Доклады Академии наук СССР
1955. Том 104, № 3

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

М. В. УЛУБЕКОВА

ИЗУЧЕНИЕ ФОТОСИНТЕЗА У ЗЕЛЕНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ С C^{14}

(Представлено академиком А. П. Виноградовым 5 V 1955)

Ранее нами изучались фоторедукция и хемосинтез у Scenedesmus obliquus и Chlorella vulgaris (1). Настоящая работа имела своей целью изучение усвоения меченой углекислоты этими же водорослями при фотосинтезе и сравнение интенсивности этих процессов. Одновременно исследовалось влияние на них гидроксиламина в концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ *M*, который вносился после адаптации (2). Опыты проводились с недельными культурами водорослей в дифференциальных манометрах Баркрофта в фосфатном буфере при pH 7 с освещенностью ~ 5000 лк и ~ 1500 лк. Работа с низкими интенсивностями света вызывалась необходимыми условиями при фоторедукции.

Таблица 1

Количество меченой углекислоты, усвоенной 100 мг водорослей

Название водоросли	Присутствие NH_2OH $1 \cdot 10^{-3}$ *M*	Фотосинтез		Фоторедукция		Хемосинтез
		свет		свет		темнота
		~5000 лк	~1500 лк	~5000 лк	~1500 лк	
1. Scenedesmus	—	2,358	0,806	1,764	0,732	0,016
	+	0,378	0,201	0,730	0,156	0,020
2. Chlorella	—	2,547	0,783	2,740	0,604	0,030
	+	0,351	0,199	0,741	0,356	0,045

Нами было найдено, что наиболее полная водородная адаптация происходила в течение 18—20 час. в темноте. После адаптации при 25° вводилось 3% углекислоты от объема сосудика. Углекислота получалась из меченого $BaCO_3$ с удельной активностью 2,3 мк в 1 г, который предварительно разбавлялся в 15 раз добавлением немеченого $BaCO_3$. При хемосинтезе давалось еще дополнительно 1,5% кислорода. После окончания опытов, которые длились 1 час, водоросли убивались жидким азотом, отделялись от фосфатного буфера центрифугированием, высушивались при 60°, и далее проводилось измерение радиоактивности.

Полученные данные представлены в табл. 1 (приводятся средние значения из 4—5 опытов).

В результате наших опытов при слабом свете были обнаружены очень близкие количества поглощенной углекислоты как при фотосинтезе, так и при фоторедукции (3). Однако, как показали предыдущие исследования, с увеличением длительности опыта скорость поглощения углекислоты в фоторедукции и в хемосинтезе уменьшается (1). Наивысшие значения усвоенной углекислоты в фотосинтезе при освещенности ~ 5000 лк у нас достигали в отдельных опытах 3—4% от веса клеток. Продувание углекислоты, сильный свет и еще более молодая культура водорослей могли бы дать, повидимому, более высокие показатели усвоения углекислоты.

В опытах с применением гидроксиламина в концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ *M* найдено, что фотосинтез и фоторедукция наших водорослей сильно по-

давлялись этой концентрацией, а хемосинтез оказался менее чувствительным к ней. Применение концентрации $2 \cdot 10^{-4}$ *M* подавляло фоторедукцию на 25—30%. Оказалось, что на чувствительность к гидроксиламину оказывает сильное влияние физиологическое состояние водорослей и момент внесения ингибитора (например, до адаптации, после адаптации, перед включением света или раньше и т. д.

Таблица 2

Условия опыта	Фракции в % от веса водорослей			
	спирт.	водная	щелочн.	нераств.
Свет . . .	22,6	11,2	8,1	58,1
Темнота . .	37,4	9,0	5,1	48,5

Далее нами проводилось исследование химического состава Scenedesmus obliquus по схеме фракционирования, которая применялась для высших растений ([4]).

Водоросли экстрагировались кипящим 85% этиловым спиртом, кипящей водой, 0,2% щелочью, и далее получалась нерастворимая фракция. Анализы проводились после нахождения водорослей при освещенности ~2000 лк в течение 1 часа и после 15 час. темноты. Данные представлены в табл. 2 (приводятся средние значения из 5 опытов).

