

УДК 631.811.1:581.133.1

КИНЕТИКА ПОГЛОЩЕНИЯ $N-NO_3$ И $N-NH_4$ ПРОРОСТКАМИ ПШЕНИЦЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОПУТСТВУЮЩИХ КАТИОНОВ

А. Е. ПЕТРОВ-СПИРИДОНОВ, М. МОЛЛОВ

(Кафедра физиологии растений)

Вопрос о закономерностях взаимного влияния элементов минерального питания на поглощающую функцию корней представляет, несомненно, теоретический и практический интерес. Внимание к нему особенно возросло в связи с результатами, полученными Киркби [15, 16] при изучении изменения ионного баланса в растительных тканях в зависимости от источника азотного питания. Первые обстоятельные доказательства действия калия и кальция как сопутствующих катионов на поглощение нитратов и аммония представлены в работах Прянишникова [7, 8], а затем в исследованиях его учеников [1, 9]. Ими установлено положительное влияние кальция на поглощение аммония, а калия — на поглощение нитратов. Это положение в последующем неоднократно подтверждалось более поздними работами [2, 3, 4 и др.].

Вместе с тем получены данные, в частности, о влиянии кальция на поглощение ионов аммония [11, 18, 19], противоречащие указанным выше. Расхождение в результатах, как показывает анализ, является следствием несовпадения выбранных концентраций ионов, рН среды, вида и возраста объектов исследования. В то же время одними различиями в проведении экспериментов, видимо, нельзя объяснить различий в поглощающей функции растений.

Не только калий и кальций влияют на поглощение нитратов и аммония, но и последние оказывают очень сильное влияние на поглощение катионов. Так, дисбаланс между суммарными концентрациями калия, кальция, натрия и анионов при аммонийном питании достигает чрезвычайно высоких значений — 600—1000 мэкв на 100 г сухой массы, в то время как на нитратном фоне — всего 10—12 мэкв [13]. Исходя из данных Кокса и Райзенауера [12], по «чувствительности» к $N-NH_4$ катионы располагаются в следующий ряд: $Zn > Mn \gg Mg > Ca > K$.

Из приведенного материала видно, как

важно представлять масштаб и направленность возникающих при поглощении ионов взаимных влияний. В настоящей работе сделана попытка количественно оценить степень взаимного влияния ионов нитратов, аммония, калия и кальция при их поглощении проростками пшеницы.

Объект и методы исследования

В качестве объекта исследования была выбрана яровая пшеница Ленинградская (урожай 1978 г. получен на Селекционной станции Тимирязевской академии), являющаяся частым объектом для исследований азотного питания растений. Семена пшеницы, отобранные по размеру, обеззараживали раствором $KMnO_4$, выдерживали 4 ч в дистиллированной воде, а затем ставили в термостат на двое суток ($22 \pm 1^\circ$). Двухдневные проростки (по 5 шт.) высаживали на сетки из оргстекла, помещали на стаканы емкостью 50 мл. До 10-дневного возраста они росли на водопроводной воде и еще 5 дней — на 0,1 н. смеси KNO_3 . В момент постановки опыта отношение объема корней к объему питательного раствора было меньше 1:50. Температура воздуха во время роста проростков и в течение опыта поддерживалась на уровне $20 \pm 1^\circ$ круглосуточно. Освещенность 10 000 лк во время 16-часового светового периода обеспечивалась лампами ЛБЦ-30.

Опыты проводили с 15-дневными проростками при значениях рН 5,0 и 7,0, соответствующих оптимуму поглощения нитратов и аммония [8]. В качестве источников азота выбраны KNO_3 , NH_4Cl и NH_4NO_3 . Концентрация азота в контрольном и опытном вариантах для всех источников азота была 0,2; 0,6; 1,0 и 3,0 ммоль/л и $CaSO_4$ — 0,2 ммоль/л. В опытных вариантах в качестве сопутствующего катиона был калий, кальций или аммоний хлорид в концентрации 1,0 и 5,0 ммоль/л.

