

УДК 633.854.78:581.111:58.035.2

ТРАНСПОРТ СОЕДИНЕНИЙ АЗОТА И ИОНОВ КАЛИЯ С ПАСОКОЙ ПОДСОЛНЕЧНИКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СВЕТОВЫХ УСЛОВИЙ В ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ ПЕРИОД

А. Н. ИЛЬИН, М. Н. КОНДРАТЬЕВ, Е. Е. КРАСТИНА

(Кафедра физиологии растений)

В вегетационном опыте, проведенном в контролируемых условиях (температура 20 °С, свет от люминесцентных ламп, фотопериод 18 ч), показано, что удлинение темного периода на 4 и 8 ч не изменяет поглощения нитрата растениями подсолнечника, но увеличивает подачу с пасокой (сбор в первые 2 ч после удаления побега) воды, нитрата, калия, свободных аминокислот и амидов. Усиление транспорта этих веществ с пасокой подсолнечника имело место и в полевых условиях после 3 сут выдерживания растений при интенсивности света в 2 раза ниже естественной.

В настоящее время установлен факт влияния световых условий на ряд процессов азотного обмена у растений. В частности, показана роль светового фактора в поглощении растениями минеральных форм азота [13, 20, 24] и регуляции активности ключевых ферментов азотного обмена [4, 12, 27]. Одна из отличительных черт растений, выращенных в условиях загущения, — повышенное содержание общего и нитратного азота, калия и других элементов минерального питания в вегетативной массе [8—10]. Такой эффект ценотического взаимодействия растений возникает, видимо, вследствие недостаточной освещенности из-за взаимного затенения. Во всяком случае, в молодых растениях кукурузы обнаружено увеличение содержания нитратов как при искусственном затенении, так и при увеличении густоты стояния в 4 раза [21].

Считается, что причиной повышенного накопления нитратов в листьях растений при низкой интенсивности света является падение активности нитратредуктазы [2, 21]. Принимая данное объяснение как вполне справедливое, мы тем не менее на основании результатов предыдущей работы [6] предполагаем, что определенную роль в накоплении нитратов в данных условиях играют транспортные процессы. Как показали наши модельные опыты с подсолнечником, по мере увеличения густоты стояния растений на фоне достаточного уровня минерального питания существенно усиливается удельная активность выделения с пасокой нитратного азота, свободных аминокислот, амидов и калия (на 1 г сухой массы корней). Это дает основание предположить, что интенсивность транспорта азота с пасокой подсолнечника зависит от предшествующих световых условий. Однако нельзя не считаться с тем, что для растений, длительно выращиваемых при разных уровнях загущения, свойственны изменение темпов роста и определенные адаптации функционального характера. Чтобы вычленив в чистом виде влияние световых условий на выделение азотистых соединений с пасокой растений, мы провели дополнительные исследования с кратковременным варьированием изучаемого фактора. В вегетационном опыте изучали поглощение, ассимиляцию и транспорт азота у растений, не получавших свет в утренние 4 или 8 ч, а в полевом опыте — выделение с пасокой нитрата, калия, аминокислот и амидов после 3 сут пониженной освещенности. Результаты этих опытов изложены в данной статье.

Методика

Объектом исследований был подсолнечник *Helianthus annuus* L. сорта Одесский 63. Вегетационный опыт проводили в лаборатории физиологии растений Тимирязевской академии в контролируемых условиях среды. Растения выращивали в водной культуре на питательной смеси Кнопа при температуре 20 °С и фотопериоде 18 ч (свет с 6 до 24 ч). Более подробно условия выращивания растений описаны в работе [5]. Определяли выделение с пасокой аминокислот и амидов (23-дневные растения), поглощение из питательного раствора и подачу с пасокой нитратного азота (31-дневные растения). В день сбора пасоки контрольные растения после обычного темнового периода получали свет, а опытные оставались в темноте еще на 4 и 8 ч. В конце указанных экспозиций срезали побеги контрольных и опытных растений и собирали пасоку в течение 2 ч. Биологическая повторность 5-кратная.

