

Н. Г. ДОМАН

О СКОРОСТИ ПЕРВИЧНОЙ РЕАКЦИИ ПРЕВРАЩЕНИЯ CO_2 В ПРОЦЕССЕ ФОТОСИНТЕЗА

(Представлено академиком А. И. Опариным 19 V 1952)

Углекислый газ в процессе фотосинтеза поступает в зеленые листья растений почти с такой же скоростью, с какой он поглощается поверхностью крепкого раствора щелочи (1). Поступающий в листья CO_2 переходит в состав органических веществ настолько быстро, что даже в пределах сравнительно больших концентраций углекислого газа в атмосфере не возникает препятствий для его непрерывного поглощения (2). Вследствие этой быстроты выяснение путей фотосинтетического превращения CO_2 в листьях представляет большие экспериментальные трудности. Особые трудности и вместе с тем особый интерес представляет исследование начальных фаз превращений CO_2 — от его поступления в листья до образования первых промежуточных продуктов фотосинтеза. В этой области, несмотря на большие усилия, сделано сравнительно немного наблюдений и еще меньше установлено фактов.

В предыдущем сообщении (3) изложены результаты исследований, в процессе которых из листьев удалось выделить фракцию, содержащую промежуточные продукты фотосинтеза, образовавшиеся за время очень коротких экспозиций.

При постановке этих опытов было замечено, что за время таких коротких экспозиций, которые продолжались от 0,5 до 1 сек., связывалось CO_2 всегда значительно меньше, чем следовало из пропорции при сравнении с более продолжительными экспозициями. Предположение, что за такое короткое время CO_2 не успел проникнуть в листья, казалось недостаточным. Необходимо было узнать, почему при таких коротких экспозициях значительная часть CO_2 , которая, по видимому, поглощается листьями, не обнаруживается в них при дальнейшем анализе. С целью выяснения данного вопроса были проведены следующие опыты.

Нормально фотосинтезирующие листья двухнедельных проростков фасоли непосредственно перед опытом разрезались на две равные симметричные части, которые одновременно вносились в воздушную прозрачную камеру, содержащую меченый CO_2 . В этой камере обе равноценные части листьев находились около 0,5 сек., после чего одновременно вынимались, причем одна часть моментально погружалась в жидкий азот, а другая переносилась во вторую воздушную камеру, содержащую эквивалентную концентрацию немеченого CO_2 . Во второй камере внесенная часть листьев находилась разное время в соответствии с планом опыта, после чего также погружалась в жидкий азот. Как и в предыдущих опытах (3), возможность попадания меченого C^{14}O_2 во вторую камеру исключалась. Данные опыты проводились при освещении лампой накаливания 500 вт, расположенной на расстоянии 60 см от камер. Температура в камерах была 18—20°. Из жидкого азота листья непосред-

ственно переносились в пары кипящей воды, выдерживались в них при 100° в течение 1 мин. и высушивались в вакууме. В материале каждой половины определялась радиоактивность на электронном счетчике.

Результаты подсчета показали, что во всех опытах радиоактивность на 10—20% выше в тех половинках листьев, у которых экспозиция продолжалась дольше, хотя как опытные, так и контрольные половинки листьев поглотили одинаковые количества меченого $C^{14}O_2$.

Следовательно, за время коротких экспозиций, применявшихся в наших опытах, $C^{14}O_2$ успевает проникнуть в листья, но часть радиоактивного углерода C^{14} в виде летучих веществ уходит из листьев при обработке их паром и высушивании в вакууме. Этими летучими веществами могли быть или CO_2 или какой-то один из первых продуктов фотосинтеза, который в наших опытах в течение 1 сек. экспозиции не только успел образоваться из CO_2 , но и в основном также успел превратиться в другие нелетучие вещества.

Необходимо отметить, что Рубеном и др. (4), а в более поздних работах Фагером (5), Кальвиным и др. (6), исследовавшими продукты фотосинтеза у водорослей с использованием метода радиоактивных индикаторов, не было обнаружено сколько-нибудь значительной радиоактивности в летучих фракциях веществ, выделенных из водорослей при непродолжительных экспозициях. Поскольку в наших исследованиях объект и условия опытов были другими и обнаруживалась значительная доля радиоактивности во фракции летучих веществ, для выяснения природы этих веществ был поставлен следующий опыт.

После 1-секундной экспозиции в камере с меченым $C^{14}O_2$ листья замораживались в жидком азоте и переносились в круглодонную колбу, соединенную с поглотителями, через которую немедленно пропусклась струя крутого пара, а затем для высушивания листьев создавался вакуум и легкий подогрев лампой. Так как можно было допустить, что искомыми летучими веществами были CO_2 , $HCOOH$ или $HCON$, то в круглодонную колбу с листьями предварительно были добавлены в небольшом количестве растворы муравьиной кислоты и формальдегида. После разделения и надлежащей очистки задержанных поглотителями летучих веществ были получены кристаллы формальдимедона, муравьинокислого кальция и углекислого бария, из которых только кристаллы последнего вещества ($BaCO_3$) обладали радиоактивностью, которая равнялась 395 имп/мин, что составляло около 18% радиоактивности листьев.

Таким образом, показано, что летучим радиоактивным веществом, выделяющимся из листьев фасоли при 1-секундной экспозиции, является $C^{14}O_2$, повидимому, не успевающий за это время войти в состав органических веществ и находящийся в растворенном или адсорбированном состоянии, или же образовавшийся в результате разложения какого-то нестойкого первичного продукта фотосинтеза.

