

631.84

7859 a.H

402399

Mazé также наблюдал случаи или одинаково хорошего развития на том и другом источнике азота в присутствии CaCO_3 или даже случаи более энергичного поступления аммиака, чем нитратов; его опыт интересен тем, что аммиак и нитраты вводились в раствор одновременно, так что растению предоставлялась возможность использовать тот или другой источник при тождественных условиях, поэтому здесь не могло быть речи о влиянии разной реакции среды на рост растения и размеры потребления им разных форм азотистой пищи.

I. Опыты с устранением физиологической кислотности путем нейтрализации.

Если после опытов Коссовича и Mazé, а также Krüger'a (16) уже нельзя было не признать окончательно возможности усвоения растением аммиака без предварительного его окисления в азотную кислоту, то вопрос о сравнительном значении того и другого источника азота все же продолжал вызывать большие разногласия у разных авторов; чаще всего причиной этого разногласия являлось наблюдение, что на смеси, содержащей $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и CaCO_3 нередко растения развиваются все же хуже, чем на смеси, содержащей нитраты, в отличие от того, что наблюдал Коссович.

Но для такого явления имеются свои причины, заключающиеся в том, что задача нейтрализации той кислотности, которой в момент постановки опыта еще не существует, вовсе не так проста.

Дело в том, что CaCO_3 вводится в культуры заранее, а физиологическая кислотность сказывается лишь позднее, когда развившееся растение уже потребит заметные количества аммиачного азота. Поэтому, прежде чем растение подвергнется опасности пострадать от кислой реакции среды, оно уже может пострадать от щелочности среды, создающейся взаимодействием CaCO_3 и $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Так как в зависимости от концентрации раствора, числа введенных растений, условия их роста, свойств среды (вода, песок, почва) и присутствия и отсутствия бактерий степень щелочности и быстрота перехода от щелочности к кислотности различны, то у разных авторов и наблюдалась различная степень отклонения их результатов от данных Коссовича и Mazé.

Так, в очень ясной форме наблюдал в 1907 г. вредное влияние щелочности при работах в песчаных культурах P. Ehrenberg (18), заражение бактериями только в малой степени смягчало вред от аммиака в щелочной среде, так как степень щелочности была уже неблагоприятна и для нитрификаторов (при вскрытии сосудов, содержавших $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и CaCO_3 , слышен был запах аммиака).

В опытах Hutchinson'a и Miller'a (19) введение CaCO_3 улучшило развитие растений на $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, но все же оно было худшим, чем на нитратах. Заражение нитрифицирующими бактериями улучшало развитие растений, питавшихся $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ в присутствии CaCO_3 . Можно ду-

мать, что здесь щелочность была меньше, чем в опытах Ehrenberg'a, нитрификаторы могли хорошо развиваться и тем вызвать понижение щелочности, что хорошо сказалось на развитии растений.

Таким образом при опытах с аммиачными солями вся трудность состоит в том, чтобы отделить влияние кислой или щелочной реакции среды от влияния самой формы азотистого питания.

К этому вопросу относится произведенная в 1912 году в нашей лаборатории работа И. С. Шулова (20), который работал в стерильных условиях; из многочисленных опытов здесь отметим только следующий: автор испытывал влияние введения нитратов в смесь, содержащую $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ в предположении, что если в последней соли вредит только избыточная H_2SO_4 , то внесение CaCO_3 должно смягчать этот вред противоположным действием остающейся щелочи; если вредит аммиак как таковой, то дополнительное введение селитры не изменит картины. Результат говорил за первое допущение, так как введение NaNO_3 обезвреживало $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; в том же направлении действовал NH_4NO_3 , хотя менее энергично, чем NaNO_3 , как и естественно было ожидать.

Большой фактический материал по усвоению аммиака и нитратов в темноте (в присутствии глюкозы и без нее) с описанием методики стерильных культур дан в работе Г. Г. Петрова (21), который многократно констатировал более быстрое усвоение аммиака, чем нитратов, растением; однако в виду сложности опытов и обилия материала мы не будем входить здесь в изложение этой работы, так как вопросы о регулировании реакции среды, не были предметом непосредственного исследования в этой серии опытов.

Из позднейших работ по влиянию реакции среды на развитие растений при разных источниках азота отметим вышедшую в 1922 г. работу А. Thomson'a (22), в опытах которого с ясностью сказалось вредное влияние введения CaCO_3 в водной культуре в присутствии нитратов; в присутствии $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ введение CaCO_3 давало известное улучшение роста, но конечный результат был хуже, чем в случае нитратов без CaCO_3 . В связи с этим А. Thomson совершенно правильно отмечает, что в опытах Коссовича урожаи на нитратах были понижены, так как в сосуды с NaNO_3 вводился CaCO_3 . Но тоже самое относится к $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, а затем это возражение не затрагивает опытов Mazé, у которого растение из общего питательного раствора, содержащего NaNO_3 и $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (и CaCO_3), усваивало больше NH_4 чем N_2O_5 .

И так, так называемая „нейтрализация“ физиологической кислотности солей аммония путем введения CaCO_3 оказывается приемом обоюдоострым; в сущности это есть прием, сначала заставляющий растение развиваться в щелочной среде, с тем, что впоследствии, если оно выживет, то оно устранит эту щелочность, благодаря энергичному потреблению аммиака и накоплению кислоты в растворе, которая и будет затем нейтрализоваться углекислым кальцием. Конечный результат зависит прежде всего от степени подавления развития щелочностью среды в первый период.

Если бы корни растения не выделяли углекислоты, то реакция раствора, содержащего $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и некоторый избыток CaCO_3 , лежащего на дне сосуда, отвечала бы $\text{pH}=9,0$; такая степень щелочности для растения неблагоприятна; поэтому чем больше ростков введено одновременно в данный объем раствора, тем больше они дадут углекислоты и тем больше будет смягчена первоначальная тенденция раствора к щелочности, тем скорее растения начнут успешно развиваться, поглощать аммоний и создавать ту тенденцию кислотности, на устранение которой рассчитано введение CaCO_3 .

Характерный случай устранения вредного действия физиологической кислотности без риска вреда от начальной щелочности мы имеем в наших опытах по синтезу аспарагина за счет аммиака в этиолированных проростках, когда эти последние в очень большом числе высаживались на сетках, натянутых на кристаллизаторах с питательным раствором, и своей углекислотой парализовали исходную щелочность последнего. При этом обнаружилось, что злаковые растения почти полностью переводят в форму аспарагина (или подобного ему амида, как глютамин), в котором нейтральность достигается равным числом групп NH_2 и COOH , аммиак, ими поглощенный из раствора (NH_4Cl) или $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, поскольку они еще не истощили запас углеводов, доставляющий ту цепочку углеродных атомов (напр. яблочную кислоту), которая, воспринимая из аммиака группу NH_2 , дает аспарагин; также вели себя некоторые масличные, поскольку последние были затронуты в наших исследованиях. Злаковые способны вести такой синтез даже в отсутствие CaCO_3 . Но бобовые типа гороха и вики ¹⁾ являются более чувствительными к физиологической кислотности таких солей, как NH_4Cl или $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и не образуют аспарагина за счет аммиака, если не принять мер к обезвреживанию этой кислотности. Вот в этих случаях при указанной выше постановке введение CaCO_3 давало чрезвычайно энергичный толчок к образованию аспарагина, и получалась возможность проводить сравнение между аммиаком и нитратами без того, чтобы начальная щелочность, вызванная введением CaCO_3 , могла проявить свое действие.

Однако, в виду того обстоятельства, что кальций играет важную роль в обмене веществ вообще, помимо нейтрализации кислот, так что при отсутствии кальция в питательной смеси развитие корневой системы не является вполне нормальным, мы при сравнении нитратного питания с аммиачным противопоставляли $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ с одной стороны и $\text{NH}_4\text{Cl} + \text{CaCO}_3$ с другой, даже в том случае, если опыт ставился с злаковыми, хотя они и способны переносить соли аммония и в отсутствие CaCO_3 .

При такой постановке мы наблюдали (23) не только выравнивание результатов по аммиачному и нитратному питанию, но даже явный пере-

¹⁾ Обобщить на все семейство бобовых приводимое указание нельзя, ибо, напр., люпин ведет себя иначе, чем все вышеупомянутые растения.

вес на стороне первого, если брать за критерий энергию образования аспарагина или вообще синтез органических азотистых соединений за счет той и другой формы азота.

Вот пример из опытов с кукурузой ¹⁾.

