

<http://yadyra.ru>

**Российский Государственный Аграрный Университет –
МСХА имени К.А. Тимирязева**

Агрономический факультет

Кафедра физиологии растений

**Контрольная работа
по дисциплине: «Биохимические основы качества урожая
сельскохозяйственных культур»**

**Тема работы: «Проблема нитратов в продукции
растениеводства»**

**Работу выполнила
студентка группы ЗА-31
агрономического факультета
Василькова А.В.**

**Работа проверена с оценкой –
преподаватель –**

Москва, МСХА, 2007 г.

Содержание

Введение	3
1. Токсичность нитратов в питании человека и животных	3
2. Механизм трансформации нитратов в тканях растений.....	5
3. Нитратредуктаза как ключевой фермент в восстановлении нитрата.....	6
4. Причины накопления нитратов в растениеводческой продукции.....	9
5. Пути снижения накопления нитратов в органах растений.....	12

Введение

В наше время проблема связанная с накоплением нитратов в продуктах питания, остается одной из самых актуальных. Слишком большой вред нитраты причиняют организму, попадая туда с растительными продуктами питания. В наше время – время внедрения интенсивных технологий, которые не могут обойтись без применения высоких доз азотных удобрений, эта проблема стоит особенно остро.

1. Токсичность нитратов в питании человека и животных

Исследователями США, Германии, Чехословакии, России установлено, что нитраты и нитриты вызывают у человека метгемоглобинемию, рак желудка, отрицательно влияют на нервную и сердечно-сосудистую системы, на развитие эмбрионов.

Из заболеваний органов дыхания преобладает хронический бронхит, органов кровообращения — артериальная гипертония, причем чем моложе обследуемые, тем выше процент заболеваемости.

Метгемоглобинемию — это кислородное голодание (гипоксия), вызванное переходом гемоглобина крови в метгемоглобин (при связывании с нитритами), не способный переносить кислород. Метгемоглобин образуется при поступлении нитритов в кровь. При содержании метгемоглобина в крови около 15% появляется вялость, сонливость, при содержании более 50% наступает смерть, похожая на смерть от удушья. Заболевание характеризуется одышкой, тахикардией, цианозом в тяжелых случаях — потерей сознания, судорогами, смертью.

Главной причиной всех негативных последствий являются не столько нитраты, сколько их метаболиты — нитриты.

Восстанавливают нитраты в нитриты различные микроорганизмы, заселяющие преимущественно кишечник. Степень восстановления нитратов, как и при хранении продуктов, зависит от тех же факторов: количества нитратов в продуктах и условий жизнедеятельности микроорганизмов. Для развития кишечной микрофлоры благоприятна слабощелочная и нейтральная среда. Наиболее чувствительны к нитратам люди с пониженной кислотностью желудка. Это дети до года и больные гастритом и диспепсией. У таких людей микрофлора толстого кишечника может проникать в желудок, и тогда резко увеличивается процент восстановления нитратов по сравнению со здоровыми людьми.

Хроническое отравление нитратами опасно еще и тем, что восстанавливающиеся из них нитриты соединяются с аминами и амидами любых доброкачественных белковых продуктов и образуют канцерогенные нитрозамины и нитрозамиды.

Нитрозамины токсичны и канцерогенны в присутствии дополнительных ферментных систем, которые всегда имеются в организме теплокровных, а нитрозамиды проявляют эти свойства даже без дополнительной метаболизации и поражают в первую очередь кроветворную, лимфоидную, пищеварительную системы. Нитрозамины на ранних стадиях отравления подавляют иммунитет. Нитрозосоединения обладают мутагенной активностью.

До 60-х годов главной опасностью неумеренного использования нитратных удобрений считалась метгемоглобинемия, то сейчас большинство исследователей считают главной опасностью рак, в первую очередь рак желудочно-кишечного тракта. В присутствии нитритов канцерогенные нитрозамиды и нитроамины могут синтезироваться практически из любых продуктов как в желудке, так и в кишечнике.

