

11.8590
117 575 75

Д. Н. Прянишниковъ.

АММІАКЪ,

КАКЪ АЛЬФА И ОМЕГА

ОБМѢНА АЗОТИСТЫХЪ ВЕЩЕСТВЪ ВЪ РАСТЕНІИ.

—♦—

Du rôle ^{de} l'ammoniaque dans les métamorphoses
des matières azotées chez les plantes.

Par D. N. Prianichnikov.



Типо-литографія Т-ва И. Н. КУШНЕРЕВЪ и К^о. Пименовская ул., соб.
Москва — 1916.

K. 1

Белорусского	
Отд.	031.84
Шифр	Ж. 859а
Инв. №	117575

С. 103

Амміакъ, какъ альфа и омега обмена азотистыхъ веществъ въ растеніи.

Д. Н. Прянишниковъ.

Недалеко еще то время, когда роль амміака въ жизни высихъ растеній склонны были сводить къ минимуму или даже вообще сомнѣвались, можно ли допускать непосредственное участіе амміака въ превращеніи азотистыхъ веществъ, если только рѣчь шла о растеніяхъ, содержащихъ хлорофиллъ; отрицаніе это распространилось какъ на восходящую, такъ и на нисходящую часть той воображаемой лѣстницы, которая ведетъ къ бѣлку по пути синтеза и обратно отъ него къ конечнымъ продуктамъ распада. Такъ, долгое время принимали, что амміакъ не служитъ непосредственно источникомъ азота для высихъ растеній, но является лишь матеріаломъ для образованія въ почвѣ нитратовъ, которые и поступаютъ въ растеніе въ качествѣ единственной удобной для него формы азотистой пищи, служащей исходнымъ пунктомъ для синтеза цѣлаго ряда сложныхъ азотистыхъ соединений, съ бѣлковыми веществами во главѣ. Точно также и образованіе амміака въ качествѣ конечнаго продукта распада бѣлковъ, давно констатированное у грибовъ, у высихъ растеній отрицалось или подвергалось большому сомнѣнію ¹⁾. Но послѣдніе 10—15 лѣтъ принесли существенныя измѣненія во взглядахъ на роль амміака и въ томъ и въ другомъ отношеніяхъ.

Такъ, работы П. С. Коссовича (въ Петроградѣ) и Mazé (въ Парижѣ) ²⁾ показали, что амміакъ въ условіяхъ стерильныхъ

¹⁾ Pfeffer, I Bd., S. 460 (1897).
²⁾ Журналъ Опытной Агрономіи и Annales de l'Institut Pasteur, 1900—1901.

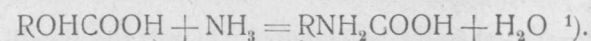
культуръ, исключаящихъ нитрификацію, прекрасно используетсяъ высшими растениями, если только принять мѣры къ устраненію той кислотности, которая вызывается причинами физиологическими (неравнымъ поглощеніемъ основанія и кислоты изъ солей амміака съ минеральными кислотами). Если обычно наблюдается преимущество нитратовъ надъ амміачными солями, то это не стоитъ въ связи съ самымъ процессомъ ассимиляціи азота, а зависитъ лишь отъ условій *поступленія* азотистой пищи: если растенію дается Ca (NO₃)₂, то избытку остающагося основанія оно можетъ противопоставить во всякомъ случаѣ ту углекислоту, которая выдѣляется при дыханіи корней; если же мы даемъ растенію NH₄Cl, то остающейся кислотѣ растеніе ничего не можетъ противопоставить, и потому оно страдаетъ и даже гибнетъ (какъ бобовыя въ въ песчаныхъ культурахъ), если не ввести CaCO₃ или Fe (OH)₃ въ окружающую среду. Что же касается дальнѣйшей судьбы воспринятой растеніемъ азотистой пищи, то, конечно, амміакъ стоитъ ближе, чѣмъ азотная кислота, къ той формѣ, въ какой азотъ входитъ въ промежуточные и конечные продукты синтеза органическихъ азотистыхъ соединеній въ растеніи (группа NH₂ въ амидахъ и аминахъ).

Образованіе кислотныхъ амидовъ и аминокислотъ изъ амміака и безазотистыхъ соединеній возможно разными путями; наиболѣе просто идетъ образованіе амидовъ, для котораго достаточно отнятія частицы воды изъ соотвѣтственной амміачной соли (RCOONH₄—H₂O=RCOONH₂); для полученія аминокислотъ синтетическимъ путемъ химики используютъ способность альдегидовъ присоединять амміакъ, а на полученное соединеніе затѣмъ дѣйствуютъ синильной кислотой, чтобы удлинить углеродную цѣпь на одинъ атомъ угля; послѣ омыленія нитрила получается соотвѣтственная α-аминокислота; въ растеніи можно представить тотъ же процессъ съ болѣе вѣроятной замѣной синильной кислоты муравьинымъ альдегидомъ и послѣдующимъ окисленіемъ amino-альдегида въ кислоту.

Кромѣ того, извѣстны случаи когда группы NH₂ и OH мѣняются мѣстами ¹⁾; возможно, что такой обмѣнъ можетъ приводить къ образованію аминокислотъ на счетъ амидовъ оксикислотъ въ растеніи. Въ пользу участія оксикислотъ въ синтезѣ аминокислотъ

¹⁾ См. примѣръ у Lutz'a, Berichte d. D. Chem. Ges., 35, II, 2460 и 4370.

можетъ говорить еще слѣдующее обстоятельство: при рядѣ процессовъ происходитъ дезамидированіе (дезаминированіе), т.-е. замѣна группы NH₂ гидроксиломъ съ отщепленіемъ амміака; естественно предполагать обратимость этого процесса и образованіе въ растеніи аминокислотъ на счетъ оксикислотъ и амміака:



Нитраты, поступая въ растеніе, должны еще подвергнуться возстановленію, чтобы дать группу NH₂; возстановленіе это, конечно, идетъ легко, когда растеніе богато углеводами (и въ растеніи оно также имѣетъ мѣсто, особенно если для ускоренія реакціи прибѣгнуть къ нагрѣванію: именно, глюкоза при кипяченіи съ азотной кислотой окисляется, и одновременно образуется амміакъ). Можно представить также (согласно съ М. И. Коноваловымъ), что сначала азотная кислота реагируетъ съ углеводами или другими органическими веществами, давая нитросоединенія, которыя затѣмъ возстановляясь даютъ аминокислоты; въ параллель съ этимъ можно поставить опытъ Ciamician'a, который показалъ, что нитробензолъ въ спиртовомъ растворѣ подъ вліяніемъ свѣта возстановляется, давая анилинъ (одновременно спиртъ окисляется въ альдегидъ). Но въ растеніи подобное возстановленіе идетъ и безъ участія свѣта, если запасъ углеводовъ достаточенъ ²⁾. Такимъ

¹⁾ Возможность такого синтеза доказана въ послѣднее время даже для животнаго организма (см. K n o o r, Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 71, а также E m b d e n, Biochemische Zeitschr., Bd. 29).

²⁾ Это было показано Годлевскимъ, первая работа котораго по этому вопросу относится къ 1897 году; она вызвала критическія замѣчанія автора (въ диссертациі 1899 г.), главнымъ образомъ, указаніе на слишкомъ малыя навѣски; тогда Годлевскій повторилъ опыты съ большими навѣсками, при чемъ получилъ подтвержденіе прежнихъ выводовъ (1903 г.; см. также работы Suzuki 1898 г.). Въ нашихъ послѣдующихъ работахъ мы не разъ имѣли случай убѣдиться въ правильности этихъ выводовъ; въ качествѣ примѣра приведемъ лишь слѣдующія результаты одного опыта Калининна (см. „Изъ результатовъ вегетационныхъ опытовъ“, г. VII).

К у к у р у з а.				N нитратовъ (или амміака)
На 100 р. (pour 100 pl).	Весь N N total.	N бѣлковъ N des protéides.	N аспарагина N de l'asparagine.	N нитратовъ (или амміака) N des nitrates (ou NH ₃).
Вода	759,3	540,9	104,5	—
Ca (NO ₃) ₂	869,7	592,9	169,7	19,1 mgr.
NH ₄ Cl + CaCO ₃ .	939,9	538,0	269,5	(4,8 mgr.)