100 этиолированных ростков содержали:

	I. Дист. вода.	II. Раствор $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$.	III. $\text{NH}_4\text{Cl} + \text{CaCO}_3$.
Азот аспарагина: . . .	104,5	160,7	269,5 mgr.
Азот органич. в-в; . . .	755,6	844,6	935,1 „

Здесь содержание аспарагина в растениях получивших аммиак в 2 1/2 раза превысило содержание его в контрольных растениях, а в случае нитратов это отношение отвечает приблизительно 1: 1,5; увеличение азота органических соединений за время опыта почти вдвое выше в случае аммиака, чем для нитратов (179,5 и 89, 0 mgr прироста против контроля).

В том же направлении (хотя и не столь резко) складывались различия в опыте с викой (также 10-ти дневном).

	I. Дист. вода.	II. $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$.	III. $\text{NH}_4\text{Cl} + \text{CaCO}_3$.
Всего на 100 растен. . .	221,0	247,6	263,0
Азот аспарагина. . . .	75,9	93,3	118,2

При другой же постановке опытов, когда напр., только один молодой росток помещается в сосуд емкостью в несколько литров, с раствором NH_4Cl или $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и введением CaCO_3 по расчету на кислоту, связанную с аммонием, тогда первоначальная щелочность раствора подавляет развитие растения, так как оно долго не может выделяемой углекислотой понизить pH до нейтральной точки.

Те изменения реакции которые вызывают растения, внесенные в большом числе, были нами прослежены позднее; здесь приведем только следующий пример изменений pH в растворах, на которых росло большое число ростков кукурузы (данные М. Д. Карпова).

	30 марта.	1.	2.	3.	6.	7.	8.	9.	Апреля 1924 года
Дист. вода . . .	5,6	5,6	5,3	5,2	5,1	5,1	4,9	4,9	
$\text{NH}_4\text{Cl} + \text{CaCO}_3$	7,7	6,8	6,6	6,6	5,9	5,3	5,1	4,9	
$\text{NH}_4\text{HCO}_3 +$									
$+ \text{CaCO}_3$	7,8	6,8	6,9	6,9	6,9	—	—	—	

Проведение длительного опыта на свету с непосредственным регулированием реакции при постоянных определениях pH раствора и

¹⁾ Продолжительность опыта 10 дней. Азот аспарагина определялся по Longi, путем сравнения количества аммиака, содержащегося в растениях до гидролиза и после него; азот органических соединений определялся путем вычитания из общего количества азота той его части, которая приходится на аммиак и нитраты.

введением в него кислоты и щелочи для поддержания реакции на постоянном уровне представляет значительные трудности. Предварительный опыт в этом направлении проведен был в 1924 г. в нашей лаборатории П. Р. Купреенком в обычных условиях водных культур (без стерилизации), при этом в раствор содержащий $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ через каждые 48 часов приливалось столько к. с $n/10$ раствора NaOH , чтобы привести рН к тому или иному определенному уровню; сухой вес растений (кукурузы) в зависимости от реакции среды получился следующий.

	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.
рН:	3,0 ¹⁾	3,0 ¹⁾	4,5	6,0	7,0	8,0
Урожай.	0,98	1,02	9,97	14,09	9,57	3,80 гр.

Здесь с ясностью вырисовывается положительное влияние введения NaOH для нейтрализации H_2SO_4 , идущее до рН—6,0; дальнейшее повышение рН уже связано с понижением урожая.

Несмотря на предварительный результат этого опыта он всетаки хорошо демонстрирует то положение, что многие опыты, которые ставились прежде на тему об отношении растения к аммиачным солям, на деле должны бы дать материал к вопросу об отношении растений к реакции питательного раствора, если бы только последняя была известна.

Таким образом мы можем уже из сообщенного сделать с некоторым правом следующий вывод: если случаи неудачной борьбы с физиологической кислотностью путем мнимой нейтрализации не дают материала для заключения, что аммиачное питание хуже нитратного, то случаи удачного устранения и физиологической кислотности и первичной щелочности, как наш опыт с большим числом ростков, (а также опыт Коссовича с введением $\text{Fe}(\text{OH})_3$ и опыт Мазе с одновременным введением NaNO_3 и $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) говорят за то, что растение способно быстрее поглощать аммиак и пререводить его в органические соединения быстрее чем нитраты.

II. Опыты с сменными растворами.

Кроме нейтрализации, мы пытались устранять накопление кислот при питании солями аммония еще путем *смены раствора*.

Поводом к постановке этих опытов послужило мнение, высказанное некоторыми авторами, что в $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ наиболее вредным компонентом является аммиак, а не серная кислота.

Вполне соглашаясь с тем, что накопление аммиака в растворе, хотя бы и в нейтрализованной форме, за пределами известной концен-

¹⁾ В этих 2-х случаях реакция не регулировалась, но рН было приведено до 3,0 самим растением (в случае 1 серно-кислый аммоний дал был весь сразу, во 2-м случае в несколько приемов.)

трации может принести вред растениям, и что этот предел для аммиака лежит ниже, чем для нитратов и допуская, что можно подобрать такую концентрацию, при которой соль аммония раньше принесет вред, чем освободившая при поглощении аммиака серная кислота, мы не могли все же считать вышеприведенное утверждение скольконибудь вероятным в той общей форме, в какой оно было высказано, так как тогда трудно было бы найти объяснение случаям, наблюдавшимся у Коссовича, Мазе и у нас (см. выше), в которых удачное использование нейтрализации, как средство устранения физиологической кислотности, создавало не только равенство, но даже преимущество аммиачному питанию над нитратным.

Предварительный опыт культуры на свету в сменных растворах был поставлен еще в 1918 г. Е. В. Бобко и О. И. Соколовой с горохом и ячменем; при этом на росте растений обнаружилось значительное положительное влияние смены растворов; так для ячменя получились такие цифры урожаев по $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$:

	Без смены.	При смене растворов.
1.	1,66	9,39 гр.
2.	1,61	8,70 гр.

Для гороха фотографический снимок обнаруживает еще более резкое положительное влияние смены раствора, производившейся два раза в неделю (но урожай гороха не был учтен). Так как в том опыте не учитывалась непосредственно реакция растворов, то летом 1922 г. опыт был повторен с определением концентрации ионов водорода по Sørensen'у. При этом обнаружилось, что растение чрезвычайно быстро нарушает реакцию поглощением аммония, при чем по достижении известного предела кислотности дальнейший сдвиг почти прекращается. Таким образом смена раствора *даже ежедневная*, не может до конца устранить влияние физиологической кислотности, она только смягчает это неблагоприятное влияние. Но все же некоторые указания дают и культуры растений в сменных растворах. Здесь отчасти (в опыте Купреенко) применялась изоляция источника азота и смена раствора производилась только в соответственном (малом) сосуде; развитие растений в этом случае шло гораздо лучше при смене раствора $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, чем без смены; для NaNO_3 соответственное различие также наблюдалось, но далеко не в той мере, как это видно из следующих урожайных данных для ячменя:

Источник азота:	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	NaNO_3
Без смены раствора:	1,67 гр.	6,17 гр.
При смене:	7,18 „	10,85 „

О размере сдвига реакции и быстроте наступления этого сдвига дает представление следующая выписка из дневника по этому опыту:

Величины рН (по колориметрическому измерению).

Найдено при смене раствора вместо 6,2:

Исходный раствор													
31-го июля ¹⁾	3	авг. 5	7	9	11	12	14	16	18	20	22	авг.	
(NH ₄) ₂ SO ₄	3,3	3,5	3,6	3,9	3,5	3,9	3,3	3,6	3,6	3,6	3,6	„	
NaNO ₃	6,9	6,9	6,9	6,8	6,8	6,6	6,9	6,6	6,8	6,8	6,9	„	

Отсюда видно, что даже при смене через сутки (11—12 августа) растение понижало величину рН с 6,2 до 3,9 если в качестве источника азота ему предлагается (NH₄)₂SO₄; дальше процесс этот задерживается и даже в бесменном растворе ниже 3,3 величина рН не опускается; у этого предела очевидно задерживается рост корней и возможность нормального усвоения азота из этой смеси; для NaNO₃ в бесменном растворе рН равнялось 7,3 (вместо исходной величины в 6,2).

Таким образом, растения, чрезвычайно быстро поглощая аммиак, создают кислую реакцию среды, быстро достигающую крайнего предела, за которым рост корней останавливается. Культура в сменных растворах лишь отчасти смягчает этот вред.

Если в случае NaNO₃ мы не наблюдаем такого же сдвига в сторону щелочности, как в случае (NH₄)₂SO₄ в сторону кислотности, то это потому, что углекислота, выделяемая корнями, там смягчает это изменение реакции; в случае же накопления серной кислоты в растворе растение ничего ей противопоставить не может (кроме аммиака в случаях патологических, наблюдаемых у люпина).

И так, ни предварительное введение СаСО₃, неточно обозначаемое термином „нейтрализация“, ни смена растворов (хотя бы ежесуточная) не могут нам обеспечить такого регулирования реакции, которое позволило бы произвести правильное сравнение между аммиачным и нитратным питанием.

