

УДК 581.133.1:535.631.5/9

ВЛИЯНИЕ РЕЖИМА ОСВЕЩЕНИЯ НА ИЗБИРАТЕЛЬНОСТЬ ПОГЛОЩЕНИЯ ТОМАТОМ ИОНОВ АММОНИЯ И НИТРАТА

М. Н. КОНДРАТЬЕВ, А. А. ДОРОШЕНКО, В. М. ЛЕМАН
(Кафедра физиологии растений)

Предпочтительность использования аммиачной или нитратной формы азота растениями определяется не только видовыми особенностями последних, рН среды [23], составом катионов [8], температурой [6], но и интенсивностью [5] и спектральным составом света [2].

Поскольку растение является саморегулирующейся системой, представляется необходимым изучить пределы саморегуляции при варьировании факторов внешней среды.

В настоящее время выдвинут ряд положений, объясняющих действие света как на рост и развитие растений [9, 10], так и на поглощение форм минерального азота. Например, предполагается, что влияние света на работу систем поглощения ионов является косвенным и связано с его влиянием на фотосинтез [5], который обеспечивает процесс ассимиляции азота энергией и углеродными акцепторами. Существует мнение, что свет воздействует на нитратредуцирующую систему, активируя неактивную форму нитратредуктазы либо регулируя ее активность через фитохромную систему [14, 17]. В последние годы обсуждается гипотеза [20] о существовании специфического ингибитора нитратредуктазы, действие которого проявляется при помещении растений в темноту. На свету ингибитор (вероятно, белковой природы) распадается.

На основании имеющихся в литературе данных пока невозможно четко разделить прямые и косвенные эффекты света, определяющие как интенсивность поглощения растениями форм азота, так и особенности их ассимиляции в тех или иных конкретных условиях. Неидентичность данных научной литературы подчас объясняется тем, что в исследованиях использовались растения с неодинаковой требовательностью к свету вообще и его интенсивности в частности, а также разного возраста и солевого статуса.

Целью настоящей работы было выяснить, как влияет интенсивность освещения на поглощение нитратной и аммонийной форм азота растениями томата, изучить соотношение между поглощаемыми формами азота, а также выявить связь между процессами поглощения нитрата и аммония и активностью нитратредуктазы при варьировании уровня освещения.

Методика

Исследования проводились в апреле 1983 г. в лаборатории искусственного климата Тимирязевской академии в условиях, близких к факторостатным (16-часовой светопериод, температура 25° днем и 20° ночью, влажность воздуха 60—70 %). Интенсивность освещения (металлогалогеновой лампой ДМЗ-3000) в опытных вариантах понижалась в 2 и 5 раз с помощью марлевых и тканевых фильтров, не меняющих

качественного состава света и обеспечивающих равное затенение на большой площади и вентиляцию. Значения интенсивности светового потока на уровне растений были следующими: 100 Вт ФАР на 1 м² (высокий уровень), 50 Вт/м² (средний уровень), 20 Вт/м² (низкий уровень освещения).

Семена томатов сорта Белый налив проращивались в термостате при 24°, затем проростки в возрасте 3—4 дней высажива-

ли на 0,25 н. модифицированную смесь Прянишникова и переносили в условия освещения среднего уровня на 5 дней. По истечении указанного срока растения, переведенные на полную питательную смесь Прянишникова, распределяли в соответствии с вариантами освещения. Общая повторность в опытах 8-кратная.

Полный модифицированный раствор Прянишникова содержал 3 ммоль нитрата аммония, рН 5,6. В процессе предподготовки раствор обновляли каждые 3—4 дня, последний раз — за 12 ч до начала эксперимента.

В период проведения суточного эксперимента с 30-дневными растениями пробы питательных растворов отбирали каждые 4 ч от начала фотопериода, а растения помещали на свежую питательную смесь. Погло-

щение аммония и нитрата определяли по их убыли из раствора. Перед взятием проб устанавливали объем раствора в сосудах (исходный — 250 мл) для учета поглощенной растениями воды и последующего расчета данных. В корнях и листьях одновременно измеряли активность нитратредуктазы.

