

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

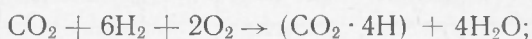
М. В. УЛУБЕКОВА и Л. А. КУЗЬМИНА

**ПРИМЕНЕНИЕ С¹⁴ К ИЗУЧЕНИЮ ФОТОРЕДУКЦИИ
И ХЕМОСИНТЕЗА У ЗЕЛЕННЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ**

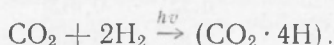
(Представлено академиком А. И. Опариным 15 X 1953)

Применение изотопов к изучению фотосинтеза открывает большие возможности для исследования отдельных реакций этого процесса (1). Восстановление углекислоты по типу хемосинтеза, бактериального фотосинтеза и фотосинтеза зеленых растений может осуществляться в одних и тех же клетках некоторых представителей водорослей. Эти водоросли после нахождения их в атмосфере молекулярного водорода или сероводорода приобретают способность восстанавливать углекислоту иными способами, кроме фотосинтеза, т. е. осуществлять хемосинтез или фоторедукцию (2-4).

В настоящей работе проводилось изучение восстановления углекислоты, меченой С¹⁴, водорослями *Scenedesmus obliquus* и *Chlorella vulgaris* в темноте по типу хемосинтеза:



и на свету по типу фоторедукции:



Культура *Chl. vulgaris* была получена из музея кафедры микробиологии МГУ, культура *Sc. obliquus* — из Института микробиологии АН СССР. Водоросли выращивались при освещении люминесцентными лампами (30 вт на расстоянии 20 см) при $t = 20-25^\circ$ на стерильной минеральной среде (рН 7), содержащей 0,05% Ca(NO₃)₂, 0,01% KNO₃, 0,01% MgSO₄, 0,01% KH₂PO₄ и следы железа.

Клетки отделялись от среды центрифугированием, промывались дистиллированной водой и использовались для опытов в манометрических сосудах в водородной атмосфере. Водоросли в манометрических сосудах находились в дистиллированной воде при рН 6 или в растворе солянокислого гидроксилamina при концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ M, так как было найдено, что применение гидроксилamina предохраняло фоторедукцию водорослей от перехода к фотосинтезу (5).

После адаптации водорослей к водороду при $t = 25^\circ$ вводилось 2,5% С*O₂ от объема сосуда; в темновых опытах еще дополнительно вводилось 1,25% кислорода. Опыты с фоторедукцией проводились при освещенности около 2500 люкс и около 1000 люкс. Световые и темновые опыты ставились параллельно при различной продолжительности, начиная от 15 мин. до 17 час. После окончания манометрического опыта водоросли быстро убивались замораживанием и кипятились 2 мин. в 0,1 N HCl для удаления непрочно связанной углекислоты. Затем клетки водорослей отцентрифугировались от вытяжки, и таким образом нами

получались растворимая и нерастворимая фракции продуктов восстановления углекислоты, меченной C^{14} . Основные результаты представлены в табл. 1 и 2.

Таблица 1
Фоторедукция и хемосинтез у *Scenedesmus*

Продолжит. опыта	Присутствие NH_4OH $1 \cdot 10^{-3}$ M	% C^*O_2 к весу клеток		На свету 2500 люкс		В темноте	
		на свету 2500 люкс	в темноте	% C^{14} в нераств.	% C^{14} в раств.	% C^{14} в нераств.	% C^{14} в раств.
15 мин.	+	0,06	0,005	45,8	54,2	11,3	88,7
	-	0,08	0,002	31,8	68,2	16,9	83,1
1 час	+	—	0,033	—	—	24,2	75,8
	-	0,48	0,009	70,9	29,1	16,9	83,1
4 часа	+	3,88	—	65,2	34,8	—	—
	-	4,78	0,210	82,3	17,7	64,6	35,4
17 час.	+	6,60	0,677	67,1	32,9	71,7	28,3
	-	7,09	0,408	86	14	73,1	26,9
1 час	+	(1000 люкс)	—	(1000 люкс)	—	—	—
	-	0,04	—	32,8	67,2	—	—
	-	0,07	—	27,2	72,8	—	—