Для взрослого человека смертельная доза нитратов составляет от 8 до 14 г, острые отравления наступают при приеме от 1 до 4 г нитратов.

Аналогичному токсическому действию нитратов подвержены и животные. При кормлении коров силосом, в килограмме которого содержался 21 г нитратов, в 1 л молока нитратов было около 800 мг. Даже при отсутствии нитратов в воде и пище суточное потребление такого молока людьми не должно превышать 1 стакана.

К избытку нитратов в воде и пище наиболее чувствительны дети, особенно первого года жизни. Противонитратные механизмы у ребенка формируются только к одному году.

Концентрация метгемоглобина в крови регулируется метгемоглобинредуктазой, которая восстанавливает метгемоглобин в гемоглобин. Метгемоглобинредуктаза начинает вырабатываться у человека только с трехмесячного возраста, поэтому дети до года, и особенно до трех месяцев, перед нитратами беззащитны.

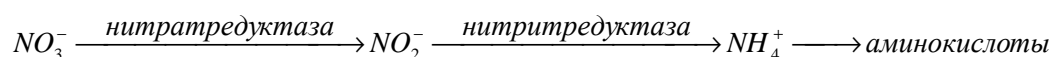
Чувствительность к нитратам повышают все факторы, вызывающие кислородное голодание: высокогорье, наличие в воздухе окислов азота, угарного газа, углекислоты, употребление спиртных напитков. При отравлении высоконитратными продуктами поражаются желудочно-кишечный тракт, сердечно-сосудистая и центральная нервная системы; нитратной водой — сердечно-сосудистая, дыхательная и центральная нервная системы. Признаки отравления появляются через 1—6 часов после поступления нитратов в организм.

2. Механизм трансформации нитратов в тканях растений

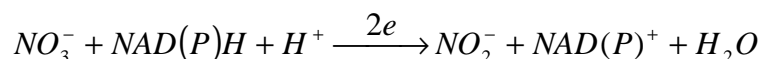
Характерной особенностью растений, отличающей их от животных, является способность к синтезу всех входящих в состав белка аминокислот непосредственно за счет неорганических азотистых соединений: аммиака и нитратов. Каким же способом нитраты и аммиак преобразуются в теле растений в аминокислоты и затем в белки?

Прежде всего необходимо отметить, что свободный аммиак ядовит для растений и поэтому обычно при питании аммонийными солями растения не накапливают свободный аммиак в своем теле, а сразу же используют его на синтез аминокислот, белков или амидов. Нитраты же могут накапливаться в некоторых растениях (например, в гречихе и табаке) в очень больших количествах. Установлено, что нитраты, прежде чем вступить во взаимодействие с углеводами или продуктами их превращений, подвергаются восстановлению до нитритов и затем до аммиака.

Процесс ферментативного восстановления нитратов аминокислот идет следующим образом:

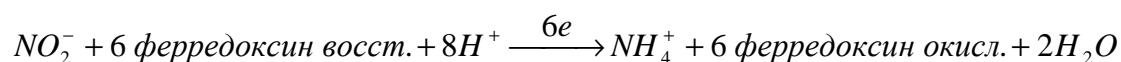


Нитратредуктаза грибов, зеленых водорослей и высших растений катализирует восстановление нитратов до нитритов с помощью восстановленных пиридин-нуклеотидов в соответствии с уравнением



Эта реакция самая медленная и лимитирует весь процесс в целом. Нитрит и аммоний токсичны для растения и в норме не накапливаются. Их концентрации в листьях составляют ~15 нМ и ~10 мкМ на 1 г сырой массы соответственно.

У фотосинтетиков восстановление нитритов до аммиака идет в соответствии с уравнением



Таким образом, восстановление нитратов и нитритов до аммиака представляет собой процесс, имеющий универсальное значение. Этот процесс происходит в высших зеленых растениях, способных к фотосинтезу, в выросших в темноте и потому лишенных хлорофилла так называемых этиолированных растениях, а также у грибов и бактерий.

