

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Л. А. НЕЗГОВОРОВА

**ПОГЛОЩЕНИЕ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА ЛИСТЬЯМИ РАСТЕНИЙ  
В ТЕМНОТЕ**

(Представлено академиком А. И. Опариным 13 VIII 1952)

Процесс поглощения углекислоты листьями высших растений в темноте известен относительно давно и может обуславливаться различными реакциями. Было показано (1), что количество поглощенной в темноте углекислоты больше того, которое можно объяснить растворением углекислоты в воде, содержащейся в тканях листа. Позже (2, 3) было установлено, что в клеточном соке может идти химическое поглощение углекислоты за счет соединения ее с фосфатами, карбонатами щелочно-земельных металлов с образованием бикарбонатов, а также за счет физической адсорбции на клеточных структурах. Наконец, были получены данные (4-7), согласно которым углекислота может фиксироваться в темноте за счет ферментативных реакций, с образованием веществ, содержащих фиксированный углерод в карбоксильной группе.

В настоящем сообщении излагаются результаты исследования некоторых особенностей процесса темновой фиксации углекислого газа листьями высших растений с использованием радиоактивного углерода  $C^{14}$ . Фракционирование материала проводилось по ранее принятой схеме (9).

Для нас наибольший интерес представляло определение той фиксированной в темноте  $CO_2$ , которая связывалась наиболее прочно, входя, вероятно, в состав карбоксильных групп органических молекул. В предварительных опытах она учитывалась по остатку  $C^{14}$  после обработки листа или отдельных его фракций соляной кислотой.

Проведенные нами опыты показали, что при обработке спиртовой фракции листа соляной кислотой теряется лишь незначительное количество фиксированной в ней углекислоты. Так, в процентах от исходной активности спиртовой фракции теряется изотопа: у махорки 11%, тыквы 10%, фасоли 9%, тюльпана 0%. Аналогичная обработка кислотой фракции, содержащей нерастворимый остаток, приводила к значительной потере фиксированного в этой фракции изотопа, а именно: у тыквы 79%, тюльпана 30%, фасоли 25%, махорки 9%.

Эти данные позволяют говорить о том, что характер соединений углекислоты, поглощенной в темноте, у разных растений различен, а также о том, что углекислота, фиксированная в спиртовой фракции, повидимому, входит в состав карбоксильных групп и поэтому связана более прочно, чем углекислота, связанная в веществах нерастворимого остатка, где она, очевидно, входит в состав карбонатов кальция и магния (2). На основании того, что спиртовая фракция содержит около 80% изотопа углерода от общего количества его, поглощенного листом в темноте, результаты некоторых опытов мы представляем показателями удельной активности именно спиртовой фракции.

1. При изучении темновой фиксации  $CO_2$  в первую очередь встает вопрос о сравнении интенсивности этого процесса с интенсивностью поглощения  $CO_2$  на свету; по данным литературы (6), величина его

Таблица 1

Поглощение  $\text{CO}_2$  листьями в темноте и на свету

Листья	Уд. активность спирт. фракции после 75-мин. экспозиции								Колич. изотопа, поглощ. в темноте, в % от поглощения на свету				
	на свету				в темноте				№№ опытов				
	№№ опытов				№№ опытов								
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	Средн.
Свеклы столовой . . . . .	3415	3416	3548	3962	82	79	60	70	2,4	2,3	1,7	1,8	2,5
Фасоли . . . . .	2261	1286	949	816	56	33	44	36	2,5	2,6	4,6	4,4	3,5
Тыквы . . . . .	1468	2045	2135	1856	79	80	116	70	5,3	3,9	5,4	3,8	4,6
Махорки . . . . .	952	451	394	511	49	41	32	30	5,1	9,1	8,1	5,9	7,5

очень невелика. Нами определения проводились одновременно в двух камерах при  $20^\circ$ : с содержанием  $\text{CO}_2$  3% и  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  0,0233%. Одна из камер освещалась 4 лам-

Таблица 2

Влияние температуры на поглощение  $\text{CO}_2$  в темноте (по данным удельной активности спиртовой фракции)

Листья	$15^\circ$		$25^\circ$	
	в % к $5^\circ$	$Q_{10}$	в % к $5^\circ$	$Q_{10}$
Фасоли . . . . .	152	1,5	232	1,5
Тыквы . . . . .	202	2,0	241	1,2
Конских бобов . . . . .	169	1,7	176	1,0
Свеклы столовой	181	1,8	231	1,3

мер освещалась 4 лампами накаливания по 500 ватт (11 500 люкс, 169 500 эрг/см<sup>2</sup>·сек). Другая была темной. Данные определений изотопа (см. табл. 1) позволяют заключить, что при всех равных условиях поглощение  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  в темноте идет во много раз медленнее, чем на свету, и у исследованных растений не превышает 9% от количества

$\text{C}^{14}\text{O}_2$ , поглощаемого на свету в то же время. Поглощение  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  в темноте у разных видов растений неодинаково.

