

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Т. Ф. АНДРЕЕВА

**ЗНАЧЕНИЕ ФОТОСИНТЕЗА ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ НИТРАТОВ
И СИНТЕЗА БЕЛКА В ЛИСТЕ**

(Представлено академиком Н. А. Максимовым 10 IV 1951)

В настоящее время широко распространенной является точка зрения о том, что углеводы являются первыми, единственными и универсальными продуктами фотосинтеза, за счет которых строятся все разнообразные и сложные вещества растений. И хотя в ряде работ (1-3) высказывались предположения о том, что наряду с углеводами в процессе фотосинтеза образуются и другие продукты, в частности белки, эта точка зрения пока еще не имеет достаточно надежных подтверждений.

В нашей работе мы исходили из представления А. А. Ничипоровича (4) о том, что фотосинтез является сложным процессом, во многом определяющим характерные особенности метаболизма растений. Деятельность фотосинтетического аппарата не ограничивается образованием углеводов. Наряду с углеводами в процессе фотосинтеза образуются белки и другие продукты, соотношения между которыми меняются в зависимости от условий питания, освещения и состояния самих растений. В связи с этим нами начато изучение образования белка в процессе фотосинтеза. Синтез белка в растении представляет цепь превращений, в ходе которых соединения азота и углерода образуют сложную молекулу белка. Наиболее обычным, распространенным источником минерального азота, за счет которого идет синтез белка в растении, являются соли азотной кислоты. Поэтому представляло интерес прежде всего выяснить, связано ли восстановление нитратов в зеленом листе — первый этап синтеза белка в растении — с процессом фотосинтеза. Возможность энзиматического «темнового» восстановления нитратов в незеленых частях растения можно считать доказанной (5-11). Что касается вопроса о механизме восстановления нитратов в зеленом листе, значения света и фотосинтеза для этого процесса, то этот вопрос до сих пор неясен.

Д. М. Михлин (12) пришел к представлению о том, что необходимость света и углекислоты для восстановления нитрата листом обуславливается тем, что в этих условиях в процессе фотосинтеза создаются промежуточные продукты, в частности уксусный альдегид, за счет которого и идет восстановление нитрата. На участие фотосинтеза в процессе восстановления нитратов указывают Борстрем (13) и Миерс (14).

Восстановление нитратов изучалось нами на листьях фасоли. Срезанные листья предварительно помещались черенками на 15—18 час. в раствор 0,02 М KNO_3 в темноту. Затем листья, половинки или высежки из листьев, обогащенных таким образом нитратами и обедненных продуктами предшествующего фотосинтеза, испытывались на способность восстанавливать нитраты в различных условиях. Количество нитратов определялось колориметрически при помощи дисульфифеноловой кислоты; предварительно вытяжка, содержащая нитраты, освобождалась от органических примесей при помощи перекиси водорода (15). Полученные данные представлены в табл. 1.

Рассматривая результаты, мы видим, что восстановление нитратов может идти в темноте и на свету без CO_2 , но оно значительно интенсивнее на свету в присутствии углекислоты и зависит от концентрации углекислоты. Опыты 27 и 29 XII были проведены в обычном воздухе, и величина восстановления нитратов в этих опытах была значительно

Таблица 1
Восстановление нитратов зеленым листом фасоли

Дата опыта	Объект	Длительн. опыта в час.	Убыль NO_3 в мг на 10) cm^2 листьев за время опыта				Содержание NO_3 после опыта в % от контроля		
			свет		темнота		свет		темнота
			+ CO_2	- CO_2	+ CO_2	- CO_2	+ CO_2	- CO_2	+ CO_2
27 XII	Парные листья . . .	2,5	-1,23*		+0,24		84,5		104,1
			-0,33*		-0,17		94,4		97,4
29 XII	То же	6	-1,11*		+0,26		83,0		104,1
			-0,59*		+0,22		91,7		102,9
9 I	Половинки листьев .	3,5	-0,69	+0,01	+0,13		76,5	100,3	104,5
			-0,54	+0,05	—		81,1	103,6	—
14 II	То же	4	-2,60	+0,4	+0,04		81,7	102,0	100,2
			-2,63	—	+0,26		86,8	100	101,3
4 I	Высечки из парных листьев	6	-4,89	+0,11	-0,11		21,3	103,6	97,4
			-3,71	-1,7	-0,6		39,2	68,1	82,1
25 I	Высечки опытные и контр. из 1 листа	3	-1,46	—	-0,17		56,1	100	92,5
			-0,66	-0,06	-0,05		61,1	92,5	98,6
21 I	Высечки листьев, инфильтр. 0,02 M KNO_3	3,5	-3,16	-0,33			46,5	94,4	
			-2,16	—			63,4	100	

* В опытах 27 и 29 XII листья экспонировались в атмосфере воздуха с обычным содержанием CO_2 . В остальных опытах листья серии „свет + CO_2 “ экспонировались в атмосфере, обогащенной углекислым газом до 5 объемн. %, а серии „темнота“ — в обычной атмосфере.