Поглощение N — NO₃ и N — NH₄ проростками пшеницы (10⁻⁶ моль на 1 г сухой массы корня) из расворов KNO₃, NH₄NO₃ и NH₄Cl при pH 5, 0 (числитель) и 7, 0 (знаменатель) на фоне хлоридов калия, кальция, аммония

Концентрация азота, 10 ⁻⁴ моль/л	Контроль	KCl		CaCl ₂		NH ₄ Cl	
		моль/л					
		10 ⁻³	5 · 10 ⁻³	10 ⁻³	5 · 10 ⁻³	10 ⁻³	5 · 10 ⁻³
KNO ₃ ; NO ₃ ⁻							
0,2	71,3	63,2	64,8	52,9	49,7	40,7	26,4
	63,4	62,1	62,6	41,5	38,3	36,2	24,4
0,6	80,5	98,2	98,0	72,6	65,2	48,8	36,7
	69,7	82,7	86,1	55,9	46,3	45,6	32,5
1,0	85,6	105,5	115,4	73,7	68,4	49,5	43,1
	73,0	96,7	97,6	65,4	63,3	45,7	38,2
3,0	93,7	108,2	120,0	85,5	80,1	75,4	71,8
	79,7	86,3	97,1	73,5	68,4	64,4	60,9
NH ₄ NO ₃ ; NO ₃ ⁻							
0,2	55,3	59,0	101,3	43,7	38,3		
	59,7	60,0	90,0	51,0	40,3		
0,6	80,0	82,4	98,3	69,7	60,0		
	78,3	84,3	96,6	68,3	59,3		
1,0	160,7	120,0	98,7	111,7	70,7		
	121,3	99,0	90,0	102,3	71,3		
3,0	172,3	164,0	174,3	139,0	80,0		
	141,7	135,7	153,0	101,0	80,7		
NH ₄ NO ₃ ; NH ₄ ⁺							
0,2	108,0	71,7	69,3	90,7	65,0		
	120,0	90,0	83,8	121,0	100,3		
0,6	122,0	81,7	75,0	100,0	59,0		
	121,3	95,7	85,3	134,7	107,0		
1,0	131,0	80,0	98,9	139,0	80,7		
	141,7	101,0	120,7	163,3	86,7		
3,0	140,0	111,0	129,7	152,0	103,7		
	159,3	124,0	161,0	195,0	91,0		
NH ₄ Cl; NH ₄ ⁺							
0,2	93,3	92,0	60,7	77,3	69,0		
	100,0	117,7	80,7	80,0	85,3		
0,6	118,0	92,0	90,7	101,3	101,7		
	125,0	131,0	103,0	121,0	114,0		
1,0	146,0	126,0	132,0	104,1	177,0		
	171,0	185,0	150,6	163,7	129,7		
3,0	175,0	154,3	158,7	118,7	142,0		
	206,0	192,0	172,0	167,0	172,7		

НСР₀₅: опыт с KNO₃ $\frac{4,5}{5,2}$, NH₄NO₃ $\frac{14,5}{10,4}$, NH₄Cl $\frac{13,1}{12,0}$

Т а б л и ц а 2

Влияние pH питательного раствора на поглощение $N - NO_3$ и $N - NH_4$

Источник азота	Благоприятное значение pH среды	$t_{факт}$	$t_{теор}$
KNO_3	5,0	8,8	3,8
$NH_4NO_3(NO_3^-)$	$\approx 5,0-7,0$	0,8	2,4
$NH_4NO_3(NH_4^+)$	7,0	1,6	2,4
NH_4Cl	7,0	2,8	2,4

Поглощение нитратов, аммония и калия учитывали по их убыли из питательного раствора. Время экспозиции соответствовало принятому в большинстве случаев для определения кинетики поглощения ионов и составляло 2 ч. Определение констант V_{max} и K_m , уравнения кинетики поглощения ионов проводилось графическим методом по Берку — Лайнуиверу.

Повторность опытов 3-кратная. Нитраты определяли по методу Гранваль-Ляжу, аммоний — по методу Несслера с последующим спектрометрированием на Specol, калий — на пламенном фотометре Flafacol. Опытные данные подвергали статистической обработке [5].

