

Nitrát és halogenát ionok felvétele és felvételi kölcsönhatása

LONTAI IMRE, CSEH EDIT és BÖSZÖRMÉNYI ZOLTÁN

MTA Mezőgazdasági Kutató Intézete, Martonvásár és ELTE Növényélettani Tanszék, Budapest

A huszas években megindult széleskörű kísérleti munka (HOAGLAND, van den HONERT, LUNDEGARDH, SZABININ, ARISZ és mások) lényegileg feltárta a magasabbrendű növények ion-felvételeinek főbb sajátosságait. A kérdésről, ha csak az utolsó évtized irodalmára korlátozódunk is, számos összefoglaló szemlét, monográfiát írtak (lásd pl. BÖSZÖRMÉNYI [2]).

A növényi ion-felvétel folyamatát egészen általánosságban jellemezve azt mondhatjuk, hogy az aktív, közvetített biológiai transzport folyamatnak látszik. (Az „aktív, közvetített” kifejezésen azt értjük, hogy az ionok felvétel közben a sejtmembrán valamely korlátozott mennyiségben jelenlévő komponensével kapcsolódnak, de ez a kapcsolódás csak átmeneti, a felvett ionok a külső koncentrációt meghaladó koncentrációban akkumulálódhatnak a sejtekben.) A közvetített transzport-folyamatok jellemzésére a K_m konstanst (a félmaximális sebesség eléréséhez szükséges külső koncentráció) szokás használni. A különböző ionok, ion-csoportok felvételében, az ionok közti kompetícióból következően, más-más közvetített felvételi rendszerek szerepelnek, sőt egyazon ion is valószínűleg több párhuzamos felvételi folyamaton keresztül juthat be a sejtbe (FRIED és SHAPIRO [14]). Különböző tényezők (pl. hőmérséklet, aeráció, pH, stb.) hatása általában megfelel a közvetített transzport elméletének. Azon megfigyelésünk, hogy egy ionnal való előkezelés a kérdéses ion további felvételét csökkenti (BÖSZÖRMÉNYI [4]) a közvetített transzport elméletével összhangba hozható regulációs jelenség előfordulására mutat.

A növényi ion-felvétel kiterjedt tanulmányozása ellenére rendkívül kevés dolgozat foglalkozik a nitrát ion-felvételeivel; kevésbé tudjuk bizonyítani, hogy a nitrát ion-felvétele megegyezik a fő makroelemek ionjainak felvételével, nem ismerjük a folyamat paramétereit, a nitrát-felvételt érintő ion-kölcsönhatásokat sem. Kétségtelenül módszertani okai vannak, hogy a nitrát ion-felvételenek a tanulmányozását ennyire elhanyagolják: a megfelelő radioaktív izotóp hiánya, a stabil N^{15} jelöléssel végezhető kísérletek viszonylagos érzéketlensége, a kémiai nitrát-meghatározás nehézségei és a nitrát-reduktáz enzim okozta komplikációk. Részben a probléma viszonylagos elhanyagoltsága indított bennünket, hogy a lehetőségek határai közt megvizsgáljuk a nitrát ion-felvételt, részben mivel a haloid és halogenát ionok felvételét tanulmányozva olyan utalásokat találtunk (ABERG [1]), amelyek szerint a halogenátok és a nitrát felvétele közös mechanizmuson keresztül történhetne. A halogenátok felvételéről és redukciójáról, a nitrát hatásáról a halogenátok felvételére már korábban beszámoltunk [6, 9, 13].

Anyag és módszer

Kísérleti növény anyag, felvételi kísérletek

Az ELTE Növényélettani Tanszékén a magasabbrendű növények ion-felvételeinek vizsgálatára a legtöbb esetben sötétben csíráztatott F. 481 búza excizált gyökereit használjuk. A szemeket 5 percig fertőtlenítjük 1.5%-os hidrogénperoxiddal, majd 3 napig csíráztatjuk Petri-csészében desztillált vizes szűrőpapíron 26°-on.

Közvetlenül a felvételi kísérlet előtt az egy-egy variánst alkotó 20—20 csíranövény gyökereit levágjuk és desztillált vízben gyűjtjük össze. A minták friss súlyát párhuzamos mintákon határozzuk meg.

A felvételi kísérletek 200 ml-es Erlenmeyerekben rázatott 100 ml-es oldattérfogatokból történnek 20—22° C-on. A felvételi periódus alatt az oldatok koncentrációja, pH-ja, O₂ tartalma állandónak tekinthető. A kísérlet befejezésekor az oldatokat nutson leszívattjuk, majd a gyökereket 2×50 ml desztillált vízzel mossuk. A további feldolgozás attól függ, hogy a felvett ion meghatározása milyen kémiai reakcióval történik, illetve az ion jelölésére milyen izotópot használtunk. Nitrát meghatározáshoz a mintákat 20 ml desztillált vízben főztük 15 percig, megszártuk, 10 ml-re töltöttük fel.

A nitrát meghatározása

A nitrát meghatározására a különböző kísérletekben, a kísérleti körülményektől függően egy fenoldiszulfósavas (BURSTRÖM [10]) és egy szulfanilsav-alfa-naftilaminos (WOOLLEY, HICKS és HAGEMAN [19]) fotometriás eljárást alkalmaztunk. Az előző egyszerűbb, de csak akkor használható, ha a minta kevés zavaró haloid-halogenát iont tartalmaz; az utóbbi reprodukálható kivitelezése nagy körültekintést igényel, így csak akkor alkalmaztuk, ha feltétlenül szükséges volt. Bár mindkét eljárás elterjedt nitrát meghatározására növényi anyagokban, az alkalmazott kisebb-nagyobb módosítások miatt szükségesnek tartjuk rövid összefoglalásukat.

BURSTRÖM módosított eljárása. Egy-egy gyökér-mintából készített forróvizes kivonatot 1 ml 5%-os H₂O₂ adása után vízfürdőn szárazra pároltuk. A bepárlás végén 2—3 csepp 1%-os KOH-ot adtunk a fölös hidrogénperoxid elbontására. A maradékot 2 ml fenoldiszulfosavval vettük fel, majd 20 ml desztillált víz adása után az oldatot telített KOH-dal meglúgosítottuk és kihűlés után 50 ml-re töltöttük fel. Vakpróbával szemben 420 m μ hullámhossznál mértünk Pulfrich-fotométerrel. Figyelembe vettük a hasonló módon feldolgozott kezeletlen gyökerekből nyerhető alacsony extinkciós értéket is (a szemben raktározott, a csíráztatás alatt a szűrőpapírból és desztillált vízből felvett nitrát nyomok?).