меньше, чем в последующих опытах, где к воздуху добавлялось 5% CO_2 . Эти данные указывают на несомненную зависимость восстановления нитратов от процесса фотосинтеза.

Полученные нами данные о зависимости восстановления нитратов не только от света, но и от присутствия углекислоты и ее концентрации, говорят против возможности прямого восстановления нитрата за счет активного водорода, образующегося при фотохимическом разложении воды во время фотосинтеза (16), так как в данном случае восстановление нитратов не должно было бы зависеть от концентрации углекислоты и обуславливалось бы только наличием света. Такой путь восстановления нитратов за счет активного водорода не подтверждается и непосредственными опытами с изолированными хлоропластами. Как показали наши опыты (табл. 2), восстановление нитратов изолированными хлоропластами не связано с наличием фотохимической активности изолированных хлоропластов. Суспензия изолированных хлоропластов получалась нами обычным методом осаждения при центрифугировании (17). Фотохимическая активность хлоропластов определялась манометрически по выделению кислорода с применением в качестве окислителя хинона. Определения показали, что суспензии хлоропластов обладают достаточно высокой фотохимической активностью. Одновременно проводились определения восстановления введенного в суспензию нитрата.

Как видно из полученных данных (табл. 2), восстановление нитратов изолированными хлоропластами если и имеет место, то идет с небольшой интенсивностью; кроме того, восстановление всегда одинаково и в темноте и на свету. Несмотря на наличие фотохимической активности хлоропластов, восстановление нитратов не зависит от света. Очевидно,

что в условиях нашего опыта нитраты не восстанавливаются непосредственно за счет водорода, способного осуществлять восстановление хинона изолированными хлоропластами.

Таблица 2
Восстановление нитратов суспензией изолированных хлоропластов

Дата опыта	Объект	Длительн. опыта в час.	Содержание NO ₃ в мг на 1 сосудик			Содержание NO ₃ после опыта в % от контроля	
			Контроль	После опыта		свет	темнота
				на свету	в темноте		
27 IV	Фасоль	1	15,92	10,38	11,43	65,2	71,7
30 IV	"	1	14,52	12,84	10,58	88,4	72,8
4 V	"	1	14,43	13,22	12,83	91,6	88,9
6 V	Конские бобы	2	14,40	13,80	13,80	95,8	95,8
10 V	Махорка	2	0,1264	0,1292	0,1268	102,2	100,3
15 V	Фасоль	2	0,258	0,236	0,246	91,4	95,3
15 XII	"	2	0,882	0,880	0,910	99,7	103,1
16 XII	"	4	0,404	0,394	0,399	97,5	98,7
31 I	"	3	10,62	10,91	10,90	102,8	102,8

На основании работ Е. А. Бойченко (18) можно было бы думать, что в данном случае нитраты не восстанавливаются активным водородом из-за нарушения целостности хлоропласта и потери им вследствие этого гидрогеназной активности. Однако и в ненарушенном листе, способном восстанавливать CO₂, для восстановления нитратов требуется, кроме света, присутствие углекислоты. Совокупность этих данных позволяет сделать вывод о том, что восстановление нитратов в зеленом листе происходит не за счет активного водорода, образующегося в процессе фотосинтеза, а скорее за счет начальных промежуточных продуктов фотосинтеза, полученных с участием углекислоты.

Следующий вопрос, который нас интересовал, это участие фотосинтеза в последующих этапах образования белка в зеленом листе, при питании листа восстановленной формой азота — аммиачными солями. Для выяснения этого вопроса были поставлены следующие опыты. Опытные растения махорки выращивались в песчаных культурах на смеси Гельригеля с 1/3 азота.

В опыт брались половинки листьев; соответствующие вторые половинки листа шли в контрольную пробу, которая сразу же убивалась горячим паром и высушивалась при 60°. В сухом материале определялись углеводы (после 3-часового гидролиза с 2% соляной кислотой, по Бертрану), общий и белковый азот (белковый азот осаждался по методу Барнштейна — Штутцера). Опытные половинки листьев помещались на раствор 0,025 М (NH₄)₂SO₄ в стеклянные камеры, через которые просасывался воздух (15 л/час), лишенный углекислоты либо содержащий 1% углекислоты. Эти две камеры освещались люминесцентными лампами, дававшими освещенность в 6—7 тыс. люкс. 3-я камера, с просасывающимся воздухом, находилась в темноте. После 48 час. (в опыте № 13 после 72 час.) опытные половинки обрабатывались так же, как и контрольные и поступали в анализ. Результаты опытов приводятся в табл. 3.

