ACTA SOCIETATIS
BOTANICORUM POLONIAE
Vol. XXXV — Nr 2
1958

Synteza glutaminy i asymilacja azotu z mocznika w porównaniu z jonami amonowymi

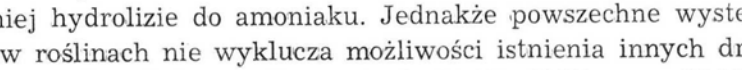
Glutamine synthesis and nitrogen assimilation from urea when compared with that from ammonium ions

Z. KANIUGA

Do roku 1953 badania nad mocznikiem w roślinach dotyczyły takich zagadnień jak: 1. pobieranie i wykorzystanie mocznika przez rośliny (Klein 1931, Hansteen 1899), 2. występowanie mocznika i ureidów (Klein i Taubock 1930, 1931), 3. powstawanie mocznika z ureidów (Klein i Taubock 1931a) oraz z argininy (Damodaran i Venkatesan 1948, Kiesel 1922, Klein i Taubock 1932, 1932a). W latach 1932-48 pobieranie lub przemiany mocznika traktowane były na marginesie innych badań (Kultzscher 1932, Mothes 1940).

Od roku 1953 przemiany wolnego mocznika stały się przedmiotem szczególnego zainteresowania głównie ze względu na prowadzone od około 10 lat intensywne badania nad dolistnym żywieniem mocznikiem drzew owocowych i innych roślin uprawnych (Boynton 1954). W związku z tym, już po rozpoczęciu naszych badań, ogłoszono szereg publikacji poświęconych przemianom wolnego mocznika w roślinach (Boynton, Margoliss, Gross 1953, Hinsvark, Wittwer, Tukey 1953, Yatazawa i Tai 1953, Kuykendall i Wallace 1954, Webster, Varner, Gansa 1955, Cain 1956).

Punktem wyjściowym naszych badań nad wpływem mocznika na syntezę glutaminy i asymilację jego azotu było spostrzeżenie Reifera i Melville'a (1948), że nawożenie rajgrasu *(Lollium perenne)* mocznikiem oraz siarczanem amonowym w kulturach polowych powoduje w przypadku mocznika szybsze gromadzenie się glutaminy. Na tej podstawie autorzy ci sugerują możliwość bezpośredniego udziału mocznika w syntezie glutaminy, zakładając, że gdyby mocznik był wykorzystywany dopiero po hydrolizie do amoniaku, przyrosty glutaminy byłyby ilościowo zbliżone do przyrostów w przypadku siarczanu amonowego. Reifer (1949) postuluje następujący przebieg reakcji:



2 kwas glutaminowy + mocznik → 2 glutamina + CO_2 + H_2O

Zgodnie z ogólnie przyjętym poglądem (Kiesel 1927, Prianiszniko w 1953) mocznik może być wykorzystany przez rośliny dopiero po uprzedniej hydrolizie do amoniaku. Jednakże powszechne występowanie ureazy w roślinach nie wyklucza możliwości istnienia innych dróg przemiany mocznika. Tak np. Granick (1937, 1938) oraz Williams i Sharma (1954) zaobserwowali, że w badanych przez nich roślinach zmiany aktywności ureazy były ściśle powiązane z podziałem i powiększaniem się komórek, a nie z ilościowymi zmianami zawartości poszczególnych frakcji azotowych. Z drugiej strony Warker (1952) stwierdził przyswajanie mocznika i tworzenie argininy i kwasu argininobursztynowego przez komórki *Chlorella* nie zawierające ureazy w ilościach wykrywalnych.

Celem podjętych przez nas badań było: w pierwszym etapie — potwierdzenie spostrzeżeń Reifera i Melville'a (1948) przez ilościowe scharakteryzowanie przyrostów glutaminy i asymilacji azotu z mocznika i jonów amonowych, oraz — w drugim — wyjaśnienie, jakie czynniki warunkują to ewentualnie szybsze gromadzenie się glutaminy w obecności mocznika niż jonów amonowych. Praca niniejsza dotyczy pierwszego zagadnienia.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Materiał doświadczalny

W związku z celem pracy przedstawionym we wstępie większość doświadczeń przeprowadzono na rajgrasie *(Lollium perenne)*, który tworzy glutaminę tak intensywnie, że w pewnych warunkach wydziela ją na powierzchni liści (Greenhill i Chibnall 1934, Curtis 1944).

Nasiona rajgrasu wysiewano na piasku wydmowym umieszczonym w krystalizatorach zawierających 1500 g piasku oraz 225 g wody. Rośliny hodowano w ciągu 9—14 dni (od dnia wysiewu) na parapecie otwartego okna od strony południowej, uzupełniając codziennie brakującą ilość wody do zawartości wyjściowej. W tych warunkach liście osiągały wielkość 4—6 cm.

Dla porównania przemian mocznika w rajgrasie z jego przemianami w innych roślinach, wykonano doświadczenia na roślinach charakteryzujących się odmiennym niż w rajgrasie metabolizmem amidów. Użyto więc liści fasoli (Konserwa Złota), w których — jak wiadomo — na skutek zwiększania się amoniaku w tkankach tworzy się asparagina (Mothes 1926), oraz liści pomidorów wytwarzających w tych warunkach glutaminę

i asparaginę (C l a r k 1936). Do kilku doświadczeń wzięto liście szczawiu, które, mimo niskiego pH soku komórkowego (i w związku z tym, jak przypuszczano, małej aktywności ureazy), posiadają zdolności syntezy amidów (K u l t z s c h e r 1932, S c h w a b 1936).

Wzbogacanie roślin i liści w mocznik i jony amonowe

K u l t u r y p i a s k o w e. W doświadczeniach, które miały na celu wzbogacenie liści rajgrasu możliwie jednakowymi ilościami azotu mocznika lub jonów amonowych, rośliny podlewano uprzednio bezazotową pożywką Hellriegla zawierającą chlorek wapnia zamiast azotanu wapnia. W tym celu na 3—4 dni przed właściwym wzbogacaniem roślin w mocznik i jony amonowe, rajgras w krystalizatorach podlewano dwukrotnie 30 ml pożywki Hellriegla uzupełniając jak zwykle zawartość wody do 225 g (tj. 15% masy piasku).

W przeddzień wzbogacenia rajgrasu w mocznik i jony amonowe nie podlewano go wodą w celu uzyskania pewnego niedoboru (około 100—120 g wody) wilgotności piasku. W dniu doświadczenia poszczególne krystalizatory z rajgrasem podlewano roztworem mocznika (100 ml) oraz roztworem siarczanu amonowego lub kwaśnego węglanu amonowego o stężeniu azotu 1120 mg/l.

Ilościowo różne pobieranie mocznika i jonów amonowych uzyskiwano przez zwiększenie stężenia azotu w roztworach do 2240 mg/l, oraz przez niepodlewanie pożywką Hellriegla. W tych warunkach mocznik był około dwa razy szybciej pobierany niż siarczan amonowy.

Rajgras podlewano roztworami mocznika i jonów amonowych w dnie słoneczne o temperaturze powyżej 24°. Doświadczenia te przeprowadzono w okresie od maja do września. Rośliny podlewano rano w godz. 8—9 i krystalizatory umieszczano w nasłonecznionym miejscu.

K u l t u r y o d c i ę t y c h l i ś c i w r o z t w o r a c h. Liście badanych roślin zanurzano odciętymi końcami w roztworach mocznika lub siarczanu amonowego o stężeniu azotu 1120 mg/l. Doświadczenia rozpoczynano rano w godz. 8—9 i próby liści pozostawiano w nasłonecznionym miejscu.

W doświadczeniach, w których użyto liści pomidorów i fasoli, pobierano próbki 10 g, składające się z listków szczytowych, o ogonkach około 0,5 cm długości, natomiast próbki liści szczawiu, o tym samym ciężarze i liczbie liści, posiadały ogonki około 2 cm długości.

Chociaż roztwory mocznika z umieszczonymi w nich próbkami liści nie wykazywały po 10 godzinach śladów amoniaku, to jednak w doświadczeniach dłużej trwających roztwory zarówno mocznika, jak i siarczanu amonowego zmieniano co 10 godzin.

Metody analityczne

Przygotowanie wyciągu. Z poszczególnych krystalizatorów danej serii doświadczenia („mocznikowej lub amonowej") ścinano nożyczkami małe próbki liści rajgrasu, z których odważano średnią próbkę 8—10 g. Liście rajgrasu, pomidorów, fasoli i szczawiu cięto nożyczkami na małe fragmenty (1—2 cm) i przenoszono do zlewki. Następnie, aby wywołać cytolizę tkanki, dodawano eteru, wg metody Vickery i in. (1935), oraz kwasu octowego dla inaktywacji ureazy (Reifer i Melville 1948) i około 50 ml wody. Zakwaszenie próby do pH 4,5 jest wg badań Reifera i Melville'a niezbędne dla uniknięcia przyrostów amoniaku w wyniku hydrolizy mocznika przez ureazę tkanki roślinnej. Z kolei materiał przeznaczony do analiz rozdrabniano w homogenizatorze typu „Waring-Blendor", przenoszono do cylindra miarowego i dopełniano wodą do 100 ml. W celu oddzielenia włókien homogenizat sączono przez gazę, a następnie, po przesączeniu przez bibułę, klarowny wyciąg przeznaczano do oznaczeń wolnego amoniaku, mocznika, glutaminy i asparaginy.

Oznaczenie azotu ogólnego. Azot ogólny oznaczano metodą jodometryczną Reifera i Tarnowskiej (1950). Z homogenizatu przesączonego przez gazę pobierano do mineralizacji 2 próby po 5 ml. Do utleniania amoniaku roztworem podbrominu pobierano próbki 2—5 ml, po czym nie zużyty na utlenienie amoniaku podbromin miareczkowano 0,005 N roztworem tiosiarczanu sodowego.

Oznaczenie wolnego amoniaku. Wolny amoniak oznaczano metodą Puchera i in. (1935), z tym, że w destylacie oznaczano go metodą podbrominową Reifera i Tarnowskiej (1952). Do oznaczeń pobierano 5—20 ml o zawartości nie mniej niż 20 μg azotu amoniaku. Amoniak (wolny oraz powstały w wyniku hydrolizy mocznika, glutaminy i asparaginy) destylowano na aparacie Puchera i in. (1935) w modyfikacji Reifera i Tarnowskiej (1952).

Oznaczenie mocznika. Zawartość mocznika oznaczano na podstawie ilości amoniaku powstałego w wyniku jego hydrolizy za pomocą ureazy. W tym celu do 5 lub 10 ml klarownego wyciągu dodawano wyciągu ureazy (w buforze fosforanowym o pH 6,5) z mączki *Canavalia ensiformis* i próbę umieszczano na pół godziny w łaźni wodnej o temperaturze 38°. (Wyciągi z liści szczawiu buforowano dodatkowo do pH 6,5). Powstały amoniak destylowano i oznaczano jak wyżej.