Результаты и обсуждение

На основании данных табл. 1 может быть сделан ряд заключений. Прежде всего подтверждается, что при отсутствии аммония нитраты в кислой среде поглощаются с большей скоростью, чем в нейтральной, и тем более в щелочной, независимо от катионного состава среды. Для погло-

щения аммония, напротив, более благоприятной является слабощелочная среда.

Влияние pH на поглощение нитратов не проявилось, когда источником азота являлся азотнокислый аммоний. В этом же случае недостаточно убедительно выглядит положительное значение нейтральной среды (в сравнении с кислой) и для поглощения аммония (табл. 2).

Во-вторых, как и ожидалось, поглощение нитратов независимо от pH среды, как правило, положительно коррелировало с калием и отрицательно — с кальцием, а тем более — с аммонием. Для того чтобы оценить степень достоверности отмеченной корреляции, нами был проведен дисперсионный анализ, результаты которого приводятся в табл. 3.

В табл. 3 в общей форме дается количественная оценка действия сопутствующих катионов на поглощение нитратов и аммония. Анализ табличных данных облегчает тот факт, что на характер найденных зависимостей pH питательного раствора не оказывает существенного влияния.

Если сравнивать поглощение нитратов и аммония соответственно из солей KNO_3 и NH_4Cl , то между ними выявляется очевидное различие, а именно: поглощение аммония преимущественно зависит от концентрации источника азота и в очень слабой степени — от сопутствующего катиона. Для нитратов же достоверна большая зависимость их поглощения от катионного состава среды, чем даже от концентрации источника азота, хотя влияние последней несомненно.

То, что зависимость поглощения нитратов от сопутствующих катионов оказалась столь значительной (вклад этого фактора в общее поглощение составляет около 60—65%), свидетельствует о необходимости более внимательного и вдумчивого отношения к условиям азотного питания растений.

Т а б л и ц а 3

Достоверность влияния концентрации источников азота (А) и сопутствующих катионов (В) на поглощение $N - NO_3$ или $N - NH_4$ при pH 5, 0 (в числителе) и pH 7, 0 (в знаменателе)

Источник азота	Относительная зависимость поглощения, %, от:			Репрезентативность действия факторов $F_{факт}^*$			$F_{теор}$ P_{05}
	А	В	АВ	А	В	АВ	
KNO_3	32,1	60,8	7,1	13,1	21,5	0,3	2,8
	30,0	64,0	6,0	13,0	22,0	0,3	2,8
$NH_4NO_3(NO_3^-)$	61,0	24,0	15,0	30,5	4,8	0,8	5,7
	58,0	27,0	15,0	29,0	5,4	0,6	5,7
$NH_4NO_3(NH_4^+)$	43,0	48,0	9,0	9,5	10,4	0,1	5,7
	29,0	49,0	22,0	8,1	14,4	1,2	5,7
NH_4Cl	72,0	11,0	17,0	34,3	1,2	0,6	5,7
	85,0	11,0	4,0	85,0	1,2	0,1	5,7

* $F_{факт}$ рассчитывали как отношение η к соответствующему $t\eta$, что намного строже оценивает результаты, чем $\bar{\sigma}^2$ (по [5]).

Поглощение калия из KNO_3 проростками пшеницы
(10^{-6} моль на 1 г сухой массы корней) при pH 5, 0 (числитель)
и 7, 0 (знаменатель) на фоне хлоридов кальция и аммония (экспозиция 2 ч)

Фон; концентрация, моль/л	Концентрация KNO_3 , 10^{-3} моль/л			
	0,2	0,6	1,0	3,0
Контроль	57,8	71,1	84,7	142,7
	62,7	75,1	89,3	198,7
» +CaCl ₂ ; 10^{-3}	72,6	80,9	111,3	122,8
	68,6	79,3	120,3	133,6
» +CaCl ₂ ; $5 \cdot 10^{-3}$	80,1	73,0	104,6	142,5
	72,5	65,3	135,7	137,0
» +NH ₄ Cl; 10^{-3}	15,0	13,4	14,8	-15,3
	11,8	12,8	12,4	-12,4
» +NH ₄ Cl; $5 \cdot 10^{-3}$	-15,2	-13,5	-16,7	-10,6
	-18,3	-20,1	-13,1	-45,0

HCP_{0,5} 5,8

Примечание. Минус перед числами означает выделение калия в раствор.