Как видно из полученных данных, листья, взятые в опыт, содержат много углеводов при низком содержании белкового азота; содержание последнего почти совпадает с содержанием общего азота, что указывает на полное использование поступающего в растение минерального азота. После экспозиции листьев в указанных условиях на растворе сернокислого аммония в них наблюдалось значительное образование белка. При этом в темноте синтез белка шел значительно слабее, чем на свету. На

свету большой синтез белка наблюдается в камере с углекислотой, несмотря на изначально высокое содержание углеводов в листьях.

Результаты опытов показывают, что синтез белка может осуществляться зеленым листом, испытывающим резкий недостаток белка из-за азотного голодания, и в отсутствие фотосинтеза в темноте и в воздухе, лишенном углекислоты, однако процесс синтеза белка резко увели-

Таблица 3

Зависимость синтеза белка листьями махорки от освещения и наличия углекислоты

№ опыта	Вариант	Углеводы в мг на 1 г сух. веса		Общий азот в мг на 1 г сух. веса с поправкой на изменения углеводов во время опыта		Белковый азот в мг на 1 г сух. веса с поправкой на изменения углеводов во время опыта		Синтез белка в мг за время опыта
		исходное содерж. в контроле	изменения за время опыта	контроль	в конце опыта	контроль	в конце опыта	
11	Свет + CO ₂	394,0	— 89,7	15,9	28,6	12,37	18,04	35,4
	Свет — CO ₂	382,0	—139,7	16,6	27,1	13,55	17,26	23,2
	Темнота	389,5	— 95,8	17,1	22,2	14,52	16,92	15,0
12	Свет + CO ₂	421,8	+ 30,1	13,3	19,3	12,54	15,07	15,8
	Свет — CO ₂	461,5	— 16,7	12,0	19,8	12,19	14,14	12,2
	Темнота	473,5	—46,1	11,2	18,7	11,76	12,16	2,5
13	Свет + CO ₂	537,5	+ 11,75	15,2	24,0	12,13	15,52	21,2
	Свет — CO ₂	494,3	— 57,4	15,2	25,4	13,1	15,93	17,7
	Темнота	540,4	— 94,4	14,9	19,9	13,13	14,69	9,7
16	Свет + CO ₂	258,4	+ 53,0	28,7	32,8	21,13	26,59	34,1
	Свет — CO ₂	312,2	— 63,8	24,3	33,9	21,47	24,2	17,1
	Темнота	270,1	— 43,0	23,7	25,7	22,73	21,77	—6,0

чивается при наличии фотосинтеза. Таким образом, и восстановление нитратов и синтез белков могут осуществляться в зеленом растении разными путями и при участии различных систем. С одной стороны, в темноте, вероятно, при использовании углеводов в качестве источника энергии и углеродных цепочек; с другой, на свету при непосредственном и прямом участии фотосинтетического аппарата и первых высокоактивных продуктов фотосинтеза. В зависимости от условий питания, освещения и физиологического состояния соотношение этих процессов может меняться. При наличии интенсивного фотосинтеза восстановление нитратов и образование белка в листе протекают в неразрывной связи с процессом фотосинтеза.

В заключение выражаю глубокую благодарность проф. А. А. Ничипоровичу за руководство работой.

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

Поступило
7 IV 1951

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. О. Таусон, Изв. АН СССР, сер. биол., № 3 (1947). ² В. В. Сапожников, Образование углеводов в листьях и передвижение их по растению, 1890.
³ В. В. Сапожников, Белки и углеводы зеленых листьев, как продукты ассимиляции. Томск, 1894. ⁴ А. А. Ничипорович, Вестн. АН СССР, № 9 (1950).
⁵ Müller—Thurgau, Bot. Jahrb., 1880. ⁶ А. А. Шмук, Тр. с.-хоз. оп. учрежд. Дона и Сев. Кавказа (1924). ⁷ А. А. Шмук и В. Балабуха, Тр. Куб. с.-х. ин-та, 4, 21 (1926). ⁸ G. Nightingale, Bot. Rev., 3, No. 3 (1937). ⁹ S. Eckerson Contr. Boyce Thompson Inst., 4, No. 1—2, 119 (1932). ¹⁰ A. Sommer, Plant Physiol., 11, No. 2 (1936). ¹¹ А. Н. Бах, Bioch. Zs., 31, 443 (1911); 52, 418 (1913).
¹² Д. М. Михлин, Биохимия, 2, в. 2 (1937). ¹³ Н. Burström, Ark. f. Bot., 30 В (8), 1 (1943). ¹⁴ J. Myers, монография J. Frank, W. E. Loomis et al., Photosynthesis in Plants, 1949. ¹⁵ Н. Burström, Lantbruks Högskolans Annaler, 6, 1 (1938).
¹⁶ А. А. Красновский и Г. П. Брин, ДАН, 73, № 6 (1950). ¹⁷ Т. Ф. Андреева и Л. Е. Зубкович, ДАН, 60, № 4 (1948). ¹⁸ Е. А. Бойченко, Биохимия, 12, в. 2 (1947); 13, в. 3 (1948).