Отмѣтимъ, что здѣсь не только съ ясностью сказалось образованіе аспарагина на счетъ нитратовъ и амміака въ темнотѣ, но и извѣстное преимущество амміач-

образомъ поступаетъ ли азотъ въ растение въ видѣ амміачныхъ или азотнокислыхъ солей, все равно синтезъ идетъ черезъ образование аминныхъ группъ, и можно сказать, что оба русла сливаются здѣсь въ одно; въ этомъ смыслѣ питаніе нитратами есть лишь вариантъ начальной стадіи основного процесса, ведущаго отъ амміака къ бѣлку.

Не меньшія измѣненія произошли также за послѣднее время и во взглядахъ на значеніе амміака, какъ конечнаго продукта, при обмѣнѣ азотистыхъ веществъ у высшихъ растений.

Одно изъ первыхъ указаній (хотя и не вполне опредѣленныхъ) на возможную роль амміака въ процессѣ распада бѣлковъ въ растеніи можно видѣть въ одномъ изъ предположеній, высказанныхъ Э. Шульце въ 1888 году (наравнѣ съ другими возможностями), по которому аминокислоты подвергаются дальнѣйшему болѣе глубокому распаду, и изъ „азотистыхъ остатковъ“ отъ этого превращенія при участіи веществъ безазотистыхъ образуется аспарагинъ (гипотеза В) ¹⁾.

Очень опредѣленное утвержденіе объ участіи амміака, какъ конечнаго продукта распада бѣлковъ, во вторичномъ образованіи аспарагина находимъ у Loew'a (1896 г.), но такъ какъ въ статьяхъ Loew'a преобладало построеніе ряда гипотезъ, часто совершенно невѣроятныхъ (какъ образованіе бѣлка при помощи полимеризаціи аспарагиноваго альдегида и пр.), то и тѣ его мысли, которыя по существу заслуживали бы вниманія, благодаря указанному обстоятельству, также оставались почти внѣ вліянія на экспериментальную разработку даннаго вопроса.

Болѣе обоснованной мысль о роли амміака, какъ продукта окисленія аминокислотъ и какъ матеріала для вторичнаго образованія амидовъ (карбамида), явилась въ трудахъ представителей животной физиологіи (начиная, преимущественно съ Дрекслея, въ 1891 году).

Авторъ настоящей статьи въ 1894 году выступилъ въ защиту прежняго взгляда Буссенго на аспарагинъ, какъ на аналогичный мочевины амидъ, являющийся результатомъ окислительныхъ процессовъ и непотребляемый далѣе растеніемъ, пока оно остается

ной соли, если одновременно дано основаніе; аналогично этому въ опытѣ П. С. Коссовича горохъ лучше усваивалъ амміачный азотъ чѣмъ нитратный, если вводилось $Fe(OH)_3$.

¹⁾ Landwirth. Jahrbücher, 1888.

этиолированнымъ (при обычныхъ условіяхъ проростанія). Въ опытахъ 1897 года автору пришлось констатировать на рядѣ объектовъ болѣе энергичное образованіе аспарагина, чѣмъ убыль бѣлковъ (въ концѣ періода проростанія), что заставило его высказаться за вторичное образованіе аспарагина (на счетъ аминокислотъ), съ промежуточнымъ образованіемъ амміака ¹⁾; почти въ то же время и Шульце (1898), на основаніи опытовъ Merlis'a, остановился изъ числа трехъ своихъ гипотезъ, А, В и С, именно на вариантѣ В, основанномъ на признаніи вторичнаго характера аспарагина.

Предвидѣнное a priori (Шульце, Левомъ и авторомъ) промежуточное образованіе амміака въ растеніяхъ, скрытое благодаря быстрому дальнѣйшему превращенію, удалось экспериментально доказать Буткевичу. Оказалось возможнымъ „проявить“ эту картину превращеній съ помощью двухъ приѣмовъ, именно *анэстезіи* и *голоданія* ²⁾.

Исходя изъ мысли Клодь-Бернара, что анэстезія часто подавляетъ синтетическіе процессы, оставляя въ ходу процессы распада, Буткевичъ подвергъ ростки люпина дѣйствию паровъ толуола; оказалось, что образованіе аспарагина прекратилось, и обнаружилось значительное накопленіе амміака. То же обнаружилось при длительномъ выдерживаніи ростковъ люпина въ темнотѣ, въ стерильныхъ культурахъ; если въ первомъ случаѣ синтезъ аспарагина былъ прекращенъ, благодаря нарушенію механизма (анэстезія), то во второмъ онъ остановился за недостаткомъ безазотистаго матеріала, но слѣдствіе было то же самое—амміачное отравленіе растенія, связанное съ появленіемъ щелочной реакціи и измѣненіемъ осмотическихъ свойствъ плазмы (утрата тургора).

Такимъ образомъ было установлено, что какъ путь *отъ амміака къ бѣлку*, такъ и *обратно отъ бѣлка къ амміаку*, является общимъ для всѣхъ растеній, не только низшихъ, но и высшихъ; вмѣстѣ съ этимъ выяснились новыя черты сходства въ ходѣ регрессивныхъ превращеній бѣлковъ у высшихъ растеній и у жи-

¹⁾ Прянишниковъ, Бѣлковыя вещества и ихъ превращенія въ растеніи, 1899 (предварительныя сообщенія въ Ботанич. Отдѣленіи были сдѣланы въ 1897 и 98 гг.).

²⁾ Буткевичъ, Регрессивный метаморфозъ бѣлковыхъ веществъ въ растеніи, 1904 г. (также см. Biochemische Zeitschrift, 1908).

вотныхъ, и теперь возможно въ болѣе общемъ смыслѣ считать амміакъ альфой и омегой обмѣна азотистыхъ веществъ въ организмахъ.

При такомъ рѣшеніи общаго вопроса пріобрѣли новый интересъ изслѣдованія надъ использованиемъ растеніями амміака, вводимого извнѣ. Мы уже сообщали о рядѣ нашихъ опытовъ, поставленныхъ въ цѣляхъ изученія условій образованія аспарагина на счетъ амміачныхъ солей разными растеніями; не входя въ подробности, отмѣтимъ здѣсь лишь, что если въ принципѣ опыты эти дали положительный результатъ, то въ отдѣльныхъ случаяхъ процессъ этотъ идетъ съ разной легкостью: у злаковъ—непосредственно послѣ введенія въ питательный растворъ солей аммонія, у гороха, вики—только послѣ введенія еще извести (въ видѣ CaCO_3 или CaSO_4); у люпина же этотъ процессъ не удалось вызвать даже и въ присутствіи извести; мало того, у люпина соли аммонія вызывали своеобразныя нарушенія функций образованія аспарагина, не меньшія, чѣмъ хлороформъ или толуоль. Чтобы показать насколько своеобразно поведеніе люпина, приведемъ слѣдующія данныя опытовъ, проведенныхъ съ растеніями различнаго въ этомъ отношеніи типа ¹⁾.

1-й типъ (аспарагинъ образуется непосредственно при питаніи амміачными солями).

Hordeum sativum.			Cucurbita Pepo.	
На 100 ростковъ. (100 plantules).	Вода (eau dist.)	Растворъ NH_4Cl .	Вода	NH_4Cl
Всего азота. (N total).	145,8 mgr.	161,5 mgr.	1438,3 mgr.	1545,4 mgr.
Азотъ бѣлковъ. N des protéides.	61,8	61,5	1153,0	1049,9
N аспарагина. (N de l'asparagine).	36,7	56,4	194,3	379,3
N амміака (N de l'ammoniaque).	0,5	0,9	8,7	6,4

2-й типъ (аспарагинъ не образуется непосредственно, однако послѣ введенія CaCO_3 или CaSO_4 наступаетъ потребленіе амміака съ образованіемъ аспарагина).

¹⁾ Примѣры заимствованы изъ опытовъ И. С. Шулова, О. Н. Кашеваровой, И. А. Дабахова, Г. И. Ритмана, О. Т. Перитуринна. См. соотв. статьи въ отчетахъ нашей лабораторіи. (Изъ результатовъ вегетационныхъ опытовъ и лабораторн. работъ, преимуществ. т. VII-й).

