

АКАДЕМИЯ НАУК СССР

Институт физиологии растений  
им. К. А. ТИМИРЯЗЕВА

Н. П. ВОСКРЕСЕНСКАЯ

ФОТОСИНТЕЗ  
и  
СПЕКТРАЛЬНЫЙ  
СОСТАВ СВЕТА



ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»  
Москва 1965

Ответственный редактор  
проф. А. А. НИЧИПОРОВИЧ

## ПРЕДИСЛОВИЕ

Одной из характерных черт современного этапа исследования фотосинтеза, так же как и многих других проблем биологии, является бурное накопление новых экспериментальных данных, часто меняющих, казалось бы, твердо установленные представления о механизме фотосинтеза. Круг вопросов, включающихся в проблему фотосинтеза, непрерывно увеличивается, появляются новые аспекты. При этом особое значение зачастую приобретают те вопросы, которым ранее уделяли недостаточное внимание.

Роль спектрального состава света для фотосинтеза относится именно к таким разделам фотосинтеза. В последние годы, благодаря изучению фотосинтеза в монохроматическом свете, изменился коренным образом взгляд на механизм процесса. Была выдвинута плодотворная гипотеза об обязательной кооперации в фотосинтезе двух фотохимических реакций.

Около 15 лет назад в СССР в лаборатории фотосинтеза Института физиологии растений АН СССР под руководством профессора А. А. Ничипоровича были начаты исследования путей превращения  $\text{CO}_2$  в фотосинтезе при воздействии светом различного спектрального состава и физиологического значения этого воздействия для жизнедеятельности растительного организма. Исследование этого вопроса в последующем получило распространение в Канаде, США, Франции, ФРГ. Действие качества света пока изучается главным образом с применением широких участков спектра, различных по чистоте и условно обозначаемых как «красный» или «синий» свет. Физиолого-биохимические эффекты, вызываемые воздействием красного или синего света или даже простым изменением соотношения красных и синих лучей и источниках света, настолько существенны, что уже сейчас можно говорить о регуляции фотосинтетической деятельности растения с помощью изменения спектрального состава света.

Безусловно, дальнейшим этапом исследований следует считать работу с узкими участками спектра. Последнее позволит идентифицировать пигменты, ответственные за различное действие на фотосинтез красных и синих лучей спектра, и, возможно, выделить другие активные лучи. Идентификация пигментов,

вызывающих различные ответы фотосинтетического аппарата, позволит также выявить вероятную роль для фотосинтетического метаболизма пигментов фотоморфогенеза, регулирующих общий метаболизм и формообразовательные процессы в растениях.

В предлагаемой читателю книге основное внимание уделено действию красного и синего света на интенсивность и качественный состав продуктов фотосинтеза, а также сделаны попытки объяснить механизм этого действия. Экспериментальные материалы автора касаются именно этих вопросов.

В данной книге собрана главным образом современная литература, так как история многих разделов фотосинтеза, в том числе и действия света разного спектрального состава, изложена в монографии Рабиновича, а также в соответствующих томах энциклопедий по физиологии растений (редактор Руланд). При изложении материала затронуты некоторые общие вопросы фотосинтеза. Однако в этом смысле книга ни в коей мере не претендует на полноту. Более того, автор полагает, что проблема фотосинтеза стала настолько широкой, что детальное изложение всех ее аспектов в одной книге — задача трудно выполнимая. Сводки и монографии последнего времени строятся по такому плану, который предусматривает детальное рассмотрение какой-либо одной из сторон фотосинтеза. Примером может служить монография Гаффрана, в которой основное внимание сосредоточено на вопросах энергетики фотосинтеза. В подобном духе написаны также обзоры по фотосинтезу Красновского, Ягендорфа, Ничипоровича, Кальвина и Бассема, Дейзенса, все они освещают различные стороны проблемы фотосинтеза.

По действию спектрального состава света на фотосинтез, насколько нам известно, более поздних сводок, чем сводки Габриэльсена (1960) и Симониса (1960) не имеется. В отечественной литературе наиболее полно действие спектрального состава света на растение рассмотрено в монографии Клешнина (1954). Однако действию качества света на фотосинтез в ней уделено не большое внимание.

Автор надеется, что данная книга поможет читателю понять значение света различного спектрального состава для фотосинтеза, главным образом имея в виду его физиолого-биохимическое действие.