Dodatek argininy do preparatu ureazy w tych warunkach nie powodował przyrostu amoniaku.

Oznaczanie asparaginy. Hydrolizę asparaginy i destylację powstałego amoniaku wykonywano metodą Puchera i in. (1935). Amoniak oznaczano, jak podano wyżej. W obliczeniach uwzględniono całkowitą hydrolizę glutaminy i częściową mocznika. Ten ostatni wg naszych obserwacji był hydrolizowany w 23%. Oznaczenie asparaginy traktowano orientacyjnie.

Oznaczanie glutaminy. Zawartość glutaminy oznaczano na podstawie ilości amoniaku uwolnionego w wyniku hydrolizy enzymatycznej przy użyciu szczepu *Clostridium welchii* SR-12 * wg metody Krebsa (1948) adoptowanej do oznaczeń w materiale roślinnym przez Jeżewską (1954). Do oznaczeń pobierano 5 ml (lub mniej) klarownego wyciągu, dodawano 0,25 ml 2 M buforu octanowego o pH 4,9, 1 ml zawiesiny bakteryjnej oraz 1 kroplę 1% cetawlonu (bromek trójmetylocetyloamoniowy). Kolbki umieszczano w termostacie o temperaturze 38° na pół godziny, po czym odszczepiony amoniak destylowano i oznaczano, jak podano wyżej.

Tabela 1
Powtarzalność wyników w próbach równoległych rajgrasu

	Próba	N-ogól.	N-NH_3	N-amid. glut.	N-mocz.	N pobrany*
Próby kontrolne	1	262,5	2,48	5,56	—	
	2	266,2	2,01	6,16	—	
	3	263,4	2,10	5,84	—	
Maksymalne wahania		3,7	0,47	0,60		
4 godziny po podlaniu	4	316,6	5,65	11,63	6,16	53,2
	5	315,2	5,84	11,25	5,56	
	6	320,8	5,74	10,97	5,93	
Maksymalne wahania		5,6	0,19	0,66	0,60	

*) Obliczono z wartości średnich azotu ogólnego

Powtarzalność wyników. Tabela 1 przedstawia różnice w zawartości azotu ogólnego, amoniaku, glutaminy i mocznika między równoległymi próbkami rajgrasu, na początku doświadczenia oraz w cztery godziny po podlaniu roztworem mocznika.

Z danych tabeli 1 wynika, że wahania w ilości azotu pobranego wynosiły (przy małych ilościach) do 10%, natomiast zawartość azotu

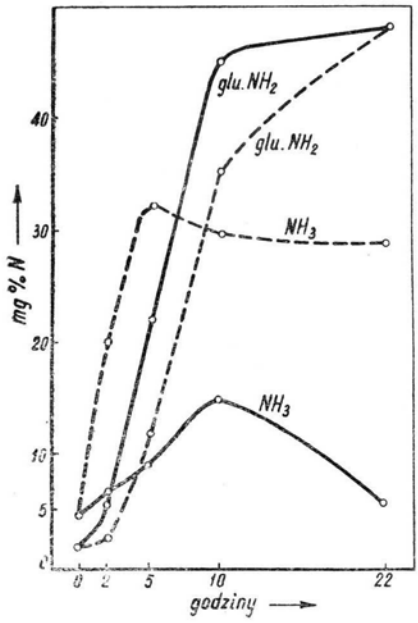
* Pracownikom Działu Bakteriologii P. Z. H. w Warszawie autor serdecznie dziękuje za wielokrotne udostępnienie czystych kultur do dalszej hodowli wymienionego szczepu.

amoniaku, glutaminy i mocznika nie wykazywała większych różnic niż 0,7% mg.

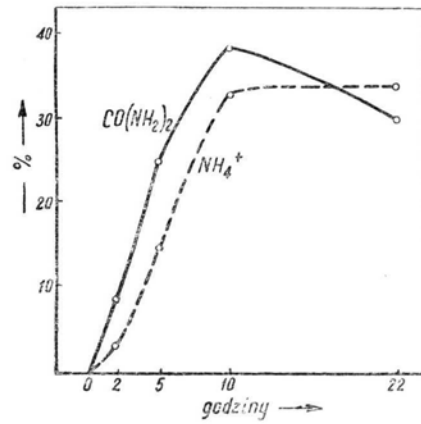
Określenia i obliczenia. Azot pobrany (wchłonięty) przez rośliny z kultur piaskowych lub roztworów określano z różnicy między zawartością azotu ogólnego w próbie pełnej (np. po 5 godzinach od momentu podlania roślin lub umieszczenia liści w roztworach), a zawartością azotu ogólnego w próbie tzw. „zerowej" nie wzbogacanej w mocznik lub jony amonowe.

Azot zasymilowany jest to azot znajdujący się w związkach innych niż „azot substratowy", którym wzbogacano tkankę roślinną — a więc mocznik i amoniak powstający z mocznika, oraz amoniak soli amonowych. Azot zasymilowany obliczano z różnicy: azot pobrany minus „azot substratowy".

Określenie „całkowita zawartość glutaminy" oznacza zawartość glutaminy w % świeżej masy. Wszystkie wyniki podane na wykresach oraz w tabelach wyrażone są w mg azotu na 100 g świeżej tkanki roślinnej. Zawartość poszczególnych związków wyrażona jest jako: N—NH_3, N—mocznika, N—amidowy glutaminy lub asparaginy.



Ryc. 1. Krzywe zmian zawartości amoniaku i glutaminy w liściach rajgrasu podlanego: roztworem mocznika (linia ciągła) i siarczanu amonowego (linia przerywana)



Ryc. 2. Przyrost zawartości glutaminy z mocznika (linia ciągła) i jonów amonowych (linia przerywana) wyrażony w procentach azotu pobranego

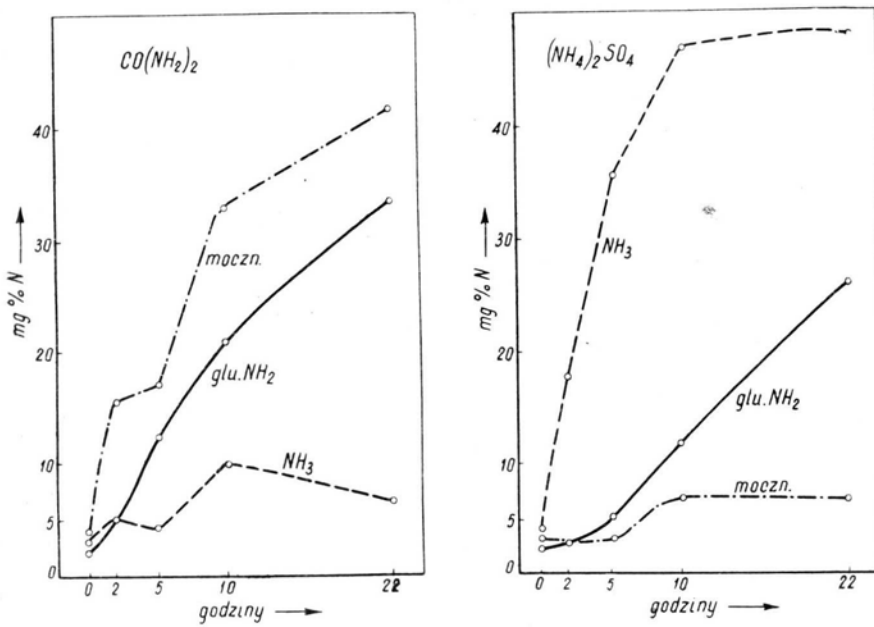
WYNIKI BADAŃ

Kultury piaskowe roślin

1. Wzbogacanie rajgrasu jednakowymi ilościami azotu

W opisanych tu doświadczeniach liście rajgrasu zawierały prawie jednakowe ilości azotu mocznika oraz jonów amonowych.

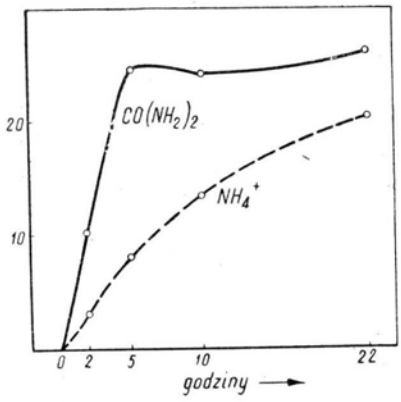
Ryciny 1 i 2 przedstawiają wpływ mocznika i jonów amonowych na szybkość syntezy glutaminy. Jak widać z ryc. 1, w ciągu pierwszych 10 godzin całkowita zawartość glutaminy w rajgrasie podlanym roztworem mocznika jest wyższa niż w próbach podlanych roztworem siarczanu amonowego, mimo że w tym ostatnim przypadku zawartość amoniaku jest przeszło dwa razy większa. Zawartość glutaminy powstałej w wyniku wzbogacenia liści rajgrasu mocznikiem jest w pierwszych 10 godzinach również wyższa w odniesieniu do ilości azotu pobranego przez rośliny (ryc. 2).



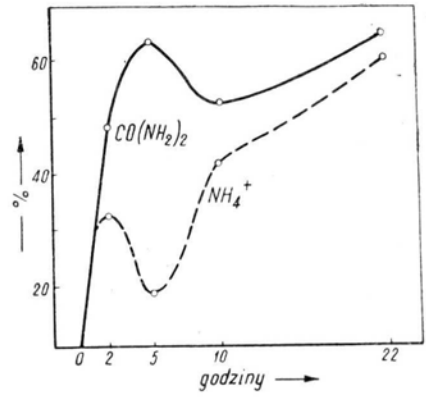
Ryc. 3. Krzywe zmian zawartości amoniaku, mocznika i glutaminy w liściach rajgrasu podlanego roztworem mocznika i siarczanu amonowego

Wyniki doświadczenia przedstawionego na ryc. 3 wykazują w liściach serii „mocznikowej" większe niż w serii „amonowej" zarówno całkowite

przyrosty glutaminy jak i jej przyrosty wyrażone w procentach azotu pobranego (ryc. 4). W doświadczeniu tym zwraca uwagę duża zawartość mocznika i mała amoniaku w próbach serii „mocznikowej" oraz wysoka zawartość amoniaku w próbach serii „amonowej". Największe różnice między próbami obu serii występują w pierwszych godzinach doświadczenia i znajdują swój wyraz nie tylko w zawartości glutaminy (ryc. 4), ale także w ilości azotu zasymilowanego (ryc. 5).



Ryc. 4. Przyrost zawartości glutaminy z mocznika (———) i jonów amonowych (— — —) wyrażony w procentach azotu pobranego.