Гораздо большей ясности в этом вопросе, чем этими 2-мя путями нам удалось добиться следующими приемами: если мы для устранения влияния посторонних анионов, связанных с NH₄ и катионов, связанных с NO₃ избегали введения тех и других, введя изучаемые ионы NH₄ и NO₃ в виде соли NH₄NO₃, то сравнительная скорость поступления того или другого иона из общего раствора давала нам более определенные указания, чем наблюдения над поступлением NH₄ и NO₃ из растворов разного состава, с разной исходной реакцией и различными ее изменениями во времени (III).

Также хорошие результаты были получены при сравнении нитратного питания с аммиачным в разных растворах, но при введении

¹⁾ При каждой смене раствора величина рН возвращалась к 6,2; поэтому если напр., 14 авг. найдено 3,3, то значит за двое суток изменение рН составляет 6,2—3,3 или 2,9, т. е. концентрация ионов водорода возросла почти в 1000 раз.

аммиака в соединении с кислотой на столько слабой, что ее остатки растению не вредят, т. е. с угольной кислотой, при условии устранения первоначальной щелочности углекислого аммония введением добавочного количества той же угольной кислоты.

III. Опыты с азотнокислым аммонием.

Прежде чем сообщить данные наших недавних опытов с NH₄NO₃ нам необходимо изложить прежние наши наблюдения над этой солью, сделанные попутно, при изучении вопроса об использовании растениями трудно растворимых фосфатов.

Дело в том, что с самого начала работ с песчаными культурами (1896) мы встретились со случаями, когда обычные нормальные смеси (напр. Гельригеля) не могли служить мерой сравнения при культуре некоторых растений, отличающихся по своим физиологическим особенностям от злаковых; так, гречиха и люпин, отличающиеся высокой растворяющей способностью по отношению к фосфориту, нередко развивались на смеси Гельригеля хотя и не плохо, но все же хуже, чем в случае замены растворимого фосфата фосфоритом. Это мешало выразить результат с каким либо растворимым источником P₂O₅ в ‰ от урожая нормальной культуры и дать какой либо коэффициент его использования.

Мы предполагали, что недостаточно обильное развитие некоторых растений на смеси Гельригеля могло зависеть или от чувствительности этих растений к кислой реакции исходной смеси (которая, как теперь известно, первоначально отвечает рН=4,0), или же наоборот, зависит от избыточного накопления оснований в растворе во второй период развития растений, которое зависит от более быстрого потребления кислоты, чем основания главной составной части питательной смеси Гельригеля—Ca(NO₃)₂.

Чтобы найти источник азота, невызывающий резкого сдвига реакции ни в ту ни в другую сторону, или по крайней мере с настолько небольшим сдвигом в сторону кислотности, чтобы его можно было компенсировать с помощью введения напр. трехкальциевого фосфата, мы предприняли в 1900 году опыты (24) с вариированием питания растения азотом и фосфорной кислотой, при чем испытывались различные отношения NO₃:NH₄, именно:

$$1:0, \frac{3}{4}:\frac{1}{4}, \frac{1}{2}:\frac{1}{2}, \frac{1}{4}:\frac{3}{4}, 0:1.$$

Опыты эти неожиданно обнаружили, что введение равных количеств NH₄ и NO₃ в виде NH₄NO₃ (или в виде смеси селитры и какой либо соли аммония) не создает физиологически нейтральной смеси, она имеет тенденцию к кислотности и в комбинации с кислым фосфатом действует неблагоприятно на растения; но тот же NH₄NO₃ в присутствии фосфорита, содержащего избыток основания по сравнению с монофосфатом дает очень хорошие результаты, при чем одновременно фос-

форная кислота фосфорита становится доступной даже для злаковых, неспособных ею пользоваться в отсутствии NH_4NO_3 .

Наиболее характерные результаты получились на фоне фосфорита:

	I. в виде NaNO_3	II. $\frac{3}{4} \text{NaNO}_3$ $\frac{1}{4} \text{NH}_4\text{SO}_4$	III. $\frac{1}{2} \text{NaNO}_3$ $\frac{1}{2} (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	IV. NH_4NO_3
Надземн. урожай овса	6,9	22,0	20,5	18,9
$\% \text{P}_2\text{O}_5$ в урожай.	0,09 $\%$	0,30 $\%$	0,57 $\%$	0,53 $\%$
Всего P_2O_5 в мгр.	6,2	66,0	116,8	105,4
	V. $\frac{1}{4} \text{NaNO}_3$ $\frac{3}{4} (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	VI. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$		
Надземн. урожай овса	19,2	1,6 гр.		
$\% \text{P}_2\text{O}_5$ в урожай.	0,92 $\%$	1,46 $\%$		
Всего P_2O_5 в .	176,6	24,1 ¹⁾		

Так впервые наметилась физиологическая кислотность NH_4NO_3 (1900), при этом бросилось в глаза то обстоятельство, что даже введение только одной четверти азота в виде аммиака при $\frac{3}{4}$ в виде NaNO_3 все же вызывало разложение фосфорита питательной смесью по мере использования отдельных составных частей ее ²⁾.

Так как этот факт тогда стоял особняком, то мы старались выяснить, не есть ли это видимое проявление физиологической кислотности следствие каких либо побочных причин.

Таковыми причинами могла быть, во-первых, деятельность нитрифицирующих бактерий, хотя это казалось нам и мало вероятным, так как культуры велись в песке, промытом кислотой, а различие в росте растений проявлялись так рано, что трудно было бы представить столь быстрое влияние случайного занесения этих бактерий. Тем не менее мы повторили наши опыты, применивши стерилизацию; результаты от этого не изменились (25). С еще большею тщательностью стерильные культуры на эту тему проведены были проф. Коссовичем в Петрограде, который усовершенствовал методику стерильных культур высших растений (26); выводы получились те же, что и у нас: NH_4NO_3 вел себя как физиологически-кислая соль, вызывая растворение P_2O_5 трудно растворимых фосфатов. Второе возражение против окончательного признания, на основании приведенных фактов, азотнокислого аммония за соль физиологически-кислую, могло заключаться, как нам тогда казалось, в следующем: если допустить, что злаковые растения все же обладают сами по себе достаточно кислыми корневыми выделениями, чтобы разлагать фосфорит, но действие их парализуется физиологиче-

¹⁾ Фотографический снимок с этого опыта воспроизведен в курсе автора „Учение об удобрениях“ (культуры были проведены студентами Н. М. Тулайковым и М. А. Лушниковым, имевшими трехлетний стаж в постановке вегетационных опытов; анализы произведены Н. Н. Ермолаевым).

²⁾ Всюду, где не оговорено особо, разумеются культуры в кварцевом песке, промытом крепкой соляной кислотой.

ской щелочностью $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, то введение NH_4NO_3 вместо $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ может способствовать усвоению P_2O_5 фосфорита злаками без того, чтобы NH_4NO_3 был солью физиологически-кислой, т. е. не активно, но пассивно. Возможность такого толкования была устранена следующим опытом, проведенным по нашему предложению тогдашним нашим сотрудником И. С. Шуловым (27): если применить метод разделения корней и „изолированного питания“ ¹⁾, то часть корней злаковых, которая соприкасается только с фосфоритом, не испытывает никакого влияния источника азота на свое отношение к фосфориту; в этом случае последний остается неиспользованным при любом источнике азота; только при непосредственном взаимодействии между источником азота, фосфоритом и корнями растения сказывается резкое различие между $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ и NH_4NO_3 , именно происходит разложение фосфорита.

Вот некоторые характерные данные из этого опыта (растение — ячмень).

Сухой вес растения.	1. Фосфорит изоли- ров. от соприкосн. с источ.	2. Фосфорит соприкасается с $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	с NH_4NO_3
		2,10	1,75

После этого опыта не оставалось другой возможности, как признать азотнокислый аммоний физиологически кислой солью, т. е. *допустить более быстрое использование растением аммиака, чем азотной кислоты* по крайней мере в тех условиях, какие имели место при постановке наших опытов.

Но для нас в первое время еще оставался открытым вопрос, не является ли физиологическая кислотность NH_4NO_3 условной в том смысле, что усиленное потребление аммиака проявляется лишь в том случае, когда питательная среда содержит основания, способные нейтрализовать азотную кислоту [таким источником оснований мог служить в предыдущих опытах $\text{Ca}(\text{PO}_4)_2$ способный отдавать часть Ca и переходить в CaHPO_4 и $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$], и не проявится ли в кислой среде обратное явление — преобладание потребления HNO_3 над потреблением NH_3 ; если бы такая „физиологическая амфотерность“ имела место, то NH_4NO_3 явился бы хорошим регулятором реакции питательной смеси, благодаря более быстрому поступлению в растение того компонента, удаление которого нужно для приведения реакции к нейтральной.