Основные эксперименты автора выполнены совместно с Г. С. Гришиной. Отдельные вопросы разрабатывались при участии Е. Г. Зак, Ю. Митрофанова и Р. Григорьевой.

С рукописью ознакомились Л. Н. Белл, И. И. Гунар, В. Б. Евстигнеев, А. А. Красновский, А. Ф. Клешнин, А. А. Ничипорович, Н. Н. Протасова; их ценные указания были учтены при подготовке рукописи к печати. Всем указанным лицам автор приносит глубокую благодарность.

## В В Е Д Е Н И Е

Проблема фотосинтеза представляет один из центральных разделов фотобиологии. Предметом фотобиологии является изучение ответных реакций животных и растительных организмов на воздействие ультрафиолетовой, видимой и дальней красной радиации.

Толчком для возникновения фотобиологии послужило развитие фотохимии — открытие законов, лежащих в основе взаимодействия фотоактивных веществ («фоторецепторов») со светом, а также обнаружение последних в биологических объектах.

В результате поглощения молекулой (атомом, ионом) кванта света образуется активированная светом молекула (атом, ион), дальнейшая судьба которой зависит от природы самой молекулы и окружающих условий. Изменив, вследствие поглощения света, свой энергетический уровень, молекула может стать способной к изомеризации, полимеризации, окислению, фотолизу, может соединиться с другими молекулами, вызвать генерализацию, т. е. передать энергию другой молекуле. При этом передача энергии от фоторецептора может осуществляться от одной молекулы к другой в цепи последовательных реакций. И то же время поглощенный квант света может быть просто потерян в окружающую среду в виде тепла или флуоресценции без осуществления какой-либо работы.

Интересы фотохимиков<sup>1</sup> в фотобиологии сосредоточены именно на исследовании механизма первичного взаимодействия кванта света с молекулой фоторецептора, образовании фотопродукта и квантовой эффективности этой реакции как для модельных систем, так и живых биологических объектов (Терренси, 1947, 1959).

Изменения же метаболизма и, как следствие, анатомии и морфологии биологических объектов, вызванные взаимодействием

<sup>1</sup> Начало становления фотохимии относят к концу XVIII века, когда Шееле (Scheele, 1742–1786) обнаружил, что коротковолновые лучи солнечного спектра ускоряют разложение серебряных солей (см. «Photophysiology», VI, 1964).

света с пигментом (фоторецептором), являются предметом исследований фотобиологов, точнее — фотофизиологов.

Физиология растений связана с объектами, которые по своей организации наиболее подвержены световым воздействиям: растительные клетки содержат разнообразные пигменты, способные поглощать свет различных участков спектра (хлорофилл, каротиноиды, ферменты, витамины). Ответные реакции растения на свет поражают своим многообразием. Это относится как к автотрофным, так и к гетеротрофным растениям. Как известно, свет контролирует рост, развитие, движения растений (фототропизм, фототаксис, фотoperиодизм). Фоторецепторы, участвующие в реакциях подобного рода, играют роль пусковых и регуляторных механизмов, меняющих отдельные звенья метаболизма растения и создающих тем самым возможности к проявлению в растении различных эффектов, часто весьма существенных для жизнедеятельности последнего, но не связанных с накоплением энергии.

Отличительной чертой автотрофных растений, как известно, является их «космическая роль» (Тимирязев) — способность осуществлять фотосинтез. Фотосинтез — уникальный процесс на Земле, связанный с запасанием энергии света растением, — вызывается появлением в растении пигмента хлорофилла. Еще классические работы Тимирязева, в которых было найдено соответствие между длинноволновым и коротковолновым максимумами поглощения света хлорофиллом и активностью фотосинтеза, заложили прочные основы для изучения спектральной зависимости фотосинтеза. Однако даже количественная сторона фотосинтеза — его интенсивность в разных участках спектра — окончательно не выяснена. Изменения же качественной стороны (фотосинтетический путь усвоения углерода  $\text{CO}_2$ ) до последнего времени вовсе не были изучены. В то же время около сорока лет назад Любименко предполагал существование в фотосинтезе «вторичных фотохимических реакций», возникающих в коротковолновой области спектра и влияющих на фотосинтетический метаболизм  $\text{CO}_2$ . Однако это предположение не было экспериментально обосновано.