WOOLLEY, HICKS és HAGEMAN módosított eljárása. A gyökér-mintából készített kivonat 1 ml-es alikvotjához 9 ml 20%-os ecetsavat kevertünk, majd 0.8 g redukáló reagens keveréket adtunk és pontosan 45 másodpercig ráztuk. (A redukáló reagens keverék összetétele: 100 g BaSO₄, 75 g citromsav, 10 g MnSO₄ · 2 H₂O, 4 g szulfanilsav, 2 g Zn por és 2 g alfa-naftilamin.) Ezután a csapadékot 3 percig hagytuk ülepedni, majd az oldat tisztáját dekantálva átszártuk kvantitatív szűrőpapíron.

Ez a lépés a meghatározás kritikus pontja. Vizsgálataink szerint a maximális szín kialakulásához 45 másodperc szükséges, hosszabb reakció-idő szín-

veszteséget okoz. Dekantálás nélküli szűrés, vagy az eredeti leírásnak megfelelő centrifugálás reprodukálhatatlan eredményeket ad. Az oldat hőmérséklete a reakció alatt a kialakuló szint nem befolyásolja.

A szín kialakulását az oldatok réztartalma is befolyásolja. A réztartalmat ditizonos eljárással határoztuk meg és ha szükséges volt 0.5—1 mikrog/ml szintig emeltük.

Az alkalmazott alikvottal az oldatok szerves-anyag tartalma 2 mg/10 ml körül mozog. Ez a maximális megengedhető szerves-anyag; háromszoros szerves-anyag tartalom már 40% extinkció-csökkenést okoz.

A leszűrt oldat színe stabil, több nap állás után sem változik. A mérés vakpróbával szemben 530 μ m hullámhossznál történt. Minden mérési sorozattal külön standard görbét vettünk fel és a kezeletlen gyökér-minták csekély nitrát tartalmát is korrekcióba vettük.

Jelölt vegyületekkel végzett kísérletek

A kísérletekben használt glicin-1-C¹⁴-et, a Cl³⁶, Br⁸² és J¹³¹ jelölt kloridot, bromidot és jodidot az Országos Atomerő Bizottság Izotóp Intézetétől szereztük be. A jelölt klorátot, bromátot és jodátot a korábban leírt módon [6, 9, 13] magunk állítottuk elő. Az előállított vegyületek tisztaságát kromatográfiásan ellenőriztük.

A C¹⁴-glicinnel végzett kísérletben a laboratóriumunkban C¹⁴ jelölt gyökér-minták feldolgozásánál használt eljárást követtük. Röviden összefoglalva: A gyökér-mintákat 80%-os alkohollal extraháltuk, majd a kvarehomokkal eldörzsölt maradékot ampullákba forrasztva 6 N HCl-val hidrolizáltuk. A hidrolizátumot szárazra pároltuk, vízzel felvettük és közömbösítettük. Úgy az alkoholos oldatból, mint a leírt módon előkészített hidrolizátumból megfelelő alikvotokat vittünk fel alumínium lapkára és az aktivitást metán-áramlásos GM csővel mértük.

A Br⁸² vagy J¹³¹ jelölt gyökér-mintákat, a felvételi periódust lezáró mosás után kémcsövekbe préseltük és a radioaktivitást kut-kristályos scintillációs mérőfejjel mértük.

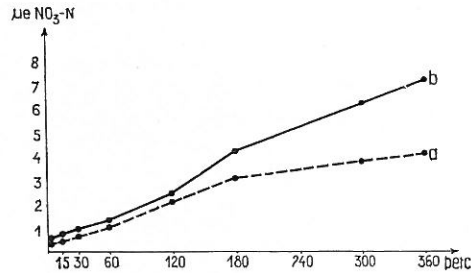
A Cl³⁶ izotóppal végzett különböző kísérletekben többféle méréstechnikát követtünk. A leideni egyetem Botanikai Intézetében a mintákat CaO jelenlétében 550° C-on hamvasztottuk, a hamut híg salétromsavban oldottuk fel és a neutralizálás után vett alikvotokat alumínium lapkákra pároltuk be. A radioaktivitást vékony végablakos GM csővel mértük (BÖSZÖRMÉNYI [3]). Az ELTE Növényélettani Intézetében a gyökereket forró vízzel extraháltuk (a klorid teljes mértékben kivonható) és ebből az extraktumból vett alikvotokat vagy metán áramlásos GM csővel, vagy a dolgozatban tárgyalt kísérletek nagyobb részében folyékony scintillációval mértük. A használt folyékony scintillátor oldat összetétele: abszolút alkohol és 0.4% p-terfenil toluolos oldatának 1 : 1 arányú keveréke.

Kísérleti eredmények

Nitrát-felvétel, leadás és felhasználás

A bevezetésben elmondottak alapján egy felvételi folyamat legfontosabb jellemzője a felvétel koncentráció-függése. A koncentráció-függés tanulmányozása előtt azonban tisztázni kell a felvétel időbeli lefutását, ugyanis a kon-

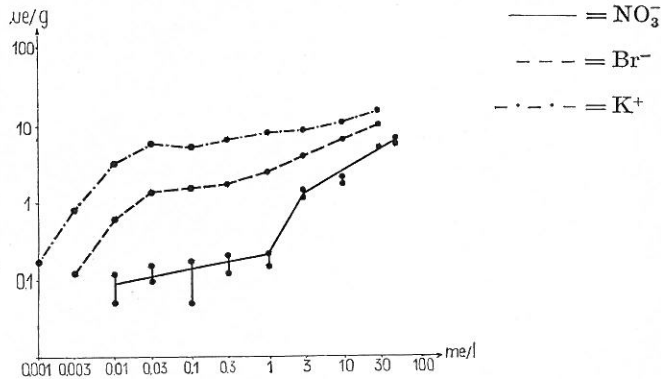
centráció-görbét lehetőleg az időgörbe lineális (vagy a különböző koncentrációkon azonos módon változó) szakaszában kell felvenni. A nitrát-felvétel sebessége excizált gyökereknél legalább három órán keresztül lineális (1. ábra) és 6 óra alatt is csak keveset csökken. Két különböző koncentráción (1 és 10 mM) vizsgálva a felvétel sebességének időbeli változása nem mutatott különbséget.



