Nowe aspekty roli azotanów względnie soli amonowych jako źródeł azotu dla roślin. Część II

*New aspects on the role of nitrates or ammonium salts as nitrogen sources
for plants. Part II.*

J. POSKUTA

WSTĘP

G. N. Hoffer i B. A. Krantz (1957) podają, że kukurydza wymaga zaopatrzenia w azot w ciągu całego okresu wegetacji, jednakże najwięcej zużywa azotu w okresie dwóch tygodni przed wykłoszeniem i trzech tygodni po wykłoszeniu. Kukurydza jest bardzo wrażliwa na niedobór azotu w podłożu i stanowi pewnego rodzaju wskaźnik niedostatecznego zaopatrzenia podłoża w związki azotowe. Aby przekonać się, jak zareagują rośliny na dodanie azotu po długotrwałym głodzie azotowym, wykonano serię doświadczeń w latach 1958—1959. A priori, po długotrwałym głodzie azotowym nie można było przewidzieć, czy roślina w ogóle zdolna będzie pobrać azot w podanych ilościach, a jeżeli tak, to w jakim stopniu i jak roślina zareaguje na ten zabieg oraz jak wpłynie to na wzrost i rozwój roślin.

BADANIA WŁASNE

DOŚWIADCZENIE I

Nasiona kukurydzy kiełkowano 5.V.1958 r. na wodzie wodociągowej. Po wykiełkowaniu rośliny rosły w szklarni w ciągu 24 dni w zlewkach również na wodzie wodociągowej. 29.V wybrano siewki i po odcięciu nasion przeniesiono na pożywki bez azotu do 4,5-litrowych słoików umieszczając po 1 roślinie w słoju. Siewki miały 3 liście. Skład pożywki w molach na litr przedstawiał się następująco: $MgSO_4$ — 0,003, $Ca(H_2PO_4)_2$ — 0,0015, K_2SO_4 — 0,001, KH_2PO_4 — 0,001 oraz 10 ml 0,5% roztworu cytrynianu żelaza i 4 ml roztworu mikroelementów A — Z, wg D. R. Hoaglanda w modyfikacji K. Bassalika na 4 litry po-

żywki. pH pożywki ustalono na 6,2 i utrzymywano na stałym poziomie w czasie trwania doświadczenia (sposób opisany w I części pracy). Na-stawiono 8 słoików, które umieszczono na wózku w hali wegetacyjnej.

Przebieg wegetacji roślin do chwili dodania azotu do pożywki

W chwili przeniesienia na pożywki bezazotowe rośliny miały już lekko zabarwione antocjanami łodygi, jednakże liście były zupełnie zielone. Po umieszczeniu roślin w słoikach na pożywkach bezazotowych już po tygodniu pojawił się nowy mocno wypłoniony liść. Po 14 dniach 2 dolne liście, które były zabarwione na kolor brunatny, stały się żółte i suche. Pojawiający się co 6—7 dni nowy liść osiągał niewielkie rozmiary i był bladzielony. Liście dolnych piętrowości miały barwę brunatną, żółkły i zasychały. Pojawiające się nowe liście świadczyły o odbywającym się rozwoju tych roślin, mimo że wzrost ich był znikomy, oraz o przemieszczaniu się zapasów azotu pobranych przez rośliny tylko z nasion przed ich usunięciem z liści starszych do młodych. Korzenie tych roślin były długie, bardzo cienkie i w górnych partiach lekko zabarwione antocjanami.

Reakcja roślin na dodanie azotu po 50 i 60 dniach wegetacji na pożywce bez azotu

Do wazonów (I seria), po 50 dniach wegetacji roślin na pożywce bez N (24 dni na wodzie wodociągowej + 26 dni na pożywce bez N), dodano azot w formie $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ do 2 wazonów po 28 mg N (1 pożywki i do pozostałych 2 wazonów po 56 mg N/l pożywki w roztworze po 20 ml na wazon. W chwili dodania azotu do pożywki rośliny miały po 9 liści, z których tylko 1 górny liść był bladzielony. Następne 2 liście miały barwę brunatnoczerwoną, pozostałe liście były żółte i suche. Azot dodano 23.VI o godzinie 11⁰⁰, temperatura powietrza wynosiła 22°C, względna wilgotność powietrza nad roślinami wynosiła 90%. Już po 3 godzinach od chwili dodania azotu do pożywki zaobserwowano obfitą guttację na nie wyschniętych liściach kukurydzy we wszystkich wazonach, do których dodano azot. Wynik był tak nieoczekiwany, że rośliny poddano szczegółowej obserwacji, przy czym kontrolnymi były rośliny, które azotu nie otrzymały. Aby przekonać się, czy w roztworze guttacyjnym znajduje się azot, wykonano próby na azotany z dwufenyloaminą w stężonym kwasie siarkowym oraz próby na azot amonowy z odczynnikiem Nesslera. Próba z dwufenyloaminą była dodatnia, z odczynnikiem Nesslera ujemna. Występująca guttacja była tak obfita, że utrzymywała się w ciągu całego dnia,

mimo że względna wilgotność powietrza obniżyła się np. o godzinie 17³⁰ do 50%. Guttację stwierdzono następnego ranka chociaż już mniej obfita i proces ten zachodził aż do 14 lipca, przy czym krople roztworu guttacyjnego utrzymywały się dłużej na liściach w dni pochmurne, chociaż guttacja była intensywniejsza w dni słoneczne. Po kilku dniach obserwowano, że pierwszy liść stał się bardziej zielony, zazieleniały się również liście będące dotąd barwy brunatnoczerwonej. Pojawiający się młody liść był już zupełnie zielony. 2.VII do 2 wazonów dodano po 28 mg N/l pożywki i do następnych 2 po 56 mg N/l w formie $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (II seria). W tej serii rośliny wegetowały na pożywkach bez N w ciągu 60 dni (24 dni na wodzie wodociągowej + 36 dni na pożywce bez N). Azot dodano o godzinie 12⁰⁰, temperatura powietrza wynosiła 26°C, względna wilgotność powietrza 60%. Rośliny poddano szczegółowej obserwacji i po upływie 7^{1/2} godzin stwierdzono pojawianie się kropeł roztworu guttacyjnego na nie wyschniętych liściach roślin. W tym czasie temperatura w hali wegetacyjnej wynosiła 21°C, a względna wilgotność powietrza 73%. Następnego ranka, i aż do 14 lipca, obserwowano występowanie na liściach tych roślin kropeł roztworu guttacyjnego. Jednakże po tygodniu od chwili dodania azotu do pożywki intensywność guttacji znacznie osłabła. 14.VII rośliny I serii wykłosiły się we wszystkich wazonach. 16.VII wykłosiły się rośliny II serii. 21.VII zakwitły rośliny I serii, które otrzymały 28,0 mg N/l pożywki, 24.VIII zakwitły rośliny tejże serii, które otrzymały 56,0 mg N/l pożywki. Tegoż dnia zakwitły rośliny II serii, które otrzymały 28,0 mg N/l pożywki. Trzeba zaznaczyć, że rośliny II serii, które otrzymały 56,0 mg N/l pożywki, w ogóle nie zakwitły, guttacja obfita po dodaniu azotu do pożywki już po tygodniu ustala, pojawiła się natomiast silna chloroza, która nie ustąpiła aż do likwidacji doświadczenia. 31.VII doświadczenie zlikwidowano. Oddzielono część nadziemną od korzeni i materiał roślinny zabijano w temperaturze 105°C w ciągu 30 minut, po czym suszono w temperaturze 70—75°C w suszarce elektrycznej w ciągu 30 godzin. W materiale roślinnym oznaczono azot wg Kjeldahla. Tabela 1 przedstawia wyniki doświadczenia. Doświadczenie wykazało, że kukurydza, która rosła na pożywce bez N, w ciągu 50 dni zasymilowała ok. 60% dodanego N do pożywki. Rośliny przy tym intensywnie rosły, wykłosiły się i zakwitły. Rośliny rosnące na pożywce bez N w ciągu 60 dni, po dodaniu do pożywki azotu w ilości 28,0 mg N/l, wykazały również dobry wzrost, aczkolwiek sucha ich masa jest mniejsza i niższy procent zasymilowanego N.

Najgorzej rosły i procentowo najmniej pobrały N rośliny, które hodowano na pożywkach bez N w ciągu 60 dni, po czym dodano 56,0 mg N/l pożywki.