2. О том, является ли исследуемый нами процесс чисто химическим поглощением или он входит в реакции клеточного обмена, можно судить по температурному коэффициенту. Для определения последнего в опытных камерах с 3%  $\text{CO}_2$  и 0,0233%  $\text{C}^{14}\text{O}_2$ , помещенных в дьюаровские сосуды, создавалась температура  $+5$ ,  $+15$  и  $+25^\circ$ . Данные, полученные после 5-часовой экспозиции (см. табл. 2), показывают, что количество  $\text{C}^{14}\text{O}_2$ , фиксированного в темноте, при повышении температуры возрастает, но температурный коэффициент поглощения уменьшается.

Из этого можно заключить, что поглощение  $\text{CO}_2$  в темноте представляет собой физиологический процесс, так как для чисто химического процесса  $Q_{10}$  во всех интервалах температур должно было бы быть одинаковым.

3. По данным некоторых авторов (5) в опытах с темновой фиксацией  $\text{CO}_2$  водорослями, увеличение времени экспозиции ведет к быстрому насыщению клеток углекислым газом и прекращению его дальнейшего поглощения. Как отмечено нами ранее (8) для высших растений, в пределах одного часа темновая фиксация не прекращается. Подобная же картина наблюдалась в опытах с более продолжительными экспозициями, достигающими 5 час. Это позволяет говорить об отсутствии насыщения тканей листа продуктами темновой фиксации в течение испытанных сроков, т. е. о наличии достаточного количества акцепторов  $\text{CO}_2$ .

С целью выяснения влияния содержания  $\text{CO}_2$  в атмосфере на поглощение его в темноте мы экспонировали листья параллельно в 3 камерах с различным содержанием  $\text{CO}_2$  в течение 5 час.; процентное содержание  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  от  $\text{CO}_2$  во всех камерах было одинаковым и равнялось 0,0233%. Оказалось, что количество  $\text{C}^{14}\text{O}_2$ , поглощенного листьями в темноте, повышается с увеличением содержания  $\text{CO}_2$  в атмосфере (см. табл. 3), что указывает на отсутствие насыщения в темновом поглощении  $\text{CO}_2$  при данных условиях, свидетельствуя о большой «емкости» аппарата поглощения.

Таблица 3

Поглощение  $\text{C}^{14}$  в темноте в зависимости от его содержания в атмосфере (поглощение при 2,0%  $\text{CO}_2$  принято за 100%)

Содерж. $\text{CO}_2$ в атмосфере в %	Семядоли тыквы	Листья				
		тыквы	фасоли	конских бобов	хлопчатника	подсолнечника
3,0	198	120	306	250	185	191
6,0	386	165	349	454	330	306

4. Поглощение  $\text{CO}_2$  в процессе фотосинтеза у растений зависит от возрастных изменений в листьях ( $10^{10-13}$ ). В исследованиях темновой фиксации у водорослей ( $8$ ) также подчеркивается важность использования молодой, энергично растущей культуры. Мы провели определения радиоактивного углерода молодых и зрелых листьев верхних и средних ярусов после экспозиции их в темноте с  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  (табл. 4). Как видим, поглощение  $\text{CO}_2$  у молодых листьев больше, чем у старых, что позволяет говорить о связи этого процесса с физиологическими явлениями вообще и с фотосинтезом в частности, имеющим аналогичную зависимость от

Таблица 4

Поглощение  $\text{C}^{14}$  в темноте молодыми листьями (в % от количества изотопа, поглощенного зрелыми)

Условия опыта	Листья					
	бегонии	салата	спармании	махорки	ваточника	бегонии
Экспозиция 5 час., т-ра +15°; $\text{CO}_2$ 3%; $\text{C}^{14}\text{O}_2$ 0,023% . . . . .	198	153	266	—	—	—
Экспозиция 4 часа, т-ра +20°; $\text{CO}_2$ 3%; $\text{C}^{14}\text{O}_2$ 0,14% . . . . .	—	—	—	156	172	180

возраста ( $10^{10-12}$ ). Более энергичное поглощение  $\text{CO}_2$  в темноте молодыми листьями может быть обусловлено тем, что они более богаты белками, во фракции которых мы находим ( $9$ ) наибольший процент поглощенного изотопа, а также, может быть, в зависимости от различий аминокислотного состава и некоторых физических свойств молодых и старых листьев ( $14$ ).