1. ábra

Excizált búzagyökerek (600 mg friss súly) nitrát-felvétele a) 1 és b) 10 m. ekv/l koncentrációjú KNO_3 oldatból 5 m. ekv/l Ca^{2+} jelenlétében.

Az időgörbék alapján a felvételi sebesség koncentráció-függésének tanulmányozására 1 órás felvételi periódust használtunk. A nitrát-felvétel sebessége



2. ábra

Excizált gyökerek ionfelvételének koncentráció görbéje 5 m. ekv/l Ca^{2+} jelenlétében 1. búzagyökerek nitrát-felvétele, 2. árpagyökerek bromid-felvétele és 3. árpagyökerek K^+ -felvétele.

(2. ábra) 0.01—1 mM koncentráció határok közt lassan emelkedő szakaszt mutat, majd 1 és 50 mM közt telítődési jellegű görbét. Az ábrában összehasonlításul adjuk árpagyökerek bromid és kálium felvételének adatait (Böszörményi [3]), amelyek a nitrát-görbével teljesen megegyezően a felvételi sebesség emelkedését mutatják 1 mM felett. Az összehasonlítás egyúttal lehetővé teszi, hogy következtessünk a nitrát-felvétel koncentráció-görbéjének várható alakulására 0.01 mM alatt, ahol a méréseket az analitikai módszer érzéket-

lensége miatt nem lehet tovább folytatni. Valószínűnek látszik, hogy a felvétel sebessége 0.01 mM alatt gyorsan csökken és a 0.01—1 mM közti szakasz a görbe első telítődését jelenti. Ezt az értelmezést elfogadva a nitrátfelvétel koncentráció-függése más ionok felvételével megegyezően két, különböző koncentráción telítődő rendszert mutat.

A nitrát felvétel sebessége alacsonyabb mint az általunk részletesen vizsgált haloid anionoké, és mint anion-felvétel természetszerűen alacsonyabb mint az egyértékű kationok felvétele.

Általános tapasztalat, hogy a Ca^{2+} jelenléte a magasabbrendű növényeknél a legkülönbözőbb ionok felvételét serkenti. Ebből a szempontból a nitrát-felvétel kivételesnek látszik (1. táblázat), ugyanis 0.5 mM CaSO_4 jelenléte

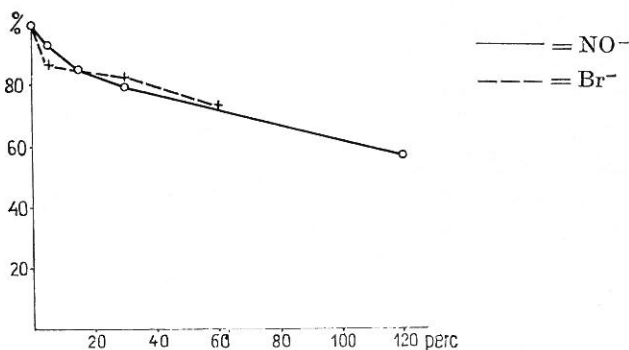
1. táblázat

Ca^{2+} ion(1 m. ekv./l)hatása excizált búza-gyökerek KNO_3 oldathól történő nitrát-felvételére(μ ekv./minta/óra)

	(1)						
	Nitrát-koncentráció m. ekv./l						
	0,1	0,3	1	3	10	30	50
a) Ca-mentes	0,014	0,054	0,087	0,027	0,069	0,14	0,31
b) Ca^{2+} ionnal	0,033	0,020	0,028	0,024	0,043	0,07	0,09

határozottan gátló az egész vizsgált koncentráció területen. Nem valószínű, hogy a gátló-hatás a szulfát jelenlétéből származna, ugyanis az irodalomban nincs olyan adat, amely a nitrát és szulfát közös rendszeren keresztül történt felvételére utalna.

A felvett nitrát egy része a gyökereket a felvételi periódus után desztillált vízben (vagy 0.5 mM CaSO_4 oldatban) inkubálva ismét leadódik (3. ábra). A leadódás nem nagyobb mértékű, mint azt egy korábbi kísérlet-sorozatban azonos növény anyagon bromid ionnál tapasztaltuk. (CSEH és BÖSZÖRMÉNYI [12]). Ez a megfigyelés egyúttal alátámasztja azt a feltételezésünket, hogy a

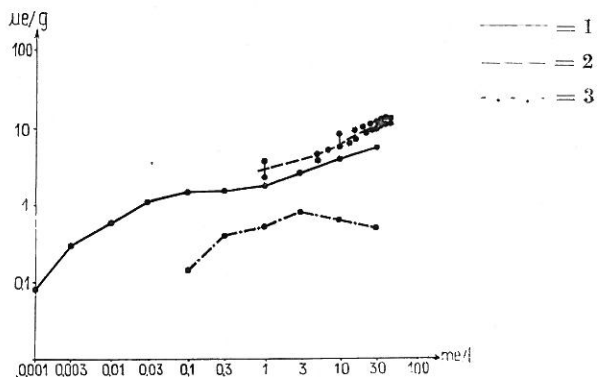


3. ábra

Excizált gyökerek ion-leadása 1. búza-gyökerek nitrát-leadása 1 m. ekv./l Ca^{2+} jelenlétében, 2. búza-gyökerek Br^{32} -bromid leadása inaktív bromid oldatba, vagy desztillált vízbe.

gyökerek nitrát-tartalmának csökkenése valóban leadóként értelmezhető. Ca jelenléte vagy hiánya a leadást nem befolyásolta lényegesen.