Tabela 1 — Table 1

Asymilacja azotu po 50 i 60 dniach głodu azotowego

Nitrogen assimilation by maize after 50 and 60 days of nitrogen starvation

Dodano 28 mg N/l w formie $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ Added 28 mg N/l in form of $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	Nr rośliny No. plant	Część nadziemna Tops			Korzenie Roots		Całkowity N w mg Total N in mg	% pobranego N % N uptake
		sucha masa w g dry matter in g	mg N na 1 g suchej masy mg N on 1 g dry matter	mg N na 1 g suchej masy mg N on 1 g dry matter	sucha masa w g dry matter in g	mg N na 1 g suchej masy mg N on 1 g dry matter		
Seria I Serie I	1	5,82	9,60		1,45	7,90	67,33	50,60
	2	6,02	10,15		1,59	8,60	74,80	66,70
Seria II Serie II	1	5,05	8,61		1,61	7,00	54,75	48,80
	2	4,88	8,54		1,49	6,60	51,50	45,90
Dodano 56 mg N/l Added 56 mg N/l								
Seria I Serie I	1	6,36	18,47		2,01	10,15	137,87	61,60
	2	6,59	17,18		2,34	11,56	141,26	63,10
Seria II Serie II	1	1,82	14,10		0,79	11,40	34,70	15,50
	2	1,72	13,10		0,72	10,70	30,30	13,50

Seria I — po 50 dniach głodu azotowego.

Seria I — after 50 days nitrogen starvation.

Seria II — po 60 dniach głodu azotowego.

Serie II — after 60 days nitrogen starvation.

DOŚWIADCZENIE II

Z doświadczenia 1 wyloniły się pytania:

1) czy rośliny kukurydzy zdolne będą do asymilowania azotu po przedłużeniu okresu wegetacji na pożywce bez N, np. do 10 tygodni,

2) czy forma azotu mineralnego okaże wpływ na asymilację azotu z pożywki oraz na guttację roślin.

2.VII.1958 r. kiełkowano nasiona kukurydzy na wodzie destylowanej i 15.VII wyrosnięte siewki, po odcięciu nasion, przeniesiono na pożywki bez N o analogicznym składzie, jak w doświadczeniu I. Użyto 2-litrowych słoików szklanych i w każdym słoju umieszczono po 2 rośliny. Stosowano 3-krotne powtórzenia. pH 6,2 utrzymywano na stałym poziomie w okresie wegetacji. Ustalono następujące kombinacje:

Grupa A. azot dodano w formie $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

1) dodano 28 mg N/l,

2) dodano 56 mg N/l.

Grupa B. azot dodano w formie $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

1) dodano 28 mg N/l,

2) dodano 56 mg N/l.

Grupa C. azot dodano w formie NH_4NO_3

1) dodano 28 mg N/l,

2) dodano 56 mg N/l.

W dniu przeniesienia roślin na pożywki bez N siewki miały 2 liście.

Stosunkowo wysoka temperatura lipca była sprzyjająca dla roślin. Już 24.VII rośliny miały po 5 liści, chociaż wzrost ich był znikomy. Objawy niedoboru azotu widoczne były bardzo wyraźnie. Młode liście były bladezielone i małych rozmiarów, starsze liście żółkły i wysychały, łodyga była intensywnie zabarwiona antocjanami. Zabarwione były także górne partie systemu korzeniowego, który był bardzo cienki i wydłużony. Po 74 dniach wegetacji na pożywkach bez N rośliny miały po 12 liści, z których tylko najmłodszy miał barwę bladezieloną, a drugi z kolei brunatnoczerwoną. Pozostałe liście były żółtobrunatne i suche.

Reakcja roślin na dodanie azotu do pożywki

13.IX o godzinie 9⁰⁰, przy temperaturze 12°C i względnej wilgotności powietrza 75%, dodano azot w roztworze po 20 ml na wazon w podanych wyżej formach i ilościach. Prowadząc obserwacje tego dnia, aż do północy, nie zauważono guttacji u roślin. Dopiero następnego ranka o godzinie 6³⁰ stwierdzono guttację u wszystkich roślin. Orientacyjnie oceniając intensywność guttacji stwierdzono, iż najbardziej obficie proces ten występował na roślinach, którym dodano azot w formie azotanowej, następnie

w formie azotanowo-amonowej. Najmniej guttowały rośliny, którym dodano azot w formie amonowej. Temperatura w hali wegetacyjnej wynosiła wtedy 8°C i względna wilgotność powietrza 90%. Próby na azotany wypadły dodatnio z roztworem guttacyjnym roślin, którym dodano azot w formie azotanowej i azotanowo-amonowej. Próby z odczynnikiem Neslera wypadły dodatnio z roztworem guttacyjnym roślin, które otrzymały azot w formie amonowej i azotanowo-amonowej. Trzeba zaznaczyć, że krople roztworu guttacyjnego były największe na najmłodszym bladezielonym liściu, na jego wierzchołku, a także na brzegu, natomiast na następnym liściu krople roztworu guttacyjnego były największe na brzegu liścia. Następnie guttację stwierdzano codziennie rano aż do 20.IX, lecz krople roztworu guttacyjnego pojawiają się tylko na młodym liściu, który wyraźnie zazielenił się, lekko również zazielenił się następny liść będący dotąd barwy brunatnoczerwonej.

Po tygodniu od dnia dodania azotu do pożywki guttacja występowała tylko u pojedynczych roślin i po 1.X guttacja już w ogóle nie wystąpiła. W okresie 6.X—9.X wykłosiły się rośliny we wszystkich wazonach, kłosa były jednak bardzo małe i chlorotyczne. 23.X doświadczenie zakończono. W czasie od dodania azotu do końca doświadczenia rośliny wypuściły jeszcze po 2—3 liście, jednakże bladezielone i małych rozmiarów. System korzeniowy o barwie szarej po dodaniu azotu stał się jaśniejszy oraz pojawiły się nieliczne młode korzenie. Słaby wzrost roślin w porównaniu ze wzrostem roślin w doświadczeniu I należy przypisać prawdopodobnie zbyt niskiej temperaturze (4—14°C), która panowała w hali wegetacyjnej, oraz słabej insolacji w czasie wegetacji po dodaniu azotu. Z materiałem roślinnym postępowano jak w doświadczeniu 1. Tabela 2 przedstawia wyniki doświadczenia. Z tabeli wynika, że sucha masa roślin części nadziemnej i korzeni nie wykazuje istotnych różnic zarówno w odniesieniu do źródła azotu, jak i jego dawki. Zawartość azotu w 1 g suchej masy roślin nie wykazuje widocznych wahań w stosowanych kombinacjach. Zwraca uwagę jednakże to, że zawartość azotu w korzeniach była stosunkowo nieco wyższa niż w części nadziemnej z wyjątkiem kombinacji amonowej przy dawce 28 mg N/l pożywki. Ilość pobranego azotu z pożywki, wyrażona w procentach, nie różni się w zasadzie w odniesieniu do formy azotu, lecz jest prawie o 50% wyższa przy dawce 28 mg N/l niż przy dawce 56 mg N/l pożywki. Doświadczenie wykazało, że rośliny kukurydzy po 74 dniach głodu azotowego, po dodaniu do pożywki azotu w formach stosowanych w doświadczeniu, zasymilowały znaczne ilości podanego N, bo ok. 30 mg, co czyni w przypadku gdy do pożywki dodano 28 mg N/l ok. 50% dodanego do pożywki N, a przy dawce 56 mg N/l ok. 25%. Potwierdzono wynik doświadczenia 1, iż po dodaniu N do pożywki wystąpiła u roślin guttacja.

Tabela 2 — Table 2

Asymilacja azotu przez kukurydzę po 74 dniach głodu azotowego
 Nitrogen assimilation by maize after 74 days N- starvation

Dodano N w formie: Added N in form of	mg N/l	Część nadziemna Tops				Korzenie Roots		Całkowity azot z 2 roślin w mg Total nitrogen in 2 plants in mg	% pobranego azotu z pożywki przez 2 rośliny w mg % nitrogen uptake in culture solution by 2 plants
		sucha masa z wazonu w g dry matter on pot in g	mg N na 1 g suchej masy mg N on 1 g dry matter	sucha masa z wazonu w g dry matter on pot in g	mg N na 1 g suchej masy mg N on 1 g dry matter				
Ca(NO ₃) ₂	56	1,366	15,6	0,583	16,2	30,75	27,90	53,25	
	28	1,233	15,5	0,573	18,7				
(NH ₄) ₂ SO ₄	56	1,300	14,9	0,606	15,3	28,64	25,80	47,70	
	28	1,183	15,3	0,573	15,0				
NH ₄ NO ₃	56	1,266	16,8	0,573	17,7	31,30	27,90	51,90	
	28	1,206	14,8	0,566	18,0				

DOŚWIADCZENIE III i IV

Dalsze badania nad asymilacją azotu przez rośliny kukurydzy
po różnych okresach głodu azotowego

Poprzednie doświadczenia nad asymilacją azotu przez rośliny po różnych okresach głodu azotowego dały interesujące wyniki i stanowiły bodziec do prowadzenia dalszych badań w tym kierunku.