Мелкоделяночный полевой опыт проводили летом 1986 г. на участке метеорологической станции ТСХА. Норма высева 100 тыс. растений на 1 га. Почва опытного участка дерново-подзолистая среднесуглинистая. Перед посевом были внесены удобрения из расчета 190N120P190K. Погодные условия во время проведения опыта характеризовались умеренным количеством осадков, повы-

шенными температурами и большим числом солнечных дней. Возраст растений отсчитывали с момента появления первой пары настоящих листьев. Исследования проводили в 2 срока: на 35- и 50-дневных растениях. Схема опыта включала 3 варианта:

1 — нормальное естественное освещение постоянно (контроль); 2 — уменьшение интенсивности света на 50 % с помощью трехслойной марлевой камеры в течение 3 сут (вариант «тьень»); 3 — полное затемнение растений в течение 3 сут специальной камерой с отверстиями для вентиляции, защищенными от проникновения света (вариант «темнота»). Камеры размером 120×150×150 см устанавливали на участке в полдень, за 72 ч до начала сбора пасоки и отбора растительных образцов. Надземную часть растений срезали на высоте 2,5 см от поверхности почвы. Время сбора пасоки 2 ч. К пасоке добавляли 1—2 капли толуола, после чего ее замораживали и хранили в таком состоянии до проведения анализов. В пасоке определяли содержание аминокислот, амидов, ионов нитрата и калия.

Использованные в опытах методику и оборудование для определения нитрата, калия в питательном растворе и пасоке, аминокислот и амидов в последней, сахаров в растительном материале описаны в работах [5, 6].

Результаты

В вегетационном опыте были получены аналогичные [5] данные относительно влияния дополнительной темноты на выделение аминокислот с пасокой подсолнечника. У растений, выращенных при фотопериоде 18 ч, удлинение обычного темнового периода ощутимо сказалося на концентрации аминокислот в пасоке. Суммарная концентрация аминокислот и амидов превысила контроль в 6 раз через 4 ч и в 2,5 раза через 8 ч дополнительной темноты (табл. 1).

Т а б л и ц а 1

Объем выделенной пасоки не содержание в ней свободных аминокислот у 23-дневных растений в зависимости от предшествующих световых условий. Вегетационный опыт

Показатель	Экспозиция			
	4 ч		8 ч	
	конт-роль	опыт	конт-роль	опыт
Объем пасоки, выделенной за 2 ч, мл	0,7	0,7	0,6	0,7
Концентрация аминокислот и амидов в пасоке, мкмоль/мл	1,7	10,2	5,6	14,1
Выделено аминокислот и амидов с пасокой, мкмоль	1,2	7,5	3,5	9,7

Примечание. Здесь и в табл. 2 данные приводятся в расчете на 1 г сухой массы корней.

Т а б л и ц а 2

Поглощение и выделение с пасокой воды и нитрата 31-дневными растениями в зависимости от световых условий. Вегетационный опыт

Показатель	Экспозиция 8 ч	
	контроль	опыт
Поглощение воды за 4 ч (10—14 ч), мл	16,3	5,8*
Поглощение нитрата за 4 ч, мкмоль	63,5	71,1
Объем пасоки, выделенной за 2 ч, мл	0,8	1,2*
Концентрация нитрата в пасоке, мкмоль/мл	25,2	41,5*
Выделено нитрата с пасокой, мкмоль	21,1	51,0*

Примечание. Здесь и в последующих таблицах звездочкой обозначено наличие существенной разницы между вариантами при $P=0,95$ и выше.

Объем пасоки и содержание в ней нитрата, аминокислот и калия. Полевой опыт

Показатель	Контроль	Тень	Темнота
Объем выделенной пасоки, мл	5,9	9,6*	2,7*
	6,7	10,4*	2,0*
Концентрация, мкмоль/мл:	115,3	117,7	44,1*
	46,5	42,1	34,7*
нитрат	9,6	13,2*	17,2*
аминокислоты + амиды	6,7	12,2*	14,1*
	23,4	24,8	13,2*
калий	12,1	16,6*	10,2
Выделено с пасокой, мкмоль:	680,4	1133,7*	116,4*
	309,7	446,2*	70,6*
нитрат	52,5	124,6*	48,6
аминокислоты + амиды	46,1	134,4*	30,4*
	136,4	237,5*	34,2*
калий	81,6	177,6*	19,8*

Примечания. 1. Здесь и в табл. 4 данные приводятся в расчете на 1 растение. 2. В числителе — 35-дневные, в знаменателе — 50-дневные растения.