В результате анализов были обнаружены большие колебания, которые также, повидимому, объясняются разным физиологическим состоянием водорослей. При сравнении результатов, полученных на свету и в темноте, следует отметить некоторое увеличение спиртовой фракции в темноте.

При фракционировании параллельно определялись восстанавливающие вещества по Бертрану полумикрометодом в модификации Лисицына. Этим методом восстанавливающие сахара были обнаружены только после гидролиза нерастворимой фракции. По этому вопросу имеется много литературных данных. Одни авторы находили у водорослей простые сахара в небольших количествах, другие отмечали отсутствие их ([5], [6]). Далее, с целью выяснения пути синтеза органического вещества нами проводилось изучение распределения C^{14} у Scenedesmus obliquus при фотосинтезе (с освещенностью ~ 5000 лк) и в темноте. Опыты ставились в течение 1, 5, 15, 60 мин. Меченая углекислота давалась в количестве 1%. Схема фракционирования применялась та же, только время экстракций было сокращено до 10 мин. Полученные данные представлены в табл. 3 (средние значения из 4—5 опытов).

Таблица 3

Распределение C^{14} по фракциям у Scenedesmus

Время опыта, мин.	Свет					Темнота				
	% C^*O_2 к весу клеток	% C^{14} от общей активности				% C^*O_2 к весу клеток	% C^{14} от общей активности			
		спирт.	водн.	щелочн.	нераств.		спирт.	водн.	щелочн.	нераств.
1	0,018	51,3	35,6	5,4	7,7	0,002	47,3	33,9	7,7	11,1
5	0,086	47,6	17,0	7,2	28,2	0,005	46,3	19,8	19,4	14,5
15	0,240	38,4	14,1	12,9	34,6	0,010	66,4	16,8	5,6	11,2
60	0,755	39,2	9,1	11,2	40,5	0,014	36,6	15,2	12,2	26,0

В этих опытах найдено, что при фотосинтезе соотношение активностей по фракциям менялось, наибольший процент C^{14} от общей усвоенной радиоактивности находился при 1-минутных экспозициях в спиртовой и в водной фракциях, а с течением времени увеличивался в нерастворимой; при этом содержание C^{14} в водной фракции сильно уменьшалось. В темноте этот процесс происходил медленнее. Распределение радиоактивного углерода по фракциям с течением времени на свету в общем очень напо-

минает распределение в темноте, хотя в темноте углекислоты усваивается много меньше, как это было отмечено и для высших растений ([4], [7], [8]).

Аналогичное поведение меченой углекислоты при распределении по фракциям, которое мы наблюдали в фотосинтезе и ранее в фоторедукции, подтверждает мысль о большом сходстве этих процессов, различающихся выделением кислорода.

В результате проведенной работы установлено соотношение количеств углекислоты, которое зеленые клетки могут усваивать при различных типах обмена веществ. В то время как в течение 1 часа при хемосинтезе усвоение CO_2 происходит лишь в сотых долях процента от сухого веса клеток, при фоторедукции оно приближается к фотосинтезу, достигая 1—2%. В более длительных опытах, однако, происходит снижение и хемосинтеза и фоторедукции и особенно ясно выступает преобладание фотосинтеза как основного источника создания органических соединений у зеленых водорослей.

В заключение выражаю глубокую благодарность Е. А. Бойченко за руководство работой и Н. И. Захаровой за помощь в работе.

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

Поступило
5 V 1955

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] М. В. Улубекова, Л. А. Кузьмина, ДАН, **93**, № 5, 915 (1953), [2] H. Gaffron, J. Gen. Physiol., **26**, No. 2, 195 (1942). [3] E. Badin, M. Calvin J. Am. Chem. Soc., **72**, No. 11, 5266 (1950). [4] Л. А. Незговорова, ДАН, **79**, № 3, 537 (1951). [5] A. Brown, Am. J. Bot., **33**, 228 (1946). [6] С. В. Горюнова, Химический состав и прижизненные выделения синезеленой водоросли Oscillatoria Splendida Grew, Изд. АН СССР, 1950. [7] Н. Г. Доман, ДАН, **84**, № 5, 1017 (1952); **93**, № 1, 115 (1953). [8] A. Brown, E. Fager, H. Gaffron, Arch. Biochem., **19**, No. 3, 407 (1948).