Въ 100 росткахъ. (100 plantules).	Vicia sativa.			Pisum sativum.		
	Вода (eau dist.)	NH_4Cl .	$\text{NH}_4\text{Cl} + \text{CaCO}_3$.	H_2O .	NH_4Cl .	$\text{NH}_4\text{Cl} + \text{CaCO}_3$.
Всего N. (N total).	221 mgr.	244	263	1608	1712	1810
N бѣлковъ (N des protéides).	85	109	90	949	1104	1016
N аспарагина (N de l'asparagine).	76	73	118	258	283	441
N амміака (N de l'ammoniaque).	0,9	0,9	1,0	10	10	10

3-й типъ (соли аммонія, какъ въ отсутствіи солей Ca, такъ и при нихъ не только не являются матеріаломъ для образованія аспарагина, но оказываютъ отрицательное влияние на этотъ процессъ, нарушая синтезъ аспарагина на счетъ образующагося въ растеніи амміака).

Люпинъ (Lupinus luteus).

На 100 рост. (100 plantules).	Опытъ I.			Опытъ II.		
	Вода (eau dist.)	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 + \text{CaCO}_3$	Вода (eau dist.)	NH_4Cl	$\text{NH}_4\text{Cl} + \text{CaCO}_3$
Весь азотъ. (N total).	567 mgr.	575 mgr.	535 mgr.	540 mgr.	590 mgr.	417 mgr.
N бѣлковъ. (N des proteides).	152	160	170	194	209	165
N аспарагина. (N de l'asparagine).	258	175	158	231	231	190
N амміака (N de l'ammoniaque).	26	57	68	9	9	2 ¹⁾

Эти особенности отношенія люпина къ амміачнымъ солямъ послужили предметомъ тѣхъ изслѣдованій, результаты которыхъ имѣютъ быть изложены въ фактической части настоящаго сообщенія.

Интересъ къ этимъ особенностямъ усиливался еще тѣмъ обстоятельствомъ, что люпинъ являлся главнымъ объектомъ въ опытахъ Буткевича, такъ что можно поставить вопросъ, въ какой мѣрѣ особенная неустойчивость синтезирующаго аппарата у этого растенія можетъ вліять на результаты опытовъ и отъ чего зависитъ эта неустойчивость. Въ нашихъ опытахъ съ люпиномъ означенныя явленія проявлялись въ росткахъ, еще настолько молодыхъ (10-дневн.), что ихъ нельзя назвать голодающими, если только не считать люпинъ растеніемъ, голодающимъ „со дня рожденія“, въ виду узкаго отношенія азотистой и безазотистой части запасовъ

¹⁾ Количество амміака здѣсь опредѣлено для высушенныхъ растеній; въ свѣжихъ росткахъ его значительно больше.

сѣменодолей или въ виду особаго характера запасныхъ углеводовъ (галактаны, отложенные въ клѣточной стѣнкѣ). Но возможно было, что мы здѣсь имѣемъ дѣло отчасти и съ явлениями другого порядка, въ виду того, что люпинъ своеобразно относится къ извести („враждуетъ“ съ нею), поэтому отрицательному вліянію NH_4Cl или $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ здѣсь нельзя противопоставить положительнаго вліянія CaCO_3 , которое столь ясно сказывается въ случаѣ гороха и вики.

Для расчлененія этихъ вопросовъ были предприняты опыты, которые можно раздѣлить на двѣ категоріи, именно одни изъ нихъ относились къ изученію дѣйствія солей (что именно вліяетъ извѣстнымъ образомъ: аммоній? сѣрная кислота, съ нимъ связанная? кальцій, какъ таковой, или основанія вообще и т. д.), другіе же имѣли въ виду изученіе растенія, отысканіе тѣхъ его особенныхъ свойствъ, съ которыми стоитъ въ связи его иное отношеніе къ солямъ аммонія, чѣмъ всѣхъ другихъ растеній, какія до сихъ поръ испытывались.

Изъ опытовъ первой категоріи мы можемъ здѣсь сообщить данныя А. Г. Николаевой относительно того, какъ люпинъ относится къ солямъ аммонія, связаннымъ съ кислотами не столь сильными, какъ H_2SO_4 и HCl , или въ большей мѣрѣ потребляемыми растеніемъ и не вызывающими столь значительной остаточной кислой реакціи; въ качествѣ таковыхъ взяты были аммоній азотнокислый и фосфорнокислый, а кромѣ того, въ одномъ опытѣ растенія получали карбамидъ, съ тѣмъ, чтобы избѣжать всякой кислоты, кромѣ угольной (такъ какъ въ растеніи мочевины подъ вліяніемъ соотвѣтственнаго фермента переходитъ въ углекислый аммоній; въ то же время это позволяетъ избѣжать неудобствъ введенія въ питательный растворъ углекислаго аммонія, какъ избыточно щелочного и слишкомъ летучаго источника азотистой пищи). Результаты опыта сопоставлены въ слѣдующей таблицѣ.

Табл. II. *Lupinus luteus* (опытъ А. Г. Николаевой).

На 100 р. (100 plantules).	Весь азотъ. (N total).	N бѣлковъ (N des protéides).	N аспарагина (N de l'asparagine).	N амміака (N de l'ammoniaque).
Вода (eau dist.)	826,7 mgr.	222,9 mgr.	168,9 mgr.	11,1 mgr.
NH_4NO_3	896,5	153,3	354,3	9,3
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	833,1	229,9	398,3	108,9
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	894,2	153,3	377,8	11,1
CO_2NH_2 (16)	1005,3	294,4	502,1	134,6
(100 сѣмянъ.)	935,2	168,9	488,3	94,2
(100 plantules.)	906,9 mgr.			

Отсюда видно, что исключеніе сильныхъ кислотъ (HCl , H_2SO_4) оказало вліяніе на ходъ опыта—безъ нихъ люпинъ былъ способенъ синтезировать аспарагинъ на счетъ введеннаго извне амміака, притомъ въ очень крупныхъ размѣрахъ; особенно благоприятнымъ для этого источникомъ оказался карбамидъ. Правда, накопленіе амміака при этомъ также происходило, но не за счетъ аспарагина, а одновременно съ его образованіемъ ¹⁾.

Такимъ образомъ намѣчалась потребность далѣе заняться выясненіемъ роли HCl и H_2SO_4 въ ранѣ описанныхъ явленіяхъ подавленія и даже обратнаго направленія процесса образованія аспарагина (амміакъ $+ x \rightleftharpoons$ аспарагинъ); въ этихъ цѣляхъ ставились опыты по вліянію слабыхъ растворовъ кислотъ и щелочей на обмѣнъ веществъ въ прорастающемъ люпинѣ, которые однако еще не закончены ²⁾.

¹⁾ Карбамидъ здѣсь давался также, какъ источникъ амміака (въ виду превращенія въ растеніи въ углекислый аммоній), не несущій съ собой сильной кислоты и не вызывающій въ то же время той щелочности раствора, какую вызвало бы введеніе углекислаго аммонія прямо въ растворъ, окружающій корни.

²⁾ Изъ относящихся сюда опытовъ мы приведемъ здѣсь данныя одного опыта съ вліяніемъ кислоты, произведеннаго О. Н. Кашеваровой.

Табл. III. *Lupinus luteus* (опытъ О. Н. Кашеваровой).

На 100 р. (100 plantules)	Весь N. (N total).	N бѣлковъ (N des protéides).	N аспарагина (N de l'asparagine).	N амміака (N de l'ammoniaque).
Вода (eau dist.)	846,1 mgr.	142,4 mgr.	414,5 mgr.	2,8 mgr.
H_2SO_4 (0.0005 отъ норм.)	838,5	144,2	440,4	2,3
H_2SO_4 (0.0007 отъ норм.)	805,0	153,3	443,6	3,5
H_2SO_4 (0.0010 норм.)	795,5	152,3	389,5	2,9
H_2SO_4 (0.0012 норм.)	819,1	169,2	419,1	—

Если бы общая картина опыта отвѣчала даннымъ строки 4-й, то мы считали бы ее достаточно ясной: здѣсь имѣетъ мѣсто паденіе содержанія аспарагина и накопленія амміака, сказавшееся въ потерѣ общаго азота (вѣдливо угнетеніе амміака при сушкѣ растеній); но при другихъ концентраціяхъ картина не была такою и заставляла пока воздержаться отъ окончательнаго вывода относительно вліянія свободной кислоты на интересующій насъ процессъ. При продолженіи этихъ опытовъ должно быть принято во вниманіе слѣдующее обстоятельство: здѣсь обнаружилось, чѣмъ больше концентрація кислоты, тѣмъ болѣе въ растеніи свободнаго амміака (сравненіемъ). Тѣмъ болѣе увеличивается амміака въ окружающій растворъ; этого амміака хватаетъ на нейтрализацію сѣрной кислоты, и оставшаяся свободная амміака выводится изъ растенія въ растворѣ, образуя аммоній.