По окончании экспериментов определяли сухую и сырую массу корней и надземных органов, а также параметры растений.

Содержание пигментов в листьях оценивали фотометрическим методом [3]. Содержание нитратов в питательном растворе устанавливали модифицированным методом [17] с салициловой кислотой, содержание аммония — с реактивом Несслера [12], активность нитратредуктазы — методом *in vivo* [20].

Результаты

Уровень освещенности существенно влиял на показатели роста томатов (табл. 1).

При высоком уровне освещенности (100 Вт/м²) растения отличались большим линейным ростом и опережали в развитии растения остальных вариантов, их сырая и сухая масса была выше. Эффект за-

Таблица 1

Показатели роста 30-дневных растений

Вариант освещения, Вт/м ²	Число листьев, шт.	Высота стебля, см	Сырая масса растения, г	Сухая масса растения, г
100	7,0	20,0	7,8	0,7
50	6,5	19,8	6,1	0,5
20	5,0	16,0	2,8	0,2

Таблица 2

Содержание пигментов в листьях томатов (мг на 1 г сырой массы)

Вариант освещения, Вт/м ²	Хлорофилл <i>a</i>	Хлорофилл <i>b</i>	<i>a/b</i>	Каротиноиды
100	1,84	0,94	2,96	0,39
50	2,32	1,37	1,69	0,43
20	1,62	0,86	1,88	0,24

тенения проявлялся сильнее при уменьшении освещенности в 5 раз. По-видимому, оптимальный уровень облучения находится в пределах 50—100 Вт/м², что обусловлено определенной теневыносливостью томата.

При снижении интенсивности освещения до 50 Вт/м² существенно увеличивалось содержание всех пигментов зеленого листа (табл. 2). Дальнейшее ее уменьшение приводило к резкому снижению биосинтеза пигментов. Примечательно, что в последнем случае одновременно снижалось содержание всех пигментов, а соотношение хлорофиллов *a* и *b* оставалось примерно на одном уровне.

Известно, что формирование полноценного фотосинтетического аппарата зависит от того, насколько близки к оптимуму уровень азотного питания и интенсивность света [1]. Следует полагать, что снижение освещенности в 5 раз вызывает этиоляцию, последствия которой растения не в состоянии избежать, в то время как при снижении интенсивности света в 2 раза дефицит света устраняется за счет увеличения количества пигментов.

Интенсивность освещения практически не влияла на ритмичность функционирования систем поглощения аммония и нитрата в корнях (рис. 1). Отмечались дневной и ночной пики поглощения ионов. Уровень освещенности отражался как на амплитуде, так и периоде колебаний поглощения ионов. Затенение в большей степени влияло на поглощение ионов нитрата, чем аммония. При снижении интенсивности света в 2 раза амплитуда и период колебания поглощения иона аммо-