В предлагаемой читателю книге сделана попытка обобщить современные литературные данные (включая собственные исследования), касающиеся действия спектрального состава света на фотосинтез зеленых, главным образом, высших растений. Наиболее подробно разбирается ответная реакция растений, выраженных в условиях освещения полным спектром фотосинтетически активной радиации (400—710 мк), на внезапное воздействие длинноволновыми или коротковолновыми лучами спектра.

В связи с выяснением механизма действия света разного спектрального состава на количественную и качественную стороны фотосинтеза в книге обсуждается принципиальный вопрос о возможности широкого использования энергии света взамен

энергии дыхания для целого ряда узловых реакций общего метаболизма растения. Поэтому подробно рассмотрены отличительные особенности процессов: поглощения (и восстановления) кислорода зеленым растением на свету, усвоения нитратного азота,  $\text{SO}_4^{2-}$ , некоторых биосинтезов и роль для этих реакций спектрального состава света. Выявленные особенности позволили расширить представления о фотосинтетических возможностях ассимиляционного аппарата растений и не ограничивать их ассимиляцией  $\text{CO}_2$ , а распространить также на различные биосинтезы. В заключение приводятся материалы, свидетельствующие о наличии элементов хроматической адаптации у высших растений. В связи с этим дается понятие о низко- и высокозависимой реакциях фотоморфогенеза, пигментах, регулирующих эти реакции, и обсуждается значение реакций фотоморфогенеза для фотосинтеза.

Физиологико-биохимический анализ возможностей изменения фотосинтетического метаболизма высших растений под влиянием спектра различного спектрального состава в таком аспекте, насколько нам известно, делается впервые. В то же время мы отдаляем себе отчет в том, что в настоящей работе не затронуты все стороны проблемы. Часть вопросов решена в общей форме, некоторые моменты можно рассматривать как постановку вопроса. Однако глубокий интерес к действию качества света на фотосинтез, возникший в наши дни, а также первые, обнадеживающие результаты, полученные в данной области исследователями на молекулярном, клеточном, органном и организменном уровнях исследований открывают широкие перспективы для дальнейшего изучения этой важной для фотосинтеза проблемы. Кроме того, для физиолога растений регуляция фотосинтеза спектральным составом света в сочетании с регуляцией роста и развития растений (фотоморфогенез) представляет особый интерес. Успехи в этой области могут привести к неожиданно большим результатам, способствующим повышению качества и количества сельскохозяйственной продукции.

## Г л а в а I

### СПЕКТРАЛЬНЫЙ СОСТАВ СВЕТА И ИНТЕНСИВНОСТЬ ФОТОСИНТЕЗА

#### 1. К ИСТОРИИ ВОПРОСА

Зависимость фотосинтеза от спектрального состава света интересовала ботаников давно, по существу уже на заре открытия самого фотосинтеза (Senebier, 1782). Блестящие исследования Тимирязева, сделанные еще во второй половине XIX века, послужили основой для развития тех взглядов на этот вопрос, которые существуют и по настоящее время. В 1869 г. в короткой заметке в «Botanische Zeitung» Тимирязев опубликовал результаты своих исследований. В строго продуманных и точно поставленных экспериментах Тимирязеву впервые удалось показать, что максимум фотосинтеза (ассимиляции  $\text{CO}_2$ ), как и максимум поглощения света хлорофиллом, соответствует красным лучам. При замене красного света на желтый или зеленый ассимиляция  $\text{CO}_2$  падала, что совпадало с уменьшением поглощения света хлорофиллом. Таким образом, было найдено соответствие между количеством поглощенного света и величиной произведенной работы.

Установив совпадение максимума поглощения света хлорофиллом с ассимиляцией  $\text{CO}_2$  для длинноволновой части спектра, Тимирязев затем показал это совпадение и для коротковолновых лучей. Скорость «разложения»  $\text{CO}_2$  в длинноволновой (от 550 мкм и выше) и в коротковолновой (до 550 мкм) частях спектра в относительных величинах составляла 100 и 54 (источник света — солнце). При этом энергия «сине-фиолетовых» лучей спектра (до 550 мкм) составляла лишь 70% по отношению к энергии красно-желтых. Этим обстоятельством легко объяснить падение фотосинтеза в коротковолновых лучах по сравнению с красными. Однако главное в опытах Тимирязева — не количественный учет интенсивности фотосинтеза по спектру, а совпадение максимума ассимиляции  $\text{CO}_2$  с обоими максимумами поглощения света хлорофиллом — длинно- и коротковолновым. В дальних красных лучах Тимирязев не обнаружил фотосинтеза, что совпадает с отсутствием поглощения света хлорофиллом в этой области спектра. Таким образом, Тимирязев впервые исследовал спектр действия фотосинтеза, показав, что ассимиляция