3. Нитратредуктаза как ключевой фермент в восстановлении нитрата

По структуре НР (ЕС 1.6.6.1) — металлофлавопротеин, образующий гомодимеры с молекулярной массой 100 кДа, и гомотетрамеры. Каждая субъединица состоит примерно из 1000 аминокислот и включает три кофактора: ФАД, гем-Fe (цитохром b_5) и молибдоптерин, которые обеспечивают передачу электронов от НАДН на NO_3^- (рис. 1). Их окислительно-восстановительные потенциалы (E°) соответственно равны -272, -160 и -10 мВ. Фермент имеет центры связывания с НАДН и нитратом. Большинство форм НР у растений используют в качестве восстановителя НАДН, но некоторые (соя, кукуруза, ячмень, рис) биспецифичны и связываются либо с НАДН, либо НАДФН. Электроны от восстановителя передаются на ФАД, затем через геминное железо на молибден и далее на нитрат (рис. 1).

НР локализована в цитозоле. У большинства видов она обнаружена как в корнях, так и в листьях. У клевики, белого клевера, цикория НР локализована только в корнях, а у *Socklebur* — исключительно в листьях. На схеме (рис. 2) представлены данные по распределению ассимиляции нитрата между корнями и листьями у разных видов растений.

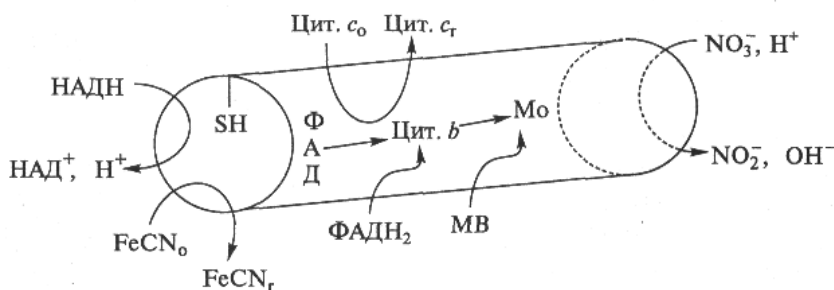


Рисунок 1. Функциональная модель мономера НР

Древесные (хвойные, листопадные)	
<i>Lupinus</i>	
<i>Pisum</i>	
<i>Zea</i>	
<i>Triticum</i>	
	<i>Heliantus</i>
	<i>Oryza</i>
	<i>Xanthium, Gossipium</i>

Рисунок 2. Вклад корней и листьев в усвоение нитрата у разных видов растений

В корнях при низких экзогенных концентрациях нитрата НР обнаруживается в эпидермальных и кортикальных клетках ближе к поверхности корня. При высоких

концентрациях NO_3^- в среде НР есть во всех клетках коры и стели. В листьях С4-растений НР локализована в клетках мезофилла, но не в клетках обкладки, так как хлоропласты мезофилла в большей степени продуцируют восстановитель при нециклическом фотосинтетическом транспорте электронов.

Регуляция активности НР может осуществляться на стадии транскрипции, трансляции и на пост-трансляционном уровне.

Транскрипционный уровень. НР — фермент, индуцируемый субстратом, со временем полуобновления $t_{1/2} \sim 4 - 5$ ч. Индукция нитратом зависит от конститутивного «нитрат-сенсорного» белка неизвестной природы, который предположительно связывается с регуляторной областью гена НР. Регуляторная последовательность, или «нитратный бокс», в промоторе НР идентифицирована. В ответ на поступление нитрата уровень мРНК (НР) быстро увеличивается в течение минут и достигает стационарного состояния в течение нескольких часов. Чувствительность индукционной системы регуляции: $50 \text{ мкМ } \text{NO}_3^-$ в течение 10 мин. Изменения в уровне мРНК (НР) наблюдаются в ответ и на другие сигналы: свет, углеводы (сахароза), глутамин. Действие света опосредовано через фитохром. Наиболее четко индукция НР светом проявляется у этиолированных проростков. В темноте накопление Сахаров коррелирует с повышением уровня мРНК (НР). Увеличению концентрации Глу— NH_2 соответствует снижение количества транскриптов НР. У растений в стационарном состоянии с индуцированной НР количество мРНК демонстрирует суточную периодичность с максимумом в предрассветные часы. Возможно, в промоторной области гена НР есть места связывания с разными регуляторными белками, воспринимающими свет, концентрацию Глу— NH_2 , водный и углеродный статус, скорость фотосинтеза и другие лимитирующие условия, которые модулируют восстановление нитрата на транскрипционном уровне.