Переходимъ къ опытамъ второй категоріи, имѣвшимъ цѣлью выяснитъ, съ какими особенностями самого растенія связано его особенное отношеніе къ солямъ аммонія съ сильными кислотами, съ недостаткомъ ли углеводовъ въ немъ, или это обстоятельство не играетъ роли и нужно искать другихъ причинъ легкаго нарушенія дѣятельности дегидратирующихъ ферментовъ или неустойчивости синтезирующаго аппарата вообще (если не предрѣшать пути образованія аспарагина на счетъ амміака и безазотистыхъ веществъ).

Для выясненія значенія недостаточнаго запаса углеводовъ у люпина можно было воспользоваться различными пріемами; помимо *подысканія готовыхъ объектовъ*, по составу сѣмянъ близкихъ къ люпину, и провѣркѣ на нихъ наблюденій надъ люпиномъ ¹⁾ намъ представлялось интереснымъ учесть роль углеводовъ въ данномъ случаѣ, идя слѣдующими путями созданія соотвѣтственныхъ объектовъ: I. *Уменьшать запасы углерода у другихъ растеній, готовить какъ бы „искусственный люпинъ“*, II. *Повышать запасы углерода (углеводовъ) въ самомъ люпинѣ*, съ тѣмъ, чтобы въ томъ и другомъ случаѣ наблюдать отношеніе новаго объекта къ солямъ аммонія съ сильными кислотами.

а не сѣрной кислоты; въ дальнѣйшемъ слѣдуетъ выращивать каждое растеніе въ отдѣльной пробиркѣ, чтобы заболѣвающіе экземпляры не являлись поставщиками амміака для ихъ здоровыхъ сосѣдей.

Изъ опытовъ со щелочью мы имѣемъ пока лишь данныя для другого объекта, именно для гороха.

Табл. IV. *Pisum sativum* (опытъ В. А. Морозова).

На 100 р.	N бѣлковъ (N des proteides).	N аспарагина (N de l'asparagine).	N амміака (N de l'ammoniaque).	N аминокислотъ (N d'autres comb.)
Вода (eau dist.)	689,7	210,1	9,9	237,3
Na ₂ CO ₃ 0.025%	722,7	150,6	7,1	296,1
„ 0.050%	795,2	121,5	7,5	255,8
„ 0.100%	865,4	113,7	5,7	167,9 mgr.

Отсюда видно, что щелочь не нарушала характера распада, а лишь замедляла его темпъ; повторится ли это буквально для люпина, съ точностью предсказать, конечно, нельзя, пока не сдѣланы соотвѣтственные анализы, но вотъ что говоритъ какъ бы за то: въ одномъ опытѣ съ люпиномъ, который былъ оставленъ слишкомъ надолго, обнаружился на первый взглядъ парадоксальный результатъ—чѣмъ больше была щелочность (въ предѣлахъ опыта) тѣмъ больше здоровыхъ растеній было въ данной культурѣ, такъ что можно бы подумать, что этикетки слѣдуетъ переставить въ обратномъ порядкѣ. Но на дѣлѣ здѣсь сказалось лишь то, что растенія въ водѣ уже сожгли всѣ свои запасы, а на слабой щелочи, живя замедленной жизнью, они могли просуществовать дольше, сохраняя нормальный видъ.

¹⁾ Этотъ путь нами не использованъ.

Для осуществленія первой задачи, т.е. переведенія богатыхъ углеводами (или жирами) объектовъ въ типъ люпина, мыслимы такіе пріемы:

1) *физиологическая подготовка проростковъ* (голоданіе);

2) *механическое удаленіе эндосперма или сѣменодолей* у ростковъ, достигшихъ нѣкоторой стадіи развитія (путь хирургической) и, наконецъ, можно поставить вопросъ, не осуществимо ли.

3) *удаленіе жира путемъ экстракціоннымъ*, безъ лишенія сѣмянъ способности къ проростанію.

Приближеніе ячменя къ типу люпина путемъ голоданія удалось въ опытѣ А. И. Смирнова, который отличался отъ перваго, сдѣланнаго у насъ опыта съ ячменемъ (И. С. Шулова) тѣмъ, что на этотъ разъ уборка проростковъ производилась не черезъ 10, а черезъ 21 день (при чемъ обнаружались признаки отмиранія на концахъ листьевъ). Изъ данныхъ таблицы видно, что комбинація NH₄ Cl + Ca CO₃ обнаружила *пониженное* содержаніе аспарагина (по сравненію съ ростками въ дистиллированной водѣ), количество же амміачнаго азота такъ возросло, что почти вдвое превышаетъ количество азота аспарагина; то же имѣетъ мѣсто и для комбинаціи NH₄ Cl + Ca SO₄. Мы имѣемъ здѣсь несомнѣнное проявленіе иныхъ чертъ, столь характерныхъ для люпина, а не для ячменя въ болѣе раннихъ возрастахъ. По отношенію NH₄ NO₃ и CO(NH₂)₂ результатъ тотъ же, какъ и въ описанномъ ранѣе опытѣ А. Г. Николаевой съ люпиномъ—эти источники азота не проявляютъ нарушающаго вліянія на синтезъ аспарагина.

Табл. V. *Hordeum sativum* (опытъ А. И. Смирнова).

На 100 р. (100 plantules)	Всего N (N total).	N бѣлковъ (N des protéides).	N аспарагина (N de l'asparagine).	N амміака (N de l'ammoniaque).
Вода (eau dist.)	163,3	81,6	44,8	4,1 mgr.
NH ₄ Cl	202,1	95,5	57,5	41,2
NH ₄ Cl + Ca CO ₃	242,1	86,8	37,4	72,9
NH ₄ Cl + Ca SO ₄	226,4	83,2	26,1	69,2
NH ₄ NO ₃	188,6	78,1	60,0	17,2
CO (NH ₂) ₂	171,0	68,5	66,8	10,3

Такъ какъ въ этомъ случаѣ всѣ ростки были убраны въ позднемъ возрастѣ, то для провѣрки опытъ былъ повторенъ съ уборкой въ два срока; результаты вполне подтвердили то, что наблюдалось при сравненіи только что описаннаго опыта съ прежнимъ опытомъ И. С. Шулова.

Табл. VI. *Hordeum sativum* (опытъ А. И. Смирнова).

	На 100 р. (100 plantules)	Всего N (N total)	N бѣлка (N des proteides)	N аспарагина (N de l'asparagine)	N амміака (N de l'ammoniaque)
11 дней	Вода (eau dist.)	164,4 mgr.	101,2 mgr.	16,2 mgr.	5,4 mgr.
	NH ₄ Cl	181,2	104,1	33,0 ←	11,7
	NH ₄ Cl + CaCO ₃	187,3	98,9	38,9 ←	13,8
	NH ₄ Cl + CaSO ₄	190,8	97,2	33,8 ←	8,1
21 д.	Вода	164,9	73,8	36,6	7,6
	NH ₄ Cl + CaSO ₄	200,2	76,6	26,6 →	51,0

И здѣсь мы видимъ, что въ 11-тидневныхъ росткахъ сохранился типъ ячменя (накопленіе аспарагина на счетъ амміака, а въ 21-дневномъ возрастѣ проявился „типъ люпина“ (накопленіе амміака на счетъ аспарагина, кромѣ поступленія извнѣ).

Опыты съ обрѣзкой сѣменодолей (у гороха) и эндосперма (у кукурузы), въ цѣляхъ уменьшенія запаса углеводовъ, также ведутся въ нашей лабораторіи; пока мы можемъ привести лишь слѣдующія данныя изъ опыта А. С. Каблукова для ростковъ кукурузы (двѣ недѣли на растворахъ послѣ удаленія эндосперма).