Zastanawiający był fakt, że kukurydza, która w warunkach niedostatecznego natlenienia podłoża lepiej rośnie na azotanach (wyniki I części pracy). W doświadczeniu II, tej II części pracy nie uzyskano różnic we wzroście roślin na pożywkach z azotem azotanowym lub amonowym. Fakt ten należało tłumaczyć tym, iż:

- 1) po długotrwałym głodzie azotowym rośliny nie reagują na formę dodanego do pożywek azotu,
- 2) warunki wegetacji roślin były nie sprzyjające (zbyt niska temperatura i słaba insolacja po dodaniu azotu).

Interesowało nas zagadnienie, w jakim stopniu głód azotowy roślin odbija się na zawartości w nich cukrów rozpuszczalnych i wolnych kwasów organicznych.

28.IV.1959 r. kielkowano nasiona kukurydzy na wodzie destylowanej i po tygodniu, po odcięciu nasion, siewki przeniesiono na pożywki bez N do słoików dwulitrowych. Skład pożywki był analogiczny do podanego w doświadczeniu I. W czasie doświadczenia na stałym poziomie utrzymywano $\text{pH} = 6,0$. Po miesiącu wegetacji doświadczenie zakończono. Z materiałem roślinnym postępowano analogicznie jak w doświadczeniu I. Cukry rozpuszczalne i wolne kwasy organiczne oznaczano wg metod podanych w doświadczeniu I, I części pracy. Stosowano 10-krotne powtórzenia. Tabela 3 podaje wyniki doświadczenia. Z tabeli można odczytać, że nieobecność azotu w pożywce jest przyczyną bardzo silnego zahamowania wzrostu roślin. Interesujący jest stosunek suchej masy części nadziemnej do korzeni równy prawie 1. Analizy zawartości cukrów rozpuszczalnych i wolnych kwasów organicznych wykazały większą zawartość tych substancji w części nadziemnej niż w korzeniach. Zwraca uwagę stosunkowo wysoka zawartość wolnych kwasów organicznych w tych roślinach.

DOŚWIADCZENIE IV

28.IV.1959 r. kielkowano rośliny kukurydzy na wodzie destylowanej i po tygodniu po odcięciu nasion przeniesiono na pożywki bez N. Powtórzenia 6-krotne. Pozostała procedura metodyczna jest analogiczna do sto-

Tabela 3 — Table 3

Zawartość cukrów rozpuszczalnych i wolnych kwasów organicznych w kukurydzy po 30 dniach głodu azotowego
Soluble carbohydrates and free organic acids content in maize after 30 days of nitrogen starvation

	Część nadziemna — Tops				Korzenie — Roots		
	sucha masa 1 rośliny w g dry matter 1 plant in g	cukry redukujące w % suchej masy reducing carbo- hydrates in % dry matter	sacharoza w % suchej masy saccharose in % dry matter	wolne kwasy organiczne w millekwiwale- nach na 100 g suchej masy the free organic acids in mili- equivalents on 100 g dry matter	cukry redukujące w % suchej masy reducing carbo- hydrates in % dry matter	sacharoza w % suchej masy saccharose in % dry matter	wolne kwasy organiczne w millekwiwale- nach na 100 g suchej masy the free organic acids in mili- equivalents on 100 g dry matter
	0,25	1,66	1,17	100,6	1,06	0,46	74,75
							0,24

sowanej w doświadczeniu I. Po miesiącu wegetacji na pożywkach bez N dodano do pożywek azot w następujących formach i ilościach:

- a) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 112 mg N na wazon,
- b) $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ — 112 mg N na wazon,
- c) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 56 mg N na wazon + 56 mg N po 2 tygodniach,
- d) $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ — 56 mg N na wazon + 56 mg N po 2 tygodniach.

Pobieranie azotu przez kukurydzę oznaczano wg metod podanych w doświadczeniu II, I części pracy. W dwóch ostatnich przypadkach (punkt c i d), po 6 tygodniach wegetacji roślin, dodano do pożywek nową dawkę azotu, ponieważ okazało się, że po tym czasie rośliny całkowicie pobrały wniesiony azot do pożywek. 29.VI rośliny sfotografowano, oddzielono część nadziemną od korzeni i z materiałem roślinnym postępowano jak w doświadczeniu I.

Tabela 4 i fotografie przedstawiają wyniki doświadczenia. Z tabeli widzimy, że sucha masa roślin, którym dodano azot w formie azotanowej, 2-krotnie przewyższa tę wartość dla roślin, którym dodano azot w formie

Ryc. 1. Doświadczenie IV. Wzrost kukurydzy na azotanach, względnie solach amonowych po 30 dniach głodu azotowego. Wazony: 1, 2, 3 — azot dodano w formie $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; wazony: 39, 40, 41 — azot dodano w formie $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

Experiment IV. Growth of maize plants on nitrate or ammonium salts after 30 days nitrogen starvation. Pots: 1, 2, 3 — nitrogen added in $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ form pots: 39, 40, 41 — nitrogen added in $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ form

amonowej. Ilość pobranego azotu azotanów jest o ok. 30% wyższa niż azotu amonowego. Zawartość w roślinach cukrów rozpuszczalnych jest wyraźnie wyższa w kombinacji amonowej w stosunku do azotanowej. Zawartość wolnych kwasów organicznych nie wykazuje prawidłowości

Tabela 4 — Table 4

Asymilacja azotu przez kukurydzę po 30 dniach głodu azotowego
Nitrogen assimilation by maize after 30 days of N- starvation

		Część nadziemna Tops				Korzenie Roots				
		sucha masa z wazonu w g dry matter on pot in g	pobranego N z wazonu w mg mg N uptake in pot	cukry redukujące w % suchej masy reducing carbohydrates in % dry matter	sacharoza w % suchej masy sacharose in % dry matter	wolne kwasy organiczne w miliekwiwa- lentach na 100 g suchej masy the free organic acids in mili- equivalents on 100 g dry matter	sucha masa z wazonu w g dry matter on pot in g	cukry redukujące w % suchej masy reducing carbohydrates in % dry matter	sacharoza w % suchej masy sacharose in % dry matter	wolne kwasy organiczne w miliekwi- walentach na 100 g suchej masy the free organic acids in mili- equivalents on 100 g dry matter
mg N na wazon w formie :										
mg N on pot in form										
NH ₄	112	1,50	70	4,15	0,61	57,5	0,66	3,05	0,33	51,7
NO ₃	112	3,50	101	2,65	0,33	56,5	1,10	2,50	0,14	46,0
NH ₄	56+56	1,60	73	4,58	0,39	52,7	0,65	2,90	0,08	45,0
NO ₃	56+56	3,20	94	2,39	0,14	51,7	1,20	2,60	0,01	44,5

w odniesieniu do tego czynnika. Porównanie tych danych z wynikami tabeli 3 poprzedniego doświadczenia wykazuje, że dodanie azotu powoduje przede wszystkim silny wzrost roślin po wniesieniu do pożywki azotu azotanowego. Stosunek suchej masy części nadziemnej do korzeni, wynoszący w poprzednim doświadczeniu prawie 1, obecnie ulega 3-krotnemu zwiększeniu. Po dodaniu do pożywki azotu zwiększa się w roślinach zawartość cukrów rozpuszczalnych, zmniejsza się natomiast zawartość wolnych kwasów organicznych.

DOŚWIADCZENIE V

Celem doświadczenia było sprawdzenie wpływu azotu w formie amonowej i azotanowej na wzrost roślin po 74-dniowym głodzie azotowym jako powtórzenie doświadczenia II. 15.IV.1959 r. kiełkowano nasiona kukurydzy na wodzie destylowanej i po odcięciu nasion przeniesiono do słoików dwulitrowych na pożywki bezazotowe. Pozostała procedura metodyczna jest analogiczna do stosowanej w poprzednim doświadczeniu. Stosowano 6-krotne powtórzenia. 29.VI.1959 r. dodano do pożywek azot w następujących formach i ilościach:

- a) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 112 mg N na wazon,
- b) $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ — 112 mg N na wazon,
- c) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 56 mg N na wazon,
- d) $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ — 56 mg N na wazon.

Ryc. 2. Doświadczenie V. Wzrost kukurydzy na azotanach, względnie solach amonowych po 74 dniach głodu azotowego. Wazony 23 i 24 — azot dodano w formie $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$; wazony 34 i 37 — azot dodano w formie $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

Growth of maize plants on nitrate or ammonium salts after 74 days nitrogen starvation. Pots: 23 and 24 — nitrogen added in $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ form; pots 34 and 37 — nitrogen added in $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ form

Rośliny podobnie jak w poprzednich doświadczeniach na dodanie azotu zareagowały obfitą guttacją. 20.VII rośliny sfotografowano i doświadczenie zakończono. Z materiałem roślinnym postępowano analogicznie jak w poprzednim doświadczeniu.

