытое Михаэлисом и Пехштейном (⁵), было детально изучено А. А. Культюгиным и Н. С. Кошаченко (⁶).

Д. М. Михлин и З. С. Бронувицкая показали (⁷), что и пероксидаза чувствительна к тормозящему действию нитратов, хотя не в такой мере, как каталаза. Оставалось выяснить, обнаруживается ли влияние нитратов на активность названных ферментов в живом растении в полевых условиях. Роль каталазы и пероксидазы в обмене веществ и в развитии растений известна.

Ввиду теоретического и практического значения вопроса о влиянии нитратов на каучук и окислительные ферменты в живом организме нами, совместно с Институтом каучуконосов Министерства сельского хозяйства СССР, были предприняты 2 серии опытов: в июне и в конце августа 1950 г. Одновременно изучалось также влияние формы азотного питания на урожайность, на развитие корней и млечной системы.

В опытном поле на ст. Михнево, принадлежащем Институту каучуконосов, были выбраны 3 участка с очень близкими или даже одинаковыми почвенными условиями, засеянные весной кок-сагызом. Через каждые 48 час. на протяжении 12—13 дней эти участки поливались, соответственно, растворами азотистого натрия, сернокислого аммония или чистой водой. Вносилось с растворами 20 кг действующего начала на га.

Такой способ питания должен был обеспечить, по литературным данным, постоянное нахождение некоторого количества нитрата в почве. Как будет показано ниже, угнетение активности каталазы служит доказательством постоянного, на протяжении всего опыта, действия нитрата. Метеорологические условия во время опытов были непостоянны. Дожди чередовались с сухой погодой, но пробы брались всегда на другой день после полива и только в сухую погоду.

Ферменты определялись через каждые 2—3 дня описанными уже в (?) методах. Каучук определялся экстракционным методом лишь в конце опыта.

Как видно из табл. 1, в июньском опыте на участке с нитратным питанием выход каучука был на 16% ниже,

чем в контрольном, в который не вносилось никакого азота, и на 27% ниже, чем на участке аммонийном. На количество смол форма азота почти не влияла. Что же касается окислительных ферментов, то на протяжении 12 дней июньского опыта нельзя было обнаружить никаких закономерных изменений их активности в зависимости от формы азота.

Так как июньский опыт был проведен в период, когда происходит усиленное формирование растения и когда специфическая функция накопления каучука очень слабо выражена, то казалось целесообразным повторить опыт в конце августа, по окончании цветения, когда функция накопления каучука у кок-сагыза ярко выражена. Были соблюдены те же, уже описанные,

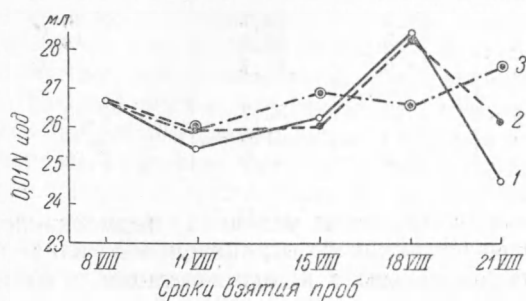


Рис. 2. Активность пероксидазы на 1 г абс. сух. веса. 1 — вода, 2 — нитрат, 3 — аммиак

ные, агротехнические условия, что и в июньском опыте. Данные табл. 1 показывают, что в этом опыте не было значительного влияния нитрата на выход каучука. Правда, на участке с нитратом содержание каучука было на 7% выше, чем на аммонийном. Но эта разница незначительно превышает пределы ошибок, присущие методу определения каучука. В то же время оказалось, что на всем почти протяжении опыта активность каталазы у кок-сагыза нитратного участка была ниже, чем на участке аммонийном. Это служит доказательством, что нитрат в какой-то, правда, незначительной мере накапливался в кок-сагызе. Отсутствие существенной разницы в содержании каучука, следовательно, нельзя объяснить быстрым взаимным переходом одной формы азотистого соединения в другую в почве или в растении. Но этого количества нитрата в организме растения, по видимому, было недостаточно, чтобы вызвать заметное торможение действия менее чувствительной пероксидазы.