$\text{CO}_2$ , наблюдается в тех лучах, которые поглощаются хлорофиллом, и сделал вывод, что фотосинтез становится возможным только благодаря поглощению света указанным пигментом (Тимирязев, 1903, цит. по изд. 1948 г.).

Исследование свойств хлорофилла, последовательное применение закона сохранения энергии к процессам, происходящим в растении, использование для фотосинтеза открытого в то время Беккерелем явления сенсибилизации послужили Тимирязеву основой для распространения закона Гроугуса («только поглощенный свет производит фотохимическое действие») на процесс фотосинтеза и интерпретации спектральной зависимости ассимиляции  $\text{CO}_2$  от спектральных свойств хлорофилла. Итак, была окончательно показана роль хлорофилла как пигмента, обусловливавшего появление функции фотосинтеза у зеленых растений. В заключении крупнейской лекции Тимирязев сказал: «Все, что нам известно о функции хлорофилла, может быть выведено из его оптических свойств; и этот вывод вполне понятен, так как процесс усвоения углерода — в то же время процесс усвоения солнечного света. Таким образом, функция хлорофилла может быть по праву названа космической функцией растений» (Тимирязев, 1903).

На несколько лет позднее Тимирязева Энгельман (Engelmann, 1882, 1884) остроумными, правда скорее полуколичественными, методами подтвердил выводы Тимирязева о спектре действия фотосинтеза<sup>1</sup>. Он также обнаружил, что спектр действия фотосинтеза зеленых растений, кроме главного максимума фотосинтеза в красной области, имеет второй максимум — в голубой и фиолетовой области и минимум — в зеленых лучах. Тимирязев получил данные из опытов на высших растениях, пользуясь тонким газометрическим методом измерения  $\text{CO}_2$ ; Энгельман — на зеленых водорослях, определяя скорость фотосинтеза (выделение кислорода) косвенным методом по распределению аэробных бактерий в разных лучах спектра. И Тимирязев, и Энгельман работали с монохроматорами, что позволяло получать чистые участки спектра, хотя и с невысокими интенсивностями света. Основные выводы исследователей совпадают и свидетельствуют о том, что фотосинтез происходит в широком участке видимой области спектра и имеет два максимума — в красной и синей области; это связано с максимумами в спектре поглощения света хлорофиллом.

После того как была установлена возможность ассимиляции  $\text{CO}_2$  только в тех участках спектра, где свет поглощается хлорофиллом, и, следовательно, показано, что хлорофилл ответствен за фотохимическую реакцию, ведущую к восстановлению  $\text{CO}_2$  и

<sup>1</sup> К сожалению, в зарубежной литературе до сих пор приоритет в данном открытии приписывается Энгельману, хотя еще Тимирязев обратил внимание на эту неточность.

образованию органического вещества, зависимость фотосинтеза от спектрального состава света изучалась многочисленными исследователями. Не ставя задачей дать подробный обзор всех работ по этому вопросу, мы можем отослать интересующихся историей к соответствующим сводкам (Рабинович, 1951, 1953, 1959; Gabrielsen, 1940, 1960).

## 2. СПЕКТР ДЕЙСТВИЯ ФОТОСИНТЕЗА И СПЕКТРАЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФОТОСИНТЕЗА

Основной закон фотохимии гласит, что только поглощенный свет может вызвать определенный эффект. Когда пигмент или несколько пигментов поглощают свет в различных участках спектра, возникает понятие о спектре действия реакции. Спектр действия фотосинтеза, так же как и других вызываемых светом процессов, выводят путем измерения величины ответной реакции на воздействие светом (в данном случае фотосинтеза) узких участков спектра при одинаковой интенсивности падающего света. Таким образом, спектр действия фотосинтеза — кривая, изображающая зависимость интенсивности фотосинтеза от длины волны падающего света (Gaffron, 1960; Белл, 1964). Следовательно, изучение спектров действия связано с выяснением возможности осуществления процесса, вызываемого светом, в тех или иных участках спектра.

