

В. Е. СЕМЕНЕНКО

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ПРОЦЕССОВ ИНДУКЦИОННОГО ПЕРИОДА ФОТОСИНТЕЗА С ПОМОЩЬЮ РАДИОИЗОТОПА УГЛЕРОДА C^{14}

(Представлено академиком А. Л. Курсановым 21 IV 1960)

Вопросы энергетики фотосинтеза являются одними из наиболее дискуссионных в проблеме фотосинтеза, начиная с экспериментальных измерений квантовых расходов фотосинтеза и кончая многочисленными гипотезами, касающимися дисмутации энергии в процессе восстановления углекислоты. При этом все авторы сходятся на том, что увеличение «восстановительной силы» происходит путем обратного окисления восстановленных продуктов с фиксированием энергии их окисления в макроэргических связях определенных соединений. Однако одни авторы считают, что такие окислительные реакции протекают до начала восстановления углекислоты (Д. Арнон), другие — после ее восстановления (О. Варбург). Исследование этих вопросов представляется возможным посредством изучения переходных явлений фотосинтеза, наблюдающихся в момент освещения объекта и при переходе от света к темноте, которые, как известно (1-7) описываются специфической кривой (рис. 1).

Изучению переходных явлений, которые наблюдаются после начала освещения в поглощении CO_2 , в выделении кислорода, в изменениях флуоресценции и поглощении света, в фосфорном метаболизме и окислительно-восстановительных свойствах листа, посвящено значительное количество работ. При этом обращает на себя внимание тот факт, что переходные явления после начала освещения по всем указанным параметрам всегда имеют очень близкое совпадение во времени и коррелируют друг с другом в зависимости от различных условий. В частности, сразу же после начала освещения, когда наблюдается быстрое поглощение углекислоты («глоток» CO_2), то в это же или близкое к нему * время (8) наблюдается «выброс» кислорода (9-12), резкий переход неорганического фосфора в органический (13-16), уменьшение флуоресценции (17, 18) и увеличение биолюминесценции (19, 20) и поглощения при 515 м μ (21). В дальнейшем, когда кривая поглощения CO_2 идет вниз, аналогичными кривыми описывается и кинетика выделения O_2 , превращения фосфора, изменение флуоресценции и т. д. Применение различных ингибиторов и ядов показало, что начальное поглощение углекислоты в первой фазе индукционного периода фотосинтеза подавляется именно ингибиторами, подавляющими фотосинтетическое фосфорилирование (13), которому, как известно, в настоящее время придается очень большое значение в энергетике фотосинтеза (22, 23). Вместе с тем, начальное поглощение CO_2 появляется и увеличивается по мере появления

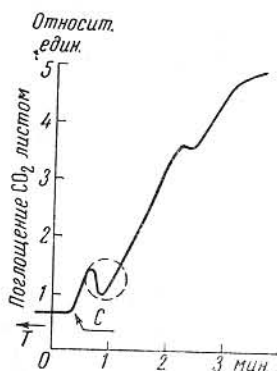


Рис. 1. Типичная кривая кинетики индукционного периода фотосинтеза. С — свет, Т — темнота

* Следует отметить, что работы по изучению различных параметров в индукционном периоде фотосинтеза проведены различными авторами с использованием методов различной чувствительности.

хлорофилла в этиолированных листьях и оказывается на красном свете большим, чем на синем (3). Описываемые эффекты индукционного периода фотосинтеза наблюдаются практически у всех типов растений (водоросли, папоротники, хвойные, покрытосемянные). Рассмотрение всех этих фактов заставляет, по-видимому, предполагать, что эти процессы являются общими для всех фотосинтезирующих организмов и отражают существенную деталь внутреннего механизма превращения энергии в процессе фотосинтеза (7, 24).