Совершенно по-иному складывается действие исследуемых факторов на поглощение $N-NO_3$ и $N-NH_4$ при использовании в качестве источника питания NH_4NO_3 . В этом случае для поглощения нитратов более важным является концентрация источника азота, а доля влияния сопутствующих катионов снижается примерно до 25%. Напротив, для поглощения аммония значение катионного состава среды становится весьма заметным. Особенно сильно проявляются конкурентные отношения между аммонием и калием, которыми прежде всего определяются отмеченные различия в действии калия на поглощение нитратов из KNO_3 и NH_4NO_3 . Факт высокой конкурентности между калием и аммонием весьма убедительно демонстрируется данными табл. 4.

Итак, аммоний является мощным конкурентом калия. При концентрации аммония около $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л наблюдались не только прекращение поглощения калия, но даже выделение последнего из корней растений в питательный раствор. Что касается некоторой стимуляции поглощения калия в присутствии кальция, то этот процесс в литературе достаточно изучен, по крайней мере с феноменологической стороны [6, 21].

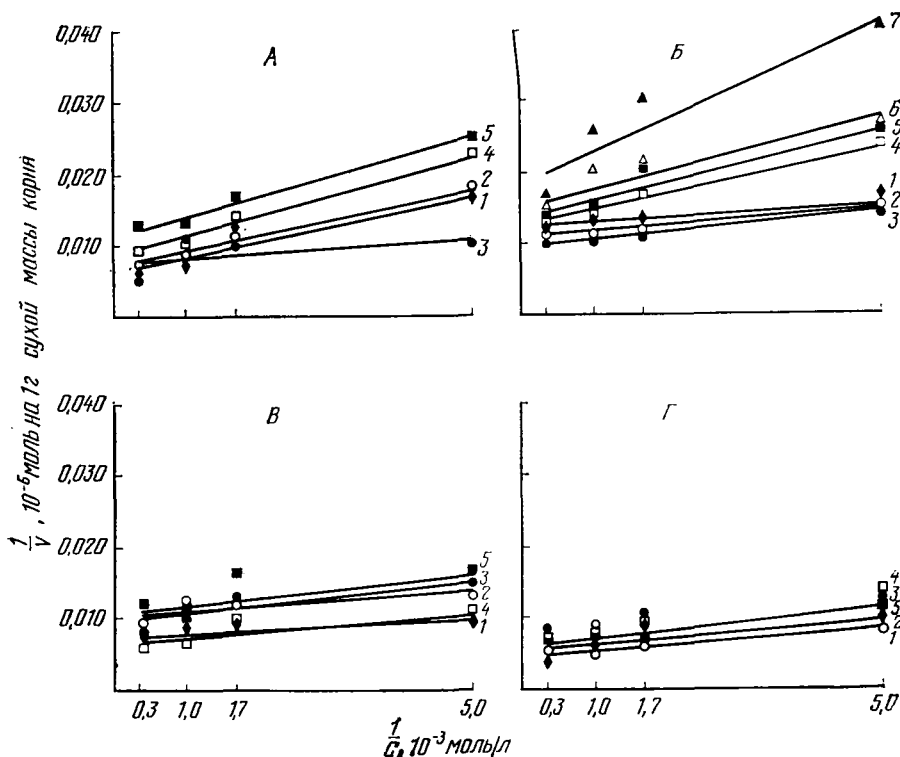
Определив условия, при которых наблюдается влияние сопутствующих катионов на поглощение $N-NO_3$ и $N-NH_4$, необходимо, как нам кажется, ответить на вопрос о характере этого влияния, т. е. являются ли данные катионы по своей природе конкурентными или нет, что очень важно для определения тактики последующих исследований.

Исходя из представлений Эпштейна и Хагена [14] о подобии изотермы поглоще-

ния ионов изотерме ферментативных реакций, мы применили кинетику ферментативных реакций для описания поглощения ионов и выяснения отношений, возникающих между ними при поглощении. Изотерма поглощения ионов представлена не в обычных координатах, выражающих зависимость скорости поглощения ионов аммония и нитратов от концентрации источников азота и сопутствующих катионов, а, как принято большинством исследователей, в обратных величинах скорости и концентрации в соответствии с методом Берка — Лайнуивера для определения константы Михаэлиса-Ментен (K_m) и максимальной скорости реакции (V_{max}).