На 100 р.	N аспарагина	N амміака
Вода	28,664 mgr.	6,44 mgr.
NH ₄ Cl	28,22 „	14,40 „
NH ₄ Cl + CaCO ₃	39,44 „	23,00 „

На основаніи этихъ анализѣвъ можно предположить, что опытъ былъ недостаточно продолжителенъ, такъ что, судя по накопленію аспарагина, получился вмѣсто кукурузы „типъ гороха“, но еще не „типъ люпина“: убыли аспарагина не наблюдалось; одинъ хлористый аммоній не вызывалъ синтеза аспарагина, но введеніе углекислаго кальція способствовало этому процессу. Однако, если принять во вниманіе данныя послѣдняго столбца, то нужно признать, что столь обильнаго накопленія амміака нормально не наблюдается ни у кукурузы, ни у гороха, и въ этомъ отношеніи все-таки сказалось уже приближеніе къ типу люпина.

Нельзя сомнѣваться, что при должномъ выборѣ для отдѣльныхъ объектовъ сроковъ обрѣзки и продолжительности опыта удастся этимъ методомъ воспроизвести физиологической типъ люпина съ еще большей рельефностью.

Какъ мы выше отмѣтили, намъ казалась не вполне безнадежной попытка прибѣгнуть къ дѣйствию экстрагирующихъ веществъ на неповрежденныя сѣмена масличныхъ, въ цѣляхъ удаленія жира,

при одновременномъ стремленіи сохранить всхожесть; именно, являлся вопросъ, не поможетъ ли полное высушиванье противостоять убивающему дѣйствию ээира и хлороформа, подобно тому, какъ оно способствуетъ перенесенію сѣменами повышенной температуры. Первые опыты казались подающими надежду на относительный успѣхъ, именно въ опытахъ О. Н. Кашеваровой сухія сѣмена подсолнечника, лишенныя деревянистой оболочки и погруженныя въ сухой ээиръ, послѣ мѣсячнаго лежанія въ немъ обнаружили 50% всхожести и при этомъ около половины жира, въ нихъ содержавшагося, перешло въ ээиръ; даже послѣ года лежанія въ ээирѣ всхожесть еще сохраняется у значительной части сѣмянъ.

Но когда мы попробовали провѣрить, нѣтъ ли въ этомъ случаѣ погрѣшности въ томъ отношеніи, что одни сѣмена (50%) оказываются проницаемыми для ээира, отдають свой жиръ и затѣмъ не прорастають, а другіе 50% не пропускають ээира внутрь, не отдають жира, но сохраняють всхожесть, то оказалось, что именно такъ дѣло и обстоитъ: если сдѣлать проколъ булавкой на концѣ противоположномъ зародышу, то при тщательной сушкѣ сѣмянъ въ эксиккаторѣ (надъ фосфорнымъ ангидридомъ) и употребленіи ээира, высушеннаго съ помощью тоже фосфорнаго ангидрида, все-таки сѣмена нацѣло теряють всхожесть.

Какъ бы то ни было, уже выше описанныхъ опытовъ съ голодающимъ ячменемъ по существу достаточно, чтобы признать первую часть поставленнаго нами вопроса рѣшенной положительно, то-есть установить, что израсходование запаса углеводовъ заставляетъ злаковое въ отношеніи къ амміачнымъ солямъ вести себя по типу люпина.

Перейдемъ теперь къ обратному способу постановки того же вопроса, а именно: II) повышеніе запаса углеводовъ у самого люпина не измѣнитъ ли его отношенія къ солямъ аммонія въ смыслѣ приближенія къ типу ячменя?

Повышать запасъ углеводовъ въ проросткахъ люпина можно двумя путями, именно ведя опытъ на свѣту при условіяхъ благоприятныхъ для ассимиляціи, или же ведя опытъ въ темнотѣ, но искусственно питая проростки глюкозой.

Опыты съ питаніемъ амміачными солями на свѣту дѣлались Kinoshita и Suzuki еще въ 1895—97 годахъ ¹⁾, но какъ намъ уже

¹⁾ См. обзоръ въ работѣ автора 1899 г.: Бѣлковыя вещества, etc., стр. 90—101.

приходилось отмѣтить, въ этой работѣ нѣтъ количественныхъ опредѣленій амміака, что какъ разъ важно для нашей цѣли; кромѣ того, схема опыта тамъ была иная, да и не извѣстно, имѣла ли мѣсто ассимиляція въ смыслѣ замѣтнаго перевѣса прихода органическаго вещества надъ расходомъ, ибо хотя опытъ дѣлался на свѣту, но въ каждомъ опытѣ контрольныя растенія (въ дистиллированной водѣ) за время опыта показывали возрастаніе содержанія аспарагина, что косвенно подтверждаетъ наши сомнѣнія въ наличности ассимиляціи (прямыхъ данныхъ относительно прироста сухого вещества растеній авторъ не приводитъ; опытъ дѣлался зимой, въ ноябрѣ—декабрѣ). Поэтому необходимо было повторить опытъ на свѣту по той же схемѣ, какую мы раньше примѣняли для этиолированныхъ растеній, притомъ въ такихъ условіяхъ, чтобы получить замѣтный приростъ сухого вещества; такой опытъ былъ поставленъ О. Н. Кашеваровой въ маѣ 1914 года въ песчаныхъ культурахъ. Такъ какъ трудно было заранѣе предвидѣть, въ какой моментъ ассимиляція будетъ уже достаточной, а также нужно было обезпечить растеніе запасомъ амміачной соли, избѣгая въ то же время избытка NH_4Cl , то растенія убирались въ три срока (черезъ 5, 10, 15 дней пребыванія на свѣту), также и внесеніе амміачной соли дѣлалось въ три срока, по $\frac{1}{3}$ полного количества каждый разъ. Изъ данныхъ таблицы видно, что ассимиляція имѣла мѣсто, а при ней исчезли своеобразныя черты отношенія люпина къ солямъ аммонія; именно, введеніе одного NH_4Cl уже вызывало значительное повышеніе содержанія аспарагина; подобно тому, какъ у ячменя въ темнотѣ (но въ отличіе отъ того, какъ у люпина въ темнотѣ), у люпина ассимилирующаго мы наблюдаемъ энергичный переходъ амміачнаго азота въ аспарагиновый, такимъ образомъ, мѣняя знакъ по статьѣ „приходъ и расходъ углерода“, мы мѣняемъ въ то же время и отношеніе ростковъ люпина къ амміачнымъ солямъ, замѣняемъ движеніе „отъ аспарагина къ амміаку“ движеніемъ обратнымъ—„отъ амміака къ аспарагину“ ¹⁾.

1) Что касается отношенія люпина къ солямъ аммонія при искусственномъ питаніи глюкозой, то такой опытъ пока не ставился въ нашей лабораторіи; однако нельзя сомнѣваться, что при отысканіи соответственныхъ условій можетъ быть достигнуть тотъ же результатъ, какъ и при ассимиляціи, или по крайней мѣрѣ будетъ констатированно то же направленіе этого воздѣйствія (если не тѣ же результаты); кромѣ суммы сообщенныхъ выше фактовъ, къ этому заключенію приводитъ

Табл. VII. Люпинъ на свѣту (опытъ О. Н. Кашеваровой).

Растенія 10-дневныя.

	N общій.		N амміака.		N аспарагина.		N бѣлковъ.		Разность.		Вѣсъ 100 р.
	%.	mgr.	%.	mgr.	%.	mgr.	%.	mgr.	%.	mgr.	
Вода.	4,35	876,53	0,114	22,97	0,75	151,12	—	—	—	—	20,15 gr.
NH_4Cl .	4,74	901,55	0,144	27,39	1,23	234,33	—	—	—	—	19,02 gr.
$\text{NH}_4\text{Cl} + \text{CaCO}_3$.	4,78	979,90	0,115	23,58	1,23	252,15	—	—	—	—	20,50 gr.
$\text{NH}_4\text{Cl} + \text{CaSO}_4$.	5,63	979,62	0,19	33,06	1,54	267,96	—	—	—	—	17,40 gr.
Сѣмена (безъ оболочекъ).	10,46	889,1					9,74	827,90			11,25 gr. съ обол. безъ обол. 8,50 gr.

