

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Член-корреспондент АН СССР А. Л. КУРСАНОВ, Н. Н. КРЮКОВА и  
М. И. ПУШКАРЕВА

**ТЕМНОВАЯ ФИКСАЦИЯ И ОСВОБОЖДЕНИЕ УГЛЕКИСЛОТЫ,  
ПОСТУПАЮЩЕЙ В РАСТЕНИЕ ЧЕРЕЗ КОРНИ**

В ранее опубликованных работах нами было показано, что 10—20-дневные растения фасоли обладают способностью поглощать своими корнями  $\text{CO}_2$  или карбонаты и быстро проводят их к ассимилирующим органам (<sup>1</sup>, <sup>2</sup>). Вместе с тем было обнаружено, что поглощение углекислоты корнями и ее передвижение по тканям растения не связано с засасыванием воды, а является результатом самостоятельного физиологического процесса. Выяснение внутренней стороны этого вновь обнаруженного явления представлялось нам особенно существенным, вследствие чего мы и предприняли ряд дальнейших опытов в этом направлении\*. Полученные результаты в известной мере раскрывают внутреннюю сторону этого интересного процесса и позволяют объяснить некоторые особенности газообмена у растений, которые ранее не находили удовлетворительного объяснения.

Как и в прежних исследованиях, нами были использованы 6—15-дневные растения фасоли сорта Триумф, выращенные в песке на растворе Кнопа при дневном освещении. Для наблюдений за движением углекислоты корни таких растений осторожно освобождались от песка и погружались на 2—3 часа в питательный раствор Кнопа, к которому добавлялся  $\text{Na}_2\text{C}^{14}\text{O}_3$  в таком количестве, чтобы радиоактивность смеси при общем содержании карбоната, равном 0,05%, составляла около  $0,5 \mu\text{C}$  на 10 мл. Во время опытов корни находились в темноте листья же в одних случаях освещались, а в других изолировались от света.

Для того чтобы выяснить, в каких органах и когда карбонат, поступающий через корни, входит в состав органических соединений, в испытываемых растениях определялось общее содержание  $\text{C}^{14}$  и отдельно количество изотопа, находящегося в неорганической форме. Первое узнавалось по количеству  $\text{C}^{14}\text{O}_2$ , освобождающемуся при полном сжигании материала смесью серной и хромовой кислоты; углерод же неорганических соединений определялся по количеству  $\text{C}^{14}\text{O}_2$ , освобождающемуся из материала при подкислении его 1%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  и отгонке с водяным паром. В обоих случаях углекислота улавливалась баритом. Количество  $\text{C}^{14}$  в составе органических соединений высчитывалось по разности между количеством общего и неорганического изотопа.

Можно было ожидать, что углекислота, воспринимаемая корнями из раствора в виде  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , иона  $\text{CO}_3$  или  $\text{CO}_2$ , проходит по бесцветным тканям корней и стебля в неизменном состоянии и, лишь достигнув зеленых тканей, превращается в них в результате фотосинтеза в сахара и другие органические соединения. Однако в действительности процесс протекает иначе. Прежде всего было обнаружено, что углекислота, поступающая из раствора, уже в корнях, при полном отсутствии света, очень быстро входит в состав каких-то органических соединений, из ко-

\* В постановке предварительных опытов принимал участие Б. Б. Вартапетян.

торых она не может быть вытеснена 1% серной кислотой. Органические вещества с вошедшим в их состав меченым углеродом обнаруживаются не только в корнях, но и в остальных частях растения. В табл. 1 представлен один из таких опытов, проводившийся при полном отсутствии света. В данном растении главная часть  $C^{14}$  сосредоточилась в корнях; значительно меньше изотопа было найдено в стебле и еще меньше в листьях.

Таблица 1

Распределение  $C^{14}$  в карбонатах и органических соединениях у 11-дневных растений фасоли, погруженных корнями в раствор  $Na_2C^{14}O_3$  (опыт проводился в темноте; экспозиция 3 часа)

Органы	$C^{14}$ в тыс. имп/мин на 1 г жив. веса			% орган. зап. $C^{14}$
	общий	неорган.	орган.	
Корни . . . . .	149	6	143	96
Стебель . . . . .	16	2	14	88
Листья . . . . .	1,4	0,3	1,1	80

кисильной группы в изолимонную кислоту, а также в шавелевоуксусную и некоторые другие, что ранее было описано для бактерий и животных тканей (6-8). С другой стороны, в недавно опубликованной работе А. Кузина, В. Мереновой и Я. Мамуля (9) сообщается, что  $C^{14}O_2$ , проникающая в корни, сосредотачивается, главным образом, в белковой фракции.