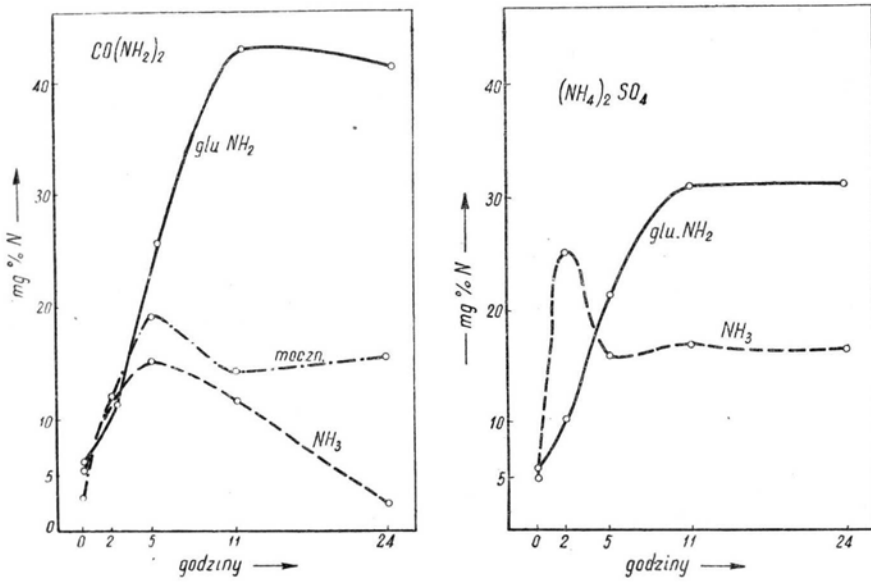


Ryc. 5. Ilość azotu zasymilowanego z mocznika i jonów amonowych wyrażona w procentach azotu pobranego

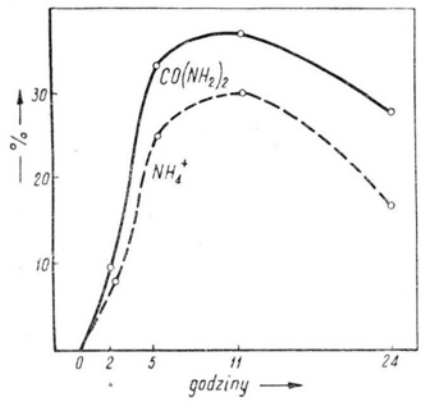
Doświadczenie przedstawione na ryc. 6 i 7 potwierdza spostrzeżenia z doświadczeń omówionych wyżej, jednak na uwagę zasługuje przebieg krzywych ilości azotu zasymilowanego z siarczanu amonowego i mocznika (ryc. 8) zupełnie odmienny niż na ryc. 5.

Przedstawione wyżej doświadczenia, chociaż zgodnie wykazywały większą zawartość glutaminy w wyniku wzbogacenia liści rajgrasu mocznikiem niż jonami amonowymi, różniły się jednak poziomem amoniaku oraz ilością azotu zasymilowanego z mocznika i siarczanu amonowego. Różnice w zawartości glutaminy i ilości azotu zasymilowanego musiały więc być uwarunkowane nie tylko ilością pobranego azotu i poziomem amoniaku, ale także i innymi czynnikami.

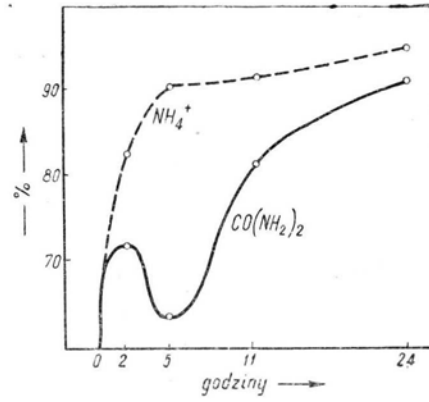
W celu scharakteryzowania wpływu wieku roślin na szybkość syntezy glutaminy, przeprowadzono równoległe doświadczenia na rajgrasie 3, 6 i 11-dniowym (od skiełkowania nasion). Doświadczenia ograniczono do 9 godzin, ponieważ w późniejszym okresie różnice w zawartości glutaminy w próbach serii „mocznikowej" i „amonowej" wyrównują się.



Ryc. 6. Krzywe zmian zawartości amoniaku, glutaminy i mocznika w liściach rajgrasu podlanego roztworem mocznika oraz siarczanu amonowego



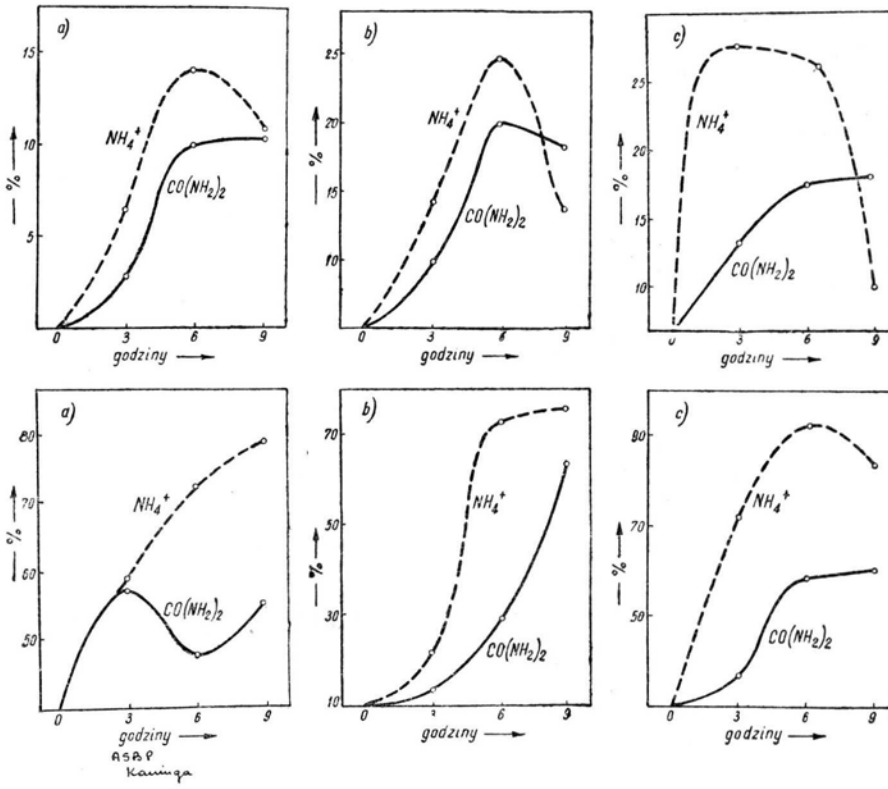
Ryc. 7. Przyrost zawartości glutaminy z mocznika (———) i jonów amonowych (— — —) wyrażony w procentach azotu pobranego.



Ryc. 8. Ilość azotu zasymilowanego z mocznika (———) i jonów amonowych (— — —) wyrażona w procentach azotu pobranego

Wykresy na ryc. 9 (a, b, c) przedstawiają szybkość przyrostu amoniaku, mocznika i glutaminy w liściach rajgrasu w różnym wieku.

Rośliny 3-dniowe (ryc. 9a). wykazują największą intensywność syntezy glutaminy (i pobierania mocznika i jonów amonowych). Poziom amoniaku w próbach serii „amonowej" jest bardzo wysoki. Całkowita zawartość glutaminy po 3 i 6 godzinach w obu seriach jest bardzo zbliżona, natomiast po 9 godzinach w serii „mocznikowej" rośnie szybciej niż w „amonowej". Próby rajgrasu z serii „amonowej" wykazują tylko nieznaczny przyrost mocznika po 6 godzinach.

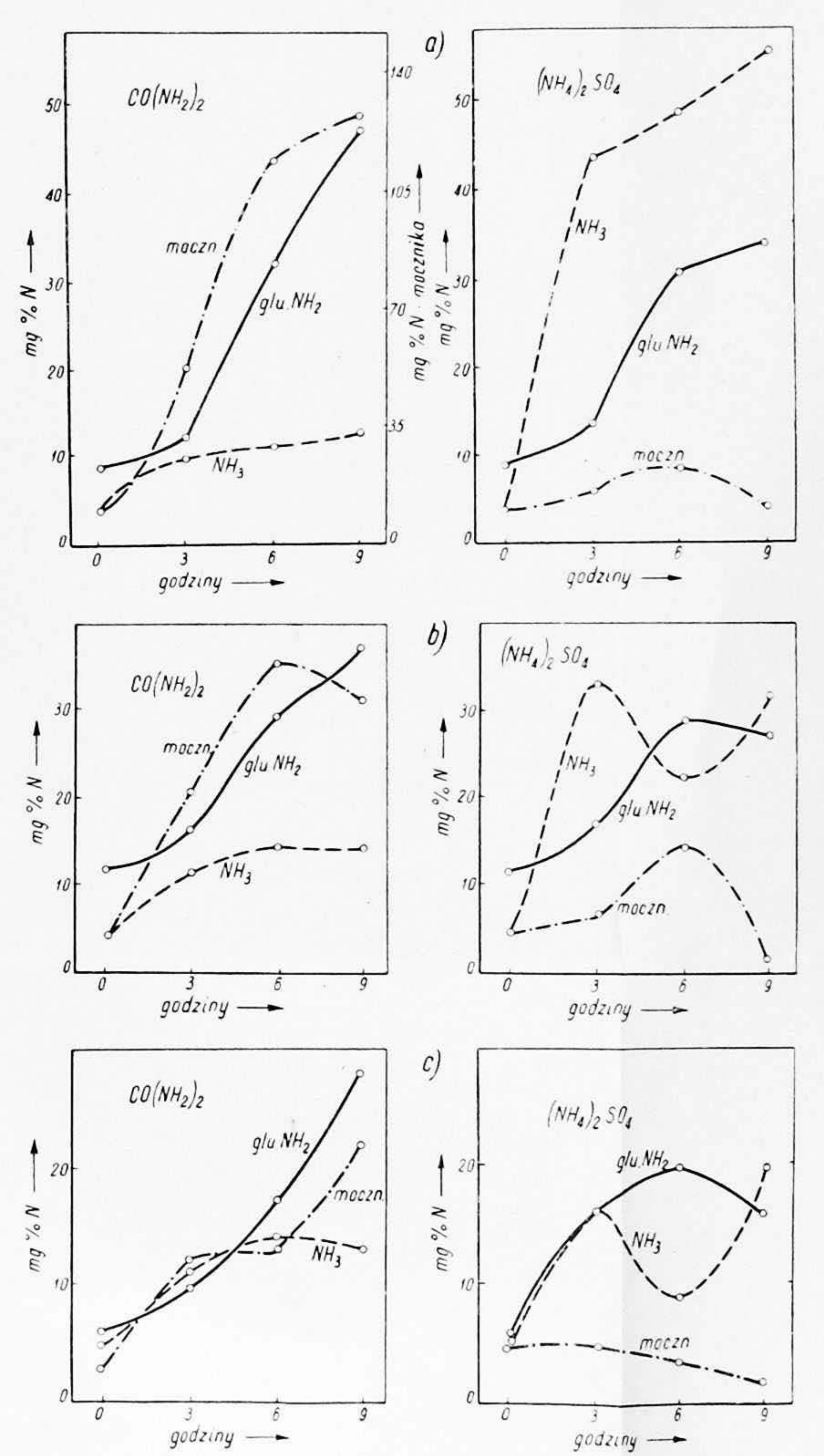


Ryc. 10. Przyrost zawartości glutaminy z mocznika i jonów amonowych wyrażony w procentach azotu pobranego (u góry)

Ryc. 11. Ilość azotu, zasymilowanego z mocznika i jonów amonowych wyrażona w procentach azotu pobranego (u dołu)

a — rośliny 3-dniowe; b — rośliny 6-dniowe; c) — rośliny 11-dniowe

Rośliny 6-dniowe (ryc. 9b). Zawartość mocznika jest w próbach serii „mocznikowej" wysoka i spada w końcu doświadczenia. Zawartość glutaminy w tej serii w ciągu całego doświadczenia wzrasta, natomiast w próbach serii „amonowej" synteza jej, w ostatnich 3 godzinach, jest zahamowana. Przebieg krzywej zawartości amoniaku w liściach wzboga-



Ryc. 9 (a, b, c). Krzywe zmian zawartości amoniaku, glutaminy i mocznika w liściach rajgrasu podlanych roztworem mocznika oraz siarczanu amonowego. a) rośliny 3-dniowe, b) rośliny 6-dniowe, c) rośliny 11-dniowe.

conych jonami amonowymi jest bardzo charakterystyczny i w pewnej mierze przeciwstawny do przebiegu krzywej zawartości mocznika.