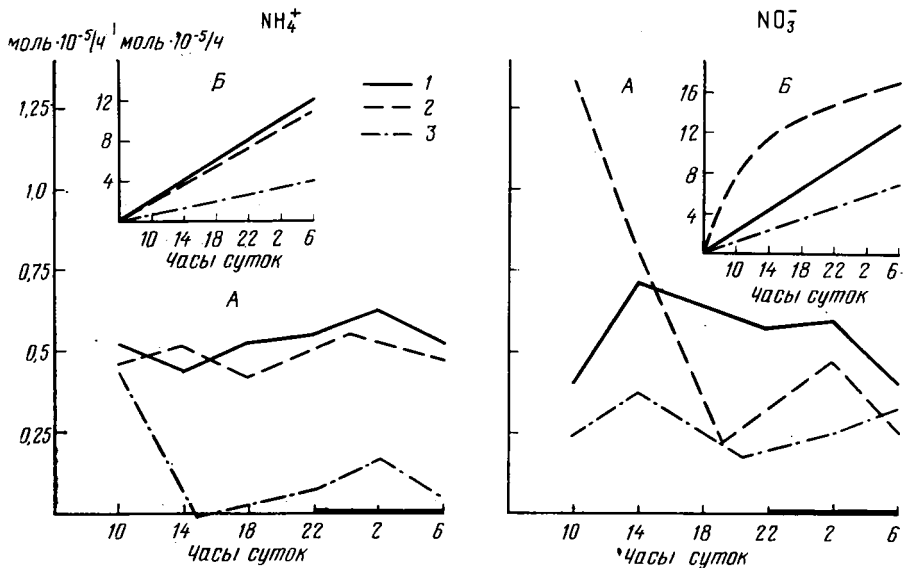


Рис. 1. Кинетика (А) и динамика (Б) поглощения ионов аммония и нитрата (в расчете на 1 растение).

1—3 — освещенность соответственно 100, 50 и 20 Вт/м².

ния изменялись незначительно (рис. 1, А), однако произошел сдвиг во времени проявления максимумов скорости его поглощения.

Поглощение иона нитрата в зависимости от освещенности варьировало сильнее. Так, амплитуда дневного пика при освещенности 50 Вт/м² была в 2 раза больше, и наблюдался он на 3 ч раньше. Временные периоды ночных пиков в поглощении ионов совпадали, но скорость поглощения нитрата при затенении была на 30 % ниже.

Наиболее существенные изменения в поглощении ионов нитрата и аммония выявлены при снижении уровня освещенности в 5 раз, причем если интенсивность поглощения аммония снижалась с сохранением в целом ритмичности процесса, то снижение скорости поглощения нитрата сопровождалось нарушением ритмичности процесса в ночные часы (рис. 1, А).

Анализ динамики поглощения ионов показал, что при снижении интенсивности света в 2 раза (по отношению к 100 Вт/м²) суммарное поглощение аммония корнями растений практически не изменялось, а видимое поглощение нитрата даже увеличилось примерно на 25 % (рис. 1, Б). При дальнейшем уменьшении освещенности интенсивность поглощения ионов аммония снижалась в 3 раза, а ионов нитрата — в 2 раза.

Уровень освещенности весьма существенно отражался на избирательности поглощения ионов корневой системой томата (табл. 3).

При максимальной освещенности в светлые часы суток ионы нитрата и аммония поглощались в равной мере. С наступлением темноты соотношение изменялось в пользу ионов аммония. При снижении интенсивности света вдвое в дневные часы ион нитрата поглощался в 2 раза медленнее, чем ион аммония, в то время как в ночные часы растения больше поглощали ионов аммония. При сильном затенении независимо от времени суток томаты преимущественно поглощали ион нитрата, причем соотношение поглощения ионов было одинаковым как в дневные, так и ночные часы.

Таблица 3
Соотношение поглощения томатами ионов NH_4^+ и NO_3^-

Вариант освещения, Вт/м ²	$\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$	
	день	ночь
100	0,94	1,15
50	0,55	1,29
20	0,40	0,39

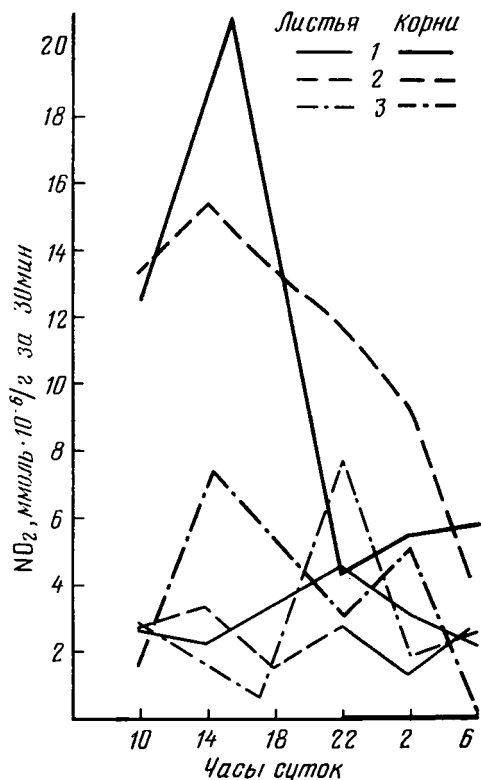


Рис. 2. Активность нитратредуктазы в органах томата. Обозначения те же, что на рис. 1.