Itt említjük meg, hogy standard körülmények közt (sötétben, desztillált vízen csíráztatott) és különböző kezeléseknél kített csíranövények gyökerében HAGEMAN és FLESHER [16] eljárása szerint több alkalommal megkíséreltünk nitrát-reduktáz aktivitást mérni excizált gyökerekben annak tisztázására,



4. ábra

Excizált gyökerek ionfelvételének koncentráció görbéje 5 m. ekv/l Ca^{2+} jelenlétében 1. árpa-gyökerek klorid-felvétele 1 órás kísérletben, 2. búza-gyökerek klorid-felvétele 6 órás kísérletben, 3. búza-gyökerek klorát-felvétele 6 órás kísérletben.

hogy a talált nitrát tartalom mennyiben reprezentálja az összes felvett nitrátot. Az irodalommal összhangban rendkívül alacsony, a kvalitatív indikálás határán levő aktivitást tudtunk csak kimutatni, vagyis a nitrát-felvétel és leadás adataink feltehetően az összes felvételt és leadást képviselik. (Erről a kérdéstről azonban véglegesen csak N^{15} jelölt nitrát és a kémiai nitrát meghatározások párhuzamos alkalmazásával lehetne meggyőződni.)

A klorát felvétele

Tekintettel a beszerezhető Cl^{36} alacsony specifikus aktivitására és a klorát felvétel rendkívül alacsony sebességére, a klorát-felvétel jellemzése csak korlátozott mértékben lehetséges (legalább 6 óra felvétel szükséges 0.1 mM felett). A felvétel 0.3–3 mM között a klorid-felvétellel párhuzamos lefutású, 3 mM felett azonban szokatlan módon csökkent, valószínűleg a klorát toxikus hatásának következményeként.

Az összehasonlításra használható rövid koncentráció zóna adatai nem mondanak ellen egy kettős felvételi rendszer feltételezésének, de azt meggyőzően nem bizonyíthatják. A klorát-felvétel sebessége a kloridénak megközelítően 10%-a.

Ionfelvételi kölcsönhatások

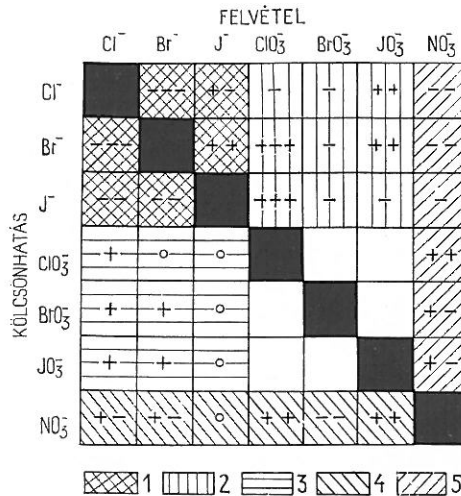
A haloid, halogenát és nitrát ionok kölcsönhatásait (összesen 42 féle kombináció lehetséges) már korábbi dolgozatainkban is tanulmányoztuk [3, 5, 7, 8, 13]. Az előzőleg megállapított kölcsönhatásokat (5. ábra) most kiegészít-

2. táblázat

Haloid és halogenát ionok hatása excizált búzagyökerek nitrát-felvételére

	(1) Gátló ionok					
	Cl ⁻	Br ⁻	J ⁻	ClO ₃ ⁻	BrO ₃ ⁻	JO ₃ ⁻
a) Nitrát-felvétel, mint a megfelelő kontroll %-a	80	65	90	155	141	146

hetjük a haloid és halogenát ionoknak a nitrát-felvételre gyakorolt hatásával (2. táblázat). Mindhárom halogenid ion kis mértékben gátolja a nitrát-felvételt (leginkább a bromid); ezzel szemben a halogenát ionok egyöntetűen serkentőek.



5. ábra

Haloid, halogenát ionok és nitrát-felvételi kölcsönhatásai. 1. Böszörményi, Cseh 1958, 1961, 1964. 2. Cseh, Böszörményi 1964, (1. ábra), 3. Cseh, Böszörményi 1964, (2. ábra). 4. Cseh, Böszörményi 1964, (3. és 4. ábra). 5. Jelen dolgozat, 3. táblázat.

Megjegyezzük, hogy a felvételi kölcsönhatások kérdése bonyolultabb annál, hogy egy-egy összehasonlítás alapján a kölcsönhatás teljes képét megkapjuk. Ismerünk eseteket, amikor a kölcsönhatás függ a koncentráció zónától (pl. klorid magas koncentráció területen gátolja a jodid felvételt), más kísérő ionoktól (pl. a klorid serkentő hatása a jodid-felvételre a közepes koncentráció területen csak Ca-mentes oldatokban van meg), és a felvételi periódus hosszától is (pl. nitrát hatása a bromid-felvételre).

A nitrát-felvételt gátolja az ammonium ion is. Az ammonium ion gátló hatása leginkább azokban a kísérletekben tűnt ki, amelyekben 1 : 1 arányban alkalmaztunk nitrátot és ammonium iont (3. táblázat). A gátló hatásban kis különbséget okoz, ha az ammonium iont ammoniumnitrátként visszük be, szemben a káliumnitrátból és ammoniumsulfátból összeállított sorozattal.

3. táblázat

**Ammonium ion hatása excizált búzagyökerek nitrát-felvételére
5 m. ekv./l Ca^{2+} ion jelenlétében**

(1) Külső oldat kon- centrációja m. ekv./l	(2) Kontroll sorozat nitrát-felvétele μ ekv./g/óra	(3) $KNO_3 + (NH_4)_2SO_4$ sorozat	(4) NH_4NO_3 sorozat
		Felvétel a kontroll sorozat %-ában	
50	5,00	104	91
30	4,84	82	69
10	2,84	70	67
1	1,63	42	45
0,3	1,17	59	59
0,1	0,19	221	89
0,03	0,31	135	103
0,01	0,22	140	100

Utóbbi esetben a gátlás valamivel kisebb, ami valószínűleg azzal magyarázható, hogy a K ion verseng az ammonium ionnal, annak felvételét csökkenti.

A szerves nitrogén formák közül 1 mM koncentrációban végig vizsgáltuk az összes fehérje-alkotó L-aminosavat a nitrát-felvételre gyakorolt hatásában (CSEH et al. [11]). Erős gátlást adtak a cisztein, methionin, szerin és a glutaminsav. Feltehető, hogy a cisztein és methionin hatása közvetett, a légzés szabályozásán keresztül érvényesül. A glutaminsav a növényi nitrátredukció „végtermékének” tekinthető, ezért hatása a nitrát-felvételre regulatív jellegű is lehet. Megjegyezzük, hogy más kísérletekben szerzett tapasztalatok szerint a hatás csak akkor lép fel, ha a nitrát és glutaminsav közel azonos koncentrációban van jelen.