Зная спектр действия реакции, можно было бы идентифицировать поглощающий свет пигмент. Однако для сложных биологических систем, например листа или суспензии водорослей, совпадение спектра действия со спектром поглощения пигментов может и не обнаружиться. Последнее связано с тем, что активный пигмент может находиться в малых количествах и его спектр поглощения маскируется большим содержанием неактивных пигментов. Так, например, фитохром — фотоактивная система, важная для общего обмена и морфогенеза растений, — имеет спектр действия с максимумами в области 660—730 мк. Однако спектр поглощения фитохрома в зеленом листе полностью маскируется спектром поглощения хлорофилла (Hendricks, 1960; см. также гл. V данной книги).

Кроме того, в многопигментной системе возникают трудности, связанные с передачей поглощенной пигментами энергии к другим веществам, которые являются действительными катализаторами реакции. Наилучшим примером в этом отношении может быть пигментная система фотосинтезирующих организмов. Для тех областей спектра, где свет поглощается только хлорофиллом, интенсивность фотосинтеза будет определяться эффективностью работы хлорофилла. Если же свет поглощается еще и другими пигментами (например, каротиноидами), возникает необходимость в исследовании их роли для фотосинтеза. Фотосин-

тезирующие растения содержат как минимум один хлорофилл — а. Хлоропласты высших растений имеют два хлорофилла — а и б, в различных формах и состояниях. Эти формы обладают разным максимумом поглощения по спектру. Предполагают, что отдельные формы хлорофилла для фотосинтеза неравнозначны (Рабинович, 1962). Поэтому даже без учета изменений, которые могут внести в спектр действия фотосинтеза эффекты, обусловленные поглощением света ферментами — регуляторами тока электронов и окислительно-восстановительных реакций в хлоропласте, присутствие каротиноидов у зеленых растений и фикобилинов у группы синезеленных водорослей осложняет понимание спектров действия фотосинтеза, так как до сих пор не решен вопрос об их эффективности для фотосинтеза (French, 1961; Рабинович, 1962).

Основными условиями при исследовании спектров действия фотосинтеза принято считать: 1) определение спектров действия при низких интенсивностях монохроматического света на линейном, восходящем участке световой кривой фотосинтеза, где скорость фотохимических, а не темновых реакций определяет величину фотосинтеза; 2) точный учет количества радиации по падающим квантам, возможно также выравнивание падающей радиации по энергии; 3) употребление объектов с невысокой концентрацией хлорофилла (например, тонкой суспензии водорослей, пропускающей 40—50% падающего света).

Только при соблюдении этих условий может быть выявлена четкая структура спектра действия фотосинтеза.

При физиологических исследованиях действия спектрального состава света на интенсивность фотосинтеза высших растений в большинстве случаев применяется свет широких участков спектра (100 мк и более).

При таких условиях, при малом числе точек измерения, возникло понятие о физиологической эффективности различных участков спектра для фотосинтеза ( $Q$ ) (Gabrielsen, 1940).

Следовательно  $Q$  — это отношение интенсивности фотосинтеза в данном участке спектра ( $\Phi\lambda$  — данная область спектра) к интенсивности фотосинтеза в красной области спектра ( $\Phi\lambda$  — красная область спектра). Интенсивность света разных участков спектра, как и при определении спектров действия фотосинтеза, должна быть уравнена по энергии или по падающим квантам.

Физиологическая эффективность фотосинтеза в данных лучах следующая  $Q\lambda = \frac{\Phi\lambda \text{ данные лучи}}{\Phi\lambda \text{ красные лучи}}$ . При определе-

нии доли поглощенной энергии, которая использована на фотосинтез, вводится понятие энергетической эффективности фотосинтеза. Итак, энергетическая эффективность фотосинтеза [энергетический выход фотосинтеза ( $\epsilon$ )] — это отношение количества энергии, запасенной растением в виде энергии химических свя-

зей, к общему количеству энергии, поглощенной фотосинтезирующим объектом за определенное время. Прямое экспериментальное определение количества энергии, накапливаемой при фотосинтезе, затруднительно. Поэтому чаще всего об этой величине судят на основании газометрических определений (т. е. измерения  $\text{CO}_2$  или  $\text{O}_2$ ). В последнее время разработан прямой (калориметрический) способ определения запасаемой при фотосинтезе энергии (Белл, Меринова, 1961).