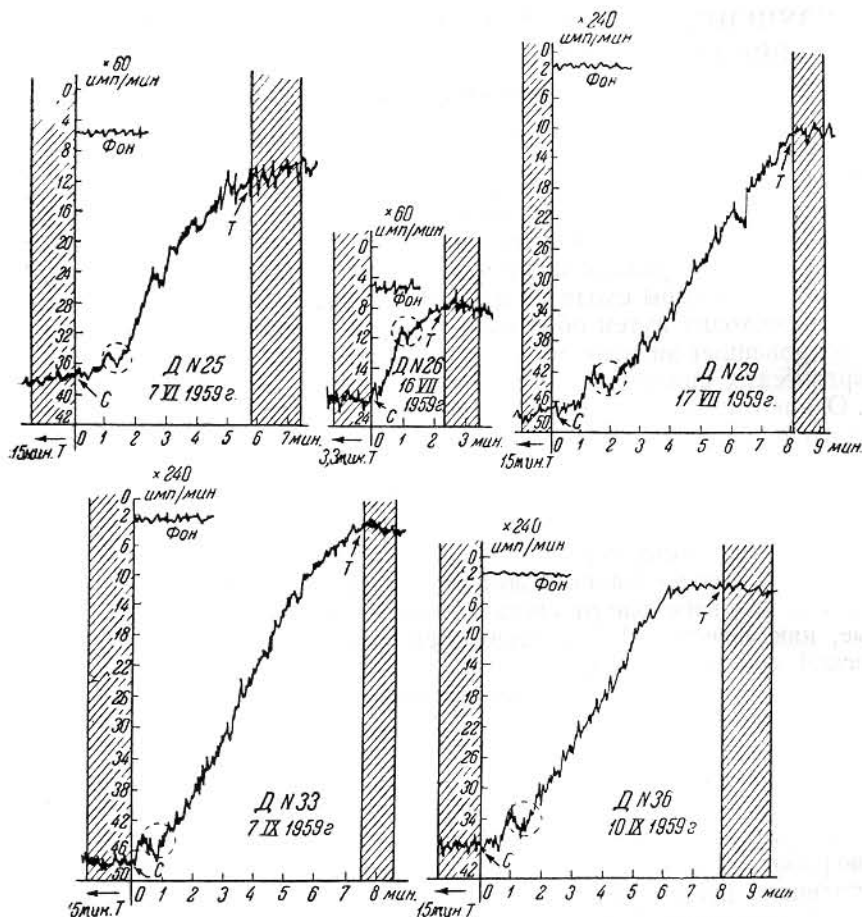


Рис. 2. Кинетика поглощения $C^{14}O_2$ в индукционном периоде фотосинтеза. Условия, при которых зарегистрированы представленные кривые, сведены в табл. 1. Обозначения те же, что на рис. 1. Пунктиром отмечено выбрасывание листом $C^{14}O_2$ после первоначального ее «глотка». Кривые перечерчены с диаграмм самописца в прямоугольной системе координат с учетом флуктуаций прибора

Недавно О. Варбург (25) — на основании изучения квантовых выходов фотосинтеза, манометрических измерений кислородной и углекислотной емкости клеток *Chlorella* и изучения реакции Хилла — выдвинул гипотезу, согласно которой механизм суммирования энергии отдельных квантов света в процессе восстановления CO_2 состоит в том, что в одноквантовых реакциях восстанавливается углерод «фотолита», после чего $2/3$ возникающих восстановленных продуктов сжигаются молекулярным кислородом до CO_2 и энергия этого «экстра» или светового дыхания используется на перевождение «фотолита» в возбужденное состояние, при котором он способен участвовать в последующем фотохимическом акте.

Казалось, что некоторые положения этой гипотезы (окисление части возникающих на свету восстановленных продуктов молекулярным кислородом

до CO_2 для аккумуляции энергии) находят некоторое подтверждение в кинетике процессов в индукционном периоде фотосинтеза, в частности в кинетике поглощения CO_2 и выделения O_2 .

Однако имеющиеся сведения относительно кинетики поглощения CO_2 в индукционном периоде фотосинтеза не могли быть использованы для суждения о возможности подобного энергетического механизма, поскольку они были получены в аппаратах, в которых осуществлялся ток воздуха через камеру с фотосинтезирующим объектом, и анализ содержания CO_2 в воздухе проводился по дифференциальной схеме. Поэтому понижение кривой поглощения CO_2 , которое наблюдается после первоначального «глотка», не могло быть однозначно интерпретировано. Дело в том, что наличие тока воздуха в аппарате могло приводить к снижению кривой концентрации CO_2 даже в том случае, если бы на самом деле имело место не выбрасывание CO_2 (что, несомненно, должно быть, если существует предложенный Варбургом механизм), а замедление или временная приостановка ее поглощения, допустим из-за исчерпания имевшегося в запасе акцептора CO_2 , как часто и объясняется специфическая форма индукционных кривых фотосинтеза (4).