Этап трансляции генетической информации также может быть местом регуляции ассимиляции нитрата, но этот вопрос изучен недостаточно.

Пост-трансляционный уровень. Потенциальная активность НР зависит от: 1) количества функционально активного белка НР; 2) уровня активности белка НР и 3) доступности субстратов в цитозоле.

Доступность отдельных структурных компонентов не лимитирует количество функционально активного белка НР. Однако у растений в условиях оптимального роста и достаточного снабжения нитратом потенциальная возможность его восстановления (количество функционально активного белка, активность НР *in vitro*) больше, чем реальная активность НР (*in vivo*).

В основе механизма управления активностью фермента лежит процесс быстрой и обратимой инактивации НР, который происходит в два этапа (рис. 3): первый — фосфорилирование активной НР Ca^{2+} -зависимой протеинкиназой по серину «первой петли»; второй — связывание 14-3-3-белка с фосфорилированной НР и переход НР в неактивное состояние. На втором этапе необходимо наличие ионов Mg^{2+} или Ca^{2+} . Сродство фермента к субстратам в неактивном состоянии не меняется, но блокируется поток электронов от гема на молибдоптериновый домен фермента.

Регуляция на уровне транскрипции и обратимая инактивация фермента совместно позволяют растениям точно настраивать интенсивность ассимиляции нитрата в соответствии с конкретным состоянием. Например, транскрипция НР в фотосинтезирующих тканях подчиняется циркадному ритму. Гены НР наиболее интенсивно транскрибируются в предрассветные часы, но синтезируемый белок НР в это время обратимо ингибируется темнотой и низкой доступностью CO_2 .

Метаболическая регуляция на пост-трансляционном уровне определяется содержанием свободного Глу— NH_2 и отношением Глу— NH_2 /Глу. Когда уровень Глу— NH_2 низкий и нитрат доступен, скорость восстановления нитрата возрастает, в то время как высокий уровень Глу— NH_2 тормозит его восстановление. Предполагается, что регуляторная область связывания Глу— NH_2 расположена на N-конце фермента. У трансгенных растений с конститутивно экспрессированной мРНК (НР) и белком, у которого пост-трансляционный контроль потерян в результате делеции N-конца, регуляторная роль Глу— NH_2 утрачивается и восстановление контролируется только доступностью НАДН.

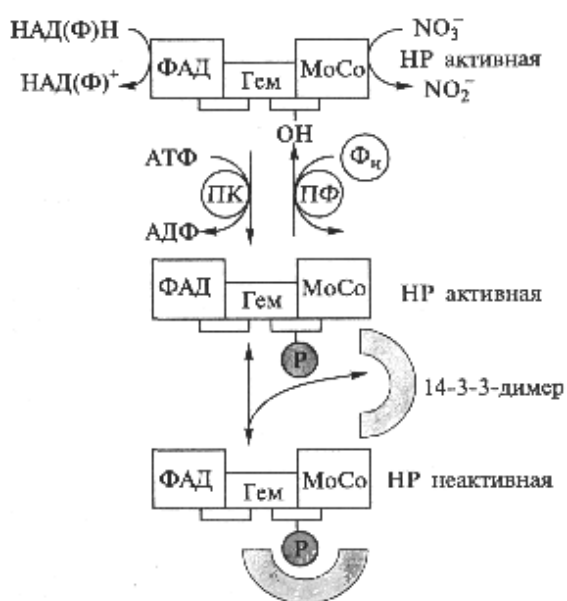


Рисунок 3. Регуляция активности нитратредуктазы (НР) путем фосфорилирования и последующим связыванием с белком 14-3-4: ПК — протеинкиназа; ПФ — пирофосфатаза

4. Причины накопления нитратов в растениеводческой продукции

Среди многих причин, обуславливающих накопление нитратов в растении, следует выделить следующие: видовая и сортовая специфика накопления нитратов, условия минерального питания, почвенно-экологические факторы. Зачастую факторы, способствующие накоплению нитратов, воздействуют в комплексе, что осложняет прогнозирование уровня нитратов в продукции.