начала фотопериода. В светлые часы суток она была наименьшей у растений, выросших при максимальном затенении, однако к концу светового периода активность НР в этом варианте резко возрастала и была даже выше, чем при максимальной освещенности.

Условия световой предподготовки оказали заметное влияние на активность *in vivo* нитратредуктазы (НР) в корнях и листьях (рис. 2, А, Б). Максимальная активность НР отмечалась в листьях растений, выращенных без затенения, причем дневной пик активности был в 4 раза больше, чем ночной. При снижении уровня освещенности до 50 Вт/м² активность НР в дневные часы заметно уменьшалась. В ночные часы она оставалась достаточно высокой, но нарушалась ее ритмичность. Наиболее сильное подавление активности НР в листьях (с сохранением ритмичности процесса) происходило при снижении интенсивности света в 5 раз. Падение активности НР отмечалось в основном в светлые часы суток и к концу ночи (рис. 2, Б).

В корнях четкой ритмичности активности НР не отмечалось (рис. 2, А), хотя интенсивность света существенно влияла на общий уровень восстановления ионов нитрата. Существенная разница между вариантами опыта проявлялась по истечении 8 ч от

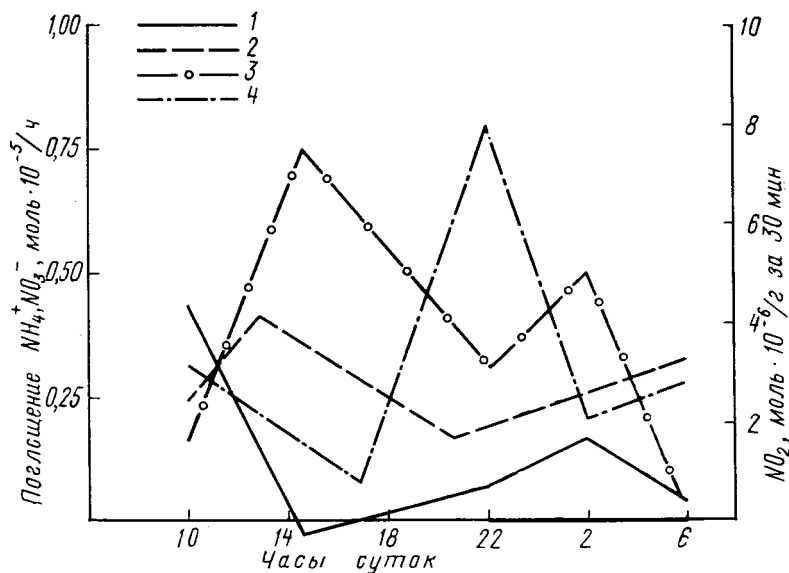


Рис. 3. Кинетика поглощения NH_4^+ и NO_3^- (в расчете на 1 растение) и активность нитратредуктазы при освещенности 20 Вт/м². 1 и 2 — кинетика поглощения соответственно NH_4^+ и NO_3^- ; 3 и 4 — активность нитратредуктазы в листьях и корнях.

Сопоставление кинетических кривых поглощения ионов аммония и нитрата, с одной стороны, и активностью НР, с другой, у растений, выращенных при минимальной интенсивности света, показало, что в светлые часы суток максимальной активности НР в корнях соответствуют пики поглощения как ионов нитрата, так и аммония, причем пик поглощения нитрата запаздывает на 3 ч (рис. 3). Однако в ночные часы пики активности НР в корнях и поглощения ионов аммония находились в противофазе. Ритмы поглощения ионов нитрата в большей степени соответствовали ритму активности НР в листьях (рис. 3), хотя и в данном случае полного совпадения суточных ритмов не было. Пики поглощения ионов аммония по отношению к активности НР листьев находились в светлые часы суток в противофазе, а в ночные — совпадали по фазе.