Таблица 2
Фоторедукция и хемосинтез у *Chlorella*

Продолжит. опыта	Присутствие NH_4OH $1 \cdot 10^{-3}$ M	% C^*O_2 к весу клеток		На свету 2500 люкс		В темноте	
		на свету 2500 люкс	в темноте	% C^{14} в нераств.	% C^{14} в раств.	% C^{14} в нераств.	% C^{14} в раств.
15 мин.	+	0,08	0,013	42,4	57,6	12,1	87,9
	-	0,12	0,013	53,6	46,4	9,8	90,2
1 час	+	0,82	0,040	51	49	20,8	79,2
	-	1,05	0,013	72,4	27,6	26,7	73,3
3 часа	+	0,82	0,047	75	25	41,1	58,9
	-	0,98	0,050	72	28	30,8	69,2
17 час.	+	1,27	0,420	81,7	18,3	75,8	24,2
	-	1,55	0,135	78,4	21,6	71,9	28,1
1 час	+	(1000 люкс)	—	(1000 люкс)	—	—	—
	-	0,15	—	11,1	88,9	—	—
	-	0,07	—	9,8	90,2	—	—

Обнаружено, что за одно и то же время количество поглощенной C^*O_2 при фоторедукции значительно больше, чем при хемосинтезе. С увеличением продолжительности опытов на свету и в темноте возрастало количество C^*O_2 , поглощенной клетками водорослей, и менялось распределение C^{14} в продуктах восстановления. Найдено, что сначала C^{14} обнаруживался большей частью в растворимой фракции, а с течением времени возрастало его количество в нерастворимой фракции. Эти данные находятся в согласии с данными авторов, изучавших промежуточные продукты фотосинтеза у высших растений (6, 7). При более слабом освещении, около 1000 люкс, в течение часа поглощалось C^*O_2 почти столько же, сколько за 15 мин. при освещении около 2500 люкс. Сравнение табл. 1 и 2 показывает, что в условиях опытов *Chlorella* усваивает C^*O_2 слабее, чем *Scenedesmus*.

Из литературы известно, что в аэробных условиях при темновой фиксации углекислота входит в карбоксильные группы, а на свету быстрее переходит в другие группы (8). В связи с этим представляло интерес провести декарбоксилирование бариевых солей растворимой фракции после наших анаэробных опытов, чтобы ответить на вопрос: какое количество C^{14} находится в карбоксильных группах на свету и в темноте?

Декарбоксилирование бариевых солей нами проводилось сухим прокаливанием при $t = 250-280^\circ$. Результаты представлены в табл. 3.

Таблица 3

Декарбоксилирование бариевых солей

Водоросли	П. олоджит. опыта в час.	Усвоено $C^{14}O_2$ в мг		% C^{14} обнаруж. в $COOH$	
		на свету 2500 люкс	в темноте	на свету 2500 люкс	в темноте
Scenedesmus	1	0,006	0,001	9,4	24,9
	4	0,053	0,003	12,2	35,1
Chlorella	1	0,015	0,001	13,2	33,7
	3	0,021	0,001	13,1	30,1

Эти данные показывают, что при фоторедукции процент C^{14} , обнаруженный в карбоксильных группах, в 2—2,5 раза меньше, чем при хемосинтезе, и, следовательно, восстановление углекислоты при фоторедукции происходило более полно за одно и то же время.

Изучение на одних и тех же объектах различных способов восстановления углекислоты (хемосинтеза и фоторедукции), при исключении аэробных реакций дыхательного процесса, позволяет глубже исследовать сложный процесс фотосинтеза.

В заключение приносим глубокую благодарность Е. А. Бойченко, под руководством которой проводилась эта работа.

Институт геохимии и аналитической химии
им. В. И. Вернадского
Академии наук СССР

Поступило
11 IV 1953

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. П. Виноградов, Е. А. Бойченко, В. И. Баранов, ДАН, 78, № 2, 327 (1951). ² J. Franck, H. Gaffron, Advances in Enzymology, 1, 199 (1941). ³ J. Badin, M. Calvin, J. Am. Chem. Soc., 72, 5266 (1950). ⁴ Д. И. Сапожников, Тр. Бот. ин-та им. В. Л. Комарова АН СССР, сер. IV, 8, 106 (1951). ⁵ Е. Рабинович, Фотосинтез, 1, 1951. ⁶ Н. Г. Доман, ДАН, 84, № 5, 1017 (1952). ⁷ Л. А. Незговорова, ДАН, 79, № 3, 537 (1951); 86, № 4 (1952). ⁸ J. Franck, W. Loomis, Photosynthesis in Plants, 1949.