Видовые различия растений. Среди представителей высших растений выделяется группа семейств, аккумулирующих значительные количества нитратов. К ним относятся семейства амарантовых, маревых, зонтичных, сложноцветных, капустных, пасленовых. Среди семейств, охватывающих овощные культуры, наибольшей способностью к накоплению нитратов отличаются капустные, тыквенные, сельдерейные, пасленовые. Наибольшее количество нитратов накапливают редька белая, свекла столовая, салат, шпинат, редис, такие же культуры, как томаты, перец сладкий, баклажаны, чеснок, горошек, отличаются низким содержанием нитратов.

Накопления нитратов различными культурами носит наследственно закрепленный характер, т. е. они обладают *сортовой спецификой*, которая выявлена у ряда видов овощных и бахчевых культур. Таким образом, сортовые различия по накоплению нитратов могут быть обусловлены разной реакцией на условия окружающей среды и режим минерального питания, а также генетически закрепленным уровнем нитратредуктазы, разной продолжительностью периода вегетации сортов.

Одна из причин сортовых и видовых различий в накоплении нитратов — физиологическая спелость растения к моменту уборки. Количество нитратов особенно велико в тех случаях, когда период товарной зрелости наступает раньше физиологического созревания. С возрастом содержание нитратов в растении снижается из-за уменьшения запасов минерального азота в почве, а также в связи с увеличением запасов ассимилятов, вовлекающих нитраты в метаболизм. Снизить количество нитратов можно путем подбора оптимальных условий уборки урожая с учетом почвенно-экологических факторов.

Другой причиной видовой специфики накопления нитратов является несоответствие размеров поглощения нитратов из почвы и их ассимиляции растениями. По соотношению органического и минерального азота, поступающего с пасоккой (ксилемным соком) из корней, растения условно можно разделить на три группы: нитратредуктаза локализована в корнях, обладает высокой активностью, поэтому

восстановление нитратов и образование органических и азотсодержащих веществ происходит в корнях, откуда в надземную часть растения поступает в основном азот в органической форме; нитратредуктаза в корнях обладает низкой активностью, поэтому с кислым соком транспортируется в надземную часть в основном минеральный азот — нитраты, их восстановление идет в листьях, где локализован фермент с высокой активностью; нитратредуктаза в корнях и листьях обладает одинаковой активностью, поэтому в составе пасоки обнаруживаются и нитраты, и органические соединения азота.

Выяснение особенностей локализации нитратов в разных органах и тканях представляется важным как для понимания механизмов перераспределения и запасаания нитратов в ходе онтогенеза, так и диагностики качества продукции овощных и кормовых культур.

Распределение нитратов связано с физиологической специализацией и морфологическими особенностями отдельных органов возделываемых культур, типом и расположением листьев, размером листовых черешков и жилок, диаметром центрального цилиндра в корнеплодах. Распределение нитратов тесно связано с видом растения. Так, нитраты практически отсутствуют в зерне злаковых культур и в основном сосредоточены в стеблях и листьях. Зеленые культуры накапливают большое количество нитратов, как правило, в стеблях и черешках листьев. В листовой пластинке зеленых культур нитратов содержится в 4—10 раз меньше, чем в стеблях. Высокое содержание нитратов в стеблях и черешках вызвано тем, что они являются местом транспорта нитратов к другим органам растений, где они ассимилируются до органических соединений азота. Способность же ткани накапливать нитраты связана с целым комплексом факторов как внутренних, так и внешних. Наибольшее их количество находится в нижней части листа, минимальное — в его верхушке.