Данные для построения графиков (рисунков) взяты из табл. 1. При этом поскольку, как показано выше, pH растворов не оказывал существенного влияния на характер взаимоотношений между поглощаемыми ионами, приведены графики только для одного из значений pH. Вместе с тем, как следует из табл. 5, при поглощении аммония в отличие от нитратов K_m зависит от pH питательного раствора и источника азота.

Если табл. 5 анализировать с учетом данных табл. 3, то становится очевидным, что различия в K_m при поглощении нитратов и аммония из разных источников азота и при разных значениях pH питательных растворов в первую очередь определяются степенью зависимости поглощения азота от его концентрации в среде. Чем эта зависимость выше, тем больше значение K_m . В таком случае, следовательно, внутренний контроль за поглощением нитратного или аммонийного азота ослабляется. Одновременно снижается значение сопутствующих катионов для поглощения азота.



Кинетика поглощения нитратов и аммония из растворов KNO_3 , NH_4NO_3 и NH_4Cl на фоне хлоридов калия, кальция и аммония.

А и Б — поглощение NO_3^- соответственно из NH_4NO_3 и KNO_3 (рН 7,0); В и Г — поглощение NH_4^+ из NH_4NO_3 (рН 5,0) и из NH_4Cl (рН 7,0); 1 — контроль; 2 и 3 — фон KCl соответственно 10^{-3} и $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л; 4 и 5 — фон CaCl_2 соответственно 10^{-3} и $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л; 6 и 7 — фон NH_4Cl соответственно 10^{-3} и $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

Полученные нами значения K_m как для нитратов, так и аммония соответствуют порядку значений, указываемых другими исследователями [10, 17, 20]. В частности, для нитратов значения K_m в опыте с ячменем составили 0,11 ммоль, с райграсом — 0,033, с кукурузой — 0,021 ммоль [17]. Нам кажется, что различия в 3–5 раз определяются не столько особенностями отмеченных растений, сколько неизбежными ошибками при графическом определении основных параметров кинетики поглощения ионов.

При рассмотрении данных табл. 1 отмечалось, что взаимодействие между поглощаемыми нитратами и аммонием, нитратами (или аммонием) и катионами калием и кальцием выражается либо в стимулировании поглощения источников азота, либо в торможении этого процесса. Это хорошо видно на рисунке.

Однако не менее важно и другое заключение, которое следует из анализа кинетики поглощения $\text{N}-\text{NO}_3^-$ и $\text{N}-\text{NH}_4^+$ в контрольном и опытных вариантах, а именно: как стимулирование, так и торможение по-

Т а б л и ц а 5

Значения K (ммоль) и V_{\max} (10^{-6} моль на 1 г сухой массы корней) для поглощаемых $\text{N}-\text{NO}_3^-$ и $\text{N}-\text{NH}_4^+$ из одиночных солей при рН 5,0 (в числителе) и 7,0 (в знаменателе)

Показатели	NO_3^-		NH_4^+	
	KNO_3	NH_4NO_3	NH_4Cl	NH_4NO_3
K_m	0,0740	0,3500	0,2940	0,0625
	0,0800	0,3400	0,1420	0,1820
V_{\max}	90,9	160,0	182,0	142,8
	84,5	154,0	166,0	167,0

глошения источников азота в присутствии катионов не являются конкурентными по своей природе. Следовательно, если, скажем, придерживаться гипотезы переносчиков, то на связывание переносимого иона с переносчиком катионы прямого действия не оказывают. Их действие, таким образом, проявляется на последующих этапах поглощающей функции корневых систем.

Выводы

1. Влияние концентрации азота и сопутствующих катионов на поглощение нитратов и аммония растениями зависит от источника азота и pH питательного раствора.

2. Поглощение нитратов заметно увеличивается в присутствии ионов калия и

тормозится в присутствии ионов кальция и особенно — ионов аммония. Наиболее острые конкурентные отношения складываются между калием и аммонием. Поэтому представляется вероятным, что ингибирующий эффект аммония при поглощении нитратов является отражением конкурентных отношений, имеющих место между калием и аммонием.