Поскольку у 23-дневных растений обоих вариантов скорость плача была одинаковой, различия в количестве аминокислот, выделенных с пасокой, были такими же, как и в их концентрации. Обращает на себя внимание тот факт, что при увеличении продолжительности дополнительной темноты с 4 до 8 ч указанная реакция опытных растений ослабевает.

Известно, что при питании подсолнечника нитратным азотом последний является основной транспортной формой азота в ксилеме. В связи с этим нами изучалась роль световых условий в процессах поглощения и транспорта ионов нитрата с пасокой растений.

Удлинение темного периода на 8 ч приводило, естественно, к ослаблению транспирации опытных растений и соответственно уменьшению (в 2,8 раза) поглощения ими воды (табл. 2). Но при этом достоверных различий в поглощении нитрата опытными и контрольными растениями не обнаружено.

Следует отметить, что у 31-дневных растений нагнетательная функция корней по отношению к воде была сильнее подвержена влиянию краткосрочного затемнения, чем у более молодых, 23-дневных растений (табл. 1, 2). Так, во 2-й срок объем пасоки, выделенной опытными растениями, в 1,5 раза превышал контроль (табл. 2). Существенные различия наблюдались и в концентрации ионов нитрата в пасоке контрольных и опытных растений: у последних она была выше в 1,6 раза. А так как и объем пасоки у них превышал контрольный, то суммарная подача нитрата у опытных растений увеличилась в 2,4 раза.

Большой интерес представляют данные полевого опыта. При варьировании световых условий в открытом грунте удалось воспроизвести ряд эффектов, установленных у подсолнечника при удлинении темного периода в контролируемых условиях лаборатории. Выдерживание опытных растений 3 сут в темноте или при ослабленном в 2 раза световом потоке оказало существенное влияние как на скорость плача, так и на состав выделяемой пасоки (табл. 3). Причем действие пониженной освещенности оказалось сходным с таковым в варианте с кратковременной темнотой вегетационного опыта, тогда как действие темноты в течение 3 сут в ряде случаев имело иной характер, чем в аналогич-

Т а б л и ц а 4

**Сухая масса и содержание сахаров
в надземной части 35-дневных растений.
Полевой опыт**

Показатель	Конт- роль	Тень	Тем- нота
Сухая масса, г:			
листья	13,1	11,7	11,4*
стебель	12,2	11,8	10,8
вся надземная часть	25,3	23,5	22,2*
Концентрация са- харов, %:			
листья	8,8	9,2	8,7
стебель	3,3	3,3	3,2
Содержание саха- ров, мг:			
листья	1148	1066	987*
стебель	402	389	347
всего	1550	1455	1334*

ном варианте вегетационного опыта. Ослабленный свет повышал нагнетательную функцию корней на 60 %. а темнота той же продолжительности более чем в 2 раза уменьшала объем выделенной пасоки как у 35-, так и у 50-дневных растений.

Несмотря на разную скорость плача, концентрация нитрата в пасоке контрольных и затененных растений существенно не различалась при 95 % уровне значимости. Более молодые растения этого варианта не отличались от контрольных и по концентрации ионов калия в пасоке, тогда как у более взрослых растений она превышала контроль (табл. 3).

Иные результаты получены на растениях, выдержанных 3 сут в

темноте. У них в оба срока анализа концентрация нитрата в пасоке была значительно ниже контроля. С возрастом растений эти различия, оставаясь достоверными, имели тенденцию к уменьшению. Еще сильнее сближалась с контролем концентрация ионов калия: если у 35-дневных растений она была почти в 2 раза меньше, то у 50-дневных существенно не различалась с контролем при $P = 0,95$ (табл. 3).