Одновременно с этим доказано на высшем растении, что в числе первичных продуктов фотосинтеза нет монокарбонных веществ, поскольку они не обнаружены между CO_2 и ранее выделенными нами (3) веществами фракции А в условиях самой короткой экспозиции.

Так как эти выводы непосредственно касаются скорости реакции превращения CO_2 в листьях, необходимо было выяснить, не могли ли иметь место в условиях наших опытов какие-либо препятствия, мешающие нормальному течению процесса фотосинтеза. Например, такие препятствия могли возникнуть при слишком высокой концентрации CO_2 в камерах, вследствие чего поступивший в листья CO_2 встречался бы с недостатком фиксирующих его веществ, что особенно вероятно при слабом освещении.

Чтобы выяснить этот вопрос, а также определить непосредственно скорость превращения поступившего в листья CO_2 , были проведены опыты, при которых в камерах создавалась различная концентрация

CO₂, причем контрольные половинки листьев, так же как и опытные, переносились во вторую камеру, не содержащую радиоактивного газа, и находились в ней разное время.

Результаты опытов, приведенные в табл. 1, свидетельствуют, что основное количество меченого C¹⁴O₂, попавшее в листья, фиксируется в них в течение 2 сек. В данных опытах за первую секунду фиксировалось свыше 80% CO₂, а за вторую — больше 10%.

Таблица 1

| №№ опытов | Половинки листьев фасоли | Концентрация CO ₂ в % | Время экспозиции в сек. | | Общая радиоактивн. в имп/мин | Средн. колич. радиоактивн. C ¹⁴ O ₂ фиксиров. за опред. секунды | |
|-----------|--------------------------|----------------------------------|---------------------------------------|--------------------------|------------------------------|---|------------------|
| | | | в меч. C ¹⁴ O ₂ | в немеч. CO ₂ | | секунда | радиоактивн. в % |
| 1 | Опыт | 1 | 1 | 60 | 5125 | 1-я | 80,8 |
| 1 | Контроль | 1 | 1 | 0 | 4141 | | |
| 2 | Опыт | 1 | 1 | 1 | 3188 | 2-я | 12,2 |
| 2 | Контроль | 1 | 1 | 0 | 2799 | | |
| 3 | Опыт | 1 | 1 | 2 | 3618 | 3-я | 3,5 |
| 3 | Контроль | 1 | 1 | 1 | 3491 | | |
| 4 | Опыт | 1 | 1 | 4 | 4203 | 4—5-я | 1,6 |
| 4 | Контроль | 1 | 1 | 2 | 4146 | | |
| 5 | Опыт | 1 | 1 | 60 | 4951 | 6—61-я | 0,4 |
| 5 | Контроль | 1 | 1 | 4 | 4931 | | |
| 6 | Опыт | 0,05 | 1 | 00 | 280 | 1-я | 86,1 |
| 6 | Контроль | 0,05 | 1 | 0 | 240 | | |
| 7 | Опыт | 0,05 | 1 | 1 | 267 | 2-я | 13,1 |
| 7 | Контроль | 0,05 | 1 | 0 | 232 | | |
| 8 | Опыт | 0,05 | 1 | 4 | 304 | 3—5-я | 4,6 |
| 8 | Контроль | 0,05 | 1 | 1 | 290 | | |

Необходимо учесть и то, что некоторая часть фиксированного за вторую секунду CO₂ фактически была фиксирована в течение одной секунды, так как само пребывание листьев в первой камере в данных опытах продолжалось до 0,5 сек., а отсчет времени производился от начала введения листьев в камеру до момента погружения их в жидкий азот.

В литературе имеются указания на то, что насыщение фотосинтеза для большинства растений происходит уже при концентрации CO₂ порядка 0,1% (7). Однако нашими опытами в пределах примененных концентраций не обнаружено существенной разницы скорости превращения поглощенного CO₂, несмотря на то, что опыты проводились как при концентрации, повидимому, близкой к насыщению фотосинтеза, так и при концентрации гораздо более низкой, лишь немногим превышающей обычное содержание CO₂ в атмосфере. Это свидетельствует о том, что обнаруженные факты несвязывания в течение 1—2 сек. значительной части поглощенного CO₂ объясняются самой скоростью первичной реакции процесса фиксации CO₂, а не отсутствием в листьях достаточного количества фиксирующих его веществ.

Настоящее исследование дает основание предположить, что ранее выделенный нами продукт самой короткой полусекундной экспозиции (3) является действительно первичным стойким продуктом фотосинтеза, поскольку до его возникновения не обнаруживается других продуктов, образуемых из поглощенного листьями CO₂.

Приношу глубокую благодарность проф. А. М. Кузину за руководство работой.

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР и
Лаборатория биофизики, изотопов и излучений
Академии наук СССР

Поступило
19 IV 1952

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ С. П. Костычев, Физиология растений, 1937. ² В. А. Бриллиант, Тр. БИН, сер. IV, эксп. бот., № 1, 103 (1934). ³ Н. Г. Доман, ДАН, **84**, № 5 (1952). ⁴ S. Ruben, M. Kamen and Hassid, J. Am. Chem. Soc., **62**, No. 12, 3443 (1940). ⁵ E. M. Fager, Photosynthesis in Plants, 1949, p. 53—94. ⁶ M. Calvin, J. A. Bass- hem and A. A. Benson, Federation Proc., **9**, 2 (1950). ⁷ E. Rabinovic, Photosynthesis and Related Processes, **1**, N. Y., 1945.