Растенія 15-дневныя.

Вода.	3,57	885,36	0,084	20,82	0,61	151,28	2,49	617,52	0,39	95,74	24,80 gr.
NH_4Cl .	4,70	968,20	0,173	35,64	1,41	291,28	2,52	521,18	0,60	120,10	20,60 gr.
$\text{NH}_4\text{Cl} + \text{CaCO}_3$.	3,96	978,12	0,10	24,70	0,92	227,24	2,50	617,50	0,44	108,68	24,70 gr.
$\text{NH}_4\text{Cl} + \text{CaSO}_4$.	4,78	941,66	0,25	48,26	1,03	202,91	2,68	527,96	0,82	162,53	19,70 gr.
					N total.	N de l'ammoniaque.	N de l'asparagine.	N des protéides.			Poids de 100 plantes.

Итакъ, на вопросъ, поставленный нами выше, зависитъ ли своеобразное отношеніе люпина къ солямъ аммонія съ сильными кислотами отъ недостаточнаго снабженія углеводами или отъ другихъ причинъ, получается отвѣтъ, говорящій за связь этого явле-

еще одинъ изъ опытовъ В. С. Буткевича, въ которомъ испытывалось питаніе глюкозой проростковъ люпина послѣ значительнаго періода голоданія; хотя при этомъ не вводилось извнѣ солей аммонія, но имѣло мѣсто накопленіе амміака на счетъ окисленія азотистыхъ веществъ самыхъ ростковъ; питаніе глюкозой способно было если не устранить, то уменьшить накопленіе амміака; значитъ, того же можно ожидать и по отношенію къ амміаку, извнѣ введенному. Своеобразно, что глюкоза видимо не достигала верхнихъ частей ростковъ, такъ какъ въ нихъ именно наблюдалась щелочная реакція и стекловидность (спутникъ измѣненія осмотическихъ свойствъ плазмы), а часть погруженная въ растворъ глюкозы и близкая къ нему сохраняла кислую реакцію и имѣла нормальный видъ (Biochemische Zeitschrift, Bd. 41, 1912, стр. 441).

нія съ количествомъ (или доступностью, легкостью притока къ росткамъ) углеводовъ; повышая или понижая снабженіе углеводами, оказывается возможнымъ перемѣщать растеніе изъ одной рубрики въ другую, такъ что, повидимому, всякое растеніе при должномъ запасѣ углеводовъ будетъ давать аспарагинъ на счетъ амміачныхъ солей, а при голоданіи—всякое растеніе будетъ находиться въ состояніи неустойчивомъ и легко терять способность къ образованію аспарагина, очевидно въ связи съ недостаткомъ углерода, съ необходимостью дальше сжигать ту цѣпочку неокисленныхъ еще углеродныхъ атомовъ, которая находится въ аспарагинѣ (или потребна для его синтеза) ¹⁾.

Передъ вопросами питанія при ихъ рѣзкомъ обостреніи какъ бы ступшевываются видовыя особенности, и вмѣсто того, чтобы говорить о типѣ ячменя, гороха или люпина, можно въ болѣе общей формѣ говорить объ отношеніи къ солямъ аммонія растительныхъ организмовъ, „сытыхъ“ или „голодныхъ“ въ смыслѣ содержанія углеводовъ.

Животный организмъ въ большей мѣрѣ, чѣмъ растенія, приспособленъ къ экономному обезвреживанію амміака, этого общаго конечнаго продукта регрессивныхъ превращеній бѣлковой молекулы: онъ переводитъ амміакъ въ карбамидъ, въ которомъ нѣтъ болѣе не окисленнаго углерода, который можетъ быть выдѣленъ изъ организма безъ ущерба (въ смыслѣ экономіи калорій); высшія растенія, поставленныя обычно въ лучшія условія по снабженію углеводами, нежели животныя, позволяютъ себѣ большую роскошь, именно, обезвреживанье амміака съ помощью образованія амида, богатаго углеродомъ, аспарагина, который при обычныхъ условіяхъ можетъ безнаказанно скопляться въ клѣточномъ сокѣ до тѣхъ поръ, пока еще болшій притокъ углерода (ассимиляція) не позволитъ растенію использовать азотъ аспара-

¹⁾ Въ виду этого, быть можетъ, небезынтересно было бы провѣрить, не образуется ли въ голодающихъ растеніяхъ какихъ-либо промежуточныхъ продуктовъ окисленія аспарагина, напр., моноамида малоновой кислоты: $\text{COONCH}_2\text{CONH}_2$, или соответствующаго альдегида: $\text{CONCH}_2\text{CONH}_2$; кромѣ того, при поискахъ карбамидовъ въ растеніяхъ быть можетъ слѣдовало бы принимать во вниманіе не только природу растенія, но и стадію развитія, въ какой оно находится (мы разумѣемъ напримѣръ подобные вопросы: въ тѣхъ растеніяхъ, гдѣ мочевины, вообще говоря констатирована, не будетъ ли количество ея возрастать при голоданіи? а въ нѣкоторыхъ другихъ случаяхъ не появится ли она именно только при остромъ голоданіи?).

гина для образованія бѣлка. Но если этого не случится, если наступаетъ періодъ остраго голоданія, то растеніе оказывается даже въ худшемъ положеніи, чѣмъ животное, такъ какъ оно не можетъ безнаказанно сжечь до конца углеродную цѣпь, не приспособлено опускаться до карбамида, и прежде, чѣмъ окончательно погибнуть отъ голода, оно можетъ погибнуть отъ амміачнаго отравленія.

Если люпинъ чаще другихъ растеній подвергается этой опасности, то очевидно потому, что отношеніе между бѣлками и углеводами въ его сѣменахъ раза въ два уже, чѣмъ у гороха, и раза въ четыре уже, чѣмъ у злаковыхъ.

Du rôle de l'ammoniaque dans les métamorphoses des matières azotées chez les plantes

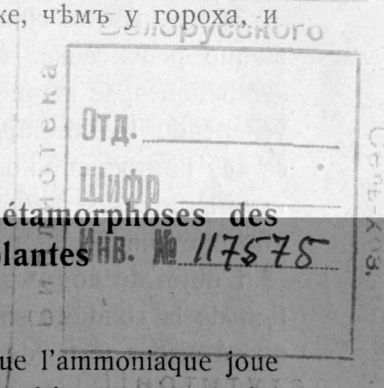
par D. Prianichnikov.

Des travaux du dernier temps ont montré que l'ammoniaque joue un rôle important dans la vie des plantes supérieures, non seulement comme point de départ de la synthèse des substances protéiques, mais encore comme dernier produit de la décomposition, par oxydation, des substances. Toutefois, chez la plante normale, l'ammoniaque ne s'accumule pas dans les tissus comme telle; elle donne seulement lieu, par une synthèse secondaire, à la formation de l'asparagine. Ce processus sert de moyen d'éliminer l'ammoniaque nuisible à la plante (que ce soit l'ammoniaque absorbée de dehors ou bien celle qui se forme dans l'intérieur de la cellule), en la transformant en une combinaison neutre, capable dans la suite de servir de matière à une synthèse plus complexe.

La synthèse de l'asparagine aux dépens de l'ammoniaque absorbée par les racines, ne s'effectue pas chez toutes les plantes avec la même facilité. Comme nous l'avons constaté dans nos expériences antérieures ¹⁾, on peut distinguer sous ce rapport trois groupes de plantes:

1) Les plantes qui supportent bien des solutions faibles de NH_4Cl ou de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, absorbent très facilement l'ammoniaque et forment de l'asparagine ou de la glutamine, sans qu'il soit nécessaire de pren-

¹⁾ Voir notre article dans la „Revue générale de Botanique“, 1913.



dre des précautions spéciales (à ce groupe appartiennent: *Hordeum sativum*, *Zea Mays*, *Cucurbita Pepo*).

2) Les plantes chez lesquelles les solutions des sels d'ammonium à acides forts ralentissent la décomposition des matières albuminoïdes et l'accumulation de l'asparagine: l'absorption de l'ammoniaque est très faible, quelquefois presque nulle; mais si l'on introduit du Ca CO_3 , on observe une absorption énergique d'ammoniaque et la formation d'asparagine (à ce groupe appartiennent *Pisum sativum* et *Vicia sativa*).