Tabela 5 i fotografie przedstawiają wyniki doświadczenia. Z tabeli widzimy, że sucha masa roślin, które otrzymały azot w formie azotanowej jest prawie 2,5-krotnie wyższa od suchej masy roślin, które otrzymały azot w formie amonowej. Także ilość pobranego azotu azotanowego jest prawie o 30% wyższa niż azotu amonowego. Podobnie jak w poprzednim doświadczeniu stwierdzamy większą zawartość cukrów rozpuszczalnych w roślinach, które otrzymały azot amonowy, w porównaniu z tymi wartościami dla roślin, które otrzymały azot azotanowy.

Zawartość wolnych kwasów organicznych nie wykazuje prawidłowości w odniesieniu do tego czynnika. Przedstawione dane w tym doświadczeniu wykazały, że azotany w kulturach nie przewietrzanych stanowią korzystniejszą formę azotu dla roślin również po długotrwałym głodzie azotowym. Dlatego wyniki doświadczenia II należy objaśniać niską temperaturą otoczenia i słabą insolacją w czasie wegetacji roślin po dodaniu azotu do pożywki. Interesujący jest fakt, że mimo dużych ilości zasymilowanego azotu przez rośliny po długotrwałym głodzie azotowym, wobec zmniejszonej zawartości w roślinach cukrów rozpuszczalnych, nie notowano w ogóle zatrucia roślin amoniakiem.

DOŚWIADCZENIE VI

W tym doświadczeniu przeprowadzono badania nad wpływem azotanów względnie soli amonowych na dynamikę parcia korzeniowego kukurydzy po 69 dniach głodu azotowego. Zastosowanie do badań nad asymilacją azotu roślin, które rosły na pożywkach bezazotowych, pozwoliło na bezpośrednie wykazanie zależności procesów aktywnego pobierania i wydalenia wody przez rośliny z ich metabolizmem azotowym. Tak wygłodzone rośliny mogą stanowić bardzo czuły test na reakcję roślin na dodanie azotu, pozwalający w sposób bezpośredni obserwować zależność procesów pobierania azotu przez rośliny i czynnego pobierania i wydalenia przez nie wody. Zdolność roślin do guttacji po długotrwałym głodzie azotowym została wykazana; pozostało przeto wyjaśnienie zagadnienia wielkości stymulacji oraz dynamiki aktywnego pobierania i wydalenia wody przez rośliny po dodaniu do pożywki azotu w formie azotanowej i amonowej w porównaniu z tymi wielkościami dla roślin kontrolnych. Zbadanie tych zagadnień stało się przedmiotem tego doświadczenia.

Zbiór soku płaczu. Zbiór soku płaczu z roślin, które rosły na pożywkach pełnych, nie następuje większych trudności, ze względu na pokaźne rozmiary roślin i duże ilości wydzielanego przez nie soku płaczu.

Tabela 5 — Table 5

Asymilacja azotu przez kukurydzę po 74 dniach głodu azotowego

Nitrogen assimilation by maize after 74 days of N- starvation

	Część nadziemna Tops					Korzenie Roots			
	sucha masa z wazonu w g dry matter on pot in g	pobranego N z wazonu w mg mg N uptake in pot	cukry redu- kujące w % suchej masy reducing carbohydrates in % dry matter	sacharoza w % suchej masy saccharose in % dry matter	wolne kwasy organiczne w miliekwi- walentach na 100 g suchej masy the free orga- nic acids in miliequiva- lents on 100 g dry matter	sucha masa z wazonu w g dry matter on pot in g	cukry redu- kujące w % suchej masy reducing carbohydrates in % dry matter	sacharoza w % suchej masy saccharose in % dry matter	wolne kwasy organiczne w miliekwi- walentach na 100 g suchej masy the free orga- nic acids in miliequiva- lents on 100 g dry matter
mg N na wazon w formie									
mg N on pot in form									
NH ₄ 112	1,70	75	2,80	0,85	53,25	0,42	1,37	0,21	28,75
NO ₃ 112	4,10	108	1,91	0,19	46,00	1,10	1,70	0,70	28,00
NH ₄ 56	1,19	31	3,30	0,42	45,50	0,48	3,15	0,01	30,25
NO ₃ 56	2,85	52	2,70	0,01	46,00	0,82	1,65	0,02	30,00

W przypadku roślin, które rosły na pożywkach bezazotowych, bardzo cienką łodygą oraz małe ilości wydzielanego soku płaczu wymagały pewnych zabiegów w celu uniknięcia najmniejszych strat soku płaczu i pełnego jego zbioru. W tym przypadku nie można się było pokusić o zachowanie warunków jałowości w czasie zbioru soku płaczu, gdyż już kropla tego roztworu wprowadzona do zbiornika mogła stykając się bezpośrednio z pieńkiem rośliny zaciemnić wyniki doświadczenia. Do zbioru soku płaczu użyto tego samego typu zbiorników, które stosowano w doświadczeniach III i IV w I części pracy.

W celu uzyskania jak najmniejszego otworu w zbiorniku zrobiono małeńkie otwory przy pomocy rozżarzonej igły. Po rozciągnięciu gumy nakładano zbiornik na ścięty pieńek rośliny, po czym brzegi wokół łodygi i zbiornika pokryto cienką warstwą lanoliny. W ten sposób uzyskano dobrą szczelność zbiorników. Sok płaczu zbierano mikrokapilarą i przenoszono do probówek. Rośliną doświadczalną była kukurydza. Nasiona kiełkowano 20.VIII.1959 r. na wodzie destylowanej i po tygodniu po odcięciu nasion przeniesiono na pożywki bezazotowe. pH ustalono na 6,0. Rośliny wegetowały na pożywkach bezazotowych w ciągu 69 dni. Po tym czasie przeniesiono je wraz ze słojami do pracowni i użyto do doświadczeń. Temperatura w pracowni w czasie trwania doświadczenia wahała się od 14,5—16,0°C. Schemat doświadczenia był następujący:

- 1) Kontrola — 5 wazonów, po 10 roślin; bez azotu,
- 2) dodano 112 mg N do 2-litrowego wazonu — 5 wazonów, 10 roślin; azot dodano w formie $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$,
- 3) dodano 112 mg N do 2-litrowego wazonu — 5 wazonów po 10 roślin; azot dodano w formie $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Po 6 godzinach od chwili dodania azotu do pożywki po przetarciu łodygi watką zwilżoną etanolem ścięto część nadziemną na wysokości 4 cm od szyjki korzeniowej i nałożono zbiorniki na sok płaczu. Z sokiem płaczu wykonano następujące próby:

- 1) na zawartość azotu amonowego i azotanowego,
- 2) zmierzono objętość soku płaczu,
- 3) oznaczono pH,
- 4) badano, czy po dodaniu etanolu do soku płaczu wytrąca się biały osad białka.

Wykresy A i B przedstawiają wyniki doświadczenia w odniesieniu do dynamiki parcia korzeniowego i ogólnych ilości soku płaczu.

Z wykresu A widzimy, że rośliny, które otrzymały azot w formie azotanowej po 24 godzinach, wydzieliły prawie 3-krotnie więcej soku płaczu niż rośliny, które otrzymały azot w formie amonowej i 7-krotnie więcej niż rośliny kontrolne. Jest to jednocześnie maksymalna ilość soku płaczu uzyskana w czasie 24 godzinach. Po 48 godzinach obserwujemy lekki

spadek ilości wydzielonego soku płaczu przez rośliny, które otrzymały azot azotanowy, i jednocześnie w tymże czasie obserwujemy maksimum wydzielonego soku płaczu przez rośliny z azotem w formie amonowej. Rośliny kontrolne nie wykazują zmian. Po 72 godzinach obserwujemy gwałtowne obniżenie intensywności tego procesu tak w kombinacji z azotem amonowym jak i azotanowym. W odniesieniu do roślin kontrolnych podobnego spadku nie zanotowano. Po 96 godzinach obserwujemy dalszą obniżkę ilości wydzielanego soku płaczu we wszystkich kombina-

Ryc. 3. A — Dynamika parcia korzeniowego kukurydzy po 69 dniach głodu azotowego; B — całkowita ilość soku płaczu w ml