Rośliny 11-dniowe (ryc. 9c). W próbach serii „mocznikowej" zawartość glutaminy do końca doświadczenia wzrasta, natomiast zawartość mocznika w okresie 3—6 godzin nie zmienia się. Przebieg krzywej dla zawartości amoniaku jest analogiczny jak w dwu poprzednich doświadczeniach tej serii. W próbach serii „amonowej" zawartość glutaminy po 6 godzinach opada szybciej niż analogiczna krzywa w roślinach 6-dniowych (ryc. 9b). Zawartość amoniaku wykazuje wahania podobne jak w liściach 6-dniowych, z tym jednak, że nie towarzyszy temu przyrost zawartości mocznika, lecz jego spadek.

Charakterystyczną cechą doświadczenia przedstawionego na ryc. 9 (a, b, c) jest fakt, że w ciągu pierwszych 6 godzin całkowite przyrosty glutaminy w obu seriach są jednakowe, natomiast w ostatnich trzech godzinach zawartość glutaminy w próbach serii „amonowej" spada, a w „mocznikowej" wzrasta w dalszym ciągu. Fakt ten wskazuje na istnienie pewnych różnic między przemianą mocznika i jonów amonowych.

Ryc. 10 a, b, c przedstawia przyrost zawartości glutaminy w liściach rajgrasu w różnym „wieku" wyrażony w procentach azotu pobranego przez rośliny. Jak widać, rośliny serii „amonowej" wykazują w pierwszych 6 godzinach większe przyrosty glutaminy, przy czym największe różnice występują w roślinach 11-dniowych. Po 9 godzinach w roślinach 3-dniowych podlanych roztworem mocznika przeważa synteza glutaminy.

Rajgras 3, 6 oraz 11-dniowy podlany roztworem mocznika lub siarczanu amonowego wykazuje znaczne różnice w zdolności do asymilacji azotu tych związków z wyraźną przewagą na korzyść jonu amonowego (ryc. 11 a, b, c). Największe różnice występują po 6 godzinach, natomiast w końcowym okresie doświadczenia maleją.

Tabela 2

Wpływ mocznika i węglanu amonowego na syntezę glutaminy w rajgrasie w ciągu 6 godzin

Podlano	N-ogól.	N-NH_3	N-amid. glut.	N-mocz.	Przyrost		N-zasymilowany	N-amid. glut. %*)	N-zasymilowany %**)
					N-ogól.	N-amid. glut.			
Kontrola	245,92	5,37	7,61	6,02					
$CO(NH_2)_2$	380,75	17,42	33,53	35,49	134,83	25,92	93,31	19,1	63,7
NH_4HCO_3	361,08	17,79	19,43	9,57	115,16	11,82	102,74	10,2	89,2

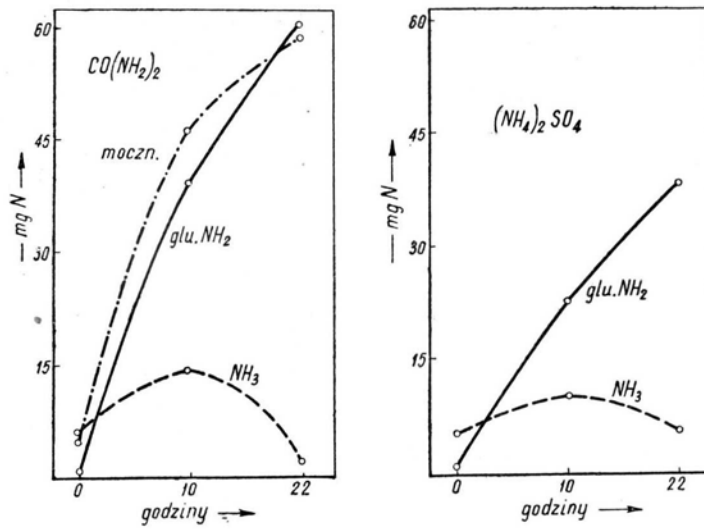
* Przyrost zawartości glutaminy wyrażony w % azotu pobranego.

** Ilość azotu zasymilowanego wyrażona w % azotu pobranego.

Wyniki doświadczenia przedstawionego w tabeli 2 pozwalają przypuszczać, że czynnikiem warunkującym wielkość syntezy glutaminy nie jest tylko ilość amoniaku. Jak widać z tej tabeli, mimo jednakowych ilości azotu pobranego i zawartości amoniaku — synteza glutaminy jest większa w przypadku zastosowania mocznika, natomiast ilość azotu zasymilowanego jest wyższa w próbie podlanej węglanem amonowym. Wyniki te sugerują, że w obecności mocznika zachodzą reakcje, które sprzyjają tworzeniu i gromadzeniu się glutaminy, podczas gdy w obecności tylko amoniaku reakcje te prawdopodobnie nie przebiegają.

Wzbogacenie rajgrasu różnymi ilościami azotu

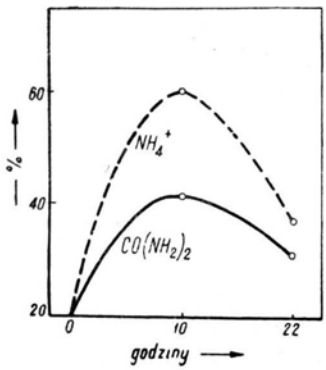
W celu stwierdzenia, jak przebiegać będzie synteza glutaminy przy wyrównanym poziomie amoniaku w próbach obu serii, rajgras serii „amonowej" wzbogacono ilościami azotu prawie o połowę mniejszymi niż w serii „mocznikowej".



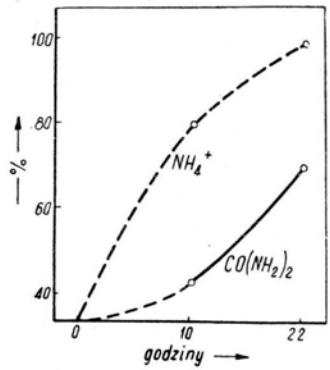
Ryc. 12. Krzywe zmian zawartości amoniaku, glutaminy i mocznika w liściach rajgrasu podlanego roztworem mocznika oraz siarczanu amonowego

W doświadczeniu przedstawionym na ryc. 12, mimo że zgodnie z założeniem uzyskano bardzo zbliżoną zawartość wolnego amoniaku w obu seriach, to jednak zawartość glutaminy wyrażona w procentach azotu pobranego (ryc. 13) jest po 10 godzinach o 20% wyższa w serii „amonowej" niż w „mocznikowej", natomiast całkowita zawartość glutaminy jest wyższa

przy wzbogaceniu mocznikiem (ryc. 12). Ilość azotu zasymilowanego (ryc. 14) po 10 godzinach jest wyższa w próbach wzbogacanych siarczanem amonowym niż mocznikiem.



Ryc. 13. Przyrost zawartości glutaminy z mocznika i jonów amonowych wyrażony w procentach azotu pobranego



Ryc. 14. Ilość azotu zasymilowanego z mocznika i jonów amonowych wyrażona w procentach azotu pobranego

Wyniki przedstawione w tabeli 3 wykazują, że chociaż całkowita zawartość glutaminy jest wyższa w przypadku stosowania mocznika niż jonów amonowych, to jednak w odniesieniu do azotu pobranego ilość jej jest mniejsza, podobnie jak i ilość azotu zasymilowanego.

Tabela 3

Wpływ mocznika i siarczanu amonowego na syntezę glutaminy i ilość azotu zasymilowanego w rajgrasie w ciągu 10 godzin po podlaniu

Podlano	N-ogól.	N-NH_3	N-amid. glut.	N-mocz.	Przyrost N-ogól.	Przyrost N-amid. glut.	N-zasymilowany	N-amid. glut. %*)	N-zasymilowany %**)
Kontrola	452,24	2,66	2,29	3,22					
$CO(NH_2)_2$	694,24	14,94	51,56	26,76	242,0	49,27	206,18	20,3	85,1
$(NH_4)_2SO_4$	587,76	18,58	41,94	3,36	135,5	39,65	119,60	27,2	88,3

*) Przyrost zawartości glutaminy wyrażony w % azotu pobranego.
**) Ilość azotu zasymilowanego wyrażona w % azotu pobranego.

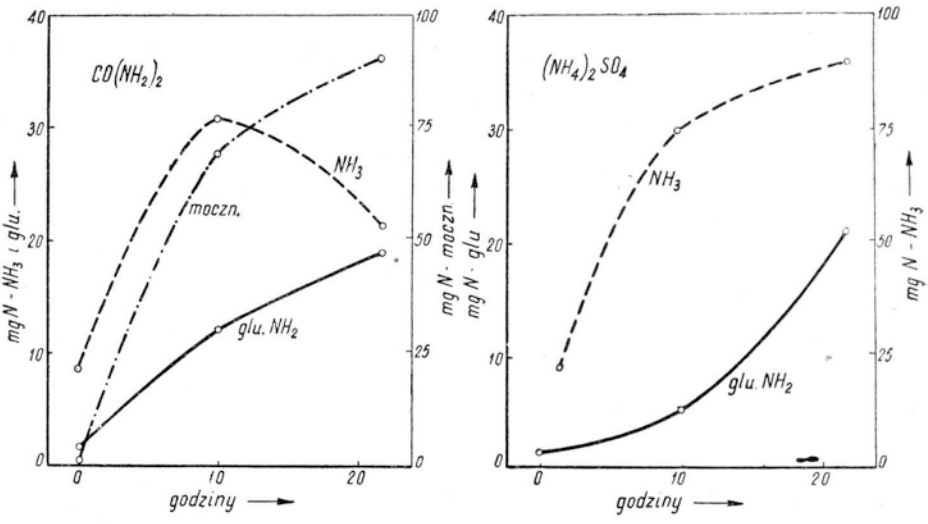
Tabela 4

Wpływ mocznika i węglanu amonowego na syntezę glutaminy i ilość azotu zasymilowanego w rajgrasie w ciągu 10 godzin

Podlano	N-ogól.	N-NH_3	N-amid. glut.	N-mocz.	Przyrost N-ogól.	Przyrost N-amid. glut.	N-zasymilowany	N-amid. glut. %*)	N-zasymilowany %**)
Kontrola	554,2	6,7	3,2	—					
$CO(NH_2)_2$	627,7	13,3	34,6	20,4	73,5	31,4	46,5	42,6	61,4
NH_4HCO_3	672,5	37,7	48,0	—	118,3	44,8	87,1	37,8	73,6

*) Przyrost zawartości glutaminy wyrażony w % azotu pobranego.
**) Ilość azotu zasymilowanego wyrażona w % azotu pobranego.