3. Анализ кинетики поглощения нитратов и аммония в зависимости от концентрации источников азота и концентрации сопутствующих катионов дает основание считать, что взаимоотношения между исследуемыми ионами, возникающие при их поглощении, носят неконкурентный характер, т. е. имеет место либо неконкурентное торможение, либо неконкурентное стимулирование.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимирова А. В. Физиологические основы применения азотистых и калийных удобрений. М.: Сельхозгиз, 1948.— 2. Игнатъевская М. А. Взаимодействие ионов аммония, калия, кальция и нитратов при их поглощении проростками ячменя и вики.— Автореф. канд. дис. М., 1970.— 3. Кодрев Т., Георгиев В. Взаимодействие аммония с калием, натрием, кальцием, магнием при поглощении растениями. — Физиология растений, 1978, № 1, с. 68—75.— 4. Крастина Е. Е., Лосева А. С. О некоторых закономерностях накопления катионов растениями.— Изв. ТСХА, 1974, вып. 2, с. 9—15.— 5. Лаккин Г. Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1973.— 6. Петров-Спиридонов А. Е. Регуляторная роль ионов калия и кальция в процессах жизнедеятельности растений.— Автореф. докт. дис. М., 1970.— 7. Прянишников Д. Н. Аммиак, нитраты и нитриты как источник азота для высших растений.— Из результатов вегетац. опытов и лаборат. работ, 1925, т. XIII, с. 1—35.— 8. Прянишников Д. Н. Азот в жизни растений и в земледелии СССР. М.—Л.: Изд-во АН СССР, 1945.— 9. Турко-

ва Н. С. Влияние соотношения калия и кальция в питательном растворе на поглощение нитратных и аммонийных ионов.— Докл. ТСХА, 1945, вып. II, с. 102—105.— 10. Becking J. H.— Acta Bot. Neer., 1956, vol. 5, p. 1—79.— 11. Bärstrom H.— Pl. Physiol., 1954, vol. 7, p. 332—342.— 12. Cox W. J., Reisenauer H. M.— Agron. J., 1977, vol. 5, p. 868—871.— 13. Dejaegere R., Michotte M., Segebarth R.— Bull. Soc. Roy. Bot. Belg., 1976, vol. 2, p. 239—248.— 14. Epstein E., Hagen C. E.— Pl. Physiol., 1952, vol. 27, p. 457—462.— 15. Kirkby E. A.— Ecolog. asp. of the mineral nutr. of plants. Oxford a. Edinburgh, 1965, p. 215—253.— 16. Kirkby E. A.— Soil sci., 1968, vol. 3, p. 133—141.— 17. Rao K. P., Rains D. W.— Pl. Physiol., 1976, vol. 57, p. 57—58.— 18. Sauvarie Y. L.— L. C. r. Acad. Sci., 1967, vol. 2, p. 296—299.— 19. Skok J.— Pl. Physiol., 1941, vol. I, p. 145—157.— 20. Van den Honert T. H., Hooymans I. I. M.— Acta Bot. Neerl., 1964, vol. 3, p. 261—373.— 21. Viets F. G.— Pl. Physiol., 1944, vol. 1, p. 466—480.

Статья поступила 18 ноября 1981 г.

SUMMARY

Absorbtion of $N-NO_3$ and $N-NH_4$ from KNO_3 , NH_4Cl , NH_4NO_3 with potassium chloridë calcium chloride and ammonium chloride (10^{-3} and $5 \cdot 10^{-3}$ M) by 15-days seedlings of spring wheat was studied under static conditions. Concentration of nitrogen source varied from 0.2 to $3.0 \cdot 10^{-3}$ M. Dependence of absorbtion of $N-NO_3$ and $N-NH_4$ on its concentration and pH as well as corresponding cations was established. Speed of absorbtion of nitrates increased substantially in the presence of potassium and decreased by calcium and ammonium. Potassium and ammonium compete with each other. Degree of cation influence greatly depends on kind of nitrogen source. Stimulation and inhibition of nitrate and ammonium absorbtion by studied concomitant cations do not interfere with each other.