A nitrát (és az ammonium ion) hatását az aminosav felvételre eddig csak a glicin esetében vizsgáltuk (1 mM koncentráció, 1 óra felvételi periódus). A Na-nitrát kis serkentést adott (121%), amely azonban a Na iontól is származhat, az ammonium-szulfát gyakorlatilag hatástalan volt (93%). A szervetlen és szerves nitrogén formák felvételi kölcsönhatásait érdemes volna részletesebben is tanulmányozni, tekintettel a szórványos adatokra, amelyek szerint a növények a talajból kis mennyiségben aminosavakat is vehetnek fel.

Kísérleti eredmények megvitatása

Az excizált búzagyökerek nitrát-felvételének sebessége, alacsony kezdeti „adszorpciós váll” után, hosszú időn keresztül állandó marad. Adszorpciós váll fellépése anionok felvételénél nem olyan elterjedt és általánosan tanulmányozott jelenség mint a kation-felvételben. Rizs-gyökerek nitrát-felvételében FRIED et al. [15] figyeltek meg hasonló jelenséget. FRIED és munkatársai [14] szerint a felvétel adszorpciós válla a szállítókon megkötött ion-mennyiséggel lenne azonos; ezt az értelmezést azonban az utóbbi időben többen megtámadták (lásd BÖSZÖRMÉNYI [2]). Valószínűbbnek látszik, hogy a jelenség nem-specifikus csoportokon történő adszorpcióval, ioncserével vagy az elektromos kettős-réteg jelenséggel van kapcsolatban. Ezeknek a jelenségeknek az értelmezését nehezíti, hogy nemesak a gyökér felszínén, hanem a sejtfalakon át a gyökér szöveteinek mélyebb rétegeiben is lejátszódnak.

A nitrát-felvétel idő-görbéje 3 óra elteltével csökkenést mutat, amelyre elvileg többféle magyarázat is lehetséges. Mivel a felvétel meghatározására alkalmazott módszerrel a gyökér nitrát-tartalmát határozzuk meg, az egyébként adaptív jellegű nitrátreduktáz enzim aktivitásának fokozódása a felvétel sebességének látszólagos csökkenését eredményezhetné. A kísérleti anyag nitrátreduktáz aktivitása azonban rendkívül alacsony volt és nitrát adásra aktivitás fokozódás nem volt kimutatható. Korábban elterjedt vélemény volt, hogy a netto felvétel sebességének időbeli csökkenése a növekvő belső koncentráció miatt fokozatosan emelkedő efflux következménye. Ezzel szemben bromid-ion felvételénél megfigyeltük, hogy a telítődés az influx csökkenését eredményezte nem pedig az efflux fokozódását (BÖSZÖRMÉNYI [4]). Végül az idő-görbe elhajlását okozhatja valamely az akkumulációt közvetve befolyásoló tényező (a sejt energia-termelése, membrán struktúra) változása is.

A nitrát felvétel K_m -jét eddig különböző technikával és minden esetben más objektumon határozták meg. VAN DEN HONERT és HOOYMANS [17] tápoldaton nevelt kukorica növényeket használtak és a felvételt áramlásos technikával mérték (a kísérleti edénybe belépő és onnan kilépő oldat nitrát tartalmának különbségéből). A koncentráció görbéket, az egyidőben futtatható variánsok kis száma miatt, több kísérlet adataiból konstruálták olyan módon, hogy az egyes kísérletek 0.16 m.ekv/l koncentráció körüli értéken mért felvételi adatát kiegyenlítették. (Ez a számítási eljárás ezen a területen mesterségesen ellaposítja a koncentráció görbét). A 0.002—0.2 m. ekv./l koncentráció területen folytatott kísérletek a K_m -re mintegy 3×10^{-5} M-t adtak.

LYCKLAMA [18] angol perje (*Lolium perenne* L.) híg Ca-szulfát oldaton nevelt csiranövényeinek excizált gyökereivel dolgozott. A felvételt aerációval kevert, de nem áramló oldatok nitrát-tartalmának változásából, vagy a gyökök nitrát-tartalmának az analízisével határozta meg. A mintegy 0.01—1 m. ekv/l koncentráció területen folytatott kísérletek K_m -nek 3×10^{-5} M-t adtak. Végül FRIED et al. [15] tápoldaton nevelt rizs csiranövények nitrát-felvételét az N^{15} jelölés felhasználásával tömegspektrográfiásan mérve 0,5—10 m.ekv./l koncentráció határok közt 1×10^{-3} M-os K_m -et határoztak meg. Nem valószínű, hogy az adatok közel két nagyságrendnyi eltérését a használt növényfajok különbsége, vagy a nevelési körülmények eltérése okozná. Valószínűbbnek látszik, hogy az ion felvételi folyamatok koncentráció görbéjének kettős telítődése jelentkezik a nitrát-felvételben is. Erre mutat, hogy az általunk búzagyökérrel felvett koncentráció görbe egy magas koncentrációjú K_m mellett (kb. 5×10^{-3} M) alacsonyabb koncentrációkon egy szinteződési szakaszt mutat, amelyből egy alacsonyabb, a korábbi szerzők K_m -jével összevethető, K_m -re lehet következtetni.

A nitrát-felvétellel foglalkozó korábbi szerzők (LYCKLAMA [18], FRIED et al. [15]) egyaránt említik az ammonium ionnal, vagy ammonium sókkal elérhető sajátos gátlást. LYCKLAMA szerint az ammonium ion nem befolyásolja a sejtekben felhalmozódó nitrát mennyiségét, de csökkenti a nitrát redukcióját és ezen keresztül az összes felvett nitrát mennyiségét. Feltételezését, amely szerint a felhalmozódás és a redukció párhuzamos folyamatok, amelyeket két különálló vagy egy közös felvételi lépés előz meg, nem lehet bizonyítani. FRIED és munkatársai az ammonium hatást akkor kapták, amikor $NH_4N^{15}O_3$ oldathoz ammonium-kloridot vagy nátrium-kloridot adtak, ezért a hatást valamilyen sóhatásnak vagy a klorid ion-hatásának tekintik. Adataink szerint a klorid ionnak valóban van kis gátló hatása a nitrát felvételre (2. táblázat), de ez nem

magyarázhatja meg teljesen az ammonium hatást, amelyet ammonium-szulfáttal vagy egyszerűen ammonium-nitráttal kaptunk (3. táblázat).