A — The dynamic of root pressure of maize plant after 69 days nitrogen starvation; B — Total of bleeding sap in ml

cjach. Po 120 i 144 godzinach nie obserwujemy już jakichkolwiek zmian w intensywności tego procesu, zachowują się jednak różnice w ilości wydzielanego soku płaczu w odniesieniu do kombinacji, a mianowicie: najwięcej soku płaczu wydzielają rośliny, które otrzymały azot azotanowy, następnie amonowy i najmniej rośliny kontrolne. Próby z sokiem

plącu na zawartość azotu azotanowego, zebranych po 24 godzinach od chwili ścięcia części nadziemnej, wypadły dodatnio w kombinacji azotanowej; w soku plącu tych roślin stwierdzono również azot amonowy. W soku plącu roślin, które otrzymały azot amonowy, oraz roślin kontrolnych wykryto tylko azot w formie amonowej. pH soku plącu z tych kombinacji wynosiło 5,8 i nie wykazało jakichkolwiek różnic w odniesieniu do formy dodanego azotu. Po dodaniu do soku plącu etanolu zanotowano wypadnięcie kłaczkowatego białego osadu, podobnego do opisanego w I części pracy (dośw. III), który okazał się białkiem. Oceniając porównawczo największy osad zanotowano w kombinacji z azotem azotanowym, mniejszy z azotem amonowym i najmniejszy w kontroli. Interesujące były dalsze obserwacje. Otóż po 7 dniach w probówkach z sokiem plącu zebranych z roślin, które otrzymały azot amonowy rozwinęły się mikroorganizmy, które spowodowały zabarwienie soku plącu na zielono, natomiast w soku plącu roślin, które otrzymały azot azotanowy i bez azotu zjawiska tego nie zanotowano, mimo że obserwowano zmętnienie roztworów, a na powierzchni stwierdzono powstanie białej błonki. Wykonane z tym sokiem plącu próby na zawartość w nim azotu amonowego i azotanowego we wszystkich wypadkach wypadły dodatnio.

DOŚWIADCZENIE VII, VIII I IX

Wpływ inhibitorów KCN, NaN_3 i 2,4-dwunitrofenolu na guttację roślin po długotrwałym głodzie azotowym badano w niżej opisanych doświadczeniach.

Wyniki poprzednich badań, przeprowadzonych w tej części pracy, wyłoniły szereg zagadnień, rozwiązanie których stało się przedmiotem nowych doświadczeń. Interesowały nas zagadnienia:

- 1) jaki wpływ na guttację wykażą inhibitory KCN, NaN_3 i 2,4-dwunitrofenolu,
- 2) wobec wykazanej stymulacji aktywnego pobierania i przewodzenia wody przez rośliny pod wpływem azotu, interesujące było zbadanie działania azotu na ten proces przy jednoczesnym dodaniu do pożywek azotu i inhibitorów.

Zastosowanie inhibitorów w badaniach procesów aktywnego pobierania i przewodzenia wody przez rośliny dało interesujące wyniki, aczkolwiek wnioski wynikające z tych badań są rozbieżne. J. van Overbeek (1942), H. F. Rose (1944) wykazali, że KCN powoduje częściową inhibicję parcia korzeniowego. Autorzy przypuszczają, że być może pobieranie wody ma charakter nieosmotyczny, ponieważ KCN niecałkowicie hamuje oddychanie. Jednakże liczni autorzy nie wykazali korelacji między oddychaniem i aktywnym pobieraniem wody. P. J. Kramer (1956)

przypuszcza, że redukcja oddychania być może zmniejsza przenikliwość korzeni dla wody. Autor wypowiada możliwość, że nieosmotyczne pobieranie wody jest bezpośrednio uzależnione od energii wyzwalanej w procesie oddychania, lecz przypuszczenie to nie zostało udowodnione. W tym aspekcie interesująca jest praca J. Bonnera, R. S. Bandurskiego i A. Millerd (1953), którzy badali wpływ auksyny na oddychanie i pobieranie wody, z roztworów o różnym stężeniu osmotycznym, przez krążki karczocha, w obecności auksyny i inhibitorów 2,4 dwunitrofenolu (DNP), HCN i kwasu malonowego. Autorzy wykazali, że 2,4 DNP znosi stymulujące działanie auksyny na pobieranie wody przez krążki karczocha, powodując całkowite zahamowanie tego procesu, mimo że intensywność oddychania w obecności 2,4 DNP ulega prawie 2-krotnemu zwiększeniu. Zwiększenie stężenia roztworu zewnętrznego w obecności auksyny powoduje zmniejszenie tak pobierania wody jak i intensywności oddychania, przeto autorzy ci twierdzą, że wpływu auksyny należy upatrywać raczej w jej działaniu na akumulację wody niż na oddychanie. Autorzy podają jednocześnie wyniki badań nad inhibicją oddychania krążków karczocha przez HCN, który we wszystkich przypadkach całkowicie hamował oddychanie, a kwas malonowy hamował ten proces w 26%. Niestety badań tych nie przeprowadzono z równoczesnymi badaniami pobierania wody. Autorzy twierdzą, że działanie auksyny w tym procesie połączone jest z tworzeniem się wysokoenergetycznych związków fosforowych ATP. Działanie 2,4 DNP i NaN_3 powoduje zahamowanie procesu przenoszenia bogatych energetycznie reszt fosforanowych (W. F. Loomis, F. Lipmann 1948, W. O. James 1953). C. A. Price i R. E. Davies (1954) wykazali udział energii wysokoenergetycznych związków fosforowych w aktywnym pobieraniu i przewodzeniu wody przez mitochondria zwierzęce. R. N. Robertson, M. J. Wilkins i D. C. Weeks (1951) badali wpływ 2,4 DNP na pobieranie soli oraz oddychanie i wykazali, że 2,4 DNP hamuje pobieranie soli przez rośliny, podczas gdy oddychanie czułe na cjanki ulegało zwiększeniu. Wynika stąd wniosek, że pobieranie soli jest bezpośrednio uzależnione od energii wyzwalanej w procesie fosforylacji.

Metoda badań. Aby przekonać się o wpływie inhibitorów na występowanie guttacji u roślin, należało zastosować takie warunki, które by wykluczały wpływ innych czynników na ten proces. Wydaje się, że warunek ten może być spełniony przy hodowli roślin na wodzie destylowanej. Z drugiej strony, w celu zbadania wpływu soli na ten proces, należało przeprowadzić analogiczne badania w ich obecności.

Doświadczenia przeprowadzono w okresie zimowym 1959 r., w warunkach szklarniowych. Rośliną doświadczalną była kukurydza. 30.I kielkowano nasiona i po tygodniu, po odcięciu nasion, siewki przeniesiono

do dwulitrowych słoików szklanych. Nastawiono 32 słoje po 2 rośliny w każdym słoju na wodzie destylowanej (I seria) i tyleż samo na pożywce bezazotowej, analogicznej do użytej w poprzednich doświadczeniach tej części pracy (seria II). pH pożywki bezazotowej oraz wody ustalono na 6.0 i kontrolowano w czasie wegetacji. Temperatura w szklarni wahała się w granicach 14—20°C.

D o ś w i a d c z e n i e VII. Po 6 tygodniach wegetacji roślin dla stwierdzenia zdolności do guttacji wykonano następujące doświadczenie. Po dwa słoje z roślinami z każdej serii nakryto szklanymi słoikami wyłożonymi wewnątrz wilgotną watą i bibułą filtracyjną do 1/3 wysokości słoja. Po 6 godzinach od chwili nakrycia wazonów zanotowano występowanie kropeł roztworu guttacyjnego na liściach roślin w obu seriach. Wykonane próby z odczynnikami Nesslera wykazały obecność w roztworze guttacyjnym azotu amonowego.

Wynik ten był wielce interesujący ze względu na wykazaną zdolność do guttacji roślin po długotrwałym głodzie azotowym, przy czym w roztworze guttacyjnym stwierdzono azot. Należy przypuszczać, że wykrywany azot w roztworze guttacyjnym był wynikiem rozpadu białka w roślinach. A trzeba pamiętać, że rośliny hodowane były w ciągu 6 tygodni na pożywkach bezazotowych oraz na wodzie destylowanej.

W d o ś w i a d c z e n i u VIII badano wpływ KCN, NaN_3 i 2,4-dwunitrofenolu na guttację roślin. W każdej serii użyto po 12 słoików z roślinami, po 2 słoje w każdym wariancie:

Seria I. Woda destylowana z dodatkiem:

- a) KCN 10^{-3} M/l
- b) KCN 10^{-4} M/l
- c) NaN_3 10^{-3} M/l
- d) NaN_3 10^{-4} M/l
- e) 2,4 DNP 10^{-4} M/l
- f) 2,4 DNP 10^{-5} M/l

Seria II. Pożywka bezazotowa.

Idem.