Tabela 4 przedstawia następne doświadczenie, w którym liście rajgrasu wzbogacano znacznie większą ilością azotu węglanu amonowego niż mocznika. Całkowita zawartość glutaminy w tym doświadczeniu w próbie „amonowej" jest wyższa niż w „mocznikowej", natomiast w odniesieniu do ilości azotu pobranego zawartość glutaminy jest wyższa przy wzbogacaniu rajgrasu mocznikiem. Ilość azotu zasymilowanego jest większa w próbie „amonowej".

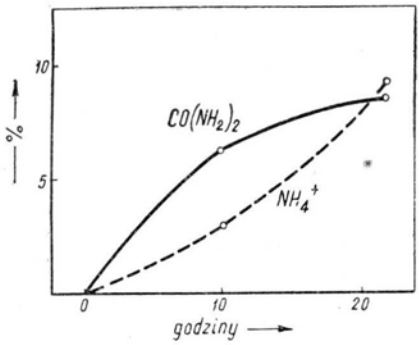


Ryc. 15. Krzywe zmian zawartości amoniaku, glutaminy i mocznika w liściach rajgrasu pod wpływem mocznika i siarczanu amonowego. Kultury odciętych liści w roztworach.

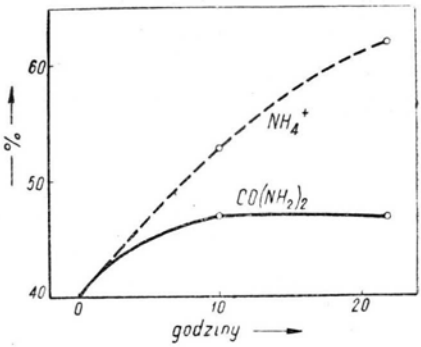
Kultury odciętych liści w roztworach mocznika i siarczanu amonowego

Liście rajgrasu

Ryc. 15 przedstawia zmiany całkowitej zawartości glutaminy, amoniaku i mocznika w liściach rajgrasu umieszczonych odciętymi końcami w roztworze mocznika i siarczanu amonowego. Mimo że liście pobrały jednakowe ilości azotu obu tych związków, to jednak zawartość glutaminy (całkowita — ryc. 15 oraz w % azotu pobranego, ryc. 16) była wyższa po 10 godzinach w przypadku mocznika. Po 22 godzinach różnice te wyrównały się. Chociaż synteza glutaminy z mocznika była wyższa, to jednak ilość azotu zasymilowanego (ryc. 17) jest większa w roślinach serii „amonowej".



Ryc. 16. Przyrost zawartości glutaminy z mocznika i jonów amonowych w procentach azotu pobranego



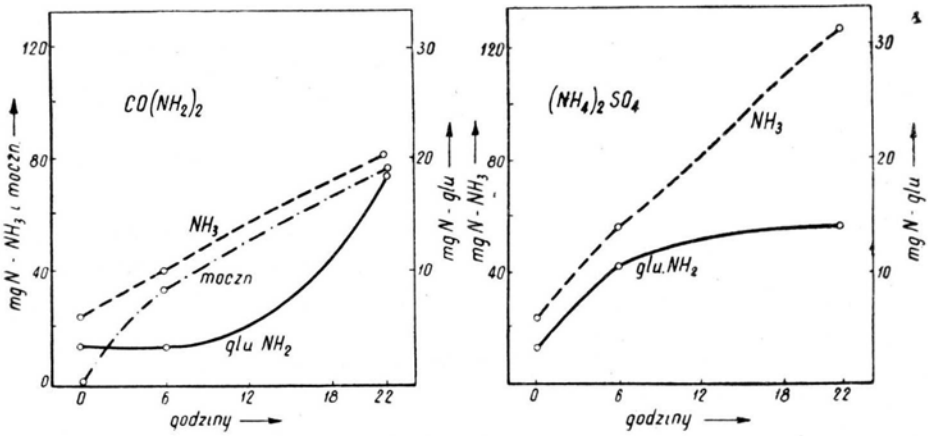
Ryc. 17. Ilość azotu zasymilowanego z mocznika i jonów amonowych wyrażona w procentach azotu pobranego

Liście szczawiu

Liście szczawiu wzbogacone mocznikiem (ryc. 18) zawierają dużo amoniaku, co wskazuje na wzmożoną zdolność tkanek do rozkładu mocznika. Synteza glutaminy przebiega różnie w czasie trwania doświadczenia, zależnie od źródła azotu. Podobnie jak w rajgrasie, ilość azotu zasymilowanego (ryc. 19) jest znacznie większa w przypadku siarczanu amonowego niż mocznika.

W tablicy 5 przedstawiono wyniki doświadczenia 10-godzinnego z liśćmi szczawiu. W liściach wzbogaconych siarczanem amonowym po 5 godzinach zawartość glutaminy jest wyższa, a asparaginy po 10 godzi-

nach. Ilość azotu zasymilowanego (w % azotu pobranego) jest również wyższa w próbach serii „amonowej".



Ryc. 18. Krzywe zmian zawartości amoniaku, glutaminy i mocznika w liściach szczawiu pod wpływem mocznika i siarczanu amonowego

Tabela 5

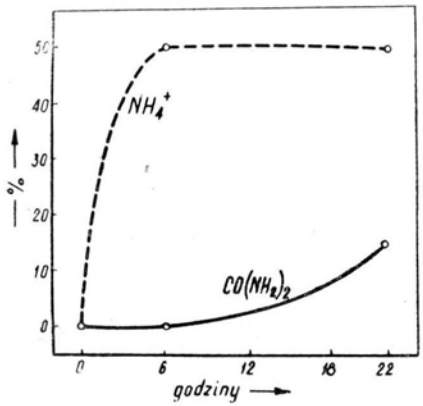
Przemiany mocznika i siarczanu amonowego w liściach szczawiu

	Czas godz.	N-ogól.	N-NH_3	N-amid. glut.	N-amid. asp.	N-mocz.	Przyrost N-ogól.	N-zasym.	N-zasym. w %*)
Kontrola		112,5	6,3	0,0	1,1	0,0			
$CO(NH_2)_2$	5	275,3	13,9	7,0	0,7	62,3	162,8	92,9	57,0
$CO(NH_2)_2$	10	318,0	32,5	5,8	2,5	80,6	205,5	98,7	48,0
$(NH_4)_2SO_4$	5	228,8	44,4	10,7	2,6	—	116,3	78,2	67,2
$(NH_4)_2SO_4$	10	290,9	67,7	6,0	13,5	—	178,4	117,0	65,5

*) Ilość azotu zasymilowanego wyrażona w % azotu pobranego.

Wyniki doświadczenia przedstawionego w tablicy 6 wykazują pewne różnice w zawartości glutaminy. Niestety wartości te nie mogą być porównywane, ponieważ przyrost zawartości glutaminy po 16 i 24 godzinach w próbach serii „mocznikowej" jest prawdopodobnie wynikiem

rozkładu białka. Wniosek taki wynika z porównania przyrostu zawartości glutaminy z ilością azotu zasymilowanego. Ilość azotu zasymilowanego jest bowiem mniejsza od przyrostu zawartości glutaminy. W przeciwień-



Ryc. 19. Ilość azotu zasymilowanego z mocznika i jonów amonowych wyrażona w procentach azotu pobranego

stwie do tego liście szczawiu wzbogacone siarczanem amonowym wykazują obok przyrostu zawartości glutaminy również pewne ilości azotu zasymilowanego.

Tabela 6

Przemiany mocznika i siarczanu amonowego w liściach szczawiu

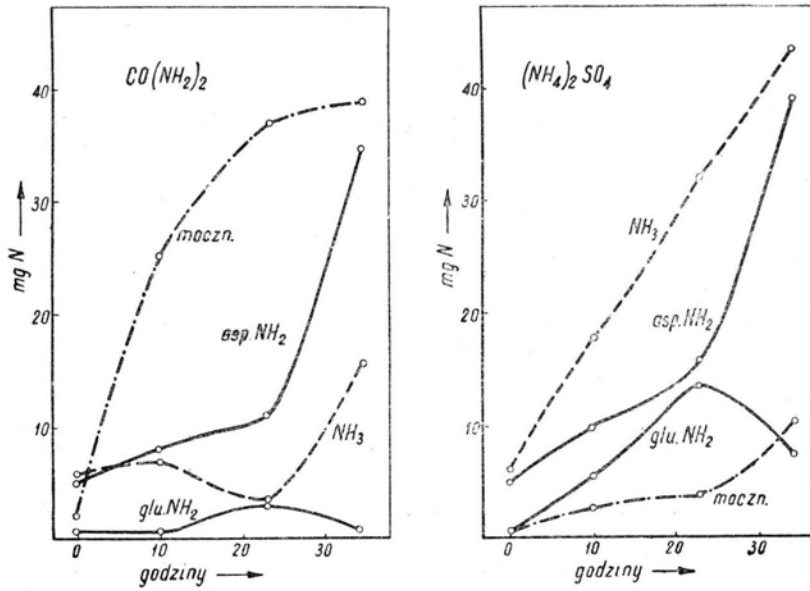
	Czas godz.	N— ogól.	N— NH_3	N— glut.	N— asp.	N— mocz.	Przyrost N— ogól.	Przyrost N-amid. glut.	N— zasymilowany
Próby a		198,5	10,8	0,0	1,5	0,0			
kontrolne b	0	192,6	6,0	2,3	0,5	0,0			
Średnio *)		195,2	8,4	1,15	1,0				
	5	207,8	7,5	7,2	0,9	1,6	12,6	6,05	11,9
$CO(NH_2)_2$	16	244,2	18,7	11,0	3,5	41,1	49,0	9,85	—2,4
	24	330,6	51,4	18,3	0,0	91,5	135,4	17,15	0,9
	5	213,4	24,1	3,9	2,8	—	18,2	2,75	2,5
$(NH_4)_2SO_4$	16	268,5	43,9	13,3	0,0	—	73,3	12,15	37,8
	24	326,9	112,1	14,0	0,0	—	131,7	12,85	28,0

*) Do obliczeń przyjęto wartości średnie.