Olyan közvetlen felvételi kölcsönhatás, mint pl. a K^+ és Rb^+ vagy klorid és bromid ionok közt megismert, nem látszik valószínűnek az ammonium és nitrát ionok közt. Elképzelhető azonban, hogy az ammonium ion, mint a nitrát redukció „végterméke” valamilyen formában gátolja a nitrát-hasznosítás első lépésében szereplő szállító rendszerek működését. (Ettől függetlenül gátolhatja a nitrátreduktáz aktivitását, vagy adaptív képződését is.) Hasonló szerepet játszhat az ammonium ion felvétele után nagy mennyiségben képződő glutaminsav, vagy aminosavak is. E feltételezett regulatív mechanizmusok részletesebb kidolgozása további, sokkal részletesebb kísérleti munkát igényel.

Eredetileg ABERG [1] hozta kapcsolatba a nitrát és klorát felvételét és redukcióját. Kétségtelen, hogy a klorát és nitrát felvétel sebessége azonos nagyságrendű, amely azonban nem jelent közös felvételi folyamatot. Kísérleti objektumunkban a klorát nem, vagy csak kis mértékben redukálódik [13]. A nitrát-felvétel kétségtelenül közvetített, míg a klorátról ezt kétséget kizárólag nem sikerült igazolni. A nitrát serkenti a klorát felvételét, és a klorát a nitrátét, amely kölcsönhatás ellent mond egy közös felvételi rendszeren való felvételnek. Az eddig szerzett kísérleti adatok általánosságban nem erősítik meg ABERG feltevését, bár néhány pont még részletesebb vizsgálatokat igényel.

Összefoglalás

Excizált búzagyökerek nitrát és klorát felvételét és néhány ion felvételi-kölcsönhatását tanulmányoztuk. A nitrát-felvételt a gyökerek nitrát-tartalmának kémiai meghatározásával mértük.

1. A nitrát-felvétel idő-görbéje kis adszorpciós váll után hosszabb időn keresztül lineáris, majd a felvétel sebessége fokozatosan csökken. A csökkenés nem a nitrátreduktáz enzim-aktivitásának fokozódásából származik.

2. A nitrát-felvétel koncentráció-görbéje $5 \times 10^{-3} M K_m$ -et ad és következetlenül enged egy alacsony koncentráción telítődő második felvételi folyamatra is. A koncentráció-görbe ilyen alakulása összhangban van más ionok felvételéről leírt kettős közvetített felvételi mechanizmussal.

3. A nitrát-felvételt a Ca^{2+} nem serkenti. A nitrát-leadás a halogenid ionok leadásához hasonló folyamat.

4. A kísérleti adatok nem bizonyítják a klorát-felvétel közvetített jellegét.

5. A nitrát felvételt halogenid ionok gátolják, halogenátok serkentik. Ez a kölcsönhatás nem támasztja alá a nitrát és a halogenát ionok közös felvételi rendszerének a feltételezését.

6. Megerősítettük, hogy az ammonium ion gátolja a nitrát-felvételt és feltételezzük, hogy gátló hatás a nitrát-felvétel és redukció valamilyen regulációjával jön létre.

Irodalom

- [1] ABERG, B.: On the mechanism of the toxic action of chlorates and some related substances upon young wheat plants. Ann. Roy. Agr. Coll. Sweden **15**. 37—107. 1947.
- [2] BÖSZÖRMÉNYI, Z.: Primary process of ion absorption in cells of higher plants. FAO/IAEA planning meeting on the use of isotopes and radiation in studies on plant nutrient supply and movement in soil system. Vienna. 1965.

- [3] BÖSZÖRMÉNYI, Z.: The ion uptake of excised barley roots with special reference to the low concentration process. *Adv. Front. Plant Sci.* **16**, 11—29. 1966.
- [4] BÖSZÖRMÉNYI, Z.: An analysis of the factors and treatments affecting the bromide uptake of excised barley roots. *Adv. Front. Plant Sci.* **16**, 30—49. 1966.
- [5] BÖSZÖRMÉNYI, Z. & CSEH, E.: Relationships between the chloride and iodide uptake of wheat seedlings. *Nature*. **182**, 1811—1812. 1958.
- [6] BÖSZÖRMÉNYI, Z. & CSEH, E.: The uptake and reduction of iodate by wheat roots. *Current Sci.* **29**, 340—341. 1960.
- [7] BÖSZÖRMÉNYI, Z. & CSEH, E.: The uptake of halide ions and their relationships in absorption. *Physiol. Plant.* **14**, 242—252. 1961.
- [8] BÖSZÖRMÉNYI, Z. & CSEH, E.: Studies of ion-uptake by using halide ions. Changes in the relationships between ions depending on concentration. *Physiol. Plant.* **17**, 81—90. 1964.
- [9] BÖSZÖRMÉNYI, Z., CSEH, E. & JÁMBOR, B.: The uptake and reduction of bromate by wheat roots. *Current Sci.* **30**, 102—103. 1961.
- [10] BURSTRÖM, H.: Über die Verarbeitung von Nitrat in Weizenpflanzen. *Ann. Roy. Agr. Coll. Sweden* **6**, 1—36. 1938.
- [11] CSEH, E. & BALOGH, E. et. al.: Összehasonlító élettani vizsgálatok különböző szervezetek aminosav felvételéről. VII. Biokémiai Vándorülés. 1966.
- [12] CSEH, E. & BÖSZÖRMÉNYI, Z.: Further investigations concerning the initial stage of anion uptake. *Acta Bot. Acad. Sci. Hung.* **7**, 221—227. 1961.
- [13] CSEH, E. & BÖSZÖRMÉNYI, Z.: The absorption and metabolism of halides and halogenates by excised wheat roots. *Plant and Soil* **20**, 371—382. 1964.
- [14] FRIED, M. & SHAPIRO, R. E.: Soil-plant relationships in ion uptake. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **12**, 91—112. 1961.
- [15] FRIED, M. & ZSOLDOS, F. et. al.: Characterizing the NO_3 and NH_4 uptake process of rice roots by use of N^{15} labelled NH_4NO_3 . *Physiol. Plant.* **18**, 313—320. 1965.
- [16] HAGEMAN, R. H. & FLESHER, D.: Nitrate reductase activity in corn seedlings as affected by light and nitrate content of nutrient media. *Plant Physiol.* **35**, 700—708. 1960.
- [17] HONERT, VAN DEN T. H. & HOOYMANS, J. J. M.: On the absorption of nitrate by maize in water culture. *Acta Bot. Neerl.* **4**, 376—384. 1955.
- [18] LYCKLAMA, J. C.: The absorption of ammonium and nitrate by perennial rye-grass. *Acta Bot. Neerl.* **12**, 361—423. 1963.
- [19] WOOLLEY, S. T., HICKS, G. P. & HAGEMAN, R. H.: Rapid determination of nitrate in plant material. *J. Agric. Food Chem.* **8**, 481—482. 1960.