В связи с этим особое значение приобретают два вопроса: во-первых, происходит ли после быстрого начального поглощения углекислоты выбрасывание ее или специфическое понижение индукционной кривой отражает приостановку процесса поглощения CO_2 ; во-вторых, если в этом случае действительно имеет место выбрасывание углекислоты, то выбрасывается ли та CO_2 , которая только что поглотилась, или выбрасываемая CO_2 происходит из веществ, имевшихся в растении ранее. Для выяснения этих вопросов необходимо было изучить индукционные явления не в токе воздуха, а у объекта, помещаемого в замкнутые камеры, когда концентрация CO_2 вокруг листа полностью определялась бы его деятельностью или посредством учета количества CO_2 , накапливающейся внутри листа. Для этого могли быть использованы манометрический метод или изотопный, с применением C^{14}O_2 .

Мы попытались изучить кинетику поглощения CO_2 в индукционном периоде фотосинтеза у объекта, помещаемого в замкнутую камеру, с помощью радиоизотопа углерода C^{14} . Для этого была сконструирована специальная установка с камерой для экспозиции объекта в $\text{C}^{14}\text{O}_2^*$, системой непрерывной регистрации и записи изменений радиоактивности в камере, которая позволяла быстро менять состав газа в ней (C^{14}O_2 , C^{12}O_2) и затенять или освещать объект.

Измерения проводились на листьях *Helianthus annuus* как объекта, отличающегося большой интенсивностью фотосинтеза. Вырезка листа площадью $19,53 \text{ см}^2$ помещалась в камеру, которая заполнялась воздухом с определенным содержанием C^{12}O_2 и C^{14}O_2 , и после 12—16-минутной темновой инкубации лист освещался (табл. 1).

При этом для возможности учета индукционных явлений, как оказалось, особое значение имеет соотношение между площадью испытуемого объекта и интенсивностью его фотосинтеза, с одной стороны, и объемом камеры и концентрацией углекислоты в ней — с другой. Отношение количества углекислоты, поглощаемой за 1 мин. данной площадью листа при данной интенсивности его фотосинтеза, к количеству CO_2 в камере должно быть равно 0,1—1. В использовавшихся же неоднократно замкнутых камерах для экспозиции объекта в C^{14}O_2 (26, 27), как показали расчеты, отношение активной фотосинтезирующей поверхности листа к объему газа в камере и к концентрации углекислоты в ней таково, что общий высокий фон радиоактивности в камере в начале экспозиции не позволял учесть те небольшие изменения радиоактивности, которые наблюдаются в первый момент после начала освещения. В условиях наших измерений общий высокий фон кон-

* Детальное описание установки и принцип работы камеры для экспозиции объекта в печати.

Таблица 1

Условия, при которых осуществлено измерение индукционных кривых фотосинтеза по поглощению $C^{14}O_2$. Объект — *Helianthus annuus*.

№ опыта, дата	Конц. CO_2 в камере		Активность $C^{14}O_2$ в камере в μCi		Т-ра, °C	Интенсивн. света в лк·10 ⁻³
	в %	в мг	общая	удельн. на 1 мг CO_2		
Д-25 7 VI 1959	0,035	0,014	0,097	5,10	23	20
Д-26 16 VII	0,25	0,133	0,097	0,73	24	50
Д-29 17 VII	1,0	0,539	0,388	0,72	24	50
Д-33 7 IX	0,3	0,162	0,388	2,39	23	32
Д-36 10 IX	0,3	0,162	0,388	2,39	25	32

центрации CO_2 также не позволял регистрировать индукционные явления, например в условиях опыта, аналогичных опыту Д № 29, но при более слабом освещении объекта (32 000 лк).

Однако путем тщательного подбора общей концентрации CO_2 , ее удельной активности, интенсивности света и объекта с достаточно интенсивным фотосинтезом (табл. 1) удалось показать (рис. 2), что кинетика поглощения $C^{14}O_2$ в индукционном периоде фотосинтеза описывается кривыми, аналогичными тем, которые получены при измерении индукционных явлений в токе газа с использованием дифференциальных газоанализаторов.