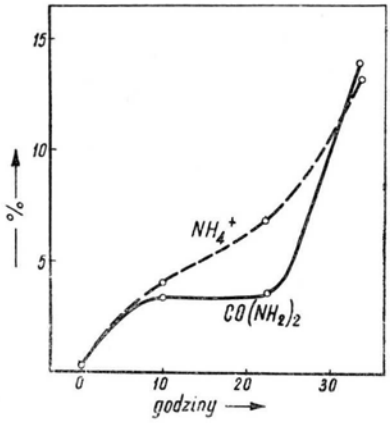
Liście fasoli

Ryc. 20 przedstawia wyniki doświadczenia wykonane na liściach fasoli zanurzonych ogonkami w roztworze mocznika lub siarczanu amonowego. W doświadczeniu tym można wyróżnić dwa okresy: pierwszy

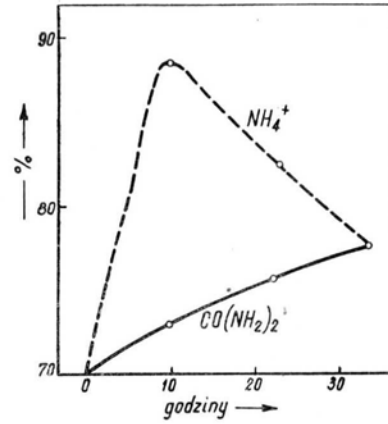
do 23 godzin, w którym zawartość asparaginy przyrasta powoli, oraz drugi również po 23 godzinach, w którym przebiega już prawdopodobnie rozkład białka i w związku z tym następuje spadek zawartości glutaminy i wzrost zawartości asparaginy.



Ryc. 20. Krzywe zmian zawartości amoniaku, glutaminy, asparaginy i mocznika w liściach fasoli pod wpływem mocznika i siarczanu amonowego. Kultury odciętych liści w roztworach



Ryc. 21. Przyrost zawartości asparaginy z mocznika i jonów amonowych wyrażony w procentach azotu pobranego

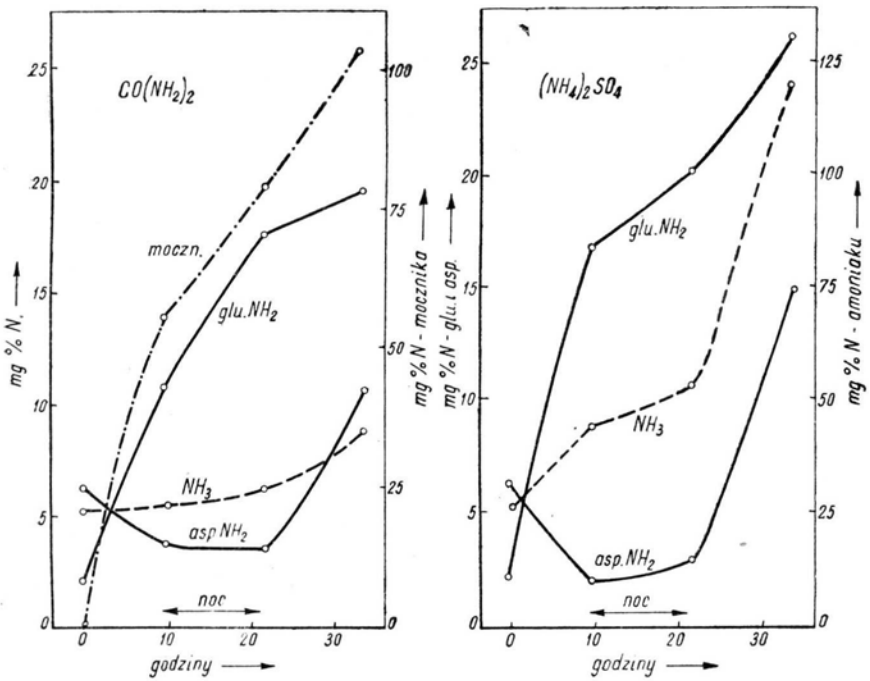


Ryc. 22. Ilość azotu zasymilowanego z mocznika i jonów amonowych wyrażona w procentach azotu pobranego

Zawartość glutaminy zwiększa się intensywnie w próbach serii „amonowej" w pierwszych 23 godzinach.

Cechą charakterystyczną drugiego okresu jest również przyrost zawartości amoniaku w próbach serii „mocznikowej" oraz mocznika w próbach serii „amonowej".

Największe różnice w zawartości asparaginy między próbami wzbogaconymi mocznikiem i siarczanem amonowym występują po 23 godzinach (ryc. 21), a azotu zasymilowanego po 10 godzinach (ryc. 22). Różnice te po 34 godzinach praktycznie się znoszą.



Ryc. 23. Krzywe zmian zawartości amoniaku, glutaminy, asparaginy i mocznika w liściach pomidorów pod wpływem mocznika i siarczanu amonowego. Kultury odciętych liści w roztworach

Liście pomidorów

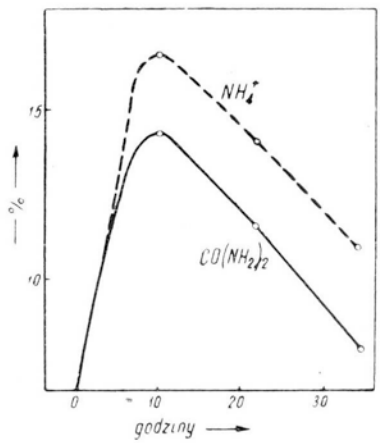
Ryc. 23 przedstawia wpływ mocznika oraz siarczanu amonowego na szybkość gromadzenia się glutaminy, asparaginy, mocznika i amoniaku w liściach pomidorów. Podobnie jak w doświadczeniu z liśćmi fasoli można tu wyróżnić dwa okresy: pierwszy — obejmujący 22 godziny charakteryzuje się przede wszystkim wzrostem zawartości glutaminy i spadkiem zawartości asparaginy, oraz drugi — obejmujący następne

12 godzin — w których zawartość asparaginy gwałtownie wzrasta prawdopodobnie w wyniku hydrolizy białka.

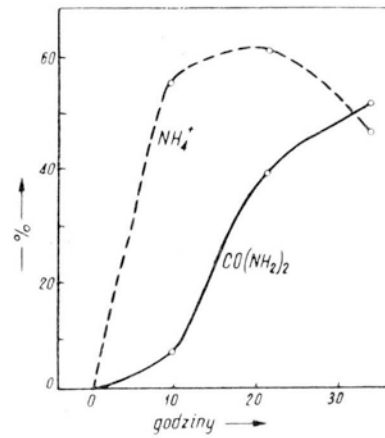
W próbach serii „amonowej" zawartość glutaminy stale wzrasta, natomiast przyrosty asparaginy po 34 godzinach są większe niż w próbach serii „mocznikowej", w których zawartość amoniaku w pierwszych 22 godzinach jest prawie niezmienna i dopiero po tym okresie zaczyna wzrastać.

Zwraca uwagę fakt, że w ciągu nocy tylko w próbach wzbogacanych siarczanem amonowym następuje wolniejszy przyrost glutaminy i amoniaku (ryc. 23), natomiast w próbach wzbogaconych mocznikiem synteza glutaminy w nocy przebiega z tą samą szybkością jak i w dzień.

Zawartość glutaminy wyrażona w procentach azotu pobranego przez liście jest stale wyższa w przypadku siarczanu amonowego niż mocznika (ryc. 24).



Ryc. 24. Przyrost zawartości glutaminy z mocznika i jonów amonowych wyrażony w procentach azotu pobranego



Ryc. 25. Ilość azotu zasymilowanego z mocznika i jonów amonowych wyrażona w procentach azotu pobranego

Ilość azotu zasymilowanego (ryc. 25) jest również wyższa w próbach serii „amonowej" niż „mocznikowej", przy czym w pierwszym przypadku asymilacja przebiega najintensywniej w okresie 0—10 godzin, natomiast w drugim — w ciągu nocy (10—22 godzin).

DYSKUSJA

Przedstawione w niniejszej pracy doświadczenia nad biosyntezą glutaminy i asymilacją azotu z mocznika w liściach rajgrasu i kilku innych gatunków roślin zostały porównane z wpływem jonów amono-

wych. Z dawniejszych prac jedynie doświadczenie Nikołajewej z pracowni Prianisznikowa (1953) dotyczy porównania przemian mocznika i soli amonowych w kiełkach łubinu, przy czym porównanie to jest rozpatrywane z punktu widzenia różnej kwasowości fizjologicznej stosowanych soli amonowych.

Na podstawie wyników naszych doświadczeń zostaną kolejno przedyskutowane czynniki, które bezpośrednio lub pośrednio zdają się warunkować wielkość syntezy glutaminy, a więc: ilość pobranego mocznika i jonów amonowych, poziom amoniaku i mocznika, ilość azotu zasymilowanego.

a) Pobieranie mocznika i jonów amonowych

Pobieranie mocznika i amoniaku soli amonowych przez system korzeniowy rajgrasu oraz odcięte liście rajgrasu, pomidorów, fasoli i szczawiu należy rozpatrywać z punktu widzenia szybkości oraz równomierności ich pobierania.

Szybkość pobierania mocznika i jonów amonowych przez rajgras z kultur piaskowych oraz przez odcięte liście z roztworów wahała się zależnie od warunków zewnętrznych (głównie nasłonecznienia i temperatury) następująco: po 2 godz. 20—50, po 5 godz. 40—80, po 10 godz. 70—120, i po 20 godz. 100—150 mg% N, przy czym pobieranie tych związków w ciągu nocy było znacznie niższe, co w rezultacie powodowało odpowiednio mniejsze przyrosty glutaminy.

Trzydniowe rośliny rajgrasu pobierały mocznik oraz jony amonowe prawie trzy razy szybciej niż 11-dniowe. Analogiczne dane cytują Kuykendall i Wallace (1954) dla liści drzew cytrusowych umieszczonych ogonkami w roztworze mocznika. Również doświadczenia nad opryskiwaniem liści roztworami mocznika wykazały, że młode liście jabłoni (Cook i Boynton 1952), kawy (Cain 1956) oraz tytoniu (Volk i McAuliffe 1954) absorbują mocznik znacznie szybciej niż stare.

b) Poziom amoniaku

Między próbami serii „mocznikowej" i „amonowej" istnieje zasadnicza różnica w zawartości wolnego amoniaku. W próbach wzbogaconych mocznikiem jest ona w zasadzie znacznie niższa niż w próbach serii „amonowej".