При определении энергетической эффективности фотосинтеза необходимо учитывать, что луч света, падающий на освещенный объект, в зависимости от структуры последнего, поглощается, отражается, пропускается и рассеивается в различной степени. Только при учете этих слагаемых можно правильно оценить количество поглощенного объектом света и сопоставить его с количеством, использованным на реакцию (French, 1959; Murchio, Allen, 1962; Белл, 1964). Наиболее правильное измерение световой энергии, которая падает на рассеивающий объект, можно сделать с помощью сферы Ульбрихта (Rabideau, French, Holt, 1946; French, 1959). Другая величина, характеризующая эффективность превращения световой энергии в химическую,— квантовый выход. Квантовый выход фотосинтеза ( $\Phi$ ) определяется обычно числом молекул выделенного  $\text{O}_2$  или поглощенной  $\text{CO}_2$  при поглощении одного кванта света. Если фотосинтез выразить в молекулах поглощенной  $\text{CO}_2$  или выделенного  $\text{O}_2$ , а количество поглощенного света ( $J$ ) в квантах, то

$$\Phi = \frac{\text{число молекул выделенного } \text{O}_2 \text{ (поглощенной } \text{CO}_2)}{\text{число поглощенных квантов}}$$

Квантовый выход фотосинтеза меньше единицы. Поэтому в литературе часто употребляется величина, обратная квантовому выходу — квантовый расход ( $\frac{1}{\Phi} = n$ ), указывающий, сколько квантов света должно быть поглощено растением для выделения одной молекулы  $\text{O}_2$  или поглощения одной молекулы  $\text{CO}_2$  (Белл, 1952, 1964)<sup>1</sup>. Итак, спектр действия и физиологическая эффективность характеризуют относительную эффективность для фотосинтеза падающих на растение лучей различной длины волн. Энергетическая и квантовая эффективности характеризуют количество эффективной для фотосинтеза энергии.

<sup>1</sup> При определении квантовых выходов по спектру необходимо учитывать, что фотопреакция происходит только тогда, когда энергия кванта достаточна для преодоления энергетического барьера данной реакции. Как известно, фотосинтез может осуществляться в длинноволновой области спектра с квантами энергии около 40 ккал. Все более коротковолновые активные в фотосинтезе лучи обладают, следовательно, избыточной, по-видимому, неиспользуемой в фотоакте фотосинтеза, энергией. В таком случае, при выравнивании света по квантам, энергия в более коротковолновом участке спектра должна быть значительно выше.

### Эффективность различных лучей спектра для фотосинтеза зеленых водорослей

В 1919 г. Варбург (Warburg, 1919) впервые применил для фотосинтетических исследований манометрический метод, получивший в дальнейшем широкое распространение при изучении фотосинтеза. В 1923 г. Варбург и Негелайн (Warburg, Negelein, 1923) с помощью этого метода определили спектральную зависимость фотосинтеза хлореллы. Синий свет ( $\lambda = 436 \text{ мкм}$ ), зеленый ( $546 \text{ мкм}$ ) и желтый ( $578 \text{ мкм}$ ) были получены за счет ртутных линий ртутно-кварцевой лампы. Оранжево-красная часть спектра ( $610-690 \text{ мкм}$ , с максимумом  $660 \text{ мкм}$ ) изолировалась из света лампы накаливания. Истинный фотосинтез замерялся по разности газообмена на свету и в темноте. Суспензия хлореллы была такой плотной, что поглощала полностью свет во всех участках спектра. Определялись интенсивность фотосинтеза и квантовый выход по спектру.

Наибольшая эффективность фотосинтеза была обнаружена для оранжево-красной области. Варбург и Негелайн полагают, что падение квантового выхода в синей области обусловлено поглощением света каротиноидами. Квантовый выход фотосинтеза, найденный этими исследователями в красной области спектра, приблизительно равен 0,25.