W d o ś w i a d c z e n i u 8 uzyskano wyniki:
ad. Seria I.

a) Po 6 godzinach od chwili dodania KCN i nakrycia słoików kloszami notujemy występowanie pierwszych kropeł roztworu guttacyjnego na liściach roślin. W roztworze guttacyjnym stwierdzono azot w formie amonowej. Po 4 dniach guttacja zanika, rośliny tracą turgor i po tygodniu giną.

b) Po 6 godzinach obserwujemy występowanie guttacji u roślin. Proces ten nie słabnie aż do czasu likwidacji doświadczenia, tj. do 10 dni. W roztworze guttacyjnym stwierdzamy azot w formie amonowej.

c) Guttacja nie wystąpiła. Następnego dnia rośliny tracą turgor i giną.

d) Jak w p.c.

e) Guttacji nie zanotowano. Po 3 dniach rośliny tracą turgor i po tygodniu giną.

f) Jak w p.e.

ad. Seria II. Wyniki działania inhibitorów na guttację roślin były analogiczne do opisanych dla serii I.

Doświadczenie IX. Wpływ KCN, NaN_3 i 2,4-dwunitrofenolu na guttację roślin w obecności azotanów bądź soli amonowych. W każdej serii użyto po 16 wazonów po 2 wazonu w każdym wariancie:

Seria I. Woda destylowana z dodatkiem:

a) $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4 \ 2 \cdot 10^{-3} \text{ M/l}$

b) $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \ 2 \cdot 10^{-3} \text{ M/l}$

c) $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4 \ 2 \cdot 10^{-3} \text{ M/l} + \text{KCN} \ 10^{-3} \text{ M/l}$

d) $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4 \ 2 \cdot 10^{-3} \text{ M/l} + \text{NaN}_3 \ 10^{-3} \text{ M/l}$

e) $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4 \ 2 \cdot 10^{-3} \text{ M/l} + 2,4 \text{ DNP} \ 10^{-5} \text{ M/l}$

f) $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \ 2 \cdot 10^{-3} \text{ M/l} + \text{KCN} \ 10^{-3} \text{ M/l}$

g) $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \ 2 \cdot 10^{-3} \text{ M/l} + \text{NaN}_3 \ 10^{-3} \text{ M/l}$

h) $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \ 2 \cdot 10^{-3} \text{ M/l} + 2,4 \text{ DNP} \ 10^{-5} \text{ M/l}$

Seria II. Pożywka bezazotowa.

Idem.

Wyniki tego doświadczenia przedstawiają się następująco:

ad. Seria I.

a) Guttacja wystąpiła już po 4 godzinach od chwili dodania do pożywki siarczanu amonu. W roztworze guttacyjnym stwierdzamy azot w formie amonowej. Proces ten zachodzi aż do likwidacji doświadczenia (10 dni).

b) Silna guttacja już po 3 godzinach. W roztworze guttacyjnym stwierdzamy azot azotanowy i azot amonowy. Proces zachodzi aż do likwidacji doświadczenia.

c) Po 8 godzinach bardzo słaba guttacja. Po 2 dniach zanik procesu, rośliny więdną i giną.

d) Guttacji nie stwierdzono. Następnego dnia zanik turgoru u roślin i po 3 dniach rośliny giną.

e) Jak w p. d.

f) Bardzo słaba guttacja. W roztworze guttacyjnym stwierdzamy azot amonowy. Po 4 dniach zanik turgoru i rośliny giną.

g) Guttacji nie stwierdzono. Po 3 dniach zanik turgoru i rośliny giną.

h) Jak w p. g.

ad. Seria II.

Wyniki analogiczne do uzyskanych w serii I. Wyżej opisane doświadczenie VII wykazało, że rośliny hodowane na wodzie destylowanej i na pożywkach bezazotowych bez dodania azotu do pożywki również zdolne są do guttacji (w warunkach wilgotnej kamery). Wobec nieobecności azotu w pożywce i w wodzie destylowanej wydzielany w roztworze guttacyjnym azot amonowy mógł być skutkiem tylko degradacji białka w roślinach. Z przedstawionych wyżej danych z literatury wynika, że 2,4-dwunitrofenol i azydek sodu powodują rozkojarzenie procesów utleniania i fosforylacji. Z otrzymanych danych o działaniu tych inhibitorów na guttację u roślin wylania się wnioszek o udziale energii wysokoenergetycznych związków fosforowych w procesie aktywnego pobierania i przewodzenia wody przez rośliny, którego przejawem jest parcie korzeniowe i guttacja.

DYSKUSJA

Szeroki krąg zagadnień, które wyłoniły się w związku z przeprowadzonymi badaniami, wymaga oddzielnego omówienia ich w kolejności w celu znalezienia możliwego związku między nimi.

W tej części pracy stwierdzono następujące fakty:

1. Zdolność do guttacji roślin w warunkach wilgotnej kamery hodowanych na pożywkach bezazotowych i na wodzie destylowanej.

2. Zdolność roślin hodowanych w ciągu długiego okresu czasu na pożywkach bezazotowych do asymilowania azotu mineralnego.

3. Azotany są korzystniejszą formą azotu dla roślin w warunkach słabego natlenienia podłoża także po długotrwałym głodzie azotowym.

4. Dodanie do pożywek azotu spowodowało wzrost i rozwój roślin.

5. Azotany i sole amonowe stymulują proces aktywnego pobierania i przewodzenia wody przez rośliny, przy czym azotany stymulują ten proces w wyższym stopniu niż sole amonowe.

6. Proces aktywnego pobierania i przewodzenia wody przez rośliny jest uzależniony od metabolizmu azotowego roślin.

7. Inhibitory powodujące rozkojarzenie procesu utleniania i fosforylacji całkowicie hamują guttację u roślin.

Zjawisko guttacji, jak i płacz roślin, objaśniane jest jako skutek parcia korzeniowego. Parcie korzeniowe jest przejawem aktywnego pobierania i przewodzenia wody przez rośliny i wymaga wkładu wolnej energii.

Zagadnienie aktywnego pobierania i przewodzenia wody przez rośliny omawiane jest szczegółowo przez licznych autorów, m.in. P. J. Kramera (1956), C. R. Stockinga (1956), A. S. Craftsa, H. B. Curriera i C. R. Stockinga (1948) oraz P. Strebeyko (1956). Jednakże, mimo wysiłków licznych autorów, mechanizm parcia korzeniowego jest dotąd mało poznany. Najważniejszymi dowodami na istnienie zależności tego procesu od metabolizmu żywych komórek jest to, że parcie korzeniowe ustaje, jeżeli zabije się system korzeniowy lub izoluje się go od dostępu tlenu. D. A. Sabinin (1955) podaje następującą definicję parcia korzeniowego: „jest to proces jednostronnego prądu wody i rozpuszczonych w niej substancji, zależny od utleniania asymilatów“. W odniesieniu do tej definicji N. A. Maksimow (1952) pisze: „wypełnienie konkretną treścią tego stosunkowo abstrakcyjnego określenia jest zadaniem przyszłych badaczy“. F. C. Steward, P. R. Stout i C. Preston (1940) badali pobieranie wody przez krążki wycięte z bulwy ziemniaka i stwierdzili, że potas i jony azotanowe w przeciwieństwie do wapnia stymulowały ten proces. Autorzy wypowiedzieli hipotezę o zależności procesów pobierania wody z absorpcją soli, oddychaniem tlenowym i syntezą białka. Według H. Lundegårdha (1946) energia tzw. „oddychania anionowego“ jest wykorzystywana przy aktywnym pobieraniu jonów przez protoplazmę. Należy przypuszczać, że jest ona również wykorzystywana w procesach aktywnego pobierania i przewodzenia wody przez rośliny. J. van Overbek (1942) wykazał, że stężenie roztworu zewnętrznego powodujące zanik parcia korzeniowego jest często 2-krotnie wyższe niż stężenie roztworu soku płaczu. Na tej podstawie autor twierdzi, że parcie korzeniowe jest częściowo zjawiskiem osmotycznym, a częściowo jest wynikiem wydzielania wody przez żywe komórki. Interesujące są również doświadczenia F. M. Eatona (1943). Stwierdził on, że stężenie roztworu guttacyjnego jest często mniejsze niż stężenie roztworu zewnętrznego, przeto wydaje się, że komórki pochłaniają większość soli, zanim przesuną się one na znaczną odległość w korzeniach lub w łodydze, a także że podwyższenie ciśnienia osmotycznego roztworu zewnętrznego powoduje zanik parcia korzeniowego. Według opinii autora „zjawisko parcia korzeniowego można zadowalająco objaśnić na podstawie różnicy między ciśnieniem osmotycznym w naczyniach ksylemu i sumą osmotycznych i kapilarnych sił w roztworze zewnętrznym“. O wpływie poszczególnych substancji na guttację i płacz roślin mamy tylko nieliczne dane. C. Monfort (1920) stwierdził, że woda pochodzenia sfagnowego powoduje w ciągu pierwszych dni zwiększenie inten-

sywności guttacji u kukurydzy, po czym zjawisko to słabnie i ustaje. F. C. Skoog, T. C. Broyer i K. A. Grossenbacher (1938) wykazali, że auksyna powoduje zwiększenie intensywności guttacji. Poza tym K. A. Grossenbacher (1939) stwierdził, że eksudacja dekapitowanych roślin słonecznika wykazuje dobowy rytm. Fizjologiczne znaczenie guttacji dla roślin także nie jest wyjaśnione. Według G. Haberlandta (1894, 1895) guttacja, która jest szczególnie rozpowszechnionym zjawiskiem w strefie zwrotnikowej, jest procesem korzystnym, gdyż powodując nieprzerwany przepływ wody przez rośliny zwiększa zaopatrzenie roślin w sole mineralne. L. C. Curtis (1943) na podstawie doświadczeń wykazał, że roztwór guttacyjny jest szkodliwy dla liści. Szkodliwe działanie tego roztworu przejawia się np. u kukurydzy, tzw. poparzeniem wierzchołka liścia (tip burn) wyrażającym się w skręcaniu i więdnieniu wierzchołka liścia. Przyczyny tego stanu wg autora mogą być następujące:

1. Roztwór guttacyjny wyparowując staje się roztworem hipertonicznym.
2. Małe ilości substancji, które nie wykazują toksycznego działania w roztworze rozcieńczonym, mogą wykazać tego rodzaju działanie w roztworze stężonym.
3. Roztwór guttacyjny może absorbować szkodliwe gazy atmosfery.
4. W roztworze guttacyjnym rozwijają się bakterie i drożdże, które mogą zmienić skład roztworu lub wydzielić substancje toksyczne dla liści.
5. Mogą tworzyć się nowe substancje dzięki działaniu enzymów wydzielonych wraz z roztworem guttacyjnym, które mogą okazać się toksyczne dla liści.

Przytoczony powyżej przegląd literatury wykazuje, że zjawiska guttacji i płaczu roślin są interpretowane przez badaczy bardzo rozmaicie.

Na podstawie osiągniętych wyników w naszych badaniach wykazano specyficzny wpływ azotu mineralnego na wystąpienie guttacji u roślin hodowanych w ciągu długiego czasu na pożywkach bezazotowych.

Szybkie występowanie guttacji po dodaniu do pożywki azotu wskazywałoby na zwiększenie przepuszczalności protoplazmy komórek korzenia pod wpływem tego czynnika dla wody. Jednakże mechanizm tego wpływu jest niejasny i wymaga dalszych badań. Możliwość wytworzenia się odmiennego metabolizmu roślin w rezultacie długotrwałego głodu azotowego komplikuje zjawisko. Fakt, iż guttację obserwowano w ciągu stosunkowo długiego czasu od chwili dodania azotu do pożywek, wzrost i rozwój roślin po tym zabiegu oraz asymilacja azotu przez rośliny bezsprzecznie przemawiają za powiązaniem występowania guttacji z metabolizmem azotowym roślin. Byłby to więc dowód popierający tezę

F. C. Stewarda, P. R. Stouta i C. Prestona o zależności pobierania wody, soli mineralnych, metabolizmu białkowego i oddychania tlenowego. Jednakże brak w naszych doświadczeniach danych o oddychaniu korzeni przed i po dodaniu azotu do pożywek nie pozwala na wyciągnięcie ostatecznego wniosku. Jest rzeczą interesującą, czy wystąpienie guttacji u roślin hodowanych na pożywkach bezazotowych jest specyficzną reakcją roślin tylko w odniesieniu do tego pierwiastka, czy też i do innych pierwiastków i związków. Fizjologiczną rolę guttacji w naszych warunkach, wydaje się, można objaśnić tym, że wydzielanie azotu w roztworze guttacyjnym przez rośliny w formach wniesionych do pożywek występowało dlatego, że wobec braku asymilatów dla pełnej asymilacji podanego azotu, część tegoż rośliny wydzielala jako składnik nie wykorzystany lub szkodliwy i zbędny dla organizmu roślinnego. Interesujący jest fakt, że w okresie występowania guttacji u roślin nie stwierdzono objawów zatrucia roślin po dodaniu azotu. Przedstawione poglądy L. C. Curtisa, o szkodliwości roztworu guttacyjnego dla liści roślin, w naszych doświadczeniach nie uzyskały potwierdzenia; mimo obfitego występowania guttacji u kukurydzy, nigdy nie zauważono objawów uszkodzenia liści po wyparowaniu roztworu guttacyjnego. Wprost przeciwnie pozostałe 2 nie wyschnięte liście, na których właśnie obserwowano krople roztworu guttacyjnego, w krótkim czasie zazieleniły się i powiększyły swoje rozmiary. Wydaje się, że pogląd autora jest słuszny w przypadku, kiedy rośliny są obficie zaopatrywane w składniki mineralne. Przedstawione dane o dynamice parcia korzeniowego kukurydzy po dodaniu azotu do pożywek po 69-dniowym głodzie azotowym (dośw. 6) całkowicie potwierdziły wyniki uzyskane w dośw. III, I części pracy o stymulującej roli azotanów na proces aktywnego pobierania i przewodzenia wody przez rośliny.

W tym doświadczeniu wykazaliśmy ponadto, że azot amonowy stymuluje ten proces w stopniu niewspółmiernie mniejszym niż azotany. Wyniki tego doświadczenia rzucają jeszcze jedno bardzo interesujące światło na zagadnienie warunków, w których parcie korzeniowe roślin występuje. Ogólnie bowiem wśród fitofizjologów przyjęty jest pogląd, że warunkiem do przejawienia się parcia korzeniowego jest dobre zaopatrzenie systemu korzeniowego w substancje organiczne. D. A. Sabinin (1955) w monografii pt. *Fizjologiczeskije osnovy pitania rastieni* na str. 109 pisze: „niezbędnym warunkiem podtrzymania aktywnego pochłaniania wody przez system korzeniowy jest prąd substancji organicznych z części nadziemnej do korzeni“. Zdziwiający jest wynik doświadczenia z roślinami hodowanymi na pożywkach bezazotowych i wodzie destylowanej. Wydzielaly one stałe ilości soku płaczu w ciągu 72 godzin i tylko po 96 godzinach od chwili ścięcia części nadziemnej ilości te zmniejszyły się o 40%

utrzymując się na tym poziomie przez dalsze 48 godzin. Rośliny te wydzielają ponadto białko. Wydaje się przeto, że proces aktywnego pobierania i przewodzenia wody przez rośliny jest bardzo ściśle powiązany z metabolizmem azotowym roślin. Za tym wnioskiem przemawia fakt stymulacji procesu przez azotany oraz w mniejszym stopniu przez sole amonowe. Ciekawy jest fakt bardzo szybkiej asymilacji podanego azotu przez rośliny. Świadczy to o dużej aktywności systemu korzeniowego tych roślin. W odniesieniu do pobierania azotu przez rośliny (dośw. III i IV), uzyskane dane potwierdzają wcześniejsze wyniki badań P. Strebejko (1932), który wykazał, że azot azotanowy w wyższej temperaturze jest intensywniej pobierany niż azot amonowy, trzeba bowiem zaznaczyć, że w czasie wegetacji roślin temperatura powietrza w czasie dnia przewyższała często nawet 30°C . Uzyskane dane w doświadczeniu III wykazały, że w roślinach po długotrwałym głodzie azotowym ulega znacznemu zwiększeniu ilość wolnych kwasów organicznych. Wydaje się przeto, że odgrywają one pierwszorzędą rolę w możliwości asymilacji dodanego azotu do pożywki wobec zmniejszonych ilości cukrów rozpuszczalnych w roślinie. Jaki jest mechanizm stymulującego wpływu azotanów i soli amonowych na proces aktywnego pobierania i przewodzenia wody przez rośliny? W przypadku azotanów wydaje się, że aktywizacja procesów oksydoredukcyjnych w komórkach roślinnych pod wpływem tej formy azotu mogłaby najogólniej objaśnić przyczynę tego stanu rzeczy (wyniki doświadczenia 3, I części pracy). Mechanizm stymulującego wpływu na ten proces azotu amonowego wydaje się jest także powiązany z procesami oksydoredukcyjnymi. W tym aspekcie interesujące są wyniki badań J. A. Beckinga (1956) nad mechanizmem pobierania jonów NH_4 przez korzenie kukurydzy. Wykazał on mianowicie, że korzenie roślin po krótkotrwałym głodzie azotowym (9—11 dni) wykazywały zwiększenie intensywności oddychania po dodaniu azotu amonowego, natomiast ekwiwalentne ilości siarczanu potasu lub siarczanu sodu tego działania nie wykazały. Autor przypuszcza istnienie tzw. oddychania „kationowego”, które spowodowane jest wyłącznie przez pochłanianie kationów NH_4 przez korzenie roślin. Wykazano (dośw. 7, 8, 9), że inhibitory KCN, NaN_3 i 2,4-dwunitrofenol wykazują niejednakowy wpływ na guttację roślin KCN w stężeniu $10^{-3\text{M}}$ w pierwszym okresie (4 dni) nie hamuje guttacji, a dziesięciokrotnie niższe stężenie KCN nie wykazało widocznego hamującego wpływu na ten proces w czasie trwania doświadczenia (10 dnia). Natomiast NaN_3 i 2,4-DNP, a więc związki powodujące rozkojarzenie procesów utleniania i fosforylacji całkowicie hamowały guttację w użytych stężeniach. Wyniki te wskazują na bezpośredni udział energii pochodzącej z wysokoenergetycznych związków fosforowych w procesie aktywnego pobierania i przewodzenia wody przez rośliny. Zastosowanie

do badań roślin hodowanych w ciągu długiego okresu czasu na pożywkach bezazotowych wykazało, że rośliny takie stanowią bardzo czuły test pozwalający stwierdzić istnienie zależności między pobieraniem azotu przez rośliny i jego asymilacją a procesem aktywnego pobierania i przewodzenia wody przez rośliny.