3) Les plantes chez lesquelles la nutrition avec des sels d'ammoniaque peut causer des perturbations profondes dans les réactions synthétiques, se manifestant par l'accumulation de l'ammoniaque provenant de la décomposition des matières azotées des graines. Dans ce cas l'introduction de Ca CO_3 ne peut rétablir le cours normal des métarmorphoses des matières azotées; le lupin (*Lupinus luteus*) peut être cité comme un représentant de ce groupe.

L'objet de nos expériences a été, cette fois, de trouver l'explication de la conduite singulière du lupin vis-à-vis des sels d'ammoniaque à acides forts; de savoir si la cause en est l'absence d'hydrates de carbone, ou bien si cette dernière circonstance n'y a aucune part et qu'il faut chercher d'autres raisons au dérangement facile de l'activité des ferments déshydratants ou à l'instabilité de l'appareil synthétique en général.

Pour élucider le rôle que joue chez le lupin l'approvisionnement insuffisant en hydrates de carbone, on peut essayer des méthodes différentes: choisir des objets naturels, analogues au lupin par la composition de leurs graines, pour contrôler à l'aide de ces matériaux les résultats obtenus par les expériences avec les lupins, d'autre côté, préparer artificiellement des sujets analogues au lupin, enfin, étudier l'influence d'une nutrition spéciale sur le lupin même. Nous avons choisi les deux méthodes suivantes:

I. *Réduction des réserves de carbone chez des graminées ou chez des papilionacées autres que le lupin afin d'obtenir un autre type physiologique, „un lupin artificiel“.* II. *Augmentation de l'approvisionnement en hydrates de carbone chez le lupin même, le but étant d'observer, dans ces deux cas, la façon dont se comporteraient ces sujets obtenus artificiellement, à l'égard des sels d'ammoniaque à acides forts.* Pour appliquer la première méthode, c'est à dire obtenir des objets du type lupin, en partant de graines oléagineuses ou riches en hydrates de carbone, on peut se servir des moyens suivants: 1) traite-

ment physiologique des plantules (effet d'inanition); 2) enlèvement mécanique de l'endosperme ou des cotylédons chez des plantules ayant déjà atteint un certain degré de développement (voie chirurgicale); on peut enfin se poser la question, si 3) il est possible d'extraire les matières grasses sans que les graines perdent leur vitalité.

Dans une expérience faite dans notre laboratoire par M. Smirnov des résultats satisfaisants ont été obtenus par la première méthode chez des plantules de l'orge soumises à l'inanition: la manière normale de se comporter vis-à-vis des sels d'ammoniaque avait changé, la plantule s'était rapprochée du type physiologique du lupin.

Cette expérience se distinguait de celle de M. Schoulov, faite aussi dans notre laboratoire, mais plus tôt, par le temps du séjour des plantules à l'obscurité; elles ont été enlevées cette fois au bout de 21 jours contre 10. Le tableau fait voir que le mélange $\text{NH}_4 \text{Cl} + \text{Ca CO}_3$ cause une diminution de la quantité de l'asparagine (en comparaison de celle des plantules sur l'eau distillée).

Tableau V (page 251).

La quantité de l'azote ammoniacal*) a donné un chiffre presque double de celui de l'azote de l'asparagine; le même résultat se voit pour le mélange $\text{NH}_4 \text{Cl} + \text{Ca SO}_4$. Nous avons ici des symptômes très caractéristiques pour le lupin, et qui manquent chez l'orge pendant les premiers jours de son développement. Quant au $\text{NH}_4 \text{NO}_3$ et au $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, le résultat a été le même que celui qui avait été obtenu dans une expérience (m-lle Nicolaïev) sur le lupin: les sources mentionnées de l'azote n'altèrent pas la synthèse de l'asparagine.

Une autre expérience, faite pour le contrôle, et la récolte s'effectuant en deux termes, a entièrement confirmé les données obtenues par la comparaison de l'expérience décrite ci-dessus avec celle de M. Schoulov.

Tableau VI (page 252).

Nous voyons que les plantules de 11 jours ont conservé leur „type d'orge“ (accumulation d'asparagine sur le compte de l'ammoniaque), et que celles de 21 jours montrent déjà le „type de lupin“ (accumulation d'ammoniaque aux dépens de l'asparagine).

*) Cette quantité était déterminée par la méthode de Longi.

Quant aux essais de diminuer les provisions d'hydrates de carbone en enlevant les cotylédons ou l'endosperme, ils ont été faits sur des pois et des grains de maïs.

Nous ne pouvons rapporter ici que les données suivantes de l'expérience de M. Kabloukov, faite sur des plantules de maïs (ayant végété sur des solutions nutritives pendant deux semaines après l'éloignement de l'endosperme).

Pour 100 plant.	N de l'asparagine.	N de l'ammoniaque.
H ₂ O	28,66 mgr.	6,44 mgr.
NH ₄ Cl	28,22 „	14,40 „
NH ₄ Cl + Ca CO ₃	39,44 „	23,00 „

Ces résultats nous font supposer que la durée de l'expérience a été insuffisante; ainsi, par rapport à l'accumulation de l'asparagine le maïs a donné le „type de pois“ mais pas encore le „type de lupin“; d'un côté on n'observe pas de diminution d'asparagine, de l'autre, le chlorure d'ammonium, introduit seul, ne provoque pas la synthèse de l'asparagine, mise en train seulement par l'addition de Ca CO₃.

Quant aux chiffres de la dernière colonne, on est obligé de reconnaître qu'une si forte augmentation de l'ammoniaque ne s'observe ordinairement ni chez le maïs, ni chez les pois, et que, sous ce rapport, on voit pourtant un rapprochement du type de lupin.

Comme nous l'avons déjà dit, il nous a semblé intéressant de faire l'essai d'extraire les substances oléagineuses tout en laissant aux graines leur faculté germinative. La question qui nous occupait surtout était de savoir si la dessiccation complète ne préserverait pas les graines de l'influence nuisible du chloroforme et de l'éther, comme elle les préserve de l'influence des températures élevées.

Les premières expériences faites par m-lle Kaschéwarov semblaient vouloir promettre un résultat favorable: des graines sèches de tournesol privées de leurs écales ligneuses et gardées durant un mois dans de l'éther sec, avaient conservé dans 50 cas pour 100 leur faculté germinative, la moitié des substances oléagineuses s'était en même temps dissoute dans l'éther. Une partie des graines avait gardé la faculté de germer même après le séjour d'une année dans l'éther.

Cependant il s'agissait de savoir si ce résultat n'était pas la suite de la circonstance que certaines graines (50 p. 100) étaient perméables

à l'éther qui avait dissout leur parties oléagineuses, après quoi elles ne pouvaient plus germer, tandis que les autres (50 p. 100), restées imperméables à l'éther, avaient gardé leurs parties oléagineuses et, avec cela, leur faculté de germer. Des expériences ont montré qu'il en est ainsi en effet: si l'on perce le bout des graines opposé au germe, celles-ci perdent la faculté de germer malgré une dessiccation soigneuse dans l'exsiccateur et le traitement à l'éther sec (séché sur l'oxyde de phosphore).

Quoi qu'il en soit, les expériences décrites plus haut sur l'orge en inanition suffisent au fond pour que la réponse à la première partie de la question puisse être considérée comme affirmative, c'est à dire que grâce aux pertes en hydrates de carbone les graminées se comportent vis-à-vis des sels d'ammoniaque comme les graines du type de lupin.

II. Posons maintenant la question d'une autre manière en nous demandant si une augmentation des provisions d'hydrates de carbone chez le lupin même ne servirait pas à modifier sa manière de se comporter vis-à-vis des sels d'ammoniaque dans le sens de le rapprocher du type de l'orge.

Il y a deux moyens d'augmenter la teneur en hydrates de carbone chez les plantules de lupin, dont l'un consiste à faire l'expérience à la lumière, dans des conditions favorables à l'assimilation, l'autre à opérer à l'obscurité en nourrissant les plantules de glucose.