Érkezett: 1966. július 8.

The Absorption and the Interaction of Nitrate and Halogenate Ions

I. LONTAI, E. CSEH and Z. BÖSZÖRMÉNYI

Agricultural Research Institute of the Hungarian Academy of Sciences, Martonvásár and Eötvös Loránd University, Dept. of Plant Physiology, Budapest

Summary

The absorption of nitrate and chlorate by excised wheat roots and their competition and interaction with some other ions were studied.

1. The time curve of nitrate uptake, after a small "adsorption shoulder", is linear for a longer period, then the rate of absorption gradually decreases. The decrease in nitrate uptake can not be explained by an increase in nitrate reductase activity.

2. The concentration curve of nitrate absorption gives a K_m value of 5×10^{-3} M and it also indicates that there is a second absorption process that becomes saturated at a low concentration. Such a concentration curve is in conformity with the dual mediated transport process described in the case of the absorption of other ions.

3. Ca^{2+} does not stimulate the nitrate uptake. The leakage of nitrate is a process similar to the efflux of halide ions.

4. The experimental data do not prove the mediated character of chlorate uptake.

5. Nitrate absorption is inhibited by halide ions and stimulated by halogenate ions. This interaction does not confirm the idea of a common uptake system of nitrate and halogenate ions.

6. It has been confirmed that the ammonium ion inhibits nitrate absorption and it is assumed that this effect is caused by some kind of regulation of nitrate uptake and reduction.

Figure 1. Nitrate absorption by excised wheat roots from KNO_3 solutions of (a) 1 meq./liter, (b) 10 meq./liter concentration in the presence of 5 meq./l Ca^{2+} .

Figure 2. The concentration curve of ion uptake by excised roots in the presence of 5 meq./l Ca^{2+} . 1. Nitrate absorption by wheat roots. 2. Bromide absorption by barley roots. 3. K^+ uptake by barley roots.

Figure 3. Leakage of ions by excised roots. 1. Leakage of nitrate release by wheat roots in the presence of 1 meq./l Ca^{2+} . 2. Br^{82} -bromide efflux by wheat roots into inactive bromide solution or into distilled water.

Figure 4. The concentration curve of ion uptake by excised roots in the presence of 5 meq./l Ca^{2+} . 1. Chloride absorption by barley roots in 1 hour. 2. Chloride absorption by wheat roots in 6 hours. 3. Chlorate absorption by wheat roots in 6 hours.

Figure 5. Interactions of halides, halogenates and nitrate.

Table 1. The effect of Ca^{2+} ion (1 meq./liter) on the nitrate absorption by excised wheat roots from KNO_3 solution ($\mu\text{eq./sample/hour}$). (1) Nitrate concentration, meq./l. a) Ca-free. b) With Ca^{2+} ion.

Table 2. The effect of halide and halogenate ions on the nitrate absorption by excised wheat roots. (1) Inhibiting ions. a) Nitrate absorption as per cent of the respective control.

Table 3. The effect of ammonium ion on the nitrate absorption by excised wheat roots in the presence of 5 meq./l Ca^{2+} ion. (1) Concentration of the external solution, meq./l. (2) Nitrate absorption by the control series, $\mu\text{eq./g/hour}$. (3) $\text{KNO}_3 + (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ series. Absorption in the percentage of the control series. (4) NH_4NO_3 series.

Über die Aufnahme der Nitrat- bzw. Halogenat-Ionen und über die Wechselwirkungen der Aufnahme

I. LONTAI, E. CSEH und Z. BÖSZÖRMÉNYI

Landwirtschaftliches Forschungsinstitut der Ungarischen Akademie der Wissenschaften, Martonvásár und Lehrstuhl für Pflanzenphysiologie der L. Eötvös Universität für Naturwissenschaften, Budapest

Zusammenfassung

Es wurde die Nitrat- und Chlorataufnahme sowie ihre Wechselwirkungen mit einigen Ionen untersucht. Die Nitrataufnahme wurde durch die chemische Bestimmung des Wurzelnitratgehaltes gemessen.

1. Die Zeitkurve der Nitrataufnahme verläuft nach einer geringen Absorptionsschulter während einer längeren Zeitdauer linear, danach vermindert sich die Absorptionsgeschwindigkeit stufenweise. Die Verminderung wird nicht durch die Erhöhung der Nitratreduktase-Aktivität verursacht.

2. Die Konzentrationskurve der Nitrataufnahme gibt einen K_m -Wert gleich $5 \cdot 10^{-3}$, und lässt auf einen zweiten Aufnahmeprozess schliessen, bei dem auch auf einer niedrigen Konzentration eine Sättigung erfolgt. Eine solche Gestaltung der Konzentrationskurve ist im Einklang mit dem doppelten, vermittelten Aufnahmemechanismus, der bei der Aufnahme anderer Ionen schon beschrieben wurde.

3. Die Nitrataufnahme wurde von Ca^{2+} nicht stimuliert. Die Nitratabgabe geht gleichermassen wie bei den Halogenid-ionen vor sich.

4. Der vermittelte Charakter der Chlorataufnahme wurde durch Versuchsdaten nicht bewiesen.

5. Die Nitrataufnahme wird durch Halogenid-Ionen gehemmt und durch Halogenaten stimuliert. Diese Wechselwirkungen unterstützen die Voraussetzung eines gemeinsamen Aufnahmesystems der Nitrat- bzw. Halogenat-Ionen nicht.

6. Wir bestätigten, dass die Nitrataufnahme durch Ammonium-Ionen gehemmt wird. Wir nehmen an, dass die Hemmwirkung durch irgendeine Regulation der Nitrataufnahme und der Nitratreduktion entsteht.