STRESZCZENIE

W latach 1958—1959 przeprowadzono badania nad asymilacją azotu mineralnego przez rośliny po różnych okresach głodu azotowego.

Wykazano, że rośliny kukurydzy hodowane na pożywkach bezazotowych w ciągu 30, 50, 60, 69 i 74 dni wykazują zdolność do intensywnej asymilacji azotu mineralnego. Dodanie azotu do pożywek spowodowało bujny wzrost i rozwój roślin.

Stwierdzono stymulację aktywnego pobierania i przewodzenia wody przez rośliny po dodaniu azotu, przy czym azotany wykazują większy stymulujący wpływ na ten proces niż sole amonowe.

Wykazano, że azotany w warunkach niedostatecznego natlenienia pożywki są korzystniejszą formą azotu także dla roślin po długotrwałym głodzie azotowym.

Dodanie azotu do pożywek powoduje zwiększenie w roślinach zawartości cukrów rozpuszczalnych, a zmniejszenie zawartości wolnych kwasów organicznych. Stwierdzono, że rośliny hodowane na pożywkach bezazotowych w ciągu 69 dni oraz na pożywkach bezazotowych i wodzie destylowanej w ciągu 6 tygodni zachowują zdolność aktywnego pobierania i przewodzenia wody. Proces ten jest związany z metabolizmem azotowym roślin. Wykazano, że KCN w stężeniu 10^{-3} M/l nie hamuje guttacji roślin w ciągu pierwszych 4 dni. KCN w stężeniu 10^{-4} M/l nie wykazuje hamującego wpływu na ten proces. NaN_3 w stężeniach 10^{-3} M/l i 10^{-4} M/l oraz 2,4-dwunitrofenol w stężeniach 10^{-4} M/l i 10^{-5} M/l całkowicie hamują guttację u roślin. Rośliny hodowane na pożywkach bezazotowych w ciągu dłuższego czasu stanowią bardzo czuły test pozwalający na stwierdzenie istnienia zależności procesów aktywnego pobierania i przewodzenia wody przez rośliny i metabolizmu roślin.

SUMMARY

In the years 1958—59 research was conducted on the assimilation of mineral nitrogen by plants after varying periods of nitrogen starving. It has been shown that maize plants after culture on non-nitrogen solutions in 30, 50, 69, 74, days have displayed capacity for intensive assimilation of mineral nitrogen. Addition of nitrogen to culture solutions stimulated intensive growth and development of the plants. After nitrogen had been added stimulation of active uptake and movement of water was observed. The nitrates show greater influence on this process than ammonium salts. It has been shown that nitrates are a more favourable nitrogen form also for plants after continued N-starving in conditions of insufficient oxygen supply of culture solutions. The addition of nitrogen to culture solutions increases soluble carbohydrates content in plants and decreases free organic acids content.

It has been found that plants grown on non-nitrogen culture solutions for 69 days as well as on non-nitrogen solutions and distilled water for 6 weeks retain their capacity for an active uptake and movement of water. This process is

connected with the nitrogenous metabolism in plants. It has been shown that KCN concentrated to 10^{-3} M/l does not hamper the guttation of plants for the first 4 days. KCN concentrated to 10^{-4} M/l does not reveal a retarding effect on this process. NaN_3 concentrated to 10^{-3} M/l and 10^{-4} M/l as well as 2,4, dinitrophenol concentrated to 10^{-4} M/l and 10^{-5} M/l stop completely plant guttation. Plants grown on non-nitrogen culture solutions can serve as highly sensitive test which allows to determine the interrelation of processes concerned with the active uptake and movement of water in plants and with their nitrogenous metabolism.

LITERATURA

- Becking J. A., 1956, On the mechanism of ammonium ion uptake by maize roots, *Acta bot. neerl.* 5. No. 1. 1—79.
- Bonner J., Bandurski R. S., Millerd A., 1953, Linkage of respiration to auxin-induced water uptake, *Physiol. Plant.* 6: 511—523.
- Crafts A. S., Currier, H. B., Stocking C. R., 1948, Water in the physiology of plants, *Chronica Botanica*, Co. Waltham, Mass.
- Curtis L. G., 1943, Deleterious effects of guttated fluids of foliage, *Amer. Jour. Bot.* 30: 778—781.
- Eaton F. M., 1943, The osmotic and vitalistic interpretations of exudation, *Amer. Jour. Bot.* 30: 663—674.
- Grossenbacher K. A., 1939, Autonomic cycle of rate of exudation of plants, *Amer. Jour. Bot.* 26: 107—109.
- Haberlandt G., 1894—95, Anatomisch-physiologische Untersuchungen über das tropische Laubblatt. II, *Sitzb. Wien. Akad.* 103: 489—538, 104: 55—116.
- Hoffer G. N., Krantz B. A., 1957, *Priznaki golodania rastieni*, Tlum. ros. z ang. Sielchozizdat, Moskwa.
- James W. O., 1953, The use of respiratory inhibitors, *Ann. Rev. Plant Physiol.* 4: 59—91.
- Kramer P. J., 1956, The uptake of water by plant cells, *Handbuch der Pflanzenphysiologie*. Band II: 316—328.
- Kramer P. J., Physical and physiological aspects of water absorption. *Handbuch der Pflanzenphysiologie*, Band IV: 124—159.
- Loomis W. F., Lipman F., 1948, Reversible inhibition of the coupling between phosphorylation and oxidation, *Jour. Biol. Chem.* 173, 807.
- Lundegardh H., 1946, Transport of water and salts through plant tissues, *Nature* 157: 575—577.
- Maksimow N. A., 1952, *Izbrannyje raboty po zasuchoustoicziwosti i zimostoi-kosti rastieni*, I. 111—206, Izdat AN. SSSR, Moskwa.
- Monfort C., 1920, Physiologische Grundlegung einer Guttationsmethode zur relativen Prüfung der Wasseraufnahme, *Jahrb. wiss. Bot.* 39: 467—524.
- Price C. A., Davies S. E., 1954, Active transport of water by mitochondria, *Biochem. Jour.* 58: No 2. XVII.
- Robertson R. N., Wilkins M. J., Weeks D. C., 1951, Studies in the metabolism of plant cells. IX. The effects of 2,4 DNP on salt accumulation and salt respiration, *Australian J. Sci. Research (B)*: 4: 248—264.
- Rosene H. F., 1944, Effect of cyanide on rate exudation in excised onion roots, *Amer. Jour. Bot.* 31: 172—174.
- Sabinin D. A., 1955, *Fizjologiczeskije osnovy pitania rastieni*, 76—236. Izdat. An SSSR. Moskwa.

- Skoog F. T., Broyer T. C., and Grossenbacher K. A., 1933, Effect of auxin on rates, periodicity and osmotic relations in exudations, *Amer. Jour. Bot.* 25: 749—759.
- Steward F. C., Stout P. R., Preston C., 1940, The balance of metabolites for potato discs showing the effect of salts and dissolved oxygen on metabolism at 23°C, *Plant Physiol.* 15: 409—447.
- Stocking C. R., 1956, Guttation and bleeding, *Handbuch Der Pflanzenphysiologie*, Bd IV: 486—502.
- Stocking C. R., 1956, Root pressure, *Handbuch der Pflanzenphysiologie* Bd 4: 583—586.
- Strebeyko P., 1932, Wpływ temperatury na fizjologiczną reakcję azotanu amonowego, *Roczn. Nauk Roln. i Leśn.* 28: 1—14.
- Strebeyko P., 1956, Woda i światło w życiu rośliny, Państw. Wyd. Naukowe, Warszawa.
- Van Overbek J., 1942, Water uptake by excised roots systems of the tomato due to non osmotic forces, *Amer. Jour. Bot.* 29: 677—683.