Однако последующие опыты все более подтверждали определенную физиологическую кислотность NH_4NO_3 и ослабляли представление о физиологической амфотерности этой соли.

В частности это относится к результатам испытания, той питательной смеси, которую автор составил еще на основании опытов 1901 года; эта смесь образована была из Гельригелевской путем замены

¹⁾ См. изображение соотв. приспособления в нашей статье, о методе изолированного питания в Журнале Русского Ботанического Общества, 1917, а также в Landw. V-st. B. 56

характерной для последней пары солей $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ — $\text{KН}_2\text{PO}_4$ другой парой: NH_4NO_3 — CaHPO_4 и должна была обеспечить растением не только нейтральность исходного раствора, но поддерживать нейтральную реакцию во время роста растения благодаря буферному действию CaHPO_4 , способному уменьшить сдвиг реакции в сторону кислотности в случае преобладания потребления аммиака. Эта смесь действительно оказалась удобной для песчаных культур, как позволяющая избежать начальной кислотности и последующей щелочности смеси Гельригеля ¹⁾; для некоторых растений она дала результаты лучшие ²⁾, чем смесь Гельригеля (напр. для рыжика, льна, отчасти проса), очень часто равные с ней, в отдельных случаях однако и худшие; но эта смесь обнаружила недостаточную устойчивость против сдвига реакции в сторону кислотности, что особенно сказывается в водных культурах (для которых поэтому такая смесь, по кр. мере в ее первичной форме, не может быть рекомендована) ¹⁾.

Но и в песчаных культурах проявилась „несимметричность“ в чувствительности смеси к самым легким изменениям в количестве введенных оснований в ту или другую сторону от принятой нормы. Так изменение количества оснований в виде замены двухзамещенного фосфата трехкальциевым фосфатом не только не вызывало никакого ущерба, но часто действовало положительно, между тем, как замена двухкальциевого фосфата кислым фосфатом в присутствии NH_4NO_3 действует губительно напр:

	$\text{CaHPO}_4 + \text{KCl}$	$\text{KН}_2\text{PO}_4$
Урожай проса . . .	32,9 гр.	5,0 гр.
„ рыжика . . .	13,7	0 (растения погибли).

Целый ряд фактов противоречит представлению об амфотерном поведении NH_4NO_3 в смысле достаточно эластичного изменения в соотношении воспринимаемых растением компонентов, чтобы гарантировать нейтральность реакции питательного раствора, и заставляет признать эту соль обладающей *ясной тенденцией к созданию кислой реакции*.

¹⁾ В водных культурах тенденция к проявлению кислотности в смеси с NH_4NO_3 оказалась еще сильнее, чем в песчаных, так как CaHPO_4 оседает на дно и не может быстро выравнивать сдвиг реакции, вызываемый деятельностью корневых волосков; продувание вызывает перемешивание жидкости лишь раз в сутки, а заметное изменение реакции корни вызывают уже через 2 часа.

²⁾ В связи с работами Whitney и Cameron'a относительно падения урожая при повторных посевах у нас изучалось влияние питательной смеси в связи с реакцией среды, наблюдаемой при уборке предыдущего урожая; при этом обнаружилась для нашей смеси наименьшая степень отклонения реакции в сторону щелочности при титровании с метил-оранжем и наименьшее падение урожая при повторном посеве; напр.

	Прянишникову.	Гельригелю.	Кроне.
Щелочность, после уборки 2-го посева	1,39.	1,37.	1,39.
Урожай 3-го посева люцерна	19,6.	16,5.	14,2 гр.

Таким образом даже за два часа достаточно развитое растение способно дать заметный сдвиг реакции в сторону кислотности, что стоит в связи с более энергичным поступлением NH_4 по сравнению с NO_3 ; бывают случаи, когда сдвиг реакции за краткий срок недостаточно выявляется несмотря на то, что анализ указывает на перевес поступления аммиака над поступлением азотной кислоты; объяснение должно лежать в выделении растением других катионов, достаточный запас которых в нем находится, благодаря предыдущему пребыванию в питательной смеси, из которой оно переносилось в раствор NH_4NO_3 *).

*) Параллельно с приведенными данными в опытах Домонтовича и Драчева имеется известный материал для суждения о влиянии реакции среды на поступление катиона и аниона при питании NH_4NO_3 при той же постановке опыта, как только что описано, но при понижении рН.

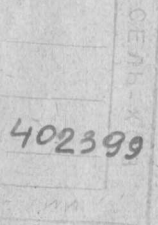
Отметим, что по этому поводу, кроме ранее упомянутых опытов, произведенных в нашей лаборатории, сделано было сообщение на съезде ботаников в 1921 г. в Петрограде Д. А. Сабивным, который наблюдал при подкислении увеличение поступления NO_3 , а при подщелочении—поступление NH_4 при опытах, продолжавшихся от 3-х до 20-ти часов; но до появления подробного сообщения трудно судить был ли сдвиг относительным, или же удавалось достигнуть абсолютного перевеса поступления NO_3 над поступлением NH_4 при известных степенях подкисления; в наших же опытах наблюдается чаще всего лишь относительный сдвиг, напр.

		Поглощено.		
		рН.	NO_3 .	NH_4
2-х часовые опыты.	Овес при исх. реакция.	5,4	0%	51,6%
		3,7	11,5%	40,4%
	Овес при исх. реакция.	5,4	18,3%	51,5%
		3,7	37,9%	44,6%

Лишь в одном опыте наблюдался и абсолютный перевес на стороне NO_3 в случае кислой реакции, при чем причины отклонения для этого случая пока не уловлены.

В опытах с горохом наблюдались более или менее те же явления с тем различием, что горох более страдает от подкисления, и иногда наблюдалось прекращение поступления даже и NH_4 .

		Поступление.		
		рН.	NO_3 .	NH_4 .
3-х часовой опыт		6,4	19,3%	61,5%
		5,0	18,1%	54,0%
2-х „ „		5,4	0	7,7%
		4,0	0	0
3-х „ „		6,2	0	23,1
		4,9	0	25,2



Также и в случае гороха было 2 случая когда перевес потребления перешел на сторону NO_3 ; однако нам известно из прежних наших опытов, что бобовые под влиянием минеральных кислот могут заболеть «аммиачным отравлением», теряя способность к синтезу аспрагина за счет аммиака, такое бобовое может не только не поглощать, но выделять в раствор аммиак, являющийся в результате окисления продуктов распада белка. Поэтому нужно иметь в виду, что при введении минеральных кислот (а в описанных опытах понижался рН, достигалось чьядшая НК), все растение способно к процессам патологическим.

В сумме из всех опытов с азотнокислым аммонием с достаточной определенностью вытекает, что при нормальных условиях питания растения склонны скорее использовать аммиак, чем азотную кислоту.

То, что аммоний быстрее нитратов переходит в органические соединения, является совершенно естественным, ибо аминокислоты можно рассматривать, как замещенный аммиак; нитраты же должны быть предварительно восстановлены до аммиака, на что растение должно затратить некоторое количество энергии.

Что это восстановление нитратов до аммиака происходит без участия света, следует уже из нередко наблюдавшегося факта нахождения нитратов у ряда растений в корнях, но не в стебле и листьях, как это наблюдал, например, Франк (31) для люпина еще в 1887 г.

В 1890 г. Loew отметил факт восстановления нитратов до аммиака глюкозой в присутствии платиновой черни, как катализатора, при чем глюкоза давала глюконовую и сахарную кислоты; Loew высказал мнение, что подобные процессы имеют место и в клетке (35).

Затем в 1897 г. Годлевский (32), путем количественных определений констатировал образование органического вещества за счет нитратов этиолированными проростками, к тому же выводу пришли Залесский (33) и Suzuki (34). В наиболее крупном размере, насколько нам известно, образование органических веществ (аспарагина и др.) в темноте за счет нитратов наблюдалось в опытах, произведенных в нашей лаборатории Калинин и Ритманом (см. данные и ссылку на стр. 9).

В последнее время (1920 г.) Warburg'ом (30) дана интересная работа по учету той части CO_2 , которая выделяется растением, благодаря трате органического вещества на восстановление нитратов до аммиака (или его производных—аминокислот). Повышая поступление NO_3 в опытах с *Chlorella* путем применения смеси NaNO_3 — HNO_3 ($n/10 \text{ NaNO}_3$, $n/100 \text{ HNO}_3$) Warburg мог учесть изменения отношения $\text{CO}_2 : \text{O}_2$, которое повышалось до 1,4—1,6 благодаря выделению „добавочной углекислоты“ (*Extra-Kohlensäure*), при чем за известным пределом, замечалось накопление аммиака в питательном растворе, которое возросло во времени (напр., молярное отношение $\text{NH}_3 : 2\text{CO}_2$ возросло как 0,17, 0,55 и 0,86 в первый, второй и третий час. опыт), так как сначала преобладает образование органических соединений, а по мере насыщения ими клеток избыточный аммиак появляется в окружающей жидкости („*Perioden der Assimilation und der reinen Reduction*“).