Аминокислотный анализ пасоки растений в полевом опыте показал следующее. В оба срока исследований по мере ухудшения световых условий достоверно возрастала суммарная концентрация свободных аминокислот и амидов. При увеличении возраста растений во всех вариантах ее абсолютные значения снижались, особенно заметно в контроле. Это привело к увеличению различий между опытными и контрольными растениями. Если у 35-дневных растений этот показатель в вариантах «тень» и «темнота» составлял 137 и 179%, то у 50-дневных — 182 и 210 % к контролю.

Количество нитрата и калия, выделенных с ксилемным эксудатом, в варианте «темнота» достоверно уменьшалось в оба срока при снижении скорости плача и концентрации этих веществ в пасоке (табл. 3). В то же время в варианте «тень» подача нитрата с пасокой активизировалась вследствие усиления скорости плача, поскольку концентрация его в ксилемном эксудате не отличалась от контроля. Выделение калия с пасокой в этом варианте у 35-дневных растений превосходило контроль за счет повышения ее объема, а у 50-дневных — за счет увеличения последнего и концентрации калия в пасоке. В целом по опыту установлена высокая положительная корреляция между выделением с пасокой подсолнечника ионов нитрата и калия ($r = 0,922 \pm 0,037$).

Более высокая по сравнению с контролем концентрация свободных аминокислот и амидов в ксилемном эксудате в варианте «тень» в сочетании с повышенной скоростью плача служили причиной усиления их выделения с пасокой. Но в варианте «темнота», несмотря на максимальную концентрацию аминокислот и амидов, выделение их с пасокой приближалось к контролю (молодые растения) или даже уступало ему (50-дневные растения) из-за ослабления скорости плача (табл. 3).

Накопление биомассы растений в ряду контроль — тень — темнота уменьшалось, хотя различия с контролем были достоверными только в последнем варианте (табл. 4).

Экспозиция 72 ч хотя и представлялась нам достаточной для изменения углеводного статуса опытных растений, анализ листьев и стеблей не выявил каких-либо существенных сдвигов в концентрации сахаров (табл. 4). Даже в варианте «темнота» разница с контролем составляла

порядка 0,1 %. Поэтому различия в общем содержании сахаров в расчете на орган или всю надземную часть определялись только некоторым торможением прироста биомассы у растений этого варианта.

Обсуждение

Модельные опыты, результаты которых изложены в настоящей работе, явились продолжением исследований метаболических взаимосвязей корней и побегов растений при дефиците светового излучения. Говоря об итогах вегетационного опыта, следует еще раз подчеркнуть, что указанные выше эффекты имели место не во время нормального 6-часового темного периода суток (0—6 ч), а в условиях искусственного продления темноты, когда у растений продолжал действовать эндогенный суточный ритм, который, несмотря на отсутствие света, приводил к активизации ряда функций растительного организма.

Ослабление поглощения воды растениями при затенении явилось естественным результатом снижения транспирации. В поглощении нитратного азота между опытными и контрольными растениями не было достоверных различий. Этот факт свидетельствует об отсутствии корреляции между поглощением воды и нитрата, а также дает возможность предположить достаточную для поддержания процесса поглощения азота энергообеспеченность корней опытных растений.

Временная темнота (вегетационный опыт) или ослабление интенсивности светового потока (полевой опыт) приводили к усилению скорости плача в первые 2 ч после отделения надземной части растений. Это явление мы наблюдали и в исследованиях [5]. Вероятно, его можно рассматривать как результат пониженной транспирации растений, что, в свою очередь, должно увеличивать оводненность клеток корня и активизировать работу нижнего концевое двигателя (корневое давление). Однако длительное отсутствие света (3 сут) уже отрицательно сказывается на выделении пасоки подсолнечником. В литературе имеются указания, что у этого вида вообще теряется способность к выделению пасоки через 2 сут темноты у молодых растений и через 4 сут у растений в возрасте 41 дня [11].

Полученные нами данные свидетельствуют о значительном усилении подачи нитрата с пасокой опытных растений при продлении ночной темноты на 4 или 8 ч, а также при ослаблении естественного света в течение 3 сут. Вероятно, оно обусловлено снижением активности нитратредуктазы, что отмечалось при недостаточном освещении у ряда видов растений [4, 12, 18, 22]. Это должно приводить к ослаблению-восстановления нитрата в корнях и соответственно к активизации его транспорта по ксилеме. Кроме того, в таких условиях вследствие снижения проницаемости тонопласта [12, 19] может затрудниться поступление нитрата в запасной пул, локализованный в вакуолях клеток корня [4], что тоже приводит к увеличению доли транспортируемого азота.