Обсуждение результатов

Влияние света на поглощение аммиачной и нитратной форм азота, активность НР, взаимосвязь поглощения ионов аммония и нитрата и активности НР не всегда однозначно [24, 25], и определяющую роль в интерпретации полученных исследователями данных играют условия выращивания (подготовки) растений [18], в частности, солевой статус, уровень освещенности, длительность выращивания. Безусловно, имеют значение и биологические особенности изучаемых растений и, в частности, возможности их азотассимилирующей системы [22].

Использованные в нашем исследовании уровни освещенности растений предопределили существенную разницу между вариантами как в накоплении фотоассимилятов в светлые часы суток, так и в обеспечении ими нефотосинтезирующих органов (корни). В последние годы весьма активно обсуждается гипотеза о принципиальном различии механизмов, ответственных за ассимиляцию нитрата в дневные и ночные часы суток [13].

Немаловажно также определить адаптационные возможности растений к источникам питания, так как в зависимости от предшествующих условий выращивания растения, очевидно, могут формировать специфические метаболические системы, нацеленные на усвоение, например, той или иной формы минерального азота. В этом случае весьма целесообразно использовать метод биоритмологии. Несомненным преимуществом данного подхода является и то, что функции поглощения ионов аммония и нитрата можно сопоставить во времени с активностью *in vivo* НР.

Ритмичность функционирования систем поглощения ионов проявляется при всех уровнях освещения. При уменьшении интенсивности света в 5 раз по отношению к исходной (100 Вт/м²) еще не достигается пороговая величина, когда можно было бы ожидать весьма резкого нарушения ритма поглощения ионов нитрата и аммония. Примечательным является то, что в большинстве точек наблюдения высота пиков поглощения ионов находилась в прямой зависимости от интенсивности света (рис. 1, А, Б). Зависимость между интенсивностью света и работой систем поглощения более сильная для ионов аммония, так как, по нашему мнению, за поглощением иона аммония должна незамедлительно следовать его ассимиляция, в то время как большая часть поглощенного иона нитрата может быть «извлечена» из метаболического пула в результате перераспределения последнего в запасной пул (вакуоли) [26]. Именно этим объясняется, по старым представлениям [4], безвредность ионов нитрата для растения.

В связи с тем, что ионы аммония и нитрата имеют разные заряды, прямой конкуренции между ними за переносчик нет. Однако для активного поглощения того и другого иона требуются затраты энергии. Поэтому следует ожидать опосредованной конкуренции за АТФ между системами поглощения нитрата и аммония. Надо полагать, что она сильнее проявляется у тех растений, которые из-за неудовлетворитель-

ных световых условий лишены возможности генерировать АТФ в процессе фотосинтеза, а затем и в дыхательных цепях.

При максимальной освещенности в течение светлых часов суток ионы аммония и нитрата поглощались в соотношении 1 : 1 (табл. 3). С наступлением ночи активнее работала система поглощения аммония, что, по нашему мнению, связано с усилением темнового дыхания и увеличением числа акцепторов аммония в виде органических кислот. Такая тенденция сохранялась и у растений, выращенных при интенсивности света 50 Вт/м², хотя в этом варианте в светлые часы суток ионы нитрата поглощались томатами приблизительно в 2 раза сильнее, чем ионы аммония. Растения, выросшие при низком уровне освещенности, и днем и ночью поглощали ионы нитрата более интенсивно, чем ионы аммония. Столь, казалось бы, необычное поведение затененных растений, очевидно, объясняется тем, что большая часть АТФ, восстановительных эквивалентов (НАДФ·Н) и углеводов используется в месте их образования, т. е. в листьях. Об этом свидетельствует и более высокая активность НР в листьях, чем в корнях, а также лучшее совпадение у первых ритмов поглощения нитрата и активности НР (рис. 3). Активность нитратредуктазы в корнях повышается к концу светового периода, в листьях она в это время падает. Тем самым подтверждается положение о функционировании двух различных механизмов (дневного и ночного), ответственных за редукцию нитрата.