Далее, Warburg'у удалось расчленить расход и приход углерода в процессах восстановления нитратов, дыхания и ассимиляции, путем применения соответствующих анестезирующих средств. Так, на свету вместо добавочной CO_2 *Chlorella* выделяет „добавочный кислород“ (за счет нитратов), но с помощью наркотиков, подавляющих ассимиляцию (напр. Phenylurethan) можно и на свету вызвать выделение „добавочной“ углекислоты, обращающейся при окислении органического вещества, расходуемого на восстановление нитратов.

Попутно остановимся на следующем вопросе: если для растения усвоение нитратов связано с тратой части органического вещества на восстановление, то почему придается такое значение процессу нитрификации в почве? Ведь сельским хозяевам хорошо известно, что плодородная почва накапливает больше нитратов, процесс же накопления аммиака характеризует некоторые разновидности почв, в общем менее плодородных.

Здесь играет роль ряд сопутствующих обстоятельств; так, нитрификация хорошо идет только при должной аэрации и наличности оснований в почве (CaCO_3 или поглощенного кальция), а как раз оба эти условия благоприятны и для жизни высших растений. Аммонизация же преобладает в почвах или недостаточно аэрируемых, или содержащих свободные органические кислоты, или наряду с ними и минеральные комплексы, ненасыщенные основаниями (ацидоиды): таким образом нитрификация является спутником хороших санитарных условий в почве, ~~необходимых для развития высших растений, то крайней мера тех из них~~ которые имеют значение в культуре (но напр., к осокам это в столь общей форме уже не приложимо).

Далее, так как растение переносит значительно большие концентрации нитратов, чем аммиачных солей, то нитрификация является как бы отводным каналом, страхующим растение от излишнего накопления аммиака в почве.

В тех же случаях, когда аммиачные соли вносятся в почву искусственно, появляется еще один неблагоприятный фактор, это влияние сопутствующего аниона: если мы берем соль очень слабой кислоты, как углекислый аммиак, мы рискуем создать в почве щелочную реакцию; если мы берем соль сильной кислоты, как чаще всего бывает, то нередко рискуем недостаточно гладко справиться с обезвреживанием физиологической кислотности такой соли. Правда, и нитраты не являются физиологически-нейтральными—они физиологически щелочны, но растению избытку основания противопоставляет угольную кислоту, а избытку кислоты оно ничего противопоставить не может и должно рассчитывать на содействие почвы. Поэтому практически при внесении удобрения в виде аммиачных солей мы чаще можем встречаться с некоторыми затруднениями по регулированию реакции среды, чем при внесении нитратов.

Приведенные соображения достаточно уясняют, почему принципиальное решение вопроса о хорошем использовании растением аммиака, вводимого в строгом опыте в должной концентрации и при строгом регулировании реакции среды, может быть использовано на практике только после учета целого ряда обстоятельств, не стоящих в непосредственной связи с отношением растения к той или иной форме азотистой пищи, взятой самой по себе.

IV. Опыты с двууглекислым аммонием.

Последний из способов устранения вредного влияния физиологической кислотности, примененных нами, состоял в том, чтобы взять аммиачную соль возможно слабой кислоты, чтобы последняя по освобождению (в меру потребления аммиака растением) по возможности меньше вредила растению; тот факт, что $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ менее вредит растению, чем NH_4Cl говорит уже за то, что вред соли аммония зависит от свойств, сопровождающей его кислоты, но все же фосфорно-кислый аммоний особенно при опытах с прорастанием в темноте (когда потребность в P_2O_5 еще не выражена) не является в достаточной мере удовлетворяющим поставленному нами требованию, поэтому мы перешли к опытам с двууглекислым аммонием, не смотря на всю кажущуюся рискованность такого начинания.

Главным поводом к пересмотру вопроса об отношении растений к углекислому аммиаку послужили для нас те сопоставления, которые были нами сделаны в вопросе о превращении азотистых веществ у растений и у животных; именно, помимо общего единства превращения азотистых веществ в том и другом ряде организмов (путь от белка и аминокислот к аммиаку, обезвреживание последнего путем превращения в амидную форму, синтез аминокислот из аммиака и безазотистых соединений), мы наблюдали чрезвычайно близкое совмещение даже частных в отношении к солям аммиака для ростков люпина (наиболее бедного углеводами из испытанных нами растительных объектов) с тем, какое установлено и для клеток печени в смысле нарушения синтетических функций в случае введения NH_4Cl (образование аспарагина в одном случае мочевины в другом). А так как для синтеза мочевины наиболее благоприятным является введение в кровеносную систему печени аммиака именно в соединении с угольной кислотой, то нам казалось совершенно невероятным, чтобы для растительной клетки дело обстояло иначе (при подходящей реакции среды), особенно если принять во внимание то обстоятельство, что аммиак, образующийся в растении при окислении аминокислот, образуется одновременно с угольной кислотой, следовательно, синтезу аспарагина за счет аммиака должно предшествовать в какой то мере образование двууглекислого аммиака. В наших прежних опытах по образованию аспарагина в растении мы находим косвенное подтверждение более благоприятного отношения растений к соединению аммиака с CO_2 , чем с HCl ; именно не решаясь тогда (1913 г.) вводить углекислый аммиак мы давали растениям при краткосрочных опытах мочевины, в предположении, что она будет постепенно давать углекислый аммиак в тканях растения, а в то же время мы избегнем вредного влияния щелочности раствора, которое неизбежно сказалось бы в случае углекислого аммиака:

В соответственных опытах, произведенных А. И. Смирновым, с

ячменем, обнаружилось, что ячмень лучше развивался в растворе мочевины, чем NH_4Cl :

	Средняя длина ростков ячменя:	
	$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	NH_4Cl
Опыт 1-й . . .	24,6	18,6 А
„ 2-й . . .	22,0	16,3 „

Правда с другой стороны в литературе имеется ряд данных о крайней чувствительности растений к углекислому аммиаку; так, кроме прежних опытов периода 60-х и 70-х годов (как выше упомянутые опыты Веуге'a) обычно указываются опыты Соупи'a и Вокорну, как доказывающие вред углекислого аммиака.

Однако, в опытах Соупи'a совершенно не принималось во внимание регулирование реакции среды и ясно, что растения страдали от сильной щелочности. Что касается опытов Вокорну, то в них наоборот можно скорее удивляться, как углекислый аммиак при значительной концентрации употреблявшегося раствора, мало вредил проросткам, (вероятно, имело место улетучивания части аммиака раньше, чем проростки могли от него пострадать).

Поэтому мы повторили эти опыты, приготовляя двууглекислый аммоний кристаллизацией в токе CO_2 и кроме того испытывая смягчающее влияние на щелочность раствора введением углекислоты, дополнительно пропускаемой в питательную смесь до ее окончательного разведения, перед посадкой ростков; вот некоторые данные предварительных опытов, проведенных К. М. Прянишниковой с ростками гороха:

Аммиак дан в виде:	NH_4Cl	$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	NH_4HCO_3 (0.001).
Средний прирост корней . . .	1.85	1.83	2.83 сант.

Таким образом двууглекислый аммоний при этой концентрации дал больший прирост, чем хлористый и даже фосфорнокислый аммоний.

Дополнительное пропускание CO_2 в раствор (до опыта) было испытано в другой раз с большей концентрацией—в 0.005 норм; прирост корней был такой:

	NH_4HCO_3	То же + CO_2
РН	7.3	6.8
Прирост корней . . .	0.48	1.43 сант.

При продолжении этих опытов З. В. Логвиновой получилось полное подтверждение этих результатов; приведем здесь только следующие данные прироста стеблей и корней ростков гороха при более продолжительном опыте (12 дней).

Длина стеблей.

Соль аммония.	Концентрация.		
	0.001	0.003	0.010
$\text{NH}_4\text{HCO}_3 + \text{CO}_2$	9.7	5.8	5.5 сант.
NH_4HCO_3	5.8	5.0	4.5
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	5.0	5.1	5.2
NH_4Cl	4.1	4.1	4.1
Дистиллированн. вода	—	4.3	—

Здесь двууглекислый аммоний дал лучшие результаты, чем кислый фосфорнокислый; то же самое имело место при слабой концентрации (0.001 норм.) и для корней.

Длина корней.