Тесная корреляция между выделением нитрата и калия с пасокой подсолнечника (полевой опыт) подтверждает наличие котранспорта этих ионов [7, 15]. Вместе с тем эта корреляция позволяет нам с известной степенью уверенности предположить, что и у интактных растений имеет место усиление транспорта нитрата и калия при временном ухудшении световых условий. В противном случае трудно объяснить известные факты одновременного повышения концентрации нитрата и калия у загущенных или помещенных в условия пониженной интенсивности света растений [8, 9].

Известно, что при недостаточном освещении растений снижается включение ассимилятов в крахмал [3, 14], тормозится их транспорт в корни [16]. Значительное обеднение углеводного пула корней подсолнечника при удлинении темного периода отмечалось и в работе [5]. Отсутствие существенных различий в концентрации сахаров в надзем-

ных органах контрольных и опытных растений (полевой опыт) также свидетельствует о сильном торможении транспорта ассимилятов в корни.

Недостаток углеводов в корнях опытных растений должен сказываться на характере дыхательного метаболизма этих органов. В частности, снижение концентрации обычных субстратов (сахаров) приводит к более активному использованию в дыхании азотсодержащих органических соединений. Эндогенный аммоний, образующийся при дезаминировании последних, ассимилируется с участием глутаматдегидрогеназы (ГДГ), аминирующая активность которой увеличивается при недостатке сахаров и АТФ в корнях [1, 17, 23, 25, 26, 28]. В связи с этим мы предполагаем, что усиление подачи аминокислот с пасокой опытных растений подсолнечника обусловлено следующей цепью событий: сокращение притока углеводов в корни → вовлечение в дыхательный метаболизм азотсодержащих органических соединений → повышение содержания эндогенного аммония и его ассимиляция с участием ГДГ. Образующийся при этом глутамат и продукты его метаболизма вовлекаются в ксилемный транспорт, что обуславливает увеличение выделения аминокислот и амидов с пасокой опытных растений. Наличие такого пути помогает растению при недостатке света иметь необходимый минимум энергии для поддержания функциональной активности корней, а также исключить избыточное накопление в тканях аммония.