Накопление нитратов меняется в зависимости от типа органа растения. В клубнях картофеля низкий уровень нитратов обнаружен в мякоти клубня, тогда как в кожуре и сердцевине их содержание возросло в 1,1—1,3 раза. Сердцевина, кончик и верхушка столовой свеклы отличаются от остальных его частей повышенным содержанием нитратов. Поэтому у столовой свеклы необходимо отрезать верхнюю и нижнюю части корнеплода. В белокочанной капусте наибольшее количество нитратов находится в верхушке стебля (кочерыжке). Верхние листья кочана содержат их в 2 раза больше, чем внутренние. И так же как у зеленых овощей, черешки листьев капусты отличаются более высоким содержанием нитратного азота, чем листовые пластинки. Зоны с разным содержанием нитратов есть и в корнеплодах моркови. Их высокое содержание обнаружено в верхушке и кончике корнеплода. В сердцевине корнеплода уровень нитрата

выше, чем в коре. Уровень нитратов в сердцевине уменьшается от кончика корнеплода к верхушке. Круглоплодные сорта редиса (тип Рубин) содержат нитратов значительно меньше, чем сорта типа Красный великан. В середине корнеплода их содержание значительно меньше. Представители семейства тыквенных (кабачки, огурцы, патиссоны, арбузы, дыни, тыква) широко представлены в ассортименте продуктов питания человека. Содержание нитратов в огурцах и кабачках уменьшается от плодоножки к верхушке плода, их больше в кожице, чем в семенной камере и мякоти. Поэтому перед употреблением в пищу необходимо отрезать часть плода, примыкающую к хвостику. То же самое необходимо еще дать и с плодами патиссона, поскольку больше всего нитратов находится в этой зоне плода. Больше нитратов сосредоточено по периферии плодов, чем в их середине.

Причиной накопления нитратов в растениях служат не только биологические особенности возделываемых культур, но и *условия минерального питания*, отличающиеся большим разнообразием. Здесь огромная роль принадлежит правильному выбору доз азотных удобрений, а это возможно только с учетом исходных запасов минерального азота или азотминерализующей способности почвы, позволяющей учесть мобилизованный в ходе вегетации растений азот почвы.

Удобрения оказывают неодинаковое воздействие на накопление нитратов в отдельных органах растения. Например, с увеличением доз азотных удобрений содержание нитратов в большей степени возрастает в стеблях цветной капусты, чем в ветвях соцветий и цветках. При повышении доз азота количество нитратов в черешках листьев растет сильнее, чем в листовых пластинках сахарной свеклы. Также в большей мере возрастает накопление нитратов в кончике корнеплода редиса, чем в средней его части. С повышением доз азотных удобрений более заметно растет количество нитратов в мякоти плодов огурца, менее заметно — в его кожице.

Питание растений, несбалансированное основными элементами – также одна из причин накопления нитратов. При этом нарушается нормальный ход ассимиляции нитратов в растениях. Недостаток фосфора косвенно способствует накоплению нитратов, так как он стимулирует активность нитратредуктазы. Но единого мнения о влиянии фосфора на накопление нитратов нет. В одних случаях внесение фосфорных удобрений снижает уровень нитратов, в других накапливает. Калий, участвуя в процессах углеводного обмена, косвенно влияет на синтез белков. При совместном внесении азота и калия в растении увеличивается содержание органического азота, а минерального (нитратов) снижается. Подобная закономерность обнаружена на пойменной почве с капустой, морковью, столовой свеклой. В то же время в других случаях применение

калийных удобрении повышало содержание нитратов в растении. Таким образом, одной из причин неоднозначного влияния фосфора и калия на накопление нитратов в растении является широкий спектр их доз, соотношений, а также различие запасов подвижных форм этих элементов в почвах.

Среди факторов внешней среды на содержание нитратов в растении больше всего влияет *влажность, свет, температура воздуха и почвы*, которые, действуя в комплексе, усиливают или ослабляют свое взаимодействие.