Концентрация.	0.001		
	0.001	0.003	0.010
$\text{NH}_4\text{HCO}_3 + \text{CO}_2$	10.6	7.5	5.7 сант.
NH_4HCO_3	8.0	6.6	3.7
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	9.2	8.4	6.6
NH_4Cl	7.6	7.4	3.8
Дистиллированн. вода	—	8.1	—

Таким образом двууглекислый аммоний, при условии создания реакции близкой к нейтральной (РН=6.8) путем дополнительного пропускания углекислоты, оказывается наилучшей формой доставления аммиака растениям (как и животным), так как он не оставляет избытка сильной кислоты ни в окружающем растворе при поступлении аммиака, ни внутри растения (ибо избытки минеральных кислот вредят непропорционально влиянию на реакцию окружающей среды—к этому присоединяется влияние пригодности или непригодности поступающей в растение кислоты для целей питания).

Так как в этих опытах наблюдалось постепенное нарастание щелочности раствора NH_4HCO_3 (с 6.8 до 7.3 и даже 7.7), то нужно ожидать еще лучших результатов в случае более правильного поддержания реакции ближе к нейтральной зоне; введение солей кальция,

необходимого для правильного роста корней, делает последние также менее чувствительными к некоторым отступлениям реакции от нейтральности.

Кроме установления дальнейших черт аналогии с животным организмом, опыты с двууглекислым аммонием представляют еще тот интерес, что в них мы приобретаем новую возможность для сравнения аммиачного питания с нитратным без помехи со стороны минеральных кислот (одна возможность, уже использованная нами, состоит в изучении скорости поступления NH_3 и HNO_3 из NH_4NO_3).

Пока мы можем сообщить только немногие результаты предварительного опыта, проведенного по нашему предложению З. В. Логвиновой и позволяющего сравнить энергию роста для одного растения (гороха):

	РН		Длина стеблей	Корней.
	Исх.	Кочечн.		
Вода (Wasser)	5.7	6.0	3.69	6.95 сант.
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	5.5	5.1	20.14	10.86
$\text{NH}_4\text{HCO}_3 + \text{CO}_2 + \text{CaCO}_3$	6.9	7.3	19.09	11.06
$\text{NH}_4\text{HCO}_3 + \text{CO}_2 + \text{CaSO}_4$	6.7	7.1	20.74	11.04

Таким образом рост на аммиачной соли был не хуже, чем на растворе $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$.

Что касается синтеза аспарагина и вообще органических азотистых веществ за счет NH_4HCO_3 , то пока такой учет не был нами проведен, но в сущности выше описанные опыты (стр. 6) с образованием аспарагина за счет $\text{NH}_4\text{Cl} + \text{CaCO}_3$ и $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ до известной степени предreshает этот вопрос ибо ясно, что благодаря выделению корнями растений угольной кислоты и присутствию CaCO_3 в растворе должен был присутствовать NH_4HCO_3 и CaCl_2 , а эти опыты, как мы видели, обнаружили более энергичный синтез за счет аммиака, чем за счет нитратов.

Из совокупности наших опытов по сравнению аммиачного питания с нитратным мы можем, как наиболее существенное, отметить следующее:

1) если нейтрализация физиологической кислотности NH_4Cl с помощью CaCO_3 проведена так, что избегается вредное влияние первоначальной щелочности такой смеси (введение большого числа растений), то аммиачное питание превосходит нитратное по количеству усвоенного азота и образовавшихся азотистых органических веществ (опыты с этиолированными растениями) ¹⁾.

2) если аммиак и азотная кислота даются растениям одновременно в виде NH_4NO_3 , то наблюдается более быстрое поступление NH_3 , чем

¹⁾ Опыты, упомянутые в п. 1 относятся только к этиолированным растениям, но аналогичное отношение и зеленых растений к аммиаку констатировано в опытах с NH_4NO_3 (п. 2-й)

NO_3^- (вернее— NH_3 , чем HNO_3), как в темноте, так и на свету, если употребляются не слишком сильные концентрации и если реакция среды не отклоняется от нейтральной в сторону кислотности в степени вредной для растения; таким образом как правило NH_4NO_3 является физиологически-кислой солью, чем и объясняется ряд явлений в области взаимодействия питания азотом и усвоения фосфорной кислоты из труднорастворимых фосфатов.

3) если аммиак дается в виде NH_4HCO_3 и реакция среды с помощью добавочных количеств CO_2 поддерживается между 6,5-7,0 pH, то эта соль превосходит все другие соли аммония по влиянию на рост и выдерживает сравнение с нитратами (поскольку это последнее проведено в опытах с горохом); что касается синтеза органического вещества, то результат такого опыта нужно считать в известной мере предпрешенным на основании результатов опытов по сравнению $\text{NH}_4\text{Cl} + \text{CaCO}_3$ с $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, в которых щелочность среды устранялась при помощи некоторого избытка CO_2 (см. пункт 1-й).

V. Опыты с нитритами.

Вопрос об отношении растений к нитритам представляет интерес прежде всего со стороны обще-физиологической, так как нитриты, очевидно являются первой ступенью на пути восстановления нитратов до аммиака (или, если совершенно не предрешать вопроса о ходе восстановления, то до соединения типа $\text{R}-\text{NH}_2$); но кроме того мы столкнулись с вопросом об отношении растения к нитритам и по другому поводу—обнаружилось, что в почвах, в которых развитие растения подавляется избыточным внесением извести, наблюдается на ряду с энергичным образованием нитратов появление также нитритов и аммиака, в количествах при обычных условиях в тех же почвах не встречающихся. В настоящем сообщении однако мы будем иметь в виду только результаты опытов в водных культурах, проведенных по вопросу об отношении растений к нитритам, введенным в определенном отношении взамен других источников азота, при возможном исключении влияния микроорганизмов.

Первое указание на восстановление азотной кислоты в азотистую дано было в 1890 г. Laurent'ом (37); затем для высших растений в условиях стерильных эти наблюдения были подтверждены в 1900 г. Годлевским (38), в 1903—Набоких (39) и в 1911 г. Mazé (40). В 1922 г. Warburg (36) наблюдал восстановление азотной кислоты у *Chlorella* без обнаружения нитритов, если условия аэрации были нормальны, но при недостатке кислорода обнаруживались нитриты, тоже самое вызывало действие определенных наркотиков (*Phenylurethan*); появление аммиака удавалось вызвать при повышенном поступлении нитратов на фоне относительно пониженного содержания углеводов; в случае недостатка кислорода Warburg наблюдал, что появление нитритов

связано с уменьшением количества аммиака („Die Summe an beiden Reductionsproducten, $\text{NH}_3 + \text{HNO}_2$, ist konstant“).

Для высших растений появление нитритов в питательном растворе (содержавшем нитраты) наблюдалось А. Кудрявцевой (43) в стерильных культурах, повидимому в связи с недостаточной аэрацией водных культур (несмотря на обычное продвижение раз в сутки).

В нашей лаборатории А. И. Смирнов (44), изучая восстановление нитратов при автолизе (ростки люпина) и определяя количество нитритов, нашел, что количество исчезнувших нитратов значительно превышает количество образовавшихся нитритов, так как последние потребляются в процессе дальнейшего восстановления, при этом кипячение мало изменило процесс образования нитритов, но совершенно прекращало дальнейшее их восстановление.

Значительное число наблюдений над восстановлением нитратов в нитриты имеется для плесневых грибов.

Так, в 1889 г. Laurent (45) наблюдал образование нитритов у *Penicillium*, *Mucor* и ряда других грибов, но не у *Azpergillus* и *Botrytis*, тоже для *Mucor* наблюдал в 1899 г. Wolf (46), Hagem (47) отметил появление нитритов у *Mucor*, но не дал объяснения, почему в одних случаях нитриты появлялись, в других—нет; А. Kossowicz (48) наблюдал в 1914 году образование нитритов и аммиака у грибов, хорошо усваивающих нитраты (однако относительно аммиака не было доказано, не является ли он продуктом дезаминирования). Точнее условия появления нитритов были изучены Г. Э. Риттером (Воронеж), который показал, что для всех грибов, перерабатывающих нитраты, можно обнаружить образование нитритов, если регулировать реакцию среды так, чтобы она не была кислая, но оставалась нейтральной или слабо щелочной; поэтому Риттер заключает, что усвоение нитратов плесневыми грибами идет путем восстановления их до нитритов (49). С. П. Костычев (50) в своей работе 1922 г. сообщил, что ему удалось вызвать регулярное появление нитритов в культурах плесневых грибов, вводя нитраты и понижая углеводное питание гриба; в присутствии же сахара нитриты появлялись лишь в отсутствии кислорода. Далее Костычев установил факт перехода нитритного азота в аммиачный, дав полный учет, как всего азота в мицелии и в растворе, так и азота нитритов, аммиака и аминокислот; аммиак в присутствии сахара удавалось улавливать только при очень краткосрочных опытах (12 часовых), позднее он переходил в аминокислоты.