Подводя итог, следует подчеркнуть сложность и неоднозначность взаимосвязей азотного и углеводного обмена у растений. Существование альтернативных путей метаболизма, «запускаемых» в стрессовых ситуациях и при адаптации растений к неблагоприятным внешним факторам, усложняет изучение механизмов саморегуляции азотного обмена. Определенную ясность здесь могут внести дальнейшие эксперименты с использованием различных форм азотного питания растений на фоне варьирования светового режима и других внешних факторов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баскакова С. Ю., Измайлов С. Ф. Регуляция активности глутаминсинтетазы и глутаматдегидрогеназы при гетеротрофном и нитратном питании растений. — Физиология растений, 1984, т. 31, вып. 6, с. 1113—1119. — 2. Брей С. М. Азотный обмен в растениях. — М.: Агропромиздат, 1986. — 3. Виттла А. К. Реакция фондов углеводов в процессе адаптации к снижению интенсивности освещения. — В сб.: Адаптация физиол.-биохим. систем растений к перемене освещения, ч. 1. Рига: Зинатне, 1977, с. 32—43. — 4. Измайлов С. Ф. Азотный обмен в растениях. — М.: Наука, 1986. — 5. Ильин А. Н., Кондратьев М. Н., Стороженко Н. И. Влияние изменений в углеводном статусе растения на транспорт восстановленных форм азота с пасокой подсолнечника. — Матер. Всесоюз. конф. молодых ученых. М.: Агропромиздат, 1987. — 6. Ильин А. Н., Кондратьев М. Н., Крастина Е. Е. Влияние загущенности растений на поглощение и транспорт азота с пасокой подсолнечника. Изв. ТСХА, 1988, вып. 1, с. 90—95. — 7. Кондратьев М. Н., Костюкович М. Ф., Третьяков Н. Н. Поглощение нитрата и катионов растениями кукурузы из растворов с низкой концентрацией ионов водорода. — Агрехимия, 1984, № 6, с. 53—60. — 8. Крастина Е. Е. Минеральное питание подсолнечника при ценотическом взаимодействии растений. — Изв. ТСХА, 1984, вып. 5, с. 95—103. — 9. Куперман И. А., Хитрово Е. В. Калийное питание яровой пшеницы и кукурузы в зависимости от условий освещения. — Агрехимия, 1984, № 3, с. 18—26. — 10. Синягин И. И. Площади питания растений. — М.: Россельхозиздат, 1975. — 11. Трубецкова О. М., Жирнова Н. Г. Суточный ритм подачи калия корневой системой в надземные органы растений. — Физиология растений, 1959, т. 6, вып. 2, с. 129—137. — 12. Aslam M., Ann Oaks, Huffaker R. C. — Plant Physiol., 1976, vol. 58, N 4, p. 588—591. — 13. Beevers L., Schrader L. E., Flesher D., Hageman R. H. — Plant Physiol., 1965, vol. 40, p. 691—698. — 14. Benjamin L. R., Egli D. B., Leggett K. E. — Can. J. Plant Sci., 1981, vol. 61, N 2, p. 205—212. — 15. Ben Zion A., Vadi A., Lips H. — Physiol. Plant, 1971, vol. 24, p. 288—290. — 16. Colvill K. E., Marshall C. — Ann. Appl. Biol., 1981, vol. 99, N 2, p. 179—190. — 17. Davies D. D., Teixeira A. N. — Phytochemistry, 1975, vol. 14, N 3, p. 647—656. — 18. Deane-Drummond C. E., Clarkson D. T., Johnson C. B. — Plant Physiol., 1979, vol. 64, p. 660—662. — 19. Ferrari T. E., Yoder G. C., Filner P. — Plant Physiol., 1973, vol. 51, N 3, p. 423—431. — 20. Hageman R. H., Flesher D. — Plant Physiol., 1960, vol. 35, p. 700—708. — 21. Hageman R. H., Flesher D., Gitter A. — Crop. Sci., 1961, vol. 1, N 3, p. 201—204. — 22. James D. B., Smith S. M. — Ann. Bot., 1980, vol. 46, p. 803—805. — 23. Lauriere C., Weismann N., Daus-

- sant J. — *Physiol. Plant*, 1981, vol. 52, N 1, p. 151—155. — 24. Rao K. P., Rains D. W. — *Plant Physiol.*, 1976, vol. 57, N 1, p. 55—62. — 25. Ratajczak L., Ratajczak W., Mazurowa H. — *Physiol. Plant*, 1981, vol. 51, N 3, p. 227—280. — 26. Sahu I. K. J., Lisa L. — *Biol. Plant*, 1978, vol. 20, N 6, p. 446—452. — 27. Sawhney S. K., Naik M. S., Nicholas D. J. D. — *Nature*, L., 1978, vol. 272, p. 647—648. — 28. Takahashi J., Fuzuhashi K. — *Plant a. All Physiol.*, 1980, vol. 21, N 6, p. 1067—1075.

Статья поступила 20 июля 1987 г.

SUMMARY

The results of greenhouse and field experiments with sunflower (*Helianthus annuus* L.) are discussed. The former was conducted in water culture on Knop nutrient solution, at temperature 20°, plant illumination 10 klux and photoperiod 18 h. The time of xylem sap collection — the first 2 hours after removal of above-ground portion of a plant. It is shown that when dark period of the day gets 4 and 8 hours longer, it does not influence the uptake of nitrate by young plants. However, such longer darkness intensifies transportation of water, nitrate, free amino acids and amides with xylem sap. More active transportation of these compounds occurred in the field too, when sunflower plants were under two times less intensive natural light for 3 days. It was found in the field experiment that there was a high positive correlation between transportation of nitrate ions and potassium ions with xylem sap. In order to explain the results, the data on lower amount of soluble carbohydrates in the roots are used. Reasons of the phenomena mentioned, as well as the role of nitrogen metabolism enzymes — nitrate reductase and glutamat dehydrogenase — are discussed.