Темновая фиксация углекислоты в корнях носит энзиматический характер. Это следует из того, что при растирании корней, обогащенных изотопом, часть его, находившаяся в органически связанном состоянии, обыкновенно вновь постепенно освобождается (см. табл. 2, опыты 1 и 2). Тот же энзим содержится, видимо, и в листьях, так как при добавлении к корням, обогащенным изотопом, небольшого количества растертых листьев, не содержащих изотопа, освобождение  $C^{14}O_2$  заметно усиливается (см. табл. 2).

При нагревании материала до  $100^\circ$  в течение 5 мин. количество неорганического  $C^{14}$  в нем заметно уменьшается вследствие частичного разложения карбоната кислым соком (см. табл. 3). В то же время количество органически связанного  $C^{14}$  практически не изменяется, что указывает на относительную прочность продуктов темновой фиксации  $CO_2$ . Вместе с тем в прогретом материале при его хранении уже не происходит отщепления  $C^{14}O_2$  вследствие инактивации декарбоксилирующего энзима.

Отщепление углекислоты от органических соединений, в которые она входит в темновой реакции, является обратимым процессом и, как можно полагать, катализируется тем же энзимом. Отчасти это обнаруживается уже у корней, которые в некоторых случаях после растирания не

Однако, независимо от этих различий, во всех органах меченый углерод находился, главным образом (на 80—96%), в органически связанной форме, хотя отсутствие света и исключало возможность световой ассимиляции  $CO_2$ .

Ближайшая природа продуктов темновой ассимиляции углекислоты нуждается в специальном изучении. Укажем лишь, что некоторые исследования (3-5) делают вероятным, что в корнях углекислота может входить в качестве  $\beta$ -карбо-

Таблица 2

Отщепление  $C^{14}O_2$  от органических соединений в растениях фасоли (имп/мин на 1 г жив. веса)

№ опыта	Условия опыта	Содерж. неорган. $C^{14}$
1	Свежерастертые корни . . . . .	980
2	То же через 3 часа при $20^\circ$ . . . . .	1360
3	То же, но с добавлением 0,2 г растертых листьев, не содержащих изотопа, через 3 часа при $20^\circ$ . . . . .	2030

только не освобождают  $C^{14}O_2$ , но, напротив, продолжают переводить карбонаты в органическую форму. Такое направление процесса наблюдается обычно в тех случаях, когда в исходном материале, свободный карбонат содержится в значительных количествах. Еще легче обратимым оказывается процесс темновой фиксации и освобождения углекислоты в листовых пластинках. В табл. 4 приведены два опыта с листьями фасоли, которые предварительно обогащались  $C^{14}$  через корни в условиях полного отсутствия света. При растирании таких листьев в одних случаях освобождалась  $C^{14}O_2$  из органических соединений, возникших в живом растении, в результате темновой фиксации углекислоты (опыт 1); в других же, когда исходное содержание свободного карбоната было достаточно высоко, продолжалась «темновая ассимиляция» его и в растертом материале (опыт 2).

Таблица 3

Влияние термической инактивации на отщепление растертыми корнями фасоли  $C^{14}O_2$  из продуктов темновой фиксации углекислоты (в имп/мин)

Время взятия пробы	Свежий материал		Материал инактивир. 5 мин. при 100°	
	орган. $C^{14}$	неорган. $C^{14}$	орган. $C^{14}$	неорган. $C^{14}$
Сразу . . . . .	24 500	376	23 900	122
Через 3 часа . . . . .	—	1100	—	120

Таблица 4

Освобождение и фиксация  $C^{14}O_2$  с растертыми листьями фасоли (в имп/мин на 1 г жив. веса)

№№ опытов	Условия опыта	Содерж. неорган. $C^{14}$	
		опыт 1	опыт 2
1	Свежерастертые листья . . . . .	26	1159
2	То же через 3 часа при 20° . . . . .	2690	408

легко обратимая фиксация и освобождение углекислоты ферментативным путем. Такой процесс следует, по-видимому, рассматривать как важный подготовительный этап к фотосинтезу, благодаря которому в ассимиляционном аппарате может поддерживаться постоянство концентрации углекислоты и равномерность ее поступления из воздуха и почвы.

Происходит ли в листьях при фотосинтезе непосредственное использование этих лабильных соединений или же  $CO_2$  предварительно отщепляется от них, остается пока невыясненным. Нам удалось, однако, установить, что при избыточном поступлении углекислоты лабильные органические соединения, в составе которых углекислота передвигается из корня, не накапливаются в листьях, а быстро расщепляются с освобождением углекислоты, которая выделяется наружу. Результаты одного из таких опытов, проведенного с двумя близкими по своему развитию растениями фасоли, из которых одно оставалось во время опыта в темноте, а другое освещалось, представлены в табл. 5. В этом опыте, как и в предыдущих, растения погружались на 2 часа корнями в раствор, содержащий  $Na_2C^{14}O_3$ . Постановка этих опытов была дополнена тем, что верхние части растений (стебель и листья) плотно заделывались в стеклянные камеры, в которых производилось улавливание баритом выделяющейся из растений  $CO_2$ .