Взгляд на нитриты, как на промежуточную ступень при питании нитратами и у высших растений, находит себе подтверждение в том, что можно получить нормальные растения, давая им в качестве источника азота нитриты, при условии соблюдения определенных границ концентрации раствора. Не касаясь ряда прежних опытов с водными культурами, начиная с Birner'a и Lucasus'a в 1866 г. (51), в которых не принималось должных мер против развития микроорганизмов, и тем более многочисленных опытов с введением нитритов в нестери-

лизованную почву, где они легко переходят в нитраты, отметим опыты Treboux (Харьков 1904 г.), который испытал в чистых культурах отношение ряда различных представителей растительного царства (Cyanophyceae, Chlorophyceae, мхи, хвощи, а также и различные представители Angiospermae) и нашел, что нитриты представляют хороший источник азота (иногда лучший, чем нитраты, напр., у Chlorophyceae) если только среда не имеет кислой реакции; что касается влияния концентрации, то вред повышения ее начинается немного ниже, чем в случае солей аммония (52).

Далее должны быть отмечены опыты Perciabosco и Rosso (53), произведенные ими в 1909 г. в условиях стерильных, в которых гречиха достигла пышного развития, имея источником азота NaN_2 , при концентрации раствора 0,893 гр. на литр. Mazé (42) в 1911 г. наблюдал хорошее развитие кукурузы, давая 0,5 гр. NaNO_2 на литр в стерильных условиях, при чем к концу опыта растение поглотило всю азотистую кислоту из раствора.

Если многочисленные опыты в средах нестерильных не могут дать доказательств прямого использования нитритов, то все же в них имеется материал по другой стороне вопроса — именно о вреде нитритов в связи с концентрацией раствора и некоторыми особенностями растений.

Так, Sigmund (54) отметил, что проростки гороха чувствительнее к повышению концентрации нитрита, чем проростки пшеницы, Stutzer и M. Schultze (55) также констатировали, что ростки семян, богатые белками (бобовых) больше страдают от нитритов, чем у семян, богатых углеводами (хотя M. Schultze искал объяснения повышенной чувствительности бобовых в более энергичном поглощении ими нитритов, чем у злаковых); кроме того замечено, что в более поздних стадиях растения менее чувствительны, чем в стадии проростания; Kellner (56) тоже наблюдал, что те же самые дозы нитрита, которые способны задержать проростание семян, переносятся растением без всякого вреда; эти факты также можно поставить в связь с большим богатством растений углеводами в более поздних стадиях развития, чем во время проростания.

Подводя итог этому краткому обзору литературы по нитритам, мы можем отметить, что нитриты в слабых растворах являются хорошим источником азота для высших растений; они обнаружены, как промежуточный продукт восстановления нитратов, как у высших растений, так и у грибов, а для последних констатировано, образование аммиака за счет нитритов, как стадия предшествующая образованию органических азотистых соединений (аминокислот и белков); кроме того, можно отметить, что большая чувствительность к повышенной концентрации нитритов бобовых растений, чем злаковых, а также и молодых проростков больше, чем взрослых растений, позволяют думать, что наличие углеводов делает растение менее чувствитель-

ными к нитритам подобно тому, как это констатировано нами для аммиака (57).

Опыты с нитритным питанием, произведенные в нашей лаборатории, были первоначально вызваны наблюдением, что в случае избыточного внесения извести в почву растения страдают не столько от самой щелочной реакции, сколько от изменения характера биологических процессов, дающих начало в этих условиях образованию на ряду с нитратами, также аммиака и нитритов.

Поэтому одним из наших сотрудников, И. Г. Дикусаром, были поставлены опыты с нитритами в водных культурах, преимущественно с этиолированными проростками, при чем последние помещались в раствор нитритов на краткие сроки (7—10 дней), чтобы влияние микроорганизмов не успело сказаться; контрольные сосуды с такими же растворами нитритов, но без растения служили для проверки на отсутствие в них каких либо изменений, не связанных с деятельностью корней растений.

Для придания устойчивости реакции раствора нитриты растворялись в водопроводной воде, как обладающей достаточным буферным действием, благодаря содержанию в ней углекислоты и кальция.

Первый опыт произведен был с белой горчицей, как растением более чувствительным, чем злаки, к различным отступлениям от нормального азотистого питания и другим влияниям, как напр., концентрация растворов, о чем можно судить по „химическим“ методам борьбы с сорными растениями из крестоцветных. Опыт этот дал следующие результаты ¹⁾:

Опыт I. Горчица (N—от 7,7 до 8,0).

Дано нитритного азота (mgr. на литр).	0	1	4	16	64 mgr.
Длина корней	8,6	11,0	6,2	5,8	3,3 савт.
Аммиак в питат. растворе (mgr. N на 1 L)	0	0	0,8	1,4	3,3 mgr.
Нитритный N в корнях (на 100 экземпляров растений)	0	0,01	0,01	0,01	0,01 mgr.
Тоже для азота аммиака	0	Следы.	Следы.	0,2	0,2

Отсюда видно, что горчица проявила большую чувствительность к нитритам, при чем такое повышение дозы последних, которое приносило вред растениям, сопровождалось появлением аммиака в растворе, окружающем корни (в сосудах без растений раствор нитрита оставался

¹⁾ Определения NH_3 и N_2O_5 велись колориметрическим методом.

неизменным); но нитриты в отличие от нитратов, не накапливаются в клеточном соке при повышении концентрации их во внешней среде.

В опыте II, поставленном с викой, имелось в виду не только проследить влияние нитритов в той же концентрации на другом растении, но также проверить, не будет ли какое либо другое вредное вещество (напр., борная кислота) вызывать появление аммиака также, как это вызывают нитриты, а также параллельный ряд с нитратами должен был дать возможность сравнить их поступление в растение с поступлением нитритов при тех же условиях; приведем более подробно данные лишь по первой части опыта:

Опыт II. Вика.

Дано нитритного азота (в mgr. на литр.)	0	4	8	32	64
Длина корней	16,3	16,2	14,5	12,3	7,7
Азот аммиака на 1 литр . . .	0	0	0	0	1,2 mgr.
Азот N ₂ O ₃ в корнях 100 экз. .	0	0,026	Не опред.	0,027	Не опред.

Таким образом вика проявила меньшую чувствительность к нитритам, чем горчица, дав заметную задержку роста не при 4, а при 32 mgr. на литр; появление аммиака в окружающем растворе также имело место при вредных дозах нитритов (64 mgr. на литр); также и здесь незаметно было накопления нитритов в клетках корня по мере повышения концентрации раствора; в то время, как данные параллельного ряда с нитратами обнаруживают возрастание количества нитратного азота в корнях, если доза нитратов в питательном растворе растет.

Аммиак в ряде с нитратами не появлялся; также и опыт с влиянием вредных веществ (как борная кислота) не вызвал появления аммиака в окружающем корню растворе, хотя подавление роста было достигнуто (ради краткости соответственные таблицы мы здесь приводить не будем).

Факт появления аммиака в растворе в тех случаях, когда концентрация нитритов становится вредной для растения, заставил поставить вопрос: не сводится ли вред нитритов к вреду от образовавшегося за их счет аммиака. Для получения ответа на этот вопрос И. Г. Дикусаром были поставлены опыты по сравнению отношения растений к растворам NaNO₂ и NH₄HCO₃ равной концентрации (при регулировании реакции среды в случае аммиака с помощью добавочного введения CO₂). Для такого опыта был взят прежде всего люпин, ростки кото-

рого по бедности углеводами, особенно чувствительны к аммиаку; результаты получились следующие:

Опыт III. Люпин.

Дано N.	0	2	16	32	64 mgr.	
Длина корней в зависимости от источника азота.	NO ₂ . .	7,5	8,0	5,2 ct.	Растения погибли	
	NH ₄ . .	"	—	6,8	7,2	(4,4 ¹)
	NO ₃ . .	"	—	—	7,5	8,1 ct.

Из этого опыта (как и из опыта IV, близкого по постановке и результатам) следует, что нитриты вреднее, чем аммиак при равных дозах по азоту, поэтому объяснять их вред только образованием аммиака недостаточно; кроме того люпин оказался чувствительнее вики к нитритам, что можно поставить в связь с тем, что его проростки беднее углеводами, чем ростки вики.

Далее опыт сравнения между нитритами и аммиаком был повторен на вике:

Опыт V. Вика.

Дано азота	0	32	64	84 mgr.	
Длина ростков при N в виде	NO ₂ . .	12,1	9,4	5,5	4,2 ct.
	NH ₄ . .	"	10,7	10,1	9,6
	NO ₃ . .	"	11,4	12,5	12,7
Колич. NH ₃ в растворе в ряду с NO ₂	0	0	0,9	1,3 mgr.	

Как и в случае люпина, ростки вики тоже менее чувствительны к аммиаку, чем к нитритам (накопление NH₃ при нитритном питании наблюдается и в этом опыте, как и в ранее описанном).