Jeśli mocznik nie ulegałby żadnym innym przemianom i był wykorzystywany przez rośliny dopiero po hydrolizie, wówczas poziom amoniaku mógłby być uważany za czynnik warunkujący szybkość syntezy gluta-

miny (lub asparaginy). Porównując syntezę glutaminy w liściach rajgrasu wzbogaconych w mocznik lub jony amonowe trzeba przyjąć, że w próbach serii „mocznikowej" niższy poziom amoniaku jest jednak wystarczający, ponieważ synteza glutaminy nie tylko nie jest mniejsza, ale najczęściej wyższa niż w próbach serii „amonowej".

Należy podkreślić, że chociaż poziom amoniaku w próbach wzbogaconych mocznikiem nie może być miernikiem aktywności ureazy ze względu na fakt, że o jego poziomie decyduje przede wszystkim szybkość syntezy glutaminy, to jednak ilość amoniaku w tkance roślinnej pośrednio może określać aktywność ureazy i enzymów syntezujących amidy. Chociaż z prac innych badaczy (Curtis 1944, Greenhill i Chibnall 1934) wiadomo, że w rajgrasie synteza glutaminy może być tak intensywna na skutek żywienia go solami amonowymi, że glutamina może być wydzielona na powierzchni liści, to jednak pojawienie się amoniaku w ilości 2—3 razy większej w liściach wzbogaconych mocznikiem niż w próbach kontrolnych wskazuje na znacznie większą aktywność ureazy niż syntetazy glutaminy.

Doświadczenia wykonane na liściach fasoli i pomidorów wykazały, szczególnie w pierwszym okresie (0—22 godz.), bardzo niski poziom amoniaku w próbach serii „mocznikowej". Wolniejsza synteza asparaginy w liściach fasoli i glutaminy w liściach pomidorów z mocznika niż jonów amonowych mogła być spowodowana niedostateczną ilością amoniaku.

c) Poziom mocznika

Z przedstawionych danych wynika, że mocznik jest bardzo szybko pobierany zarówno przez korzenie, jak i przez odcięte liście roślin. Zawartość mocznika w liściach wzbogaconych w mocznik jest znaczna, co wskazuje, że szybkość pobierania mocznika (podobnie jak i jonów amonowych) jest znacznie większa niż szybkość ich przemian. Poziom mocznika w poszczególnych doświadczeniach jest różny. Uwarunkowany on jest nie tylko szybkością pobierania mocznika, ale także „aktywnością metaboliczną" rośliny w dniu doświadczenia, na którą składa się prawdopodobnie wiele czynników. Wniosek taki zdaje się wynikać z faktu, że poziom mocznika w tkance roślinnej nie jest zupełnie skorelowany z szybkością jego pobierania wyrażoną w przyrostach azotu ogólnego. Zawartość azotu ogólnego przyrastała np. w jednym z doświadczeń trzy razy szybciej niż w innym (ryc. 3), podczas gdy zawartość mocznika w pierwszym przypadku nie zmieniała się, natomiast w drugim wzrosła prawie dwukrotnie w tym samym okresie 5—10 godz.

Doświadczenia nasze wykonane na rajgrasie (ryc. 3 i 9a, b) wykazują, że mocznik może także powstawać w wyniku wzbogacenia w amoniak

tkanki roślinnej. W tych warunkach wzrost zawartości mocznika względnie jego spadek wydaje się być ściśle związanym z pewnymi przemianami rośliny, gdyż, jak to wykazują doświadczenia przedstawione na ryc. 9a, b, c (seria „amonowa"), jest on zależny od wieku roślin. W roślinach 6-dniowych (ryc. 9b) zawartość mocznika osiąga po 6 godzinach nawet 13 mg%, by w następnych 3-ch godzinach spaść do 2 mg%, natomiast w roślinach 11-dniowych (ryc. 9c) przyrostu zawartości mocznika w ogóle nie obserwuje się. Podobnie duże przyrosty mocznika, bo sięgające 15 mg %, obserwowali Reifer i Melville (1948) w liściach rajgrasu podlanego roztworem siarczanu amonowego, a mniejsze Boynton, Margolis i Gross (1953) w liściach jabłoni opryskanych siarczanem amonowym. Ci ostatni badacze na fakt ten nie zwracają jednak uwagi.

Dotychczasowe badania nad powstawaniem mocznika w roślinach wskazują na możliwość pochodzenia tego związku głównie z dwu źródeł: argininy jako ogniwa cyklu ornitynowego (Coleman i Hegarty 1957, Kasting i Delwiche 1955, Kleczkowski 1957, Racusen i Aronoff 1954) oraz z ureidów, według dawnych koncepcji Fosse i Kleina, które łącznie z nowszymi badaniami są omawiane przez Traceya (1955). Autor ten sugeruje, że wykrywany przez Reifera i Melville'a (1948) i Damodarana i Venkatesana (1948) prekursor mocznika mógł być kwasem alantoinowym lub alantoiną, ponieważ w roślinach przez nich badanych związki te występują. Tak więc o poziomie mocznika decyduje nie tylko szybkość jego pobierania i hydrolizy, ale także — przynajmniej częściowo — i szybkość jego powstawania.

Interesującym jest fakt, że obecność mocznika w liściach szczawiu powoduje hydrolizę białka. Zjawisko to obserwowali również Boynton, Margolis i Gross (1953) przy opryskiwaniu liści jabłoni roztworem mocznika oraz Cain (1956) przy opryskiwaniu liści krzewu kawowego, drzew kakaowych i bananów. W ich doświadczeniach zawartość amoniaku w stosunku do próby kontrolnej prawie nie przyrastała, natomiast w doświadczeniu z liśćmi szczawiu poziom amoniaku jest znaczny.

d) Gromadzenie się glutaminy

W badaniach naszych zawartość glutaminy wyrażaliśmy w % świeżej masy oraz w % azotu pobranego przez rośliny.

Na ogół wyższej całkowitej zawartości glutaminy w próbach serii „mocznikowej" względnie „amonowej" odpowiada jednocześnie wyższa zawartość glutaminy w odniesieniu do ilości pobranego azotu (ryc. 3—4, 6—7, 15—16), ale zdarzają się także przykłady odwrotne. W doświad-

czeniu przedstawionym na ryc. 9a, b, c całkowita zawartość glutaminy po 3 i 6 godzinach jest w serii „mocznikowej" i „amonowej" prawie jednakowa, natomiast w odniesieniu do ilości azotu pobranego przez rośliny obu serii, zawartość glutaminy jest wyższa w próbach serii „amonowej" (ryc. 10a, b, c), mimo że ilość azotu pobranego w tym ostatnim przypadku była nieco niższa niż w próbach serii „mocznikowej".

Znaczne wzbogacenie rajgrasu w mocznik powoduje wzrost zawartości amoniaku i glutaminy. Różnice w zawartości glutaminy między próbami obu serii są najbardziej wyraźne w pierwszych godzinach po wzbogaceniu roślin mocznikiem i jonami amonowymi i wyrażają się zarówno w całkowitej zawartości glutaminy (ryc. 1, 2, 3, 12, 15), jak i po odniesieniu do ilości azotu pobranego (ryc. 2, 4, 7, 10c, 16). Po około 10—12 godzinach (tj. wieczorem, w ciągu nocy i następnego dnia) różnice w zawartości glutaminy między próbami obu serii maleją lub zupełnie zanikają. Czasem jednak, jak w przypadku liści fasoli (ryc. 20 i 21), synteza asparaginy z jonów amonowych przebiega także i w nocy. Spadek zawartości glutaminy (całkowitej i w % azotu pobranego) może w pewnych warunkach występować również i wcześniej, np. już po 6 godzinach (ryc. 9a, b, c, i 10a, b, c, seria „amonowa").

W innych roślinach badanych nie uzyskuje się szybszej syntezy glutaminy z mocznika, lecz przeciwnie — z jonów amonowych. Czynnikiem ograniczającym syntezę glutaminy jest prawdopodobnie za mała ilość amoniaku.

Omówione wyżej wahania w zawartości glutaminy w rajgrasie świadczą o dużej labilności i czynnym udziale glutaminy w przemianie azotowej tej rośliny. Stanowi to wielką trudność zarówno w ustaleniu warunków umożliwiających powtarzalność wyników jak i ich intepretację.

e) Azot zasymilowany

Chociaż szybkość przyrostu glutaminy (lub asparaginy) może być dobrym miernikiem przyswajalności azotu mocznika względnie jonów amonowych, to jednak dla dokładniejszego scharakteryzowania różnic w zdolności przyswajania przez rośliny azotu tych związków przyjęto za miernik ilość azotu zasymilowanego. Ponieważ mocznik pobudza syntezę glutaminy w większym stopniu niż siarczan amonowy, należałoby oczekiwać, że ilości azotu zasymilowanego będą również wyższe, gdyż glutamina (i asparagina) są głównymi ogniwami przemian nadmiaru amoniaku w tkance roślinnej.

Z przedstawionych danych wynika, że tylko w jednym doświadczeniu (ryc. 3) większej syntezie glutaminy w próbach serii „mocznikowej" odpowiada większa asymilacja azotu mocznika (ryc. 5). We wszystkich pozostałych doświadczeniach ilość azotu zasymilowanego jest wyższa w próbach serii „amonowej" niż „mocznikowej". Nawet w doświadczeniach, w których synteza glutaminy (w % azotu pobranego) jest wyższa w próbach serii „mocznikowej" (ryc. 7, tabl. 2 i 4), ilość azotu zasymilowanego jest większa w próbach serii „amonowej" (ryc. 8, tabl. 2 i 4).

Z doświadczeń tych wynikają dwa wnioski: 1. azot soli amonowych jest łatwiej przyswajany przez wszystkie badane rośliny niż azot mocznika, 2. w liściach rajgrasu synteza glutaminy jest pobudzana w jakiś szczególny sposób w obecności mocznika.

f) Udział mocznika w syntezie glutaminy

Obserwowana przez nas szybsza synteza glutaminy z mocznika niż jonów amonowych w rajgrasie nie daje się skorelować z szybkością i ilością pobierania tych związków i przebiega jakby niezależnie od ilości pobranego azotu i poziomu amoniaku.

Charakterystyczne zróżnicowanie w szybkości przyrostów zawartości glutaminy w liściach rajgrasu, między próbami serii „mocznikowej" i „amonowej", obserwowane przez nas na początku doświadczeń, pod koniec dnia bądź też w nocy zdaje się wskazywać, że wyższa synteza glutaminy z mocznika jest uwarunkowana bądź jakimiś prekursorami, które w pewnych warunkach powstają w zmiennych ilościach, bądź też zmienną szybkością (jednej lub więcej) reakcji prowadzących do syntezy glutaminy. W związku z tym drugim przypuszczeniem możliwy jest udział mocznika w syntezie glutaminy przed jego hydrolizą, jak to sugerują Reifer i Melville (1948). Również Yatazawa i Tai (1953) postulują, że hydroliza mocznika do amoniaku nie wydaje się być główną drogą jego przemian w badanych przez nich roślinach. Autorzy ci wnioski swoje wyciągają jednak tylko z pomiarów aktywności ureazy w opryskiwanych roztworem mocznika liściach i nie uwzględniają faktu dawno już stwierdzonego przez Pirschla (1929), że w liściach w przeciwieństwie do korzeni nie zwiększa się aktywność ureazy przy żywieniu roślin mocznikiem. Podobnie Williams i Sharma (1954) nie mogli stwierdzić w kiełkach *Citrullus* żywionych mocznikiem zwiększonej aktywności ureazy, a nawet w 15 dniu kiełkowania obserwowali jej spadek do zera.