Таким образом, понижение углекислотной кривой индукционного периода фотосинтеза после первоначального «глотка» CO_2 отражает не временную задержку процесса поглощения углекислоты, а выбрасывание ее. Специфическое понижение индукционной кривой фотосинтеза, следовательно, нельзя объяснить лимитирующим действием акцептора CO_2 . Выбрасываемая при этом CO_2 возникает, вероятно, в результате окисления какого-то продукта. Окислению при этом подвергаются продукты, в которых фиксировалась $C^{14}O_2$ в предыдущий момент во время «глотка» CO_2 , поскольку выбрасываемая углекислота оказывается также радиоактивной.

Приношу глубокую благодарность проф. А. А. Ничипоровичу за руководство работой.

Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева
Академии наук СССР

Поступило
19 IV 1960

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ E. D. McAllister, *Smithsonian Misc. Coll.*, **95**, № 24, 1 (1937). ² H. A u f d e m g a r t e n, *Planta*, **29**, Н. 4, 643 (1939). ³ R. v a n d e r V e e n, *Physiol. plant.*, **2**, 3, 217 (1949); **2**, 4, 287 (1949); **3**, 3, 247 (1950). ⁴ K. V e y l b y, *Physiol. plant.*, **11**, 1, 158 (1958). ⁵ В. Е. Семеновко, *Физиол. раст.*, **5**, в. 561 (1958). ⁶ W. L. B u t l e r, *Res. Photosynthesis*, N. Y.—London, 1957, p. 399. ⁷ Е. Рабинович, *Фотосинтез*, **3**, 1959. ⁸ E. K. W a s s i n k, C. J. P. S p r u i t, *Congres International de Botanique*, **8**, Paris, 1954. ⁹ L. R. B l i n k s, Y. K. S k o w, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **24**, 420 (1938). ¹⁰ I. Š e t l i k, *Préchodné zjevy ve fotosynthese ktere se projevují na produkci kyslíku. Rozpravu ČSAV*, **64**, № 3, 1 (1954). ¹¹ K. V e j l b y, *Physiol. plant.*, **12**, 162 (1959). ¹² R. H i l l, C. P. W h i t t i n g h a m, *Photosynthesis*, N. Y.—London, 1958, p. 409. ¹³ P. M a s s i n i, *Acta bot. neerl.*, **6**, № 4, 434 (1957). ¹⁴ E. K. W a s s i n k, *J. Romback, Koninkl. Nederl. Akad. van Wetenschappen*, **57**, № 4 (1954). ¹⁵ J. F. G. M. W i n t e r m a n s, *Acta Biochim. Neerland.*, **7**, 489 (1958). ¹⁶ E. R. O. K a n d l e r, *Zs. Naturforsch.*, **5b**, 423 (1950). ¹⁷ E. C. W a s s i n k, E. K a t z, *Enzymologia*, **6**, 145 (1939). ¹⁸ E. D. M c A l l i s t e r, J. M y e r s, *Smithsonian Misc. Coll.*, **99**, № 6, 1 (1940). ¹⁹ B. S. S t r e h l e r, W. A r n o l d, *J. Gen. Physiol.*, **34**, 809 (1952). ²⁰ B. S. S t r e h l e r, *Arch. Biochem. and Biophys.*, **43**, 69 (1953). ²¹ B. C h a n c e, B. S t r e h l e r, *Nature*, **180**, № 4589, 749 (1957). ²² D. J. A r n o n, F. R. W h a t l e y, M. B. A l l e n, *Science*, **127**, № 3305, 1026 (1958). ²³ A. V. T r e b s t, Н. Y. T s u j i m o t o, D. J. A p l o n, *Nature*, **182**, № 4632, 351 (1958). ²⁴ Б. Я. Свешников, *Природа*, **4**, 29 (1944). ²⁵ O. W a r b u r g, *Science*, **128**, № 3315, 68 (1958). ²⁶ О. В. Заленский, О. А. Семихатова, В. Л. Вознесенский, *Методы применения радиоактивного углерода C^{14} для изучения фотосинтеза*, Изд. АН СССР, 1955. ²⁷ В. В. Рачинский, *Физиол. раст.*, **2**, в. 2, 182 (1955).