В опытах с кукурузой И. Г. Дикусаром была сделана попытка проследить влияние уменьшения запасов углеводов на отношение растения к нитритам; для этого у одних растений удалялась большая часть эндосперма, у других же он сохранялся полностью, после чего

¹) Эта цифра взята из параллельного опыта (IV) и потому не является строго сравнимой (в оп. V соответств. конц. аммиачн. соли не было).

те и другие проростки переносились в раствор нитрита разной концентрации; вот результаты этого опыта (VI):

Дано нитритного N	0	4	32	64	84mgr.	
Эндосперм сохранен	Длина ростков	9,1	12,3	9,8	7,8	6,6ст.
	NH ₃ в растворе	0	0	0	3,2	4,1mgr.
Эндосперм удален	Длина ростков	5,7	4,5	4,0	4,0	3,5ст.
	NH ₃ в растворе	0	следы.	0,2	3,0	2,4mgr.

До известной степени удаление эндосперма сказалось повышением чувствительности проростков к концентрации нитритов.

Дальнейшие опыты имели в виду проверку указаний Treboux и Kellner'a о влиянии реакции среды на отношение растений к нитритам; постановка опытов с викой (VII и VIII) и их результаты видны из следующих таблиц.

VII.

Дано нитритного N	0	4	16	65	
Длина ростков при	pH=7,7	11,8	11,0	10,4	4,4ст.
	pH=6,3	11,1	10,9	10,0	4,2
Количество поглощ. N за 2 суток при	pH=7,7	—	0,68	2,66	не опред.
	pH=6,3	—	1,22	3,35	" "
Количество ¹⁾ NH ₃ во внешн. растворе при	pH=7,7	0	0	0	1,0 mgr
	pH=6,3	0	0	следы.	1,5

VIII.

Дано нитритного N	0	20	32	40	
Длина ростков при pH:	7,7-7,8	12,8	11,5	8,0	6,6
	6,0-6,5	11,5	—	7,3	6,2
	4,9-5,2	11,4	4,6	2,0	2,0
Колич. NH ₃ во внешн. растворе ¹⁾ при pH:	7,7-7,8	0	0	0	0
	6,0-6,5	0	—	следы.	следы
	4,9-5,2	0	0,85	0,68	0,80mgr

Из опыта VII видно, что подкисление среды вызывает усиленное потребление азотистой кислоты растением, и увеличивает количество аммиака во внешнем растворе, повышая одновременно вредное действие нитритов на рост, что особенно проявилось в данных таблицы VIII

¹⁾ За двое суток

Таким образом из совокупности описанных опытов с нитритами следует, что вредное влияние нитритов наблюдается при слабо щелочной среде для испытанных растений при весьма различной концентрации, а именно для горчицы при 4 млгр., азота на литр, люпина—при 16 млгр., вики—32 млгр., кукурузы—64 млгр; для последних 3-х растений эти различия совпадают по направлению с данными прежних наших опытов (57) относительно разной чувствительности этих растений к аммиачным солям, в связи с разным содержанием углеводов в проростках; но начало вредного действия аммиака относится к значительно большим концентрациям, чем проявление вредного действия нитритов.

Кислая реакция растворов увеличивает вред от нитратов, ускоряет их поступление и вызывает повышение того выделения аммиака проростками во внешний раствор, которое вообще является слутником вредного действия нитритов на рост растений.

Что касается общего вопроса о ходе превращения нитритов в растениях и о промежуточных стадиях их восстановления, то данные описанных опытов с нитритами являются еще одним звеном в цепи доказательств большого значения аммиака, как при синтезе, так и при распаде белковых веществ в растении; образование аммиака за счет нитратов, доказанное Костычевым для плесневых грибов, образование нитритов и аммиака при восстановлении нитратов у *Chlorella*, описанное Warburg'ом, факт появления аммиака при нитритном питании, констатированный в нашей лаборатории при вышеописанных опытах—все это в согласии с остальными фактами (как постоянное превращение „собственного“ аммиака в аспарагин) говорит за то, что именно аммиаку принадлежит существенная роль в построении органических азотистых веществ, при питании растения любым источником азота.

Вопрос относительно промежуточных стадий на пути от нитритов к аммиаку пока менее выяснен.

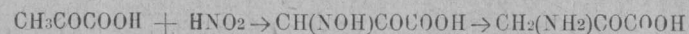
Возможно, что образованию аммиака предшествует стадия гидроксилламина, однако несвязанная с накоплением последнего, вследствие быстрого перехода к аммиаку; за возможность такого пути говорят опыты Neuberger'a и Welde (58) наблюдавших восстановление нитробензола дрожжами в анилин, при чем фенил-гидроксилламин также легко превращался в анилин (но этого не наблюдалось, напр., для азоксибензола); можно также поставить вопрос, не будет ли группа нитрозила NH₂O или ее производные способны претерпевать подобные же превращения, предполагая, что путь от азотистой кислоты к гидроксилламину лежит через эту группу.

Другой вопрос происходит ли восстановление до аммиака без присоединения азотной или азотистой кислоты к углеродной цепочке, или имеет место стадия временного присоединения, за которой следует восстановление до группы-NH₂, а затем только по мере накопления в молекуле органического соединения избыточных групп NH₂ происходит путем дезаминирования отщепление аммиака.

Предположение, что азотная кислота дает в растении сначала нитросоединение, которое затем вставляется в аминокислоту, (подобно восстановлению нитробензола в ани-

ли дрожжами), высказывалось химиками (напр. М. И. Коноваловым в 1890); но стадия восстановления нитратов до нитритов идет так легко вне клетки, что в настоящее время вряд ли есть надобность предполагать, что весь процесс начинается с образования нитросоединения: нитраты отщепляют кислород под влиянием света, давая нитриты, как показал Baudisch (159), один атом кислорода столь легко отнимают у нитратов клетки высших растений при недостатке азота (как показали Godlewski и Набоких, l. c.), что естественно допустить восстановление азотной кислоты в азотистую и без образования нитросоединений.

Азотистая кислота может восстанавливаться дальше или непосредственно или вступая в соединение с кетоно-кислотами и давая по Y. Meyer'у (60) изонитрозокетоны, которые подвергаются восстановлению, напр:

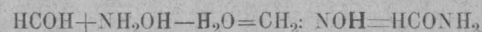


и далее легко могут переходить в аминокислоты.

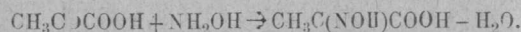
В соединении с органическими веществами может вступать и следующая за азотной кислотой по степени восстановленности форма — нитрозил, $\text{HN}:\text{O}$, которому особенное значение придает Baudisch (l. c.), полагая, что, вступая в реакцию с образующимся на свету муравьиным альдегидом, нитрозил дает формгидроксамовую кислоту.

Так как, однако, восстановление нитратов до группы NH_2 происходит и в темноте то можно предполагать реакцию нитрозила не с формальдегидом, но с более длинными цепочками углеродных атомов, напр., с кетонокислотами, аналогично выше сказанному относительно азотистой кислоты.

Ряд авторов наконец, полагает, что в реакцию с теми или иными безазотистыми группами вступает еще большая стадия восстановления азотной кислоты, именно гидроксил-амин: так, Bach (61) еще в 1896 г. высказал мнение, что гидроксиламин вступает в реакцию с муравьиным альдегидом, образующимся на свету за счет CO_2 , и дает оксим, путем перегруппировки превращающийся в амид муравьиной кислоты.



Однако в настоящее время, когда установлен факт образования аминокислот за счет нитратов в темноте, естественно представить, что гидроксиламин реагирует также с более сложными безазотистыми группами, опять-таки с кетонокислотами: вступая в соединения с карбонильной группой: напр.,



При чем дальше изонитрозо группа восстанавливается до NH_2 .

Мы остановились на этом ряде предположений (число которых сказанным конечно не исчерпывается), чтобы отметить преимущественно те из них¹⁾, которые могут быть согласованы с имеющимися теперь фактами, при некотором видоизменении первоначальной формулировки, но на ряду со всеми этими построениями возможно и более простое допущение, что весь процесс восстановления нитратов до аммиака происходит без того, чтобы азот вступал в связь с углеродом и что только аммиак дает начало амидной и аминной группировкам, вступая в реакцию, напр., с оксикислотами, как яблочная, способная давать при реакции с аммиаком аспарагин; как раз вышеизложенные опыты Костычева говорят за то, что восстановление до аммиака происходит раньше присоединения азотистой кислоты (или другого комплекса, содержащего азот в связи с кислородом) к молекуле органического вещества.

¹⁾ Мы не касались, напр., гипотез, связанных с образованием синильной кислоты, как заведомо немогущих теперь иметь общего значения для объяснения перехода от нитратов к органическим соединениям, содержащим азот.