5. Согласно некоторым данным ( $4, 5$ ), полученным при работе с листьями ячменя и *Chlorella*, условием, необходимым для протекания темновой фиксации, является предварительное освещение объектов. В других исследованиях с *Chlorella* ( $15, 16$ ) авторы отличают резко увеличивающееся и быстро прекращающееся поглощение  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  после предварительного освещения без  $\text{CO}_2$  от постоянной идущей, но менее интенсивной темновой фиксации, зависящей от ферментативных реакций. Во всех описанных опытах мы срезали листья с освещавшихся растений непосредственно перед опытом. В последующих опытах, преследовавших цель выяснения влияния предварительного освещения, листья срезались с растений за 16 час. до экспозиции с изотопом и выдерживались это время

в разных условиях: одни — на свету в камерах с  $\text{CO}_2$  и без  $\text{CO}_2$ , другие — в темноте также с  $\text{CO}_2$  и без  $\text{CO}_2$ .

Различия темновой фиксации в ряде подобных опытов не были обнаружены; листья, бывшие перед экспозицией на свету и в темноте, имели

Таблица 5

Влияние пребывания листьев в отчлененном от растения состоянии на темновую фиксацию  $\text{CO}_2$

Листья	Уд. активность спирт. фракции при продолжит. экспозиции с изотопом					
	1 час		3 часа		5 час.	
	опыт	контр.	опыт	контр.	опыт	контр.
Фасоли . . . . .	48	31	110	47	268	77
Тыквы . . . . .	147	46	214	135	310	140
Тыквы (семядоли) . . . . .	57	28	107	51	164	72
Хлопчатника . . . . .	45	25	51	33	63	27
Хлопчатника (семядоли) . . . . .	28	19	35	26	71	27
Конских бобов . . . . .	100	29	160	77	196	102
Свеклы столовой . . . . .	64	41	146	71	198	96

очень близкие показатели поглощения  $\text{CO}_2$ . Таким образом, в условиях наших опытов нам не удалось констатировать влияния предварительного освещения в присутствии и отсутствии  $\text{CO}_2$  на темновую фиксацию  $\text{CO}_2$ .

6. В то же время выявилось, что на интенсивность темновой фиксации сильно влияет предварительное выдерживание листа в отчлененном от растения состоянии. В табл. 5 представлены данные опытов, в которых контрольные листья срезались с освещавшихся растений непосредствен-

но перед экспозицией с изотопом, а опытные срезались за 16 час. до экспозиции и в течение этого времени находились при таком же освещении, как контрольные.

Из данных, приведенных в табл. 5, возникает предположение, что повышение темновой фиксации у листьев, находившихся несколько часов в срезанном состоянии, связано с накоплением каких-то веществ, выполняющих функцию акцепторов  $\text{CO}_2$ , которые из листьев, не отчлененных от растения, удаляются с непрерывно идущим оттоком.

Сопоставляя результаты этих опытов с опытами, описанными в предыдущем разделе, можно считать, что формирование системы агентов, осуществляющих темновое поглощение  $\text{CO}_2$ , происходит как на свету, так и в темноте независимо от того, находились ли листья в атмосфере с углекислым газом или без него.

Выражаю глубокую благодарность проф. А. А. Ничипоровичу за руководство работой и Л. Н. Беллу за консультацию при проведении физической части работы.

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

Поступило  
22 V 1952

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> H. Willstätter, A. Stoll, Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure, 1918, S. 448. <sup>2</sup> J. H. C. Smith, Plant Physiol., 15, 183 (1940). <sup>3</sup> J. Schafer, *ibid.*, 13, 141 (1938). <sup>4</sup> S. Ruben, W. Z. Hassid, M. D. Kamen, J. Am. Chem. Soc., 61, 5, 661 (1939). <sup>5</sup> S. Ruben, M. D. Kamen, W. Z. Hassid, *ibid.*, 62, 12, 3443 (1940). <sup>6</sup> S. Ruben, M. D. Kamen, *ibid.*, 62, 12, 3451 (1940). <sup>7</sup> S. Ruben, *ibid.*, 65, 2, 279 (1943). <sup>8</sup> A. H. Brown, E. W. Fager, H. Gaffron, Arch. Biochem., 19, 3, 407 (1948). <sup>9</sup> Л. А. Незговорова, ДАН, 79, № 3, 537 (1951). <sup>10</sup> В. Н. Любименко, Содержание хлорофилла в хлорофилльном зерне и энергия фотосинтеза, 1910. <sup>11</sup> В. М. Катунский, Сборн. раб. по физиол. раст. памяти К. А. Тимирязева, 1941, стр. 61. <sup>12</sup> B. N. Sing, K. N. Lal, Ann. of Bot., 49, 144 (1935). <sup>13</sup> О. А. Вальтер, М. Ф. Либиенштерн, З. А. Чижевская, Тр. Бот. ин-та АН СССР, сер. эксп. бот., в. 5, 72 (1941). <sup>14</sup> О. П. Осипова, И. В. Тимофеева, ДАН, 67, № 1, 105 (1949). <sup>15</sup> M. Calvin, A. Benson, Science, 107, 1284, 476 (1948). <sup>16</sup> M. Calvin, J. A. Bassham, A. A. Benson, Federat. Proc., 9, 2 (1950).