Abb. 1. Die Nitrataufnahme der isolierten Wurzelstücke von Weizen aus einer KNO_3 -Lösung in einer Konzentration von 1(a) und 10 (b) mequiv./l in Anwesenheit von 5 mequiv./l Ca^{2+} .

Abb. 2. Die Konzentrationskurve der Ionenaufnahme der isolierten Wurzelstücke: 1. Nitrataufnahme der Weizenwurzel in Anwesenheit von 5 mequiv./l Ca^{2+} ; 2. Bromidaufnahme der Gerstenwurzel; 3. K^+ -Aufnahme der Gerstenwurzel.

Abb. 3. Ionenabgabe der isolierten Wurzelstücke: 1. Nitratabgabe der Weizenwurzel in Anwesenheit von 1 mequiv./l Ca^{2+} . 2. ^{82}Br -Abgabe der Weizenwurzel in eine inaktive Bromidlösung oder in destilliertes Wasser.

Abb. 4. Die Konzentrationskurve der Ionenaufnahme in Anwesenheit von 5 mequiv. Ca^{2+} . 1. Chloridaufnahme der Gerstenwurzel während eines 1-stündigen Versuches; 2. Chloridaufnahme der Weizenwurzel während eines 6-stündigen Versuches; 3. Chlorataufnahme der Weizenwurzel während eines 6-stündigen Versuches.

Abb. 5. Die Wechselwirkungen der Halogenid-, -Halogenat- und Nitrataufnahme.

Tab. 1. Die Wirkung der Konzentration von Ca^{2+} mequiv./l auf die Nitrataufnahme der Weizenwurzel aus einer KNO_3 -Lösung ($\mu\text{equiv./Muster/Stunde}$) (1) Nitratkonzentration mequiv./l; a) ohne Ca; b) mit Ca^{2+} -Ionen.

Tab. 2. Die Wirkung von Haloid- und Halogenat Ionen auf die Nitrataufnahme der isolierten Weizenwurzelstücke. 1. Hemmende Ionen; a) Nitrataufnahme im % der zutreffenden Kontrolle.

Tab. 3. Die Wirkung der Ammonium-Ionen auf die Nitrataufnahme der isolierten Weizenwurzel in Anwesenheit von 5 mequiv./l Ca^{2+} ; (1) Konzentration der äusseren Lösung, mequiv./l; (2) Die Nitrataufnahme der Kontrollserie $\mu\text{equiv./g/Stunde}$; (3) $\text{KNO}_3 + (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Serie. Aufnahme im % der Kontrollserie; (4) NH_4NO_3 -Serie.

Усвоение и взаимовлияние ионов нитратов и галогенатов

И. ЛОНТАИ, Е. ЧЕХ и З. БЁСЁРМЕНИ

Сельскохозяйственный институт А. Н. Венгрии, Мартовашар и Кафедра физиологии растений Университета им. Лоранда Этвёш, Будапешт

Резюме

Изучали усвоение хлоратов и нитратов, а также взаимодействие некоторых ионов при усвоении выделенными корнями пшеницы. Усвоение нитратов измеряли, определяя содержание нитратов в корнях.

1. Кривая времени усвоения нитратов после небольшого адсорбционного изгиба на значительном отрезке времени шла линейно, а затем скорость усвоения постепенно уменьшалась. Это снижение происходит не в результате повышения активности фермента нитрат-редуктазы.

2. Кривая концентрации усвоения нитрата дает зависимость $5 \times 10^{-3} \text{ M } K_m$ и позволяет предположить, что имеется второй процесс усвоения, происходящий при низких концентрациях. Такой ход кривой концентрации находится в соответствии с механизмом двойного посредничающего усвоения, описанного в связи с усвоением других ионов.

3. Ионы кальция не стимулируют усвоение нитратов. Процесс отдачи нитратов корнями является процессом подобным процессу отдачи галогенидных ионов.

4. Данные исследования не доказывают посредничающий характер усвоения хлоридов.

5. Усвоение нитратов тормозится галогенидными ионами, но галогенатные ионы стимулируют его. Это взаимодействие не подтверждает предположения об общей системе усвоения ионов нитратов и галогенатов.

6. Подтвердили, что ион аммония тормозит усвоение нитратов; предполагаем, что это тормозящее влияние происходит в связи с какой то регуляцией восстановления и усвоения нитратов.

Рис. 1. Усвоение нитратов выделенными корнями пшеницы, в присутствии 5 м.эquiv./л кальция из раствора KNO_3 концентрацией 1 (а) и 10 (в) м.эquiv./л.

Рис. 2. Кривая концентрации усвоения ионов выделенными корнями пшеницы в присутствии 5 м.эquiv./л Ca^{2+} . 1. Усвоение нитратов корнями пшеницы. 2. Усвоение бромидов корнями ячменя. 3. Усвоение ионов калия корнями ячменя.

Рис. 3. Ионная отдача корней пшеницы. 1. Отдача ионов корнями пшеницы в присутствии 1 м.экв/л Ca^{2+} . 2. Отдача бромидов Br^{82} корнями пшеницы в неактивном бромидном растворе или дистиллированной воде.

Рис. 4. Кривая концентрации усвоения ионов выделенными корнями пшеницы в присутствии 5 м.экв/л Ca^{2+} . 1. Усвоение хлорида корнями ячменя в часовом опыте. 2. Усвоение хлорида корнями пшеницы в опыте за шесть часов. 3. Усвоение хлорида корнями пшеницы в опыте за шесть часов.

Рис. 5. Взаимодействие нитратов, галогенатов и галогенидов при усвоении.

Табл. 1. Влияние ионов кальция (1 м.экв/л) на усвоение нитратов корнями пшеницы из раствора KNO_3 . (м. экв./образец/час). 1. Концентрация нитратов в м.экв./л. а. без ионов кальция. в. с ионами кальция.

Табл. 2. Влияние ионов галогенатов и галоидов на усвоение азота выделенными корнями пшеницы. (1) Тормозящие ионы. (а) Усвоение нитратов как процент от соответствующего контроля.

Табл. 3. Влияние ионов аммония на усвоения азота выделенными корнями пшеницы в присутствии 5 м.экв/л. ионов кальция. (1) Концентрация внешнего раствора в м.экв./л. (2) Усвоение азота в контрольных сериях в м. экв/г/час. (3) Серия KNO_3 . + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Усвоение в % от контрольных серий. (4) Серия NH_4NO_3 .