В научных исследованиях неоднократно делались попытки [21] выявить в системах *in vivo* зависимость активности НР или от субстрата реакции (ионов нитрата), или конечного продукта его ассимиляции (ионов аммония). Однозначного ответа получить не удалось, поскольку опыты проводились на различных объектах, растениях разного возраста и солевого статуса, выращенных при различных интенсивностях света и т. д.

В проведенных нами ранее опытах [7] было выдвинуто положение, что активность НР регулируется конечным продуктом только в стрессовых или близких к ним условиях. В этой связи представляется необходимым сопоставить профили кинетических кривых поглощения нитрата и аммония и активности НР у растений, испытывавших сильное затенение (рис. 3). В таких условиях кинетика поглощения иона нитрата хорошо совпадала с суточным ритмом активности НР в листьях, где в основном происходит восстановление нитрата у растений, испытывавших дефицит света. Поглощение иона аммония с ростом активности НР в листьях в дневные часы резко падало, и они даже выделялись в раствор (рис. 1, А, Б). Увеличение поглощения аммония в ночные часы обуславливалось подавлением активности НР корней.

Полученные результаты позволяют предположить, что между процессами поглощения иона аммония и активностью НР органов растений существует взаимовлияние. Так, при возрастании активности НР (например, в листьях) резко ингибируется поглощение аммония (очевидно, вследствие высокой концентрации эндогенного аммиака). В свою очередь повышение скорости поглощения аммония в ночные часы (образование акцепторов аммиака как результат темнового дыхания [1]) определяет снижение активности НР в корнях.

Заключение

При уменьшении интенсивности света, не достигающей порогового значения, растения томата сохраняют свойственный им ритм поглощения ионов аммония и нитрата.

В большинстве точек наблюдения поглощение аммония и нитрата находилось в прямой зависимости от интенсивности светового потока, причем более строгое соответствие между интенсивностью света и работой систем поглощения отмечалось для ионов аммония.

При максимальной освещенности в дневные часы соотношение поглощения ионов аммония и нитрата 1 : 1; в ночные часы несколько ин-