Влияние нитрата на активность полифенолоксидазы невозможно выявить путем ее определения в общей массе корня, так как она локализована, главным образом, в млечном соке. Определение ее активности в латексе в зависимости от формы азотистого питания было неосуществимо по техническим условиям. Это служит предметом дальнейшего изучения.

Таблица 1
Содержание каучука и смол в % на сух. вес

Вариант	Июньские опыты		Августовские опыты	
	каучук	смола	каучук	смола
Контроль . . .	0,8	3,26	4,73	1,41
Нитрат	0,67	3,55	5,19	1,50
Аммиак	0,92	3,51	4,86	1,75

Нами изучались также некоторые другие показатели, кроме содержания каучука и активности окислительных ферментов, у кок-сагыза в зависимости от нитратного и аммонийного питания. Для этого часть растений оставалась в почве значительное время после окончания полива, и в момент уборки определялись: урожайность, процентное содержание каучука в латексе, а также степень развития млечной сети в корнях.

Разумеется, эти данные могут служить для суждения лишь о последующем влиянии нитрата или аммония, так как условия азотного питания задолго до момента учета полностью выравнялись. Эти определения у корней июньского опыта производились 14 ноября, августовского — в середине сентября, т. е. спустя значительное время после внесения азотистого питания. Результаты этих определений (табл. 2) показывают, что внесение азотистого удобрения как в начале вегетации, так и в конце, когда идет интенсивное накопление каучука, значительно повышает урожайность. В обоих этих случаях влияние нитрата на урожай даже несколько сильнее влияния аммония. Внесение азотистого питания мало сказывается на процентном содержании каучука в латексе. Что касается развития млечной системы, то нитрат здесь оказывает заметное тормозящее действие.

Т а б л и ц а 2

Срок внесения азота	В а р и а н т	Урожай, ц/га	% каучука в латексе	Объем млечн. сист. Объем корня в %
Июнь	Контроль	11,3	43,7	3,36
	Нитратный азот	20,3	40,4	3,14
	Аммонийный »	18,6	41,7	3,55
Август	Контроль	16,3	32,7	3,47
	Нитратный азот	29,5	31,6	2,94
	Аммонийный »	26,9	31,9	3,19

Из изложенного следует, что в полевых условиях подмосковной почвы (Михнево) нитрат не оказывает никакого отрицательного влияния на содержание каучука в корнях кок-сагыза к концу вегетации, в отличие от его действия в песчаных культурах и в начале вегетации в полевых условиях. Удельный вес вводимого в почву нитрата в общем окислительном балансе кок-сагыза, повидимому, очень незначителен. Благоприятное действие нитрата на урожай даже несколько сильнее аммонийного.

Что касается влияния нитратов на окислительные ферменты, то торможение нитратом действия каталазы и, возможно, также пероксидазы имеет биологическое значение.

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР

Поступило
29 I 1951

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Д. Н. Прянишников, Азот в жизни растений и в земледелии СССР, М.—Л., изд. АН СССР, 1945. ² А. В. Владимиров, Изв. АН СССР, сер. биол., № 3 (1945). ³ Д. М. Михлин и З. С. Броницкая, ДАН, 70, 1089 (1950). ⁴ А. С. Оканенко и Б. И. Бернштейн, Доповіді АН Українск. РСР, № 4 (1950). ⁵ L. Michaelis u. H. Pechstein, Biochem. Zs., 53, 320 (1913). ⁶ А. А. Культигин и Н. С. Конашенков, Биохимия, 4, 133 (1939). ⁷ Д. М. Михлин и З. С. Броницкая, ДАН, 65, № 3 (1949). ⁸ Д. М. Михлин и К. В. Пшенова, Биохимия, 16, № 1 (1951).