Приведенные в табл. 5 данные показывают, что растение с освещенными листьями накапливает в своих органах больше  $C^{14}$ , чем растение, полностью затемненное. Аналогичные результаты, полученные нами в предыдущей работе, послужили основанием для вывода о стимулирующем действии света на засасывание углекислоты через корни (2).

Однако количественный учет  $C^{14}O_2$  в окружающей атмосфере, проведенный в настоящей работе, показал, что углекислота, поступающая через корни, не полностью удерживается в растении, а частично выбрасывается наружу через листья. На свету, вследствие использования  $CO_2$

Таблиц 5

Выделение листьями фасоли избытка углекислоты, поступающей через корни (возраст растений 6 дней; корни погружены в раствор, содержащий  $Na_2C^{14}O_3$ ; продолжительность опыта 2 часа; пересчеты даны на 1 растение)

Распределение углекислоты	Общее содерж. в тыс. имп/мин		Колич. поступивш. через корни углекислоты в мг $CO_2$	
	на свету	в темноте	на свету	в темноте
В корнях . . . . .	290	217	1,3	1,0
В стеблях . . . . .	159	46	0,8	0,2
В листьях . . . . .	167	4	0,8	0,02
Во всем растении . . . . .	616	267	2,9	1,22
Выделено через листья наружу . . . . .	54	514	0,25	2,4
Всего поступило через корни	670	781	3,15	3,62

для фотосинтеза, это выделение сравнительно невелико, а в некоторых случаях может и совсем отсутствовать; в темноте же большая часть почвенной углекислоты выделяется наружу, мало задерживаясь в листьях. Поэтому в общем итоге количество засасываемой корнями углекислоты в темноте оказывается не меньше, а в некоторых случаях даже и больше, чем на свету, что не могло быть установлено в предыдущей работе.

Количество углекислоты с меченым углеродом, выделяемое листьями в темноте, настолько значительно,

что не может быть отнесено на долю дыхания, которое к тому же едва ли возможно за счет продуктов темновой фиксации углекислоты. Поэтому приходится допустить, что в данных условиях происходит именно тот процесс ферментативного отщепления  $CO_2$  от продуктов темновой фиксации углекислоты, который наблюдался в опытах с растертыми листьями (см. табл. 2 и 4). Абсолютное количество углекислоты, поступившее через корневую систему, было вычислено на основании показаний счетчика с учетом разведения изотопа носителем. Приведенные в табл. 5 величины показывают, что 6-дневные растения фасоли подняли этим путем за 2 часа к листовым пластинкам около 1 мг  $CO_2$  ( $0,8 + 0,25$ ) на свету и около 2,4 мг в темноте. В пересчете на 100 см<sup>2</sup> листовой поверхности в час это составляет от 2 до 5 мг  $CO_2$ , что может покрыть существенную долю производительности ассимиляционного аппарата листа.

Весьма вероятно, что в природных условиях подача углекислоты через корни может подавлять ее восприятие из воздуха, а в некоторых случаях даже превосходить ассимиляционную способность листьев. В таких случаях, определяя фотосинтез листа на растении методом протягивания воздуха, мы наблюдаем те «скачки» фотосинтеза и «фонтаны»  $CO_2$ , которые отмечались многими исследователями и не находили себе удовлетворительного объяснения.

Институт биохимии им. А. Н. Баха  
Академии наук СССР

Поступило  
12 XII 1952

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> А. Л. Курсанов, А. Кузин, Я. Мамуль, ДАН, 79, 685 (1951). <sup>2</sup> А. Курсанов, Н. Крюкова, Б. Вартапетян, ДАН, 85, 913 (1952). <sup>3</sup> M. Gollub, B. Vennesland, J. Biol. Chem., 169, 233 (1947). <sup>4</sup> I. Ceithami, B. Vennesland, ibid., 178, 133 (1949). <sup>5</sup> L. Poel, Nature, 169, 501 (1952). <sup>6</sup> E. Evans, J. Biol. Chem., 147, 771 (1943). <sup>7</sup> H. Wood, Physiol. Rev., 26, 198 (1946). <sup>8</sup> G. Mulder, J. Biol. Chem., 160, 305 (1945). <sup>9</sup> А. Кузин, В. Меренова, Я. Мамуль, ДАН, 85, 645 (1952).