Analizując wpływ mocznika na syntezę glutaminy w rajgrasie nie można ograniczać go do udziału tylko amoniaku, gdyż węgiel mocznika

może również, jak to wynika z ostatnich badań (Allison i in. 1954, Webster, Varner i Gansa 1955, Steward i Pollard 1956), być włączany do glutaminy i innych aminokwasów. Jest możliwe, że stymulujący wpływ mocznika na syntezę glutaminy polega na udziale węgla mocznika w tej syntezie. Zagadnienie to będzie przedmiotem oddzielnej pracy.

STRESZCZENIE

1. Porównano wpływ mocznika i jonów amonowych na syntezę glutaminy i asymilację azotu tych związków w liściach rajgrasu, szczawiu, fasoli i pomidorów.

2. Pobieranie mocznika i jonów amonowych oraz synteza glutaminy są znacznie szybsze w 3-dniowych liściach rajgrasu niż w 11-dniowych.

3. Zawartość amoniaku w próbach rajgrasu wzbogaconych mocznikiem, mimo że jest znacznie niższa niż przy wzbogacaniu jonami amonowymi, to jednak jest 2—3 razy wyższa niż w próbach kontrolnych nie zawierających mocznika.

4. W rajgrasie w pierwszych 10 godzinach przyrosty całkowitej zawartości glutaminy są szybsze z mocznika niż jonów amonowych.

5. W liściach pomidorów, fasoli i szczawiu synteza glutaminy (lub asparaginy) jest szybsza w próbach serii „amonowej" niż „mocznikowej".

6. Asymilacja azotu jonów amonowych przebiega szybciej niż mocznika we wszystkich badanych roślinach.

7. W liściach rajgrasu 6-dniowego wzbogaconych jonami amonowymi obserwowano znaczny przyrost zawartości mocznika.

Katedra Biochemii
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie

(Wpłynęło dn. 12.7.57 r.)

SUMMARY

1. There was compared the influence of urea and that of ammonium ions on the glutamine synthesis and nitrogen assimilation of these compounds in the leaves of ryegrass, sorrel, beans and tomatoes.

2. Urea and ammonium ions uptake as well as glutamine synthesis were more rapid in 2-days old ryegrass leaves than in 11-days old ones.

3. The ammonia content in the samples of ryegrass enriched with urea was 2—3 times higher than that in controls without urea, though markedly lower than when supplemented with ammonium ions.

4. In the course of the first ten hours of the experiments the glutamine synthesis was more rapid when taken from urea than from ammonium ions.

5. The glutamine synthesis (or of asparagine) in the leaves of tomatoes, beans and sorrel was more rapid in „ammonium" series than in „urea" ones.

6. The nitrogen assimilation of ammonium ions was more rapid than that of urea in all the plants.

7. There was observed a marked growth of urea content in the ammonia-enriched leaves of 6-days old ryegrass.

LITERATURA

Boynton D., 1954, Nutrition by foliar application. Ann. Rev. Plant Physiol. **5**, 31—54.

Boynton D., Margolis D., Gross C., 1953, Exploratory studies on nitrogen metabolism by Mc Intosh apple leaves sprayed with urea. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 62, 135—46.

Cain J. C., 1956, Absorption and metabolism of urea by leaves of coffee, cacao and banana. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. **67**, 279—86.

Clark H. E., 1936, Effect of ammonium and nitrate nitrogen on the composition of the tomato plant. Plant Physiol. **11**, 5—24.

Coleman R. G., Hegarty M. P., 1957, Metabolism of dl-ornithine-$2^{14}C$ in normal and potasium deficient barley. Nature **179**, 376—7.

Cook J. A., Boynton D., 1952, Some factors affecting the absorption of urea by McIntosh apple leaves. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. **59**, 82—90.

Curtis L. C., 1944, The exudation of glutamine from lown grass. Plant Physiol. **19**, 1—5.

Damodaran M., Venkatesan T. R., 1948, Amide synthesis in plants. III. Urea formation in seedlings. Proc. Indian Acad. Sci. **27B**, 26—32, Chem. Abstr. **42**, 4649g (1948).

Granick S., 1937, Urease distribution in Canavalia ensiformis. Plant Physiol. **21**, 601—23.

Granick S., 1938, Urease distribution in Soja Max. Plant Physiol. **13**, 29—54.

Greenhill A. W., Chibnall A. C., 1934, The exudation of glutamine from perennial rye-grass. Biochem. J. **28**, 1422—27.

Hansteen B., 1899, Ueber Eiweisssynthese in grünen Phanerogamen. Jahrb. wiss. Bot. **33**, 417—38.

Hinsvark O. N., Wittwer S. H., Tukey H. B., 1953, The metabolism of foliar-applied urea. I. Relative rates of $^{14}CO_2$ production by certain vegetable plants treated with labeled urea. Plant. Physiol. **28**, 70—76.

Jeżewska M., 1954, Oznaczanie glutaminy w materiale roślinnym. Acta Biochim. Pol. **1**, 149—58.

Kasting R., Delwiche C. C., 1955, Ornithine, citruline, arginine interconversions in higher plants. Plant Physiol. **30**, Suplement XXVII.

Kiesel A., 1922, Ueber den fermentativen Abbau des Arginins in Pflanzen. Z. physiol. Chem. **118**, 267—76.

Kiesel A., 1927, Der Harnstoff im Haushalt der Pflanze und seine Beziehung zum Eiweiss. Ergbn. Biol. **2**, 257—310.

Kleczkowski K. 1957, Biosynthesis of citruline in bean seedlings. Bull. Acad. Pol. Sci. **5** (3), 83—87.

Klein G., 1931, Der Wandel des Stickstoffs in der grünen Pflanze. Ergbn. agr. Chem. **2**, 143—58 (cyt. wg Granicka 1938).

Klein G., Taubock K., 1930, Harnstoff und Ureide bei den höheren Pflanzen. I. Das Vorkommen von Harnstoff im Pflanzenreich und seine Wandel im Laufe der Vegetationsperiode. Jahrb. wiss. Bot. **73**, 193—225.

Klein G., Taubock K., 1931, Harnstoff und Ureide bei den höheren Pflanzen. II. Untersuchungen über das Auftreten und Verschwinden von Harnstoff bei der Pflanze. Jahrb. wiss. Bot. **74**, 729—58.

Klein G., Taubock K., 1931, Harnstoff und Ureide bei den höheren Pflanzen. III. Das Vorkommen von Ureiden. Quantitative Bestimmung von freien und gebundenen Harnstoff. Biochem. Z. **241**, 413—59.

Klein G., Taubock K., 1932, Argininstoffwechsel und Harnstoffgenese bei höheren Pflanzen. Biochem. Z. **251**, 10—51.

Klein G., Taubock K., 1932a, Argininstoffwechsel und Harnstoffgenese bei höheren Pflanzen. II. Biochem. Z. **255**, 278—86.

Krebs H. A., 1948, Quantitative determination of glutamine and glutamic acid. Biochem. J. **43**, 51—57.

Kultzscher M., 1932, Die biologische NH_3-Entgiftung in höheren Pflanzen und ihrer Abhängigkeit von Wasserstoffionen Konzentration des Zellsaftes. Planta **17**, 699—757.

Kuykendall J. R., Wallace A., 1956, Absorption and hydrolisis of urea by detached citrus leaves immersed in urea solutions. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. **64**, 117—124.

Mothes K., 1926, Ein Beitrag zur Kenntnis des N-Stoffwechsels höheren Pflanzen. Planta **1**, 472—552.

Mothes K., 1940, Zur Biosynthese der Säureamide Asparagin und Glutamin, Planta **30**, 727—56.

Pirschle K., 1929, Zur Assimilation des Harnstoffs durch die höhere Pflanze. Biochem. Z. **212**, 446—74.

Prianisznikow D. M., 1953, Ammniak kak alfa i omega obmiena azotistych wieszczestw w rastienii. Izbrannyje soczinienia T. II, str. 308—19, Moskwa 1955.

Pucher G. W., Vickery H. B., Leavenworth Ch. S., 1935, Determination of ammonia and of amide nitrogen in plant tissue. Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. **7**, 152—56.

Racusen D. W., Aronoff S., Metabolism of soybean leaves. VI. Exploratory studies in protein metabolism. Arch. Biochem. Biophys. **51**, 68—78.

Reifer I., 1949, Źródła amoniaku w ekstraktach roślinnych. Rola mocznika. Warszawa 1949.

Reifer I., Melville, 1948, The source of ammonia in plant tissue extracts. II. The influence of urea. J. Biol. Chem. **178**, 715—26.

Reifer I., Tarnowska K., 1950, Mikrojodometryczne oznaczanie azotu ogólnego. Acta Soc. Bot. Pol. **20**, 739—44.

Reifer I., Tarnowska K., 1952, Mikrooznaczanie glutaminy w materiale roślinnym. Roczn. Nauk Roln. **61**, 233—44.

Steward F. C., Pollard J. K., 1956, Some further observations on glutamyl and related compounds in plants. w N. D. McElroy i B. Glass (wyd.) A symposium on inorganic nitrogen metabolism. J. Hoppkins-Press, Baltimore 1956, str. 377—407.

Tracey M. C., 1955, Urea and Ureides. w K. Peach i M. V. Tracey (wyd.) Moderne Methoden der Pflanzenanalyse. Vierter Band str. 119—41, Springer—Verlag, Berlin—Heidelberg.

Vickery H. B., Pucher G. W., Clark H. E., Chibnall A. C., Westall R. G., 1935, The determination of glutamine in presence of asparagine. Biochem. J. **29**, 2710—18.

Volk R,. McAuliffe C., 1954, Factors affecting the foliar absorption of ^{15}N labeled urea by tabacco. Proc. Soil Sci. Soc. Amer. **18**, 308—12.

Warker J. B., 1952, Arginosuccinic acid from *Chlorella*. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **38**, 561—66.

Webster G. C., Varner J. E., Gansa A. N., 1955, Conversion of carbon-14-labeled urea into amino acids in leaves. Plant Physiol. 30, 372—74.

Williams W. T., Sharma P. Ch., 1954, The function of urease in Citrullus seeds. J. Exptl. Bot., 5, 136—57.

Yatazawa M., Tai K., 1953, On the urease activities of plants leaves. II. Studies on the foliage dressing of nutrient elements. J. Sci. Soil. Manure, Japan, 23, 205—6, streszczenie ang.