Des expériences avec des sels d'ammoniaque à la lumière ont été faites par Susuki en 1895, mais le dosage de l'ammoniaque n'est pas donné dans cet ouvrage et c'est précisément ce dosage qui nous intéressait le plus; en outre, le schéma de l'expérience y était autre, et nous ignorons si l'assimilation était assez énergique pour que la formation des matières organiques dépassât de beaucoup leur dépense, car bien que l'expérience fût faite à la lumière, les plantules servant au contrôle (sur l'eau distillée) montraient toujours, dans chaque essai, une augmentation de la teneur en asparagine. Il nous a donc semblé nécessaire de répéter l'expérience à la lumière d'après le schéma dont nous nous étions servi auparavant à l'égard des plantes étiolées et dans des conditions permettant d'obtenir une augmentation notable des matières sèches. Une telle expérience a été faite par m-lle Kachéwarov en mai de l'année 1914 dans des cultures en sable. Comme il était difficile de prévoir le moment où l'assimilation serait suffisante, et qu'il fallait assurer aux plantes une provision suffisante de

sels d'ammoniaque, tout en évitant un excès de NH_4Cl , les plantules étaient enlevées en trois termes (5, 10 et 15 jours après l'exposition à la lumière), l'addition du sel d'ammoniaque se faisant également en trois termes, par un tiers de la quantité totale chaque fois.

Les données du tableau VII (page 255) montrent que l'assimilation a eu lieu, que l'addition seule de NH_4Cl augmentait déjà considérablement la teneur en asparagine; comme chez l'orge à l'obscurité (mais autrement que chez le lupin à l'obscurité), nous observons chez le lupin en voie d'assimilation la transformation énergétique de l'azote ammoniacal en asparagine; de cette manière en changeant le signe devant les colonnes „recette et dépense“ de carbone, nous changeons en même temps la manière des plantules du lupin de se comporter envers les sels d'ammoniaque, remplaçant le mouvement „de l'asparagine vers l'ammoniaque“ par celui „de l'ammoniaque vers l'asparagine“¹⁾.

La question posée plus haut, savoir: si la manière caractéristique de se comporter envers les sels d'ammoniaque à acides forts dépend chez le lupin des quantités insuffisantes d'hydrates de carbone qui lui sont fournies, ou bien d'autres causes, a donc reçu une réponse favorable à l'idée d'une relation entre ce phénomène et la quantité des hydrates de carbone (ou la facilité de leur accès aux plantules); on trouve qu'en augmentant ou en diminuant les quantités d'hydrates de carbone fournis aux plantes, on réussit de les transférer d'une caté-

¹⁾ Quant aux recherches sur la manière de se comporter du lupin à l'égard des sels d'ammoniaque lors de la nutrition artificielle avec du glucose, des expériences à cet effet n'ont pas encore été faites à notre laboratoire; cependant on ne peut douter qu'en créant des conditions favorables on n'atteigne le même résultat que lors des essais d'assimilation ou qu'on ne constate au moins la même direction (sinon les mêmes résultats); outre les faits que nous avons communiqués, une des expériences de M. Boutkévitch fait arriver à la même conclusion. Il avait essayé de nourrir de glucose des plantules de lupin après une inanition assez longue; quoiqu'on ne leur fournit pas de sels d'ammoniaque de dehors, il se produisait une accumulation d'ammoniaque au dépens de l'oxydation des substances azotées des plantules elles-mêmes; la nutrition avec le glucose avait pu diminuer, sinon supprimer, l'accumulation d'ammoniaque; on peut donc s'attendre à la même chose par rapport à l'ammoniaque venant de dehors. Ce qui est étrange, c'est que le glucose semblait ne pas atteindre les parties supérieures des plantules, car on y observait toujours une réaction alcaline et un aspect vitreux (résultat de la modification des propriétés osmotiques du plasma), tandis que les parties qui plongeaient dans la solution de glucose ou les parties dépassant à peine la surface de la solution conservaient la réaction acide et un aspect normal (Biochemische Zeitschrift, Bd. 41, 1912, p. 441).

gorie dans une autre, de sorte que toute plante approvisionnée suffisamment d'hydrates de carbone, semble pouvoir former de l'asparagine aux dépens des sels d'ammoniaque, et au contraire devient instable à l'état d'inanition et perd facilement la faculté de former de l'asparagine évidemment faute de carbone et grâce à la nécessité de continuer de brûler la chaîne des atomes de carbone encore inoxydes laquelle se trouve dans l'asparagine (ou est nécessaire à la synthèse de cette substance¹⁾).

Les traits particuliers des espèces semblent s'effacer devant les effets de la nutrition à leur apogée; donc, au lieu d'employer les expressions „type d'orge, de pois, de lupin“ pourrait-on parler plus généralement de la manière de se comporter envers les sels d'ammoniaque des organismes végétaux „suffisamment nourris“ ou „épuisés“ par rapport aux hydrates de carbone.

L'organisme de l'animal est plus que celui de la plante capable de combattre d'une façon économe l'action nocive de l'ammoniaque, dernier produit des métamorphoses régressives de la molécule protéique: l'animal fait passer l'ammoniaque à l'état de carbamide, qui ne contient plus de carbone inoxydé et peut être éliminé de l'organisme sans préjudice (au point de vue de l'économie en calories); les plantes supérieures qui se trouvent ordinairement dans des conditions meilleures que les animaux quant à la facilité de se procurer des hydrates de carbone, se permettent le luxe d'arriver à l'inocuité de l'ammoniaque en formant un amide riche en carbone, c'est à dire l'asparagine, qui, dans des conditions normales, peut s'accumuler sans nuire à la plante dans le suc cellulaire jusqu'à ce qu'une affluence encore plus grande d'hydrate de carbone (par assimilation) permette à la plante d'utiliser l'azote de l'asparagine pour former les substances protéiques. Si, au contraire, ces conditions viennent à manquer, si la plante tombe en état de jeûne extrême sa position devient encore plus sérieuse

¹⁾ En vue de tous ces faits, il serait peut-être intéressant de savoir s'il ne se forme pas dans les plantes en inanition des produits d'oxydation de l'asparagine intermédiaires tels que le monoamide d'acide malonique: $\text{COOHCH}_2\text{CONH}_2$ ou l'aldéhyde correspondant $\text{COHCH}_2\text{CONH}_2$; en outre, en cherchant le carbamide dans les plantes, peut-être faudrait-il prendre en considération non seulement la nature de la plante, mais encore son degré de développement. Considérons par exemple la question suivante: est ce que dans les plantes où le carbamide a été constaté, la quantité de celui-ci ne serait pas augmentée pendant l'inanition, ou, dans d'autres cas, le carbamide ne paraîtrait-il pas seulement dans la plante en inanition?).

que celle de l'animal, vu qu'elle ne peut pas brûler impunément la chaîne de carbone jusqu'à la fin; n'étant pas faite pour descendre jusqu'au carbamide, elle peut périr d'empoisonnement ammoniacal, avant de périr définitivement d'inanition.

Si le lupin encoure ce danger plus souvent que les autres plantes, c'est que dans ses graines le rapport entre les substances protéiques et les hydrates de carbone est très étroit ¹⁾.

¹⁾ Il est doublement plus étroit que chez les pois et même quatre fois plus étroit que chez les graminées.

Другія печатныя работы того же автора

- 1) О распаденіи бѣлковыхъ веществъ при проростаніи (1895).
- 2) Бѣлковыя вещества и ихъ превращенія въ растеніи въ связи съ дыханіемъ и ассимиляціей (1898).
- 3) Доступна ли культурнымъ растеніямъ фосфорная кислота фосфоритовъ? (1899).
- 4) Результаты вегетационныхъ опытовъ за 1899 и 1890 гг. (съ 8 таблицами).
- 5) Изъ результатовъ вегетационныхъ опытовъ за 1901—1903 гг. Съ XII таблицами. Ц. 60 к.
- 6) Изъ результатовъ вегетационныхъ опытовъ 1904—07 г. (совмѣстно съ А. Дояренко и И. С. Шуловымъ). Москва, 1909 г. 7) Тоже, за 1908—09 Москва, 1911 г. 8) Тоже, за 1910 г., Москва, 1912 г. 9) Тоже, за 1911 и 1912 Москва, 1913 г. Ц. по 2 р. за томъ 10) Тоже за 1911—12 гг. и 11) Тоже за 1913 г. Ц. по 2 р. за томъ 10)