Изменение *влажности* неоднозначно сказывается на накоплении нитратов, Интенсивное увлажнение почвы усиливает поглощение нитратов корнями, что в сочетании с пониженными температурами ведет к избыточному накоплению нитратов. С другой стороны, высокий уровень нитратов в растении в засушливые периоды можно снизить поливами овощных культур, так как они стимулируют рост, а также способствуют частичному вымыванию нитратов из верхних горизонтов почвы.

5. Пути снижения накопления нитратов в органах растений

Пути регуляции содержания нитратов в растениях включают комплекс агрохимических, технологических, селекционно-генетических и санитарно-гигиенических мероприятий.

1. Поиск и выведение сортов, накапливающих минимальное количество нитратов.

В настоящее время известны сорта многих культур, содержащих минимальные количества нитратов. Например, у капусты это сорта Зимовка и Подарок, у моркови — Шантенэ, Бирючекуртская, Консервная, у свеклы столовой — Бордо. Зная особенности каждого сорта, можно существенно влиять на качество получаемого урожая. В связи с этим необходима сортовая политика как в плане получения новых сортов овощных культур, так и в плане сортовой агротехники выращивания с целью получения урожая с низким уровнем нитратов.

2. Оптимизация минерального питания. Снижение доз азотных удобрений до определенного количества (благодаря чему снизится уровень нитратов) может обеспечить урожай растений лишь на 5—10% ниже максимального. Оптимизации доз азотных удобрений возможна при учете запасов минерального азота и величины азотминерализующей способности почвы перед применением удобрений. Снизить содержание нитратов можно путем применения медленно действующих форм удобрения, таких, как мочевиноформальдегидное удобрение, протопил, изобутилидендимочевина, применение которых снижает содержание нитратов - в листовых овощах в 5—10 раз. а

также путем покрытия гранул капсулами, защитными пленками. Это снижает скорость растворения туков и обеспечивает равномерное снабжение азотом растения в течение всей вегетации. Эффективным средством снижения содержания нитратов в растении являются ингибиторы нитрификации (сероуглерод, дициандиамиддин, КМП), использование которых даже при высоком уровне содержания азота в почве эффективно снижало количество нитратов в урожае зеленых овощей и редиса. Кроме азота, необходимо оптимизировать минеральное питание фосфором и калием, учитывая их неоднозначное влияние на накопление нитратов.

3. *Применение особой агротехники.* Существует технологический путь решения «нитратной» проблемы — локальное применение азотных удобрений под овощные, кормовые культуры. Доза азота сокращается на 25—30% по сравнению с разбросным, а уровень продуктивности не снижается, зачастую и повышается. Это объясняется тем, что в месте внесения азота образуется очаг повышенной концентрации аммония, который замедляет нитрификацию на 3—5 недель. Преимущественное использование растениями аммонийного азота позволяет полнее использовать его на построение белков и тем самым снижать аккумуляцию нитратов. При локальном внесении азотных туков количество нитратов у зеленых культур и редиса снижалось на 9—58%. у кукурузы, свеклы кормовой — на 10-40% по сравнению с разбросным внесением тех же доз азота.

4. *Полив.* Высокий уровень нитратов в растении в засушливые периоды можно снизить поливами овощных культур, так как они стимулируют рост, а также способствуют частичному вымыванию нитратов из верхних горизонтов почвы.

5. *Выбор оптимальных сроков уборки.* В снижении содержания нитратов в овощной продукции может помочь выбор оптимальных сроков уборки урожая. Так, уборку листовых овощей следует проводить в вечерние часы, так как в это время в них содержится на 30—40% меньше нитратов.

6. *Закладка на хранение.* Установлено, что при хранении количество нитратов к марту в картофеле снижается в 4 раза, в свекле столовой — в 1,5, в моркови — в 3, в капусте — в 3 раза. Чтобы избежать образования нитритов, необходимо закладывать на хранение чистые сухие овощи без механических повреждений. На чистых овощах мало микроорганизмов, сухость ограничивает их перемещение, а отсутствие повреждений затрудняет получение ими питательных веществ, в том числе и нитратов, из клеток растений.