тенсивнее поглощаются ионы аммония. Растения, выращенные при сильном затенении, и днем, и ночью более интенсивно поглощают ионы нитрата, у этих растений в дневные часы активность НР в листьях значительно выше, чем в корнях. При увеличении активности НР в листьях в дневные часы резко подавляется поглощение ионов аммония. В ночные часы повышение скорости поглощения ионов аммония приводит к значительному снижению активности НР в корнях томатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева Т. Ф. Фотосинтез и азотный обмен растения. — В кн: Физиология фотосинтеза/Под ред. А. А. Ничипоровича. М.: Наука, 1982, с. 89—104. — 2. Власова Н. Н. Влияние спектрального состава и интенсивности света на некоторые показатели азотного метаболизма растений. — Автореф. канд. дис. Минск, 1979. — 3. Гавриленко В. Ф., Ладыгина М. Е., Хандобина Л. М. Большой практикум по физиологии растений. М.: Высшая школа, 1975. — 4. Гукова М. М. Нитраты в азотном обмене растений. — Изв. ТСХА, 1971, вып. 6, с. 72—80. — 5. Дудель Г., Пешкова А. А., Поликарпочкина Р. Г. Влияние интенсивности света на активность ферментов ассимиляции азота и накопление азота в проростках кукурузы. — Агрехимия, 1976, № 5, с. 106—111. — 6. Кондратьев М. Н., Аладина О. Н. Избирательность поглощения аммония и нитрата кукурузой при адаптации к разным температурам. — В сб.: Пробл. химиз. и мелиор. М., ТСХА, 1981, с. 59—63. 7. Кондратьев М. Н., Васюков Ю. В., Аладина О. Н. Кинетика поглощения растениями кукурузы ионов аммония и нитрата при перепадах температуры. — С.-х. биология, 1983, № 10, с. 68—73. — 8. Кондратьев М. Н., Химица Е. Г., Третьяков Н. Н. Поглощение нитрата и катионов растениями кукурузы при различной их обеспеченности элементами питания. — Агрехимия, 1981, № 6, с. 60—70. — 9. Леман В. М. Культура растений при электрическом свете. — М.: Колос, 1971. — 10. Мошков Б. С. Свет и растение. — М.: Знание, 1965. — 11. Ниловская Н. Г., Смирнов Н. О. Изучение компонентов темнового дыхания растений в зависимости от факторов среды. — Физиол. растений, 1984, т. 31, № 1, с. 188—198. — 12. Петербургский А. В. Практикум по агрохимии растений. — М.: Колос, 1968. — 13. Abrol J. P., Sawhney S. K., Naik M. S. — Plant, Cell a. Environ., 1983, vol. 6, N 8, p. 595—599. — 14. Acton G., Starr R. — Proc. Austr. Biochem. Soc., 1978, vol. 11, N 11, p. 59—64. — 15. Cannon P. T., Atkins C. A. — Planta, 1974, vol. 116, N 3, p. 207—224. — 16. Cataldo D. A., Haroon M., Schrader L. E., Youngs V. L. — Commun. Soil Sci. a plant. Analysis, 1975, vol. 6, N 1, p. 71—80. — 17. Duke S. H., Duke S. O. — Plant a. Cell Physiol., 1978, vol. 19, N 3, p. 481—489. — 18. Frost W. B., Blevins D. G., Barnett N. M. — Plant. Physiol., 1978, vol. 61, N 3, p. 323—326. — 19. Jolly S. O., Tolbert N. E. — Plant Physiol., 1978, vol. 62, N 2, p. 197—203. — 20. Mulder E. Y., Bakema R., Veen V. — Plant a. Soil, 1959, vol. 10, N 4, p. 335—355. — 21. Palmer C. E. — Z. Pflanzenphysiol., 1972, vol. 93, N 3, p. 201—205. — 22. Pate J. S. — Soil Biol. a. Biochem., 1973, vol. 5, N 1, p. 109—119. — 23. Ruffy T. W., Davir C., Jackson W. A. — Bot. Gaz., 1982, vol. 143, N 1, p. 5—14. — 24. Smith S. M., James D. B. — Plant a. Soil, 1982, vol. 68, N 2, p. 231—239. — 25. Srinivasan R. C. S., Naik M. S. — Regulation of nitrate assimilation by light higher plants. Indian Inst. Sci., 1981, vol. 63, N 4, p. 71—80. — 26. Thiband J. B., Grignon C. — Plant Sci. Lett., 1981, vol. 22, N 3, p. 279—289.

Статья поступила 21 марта 1984 г.

SUMMARY

Plants were grown in water culture in factor-static conditions under three rates of specific irradiation: high, medium and low (100, 50 and 20 wt/m² respectively). Under lowering light intensity but not reaching the threshold one the plants retained the same rhythm of NH₄ and NO₃ ions absorption. In most observation points the NH₄ and NO₃ absorption peaks amplitudes remained in direct dependence on irradiation intensity. Under maximum illumination during the daytime these ions were absorbed at the ratio of 1:1; and at night NH₄ ions were absorbed somewhat more intensively but for high light exhaustion when NO₃ ions were absorbed more intensively. Increase in nitratoreductase (NR) activity in the leaves at daytime sharply inhibited NH₄ absorption. At night NH₄ ions sharply inhibited NR in tomato roots. A conclusion is drawn that in tomato plants NO₃ reduction is performed through different mechanisms at daytime and at night.