Через 20 лет после появления работы Варбурга и Негелайна Эмерсон и Льюис (Emerson, Lewis, 1943) исследовали спектр действия фотосинтеза, эффективность фотосинтеза по спектру и максимальные квантовые выходы у хлореллы с улучшенной техникой освещения (монохроматический свет узких полос, которые в сумме охватывали весь спектр видимой радиации), большим количеством измерений и с культурой водоросли различной плотности. Вместо квантового выхода в красной области, равного 0,25, они получили 0,09. Причинами различий в результатах работ Варбурга и этих авторов могут быть техника определения и условия выращивания хлореллы. Эти причины подробно разбираются в литературе (Рабинович, 1953, 1959). Относительные же различия в квантовых выходах по спектру в работе Эмерсона и Льюиса совпадают с полученными Варбургом и Негелайном: в красных лучах квантовый выход выше, в более коротковолновых — ниже (рис. 1).

Эмерсон и Льюис на одном и том же исследуемом материале сравнивали спектры общего и активного для фотосинтеза поглощения света суспензией хлореллы (рис. 2). Для этого бралась разбавленная суспензия водоросли, которая поглощала только около половины падающего света. Оба спектра — общее поглощение света суспензией и активное для фотосинтеза — изображены таким образом, чтобы они совпадали при  $660 \text{ мкм}$ . Как видно из рисунка, ход кривых заметно различен выше

690 мк. Около 720 мк активное для фотосинтеза поглощение падает почти до нуля. В то же время общее поглощение света супензией остается еще заметным. Расхождение между количеством общей и активной для фотосинтеза поглощенной энергией наблюдается также в сине-зеленой области спектра (ниже 570 мк). В этой области поглощенный свет был менее активен

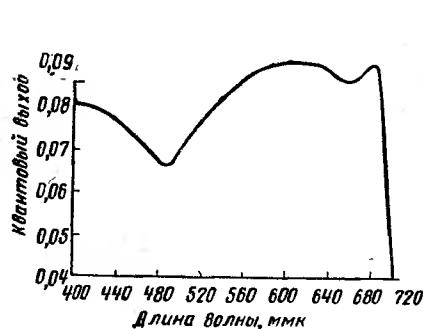


Рис. 1. Квантовый выход фотосинтеза как функция длины волны света для хлореллы (Emerson, Lewis, 1943)

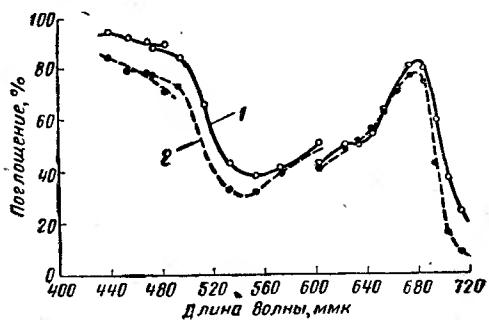


Рис. 2. Сравнение общего (1) и фотосинтетически активного (2) поглощения света супензией хлореллы (Emerson, Lewis, 1943)

для фотосинтеза, чем красный. Авторы полагают, что уменьшение связано с малой активностью для фотосинтеза каротиноидов, на долю которых приходится значительное количество света, поглощаемого в коротковолновой области спектра. Этой возможностью авторы, так же как Барбург и Негелейн, объясняют падение квантовых выходов фотосинтеза в коротковолновой области. Однако выше 530 мк поглощение света каротиноидами настолько ничтожно, что практически может не приниматься во внимание. В то же время и в этой области спектра ( $\lambda=570$  мк), как видно из рис. 1 и 2, эффективность фотосинтеза и квантовые выходы продолжают оставаться ниже, чем в красной области. Снижение эффективности фотосинтеза в этой области до сих пор не имеет удовлетворительного объяснения. Впрочем, это относится и к области поглощения света каротиноидами.

В последнем случае трудно оценить, что является причиной снижения эффективности фотосинтеза — поглощение света в этой области эффективными и неэффективными для фотосинтеза пигментами (например, каротиноидами, неактивными формами хлорофиллов), при котором значительная доля поглощенной энергии не используется на фотосинтез, или же, существование фотопререкций, отвлекающих часть поглощенной энергии от фотосинтеза.

Гексо и Блинкс (Hexo, Blinks, 1950) для зеленой водоросли *Ulva lactuca* получили спектры действия фотосинтеза, подобные полученным Эмерсоном и Льюисом для хлореллы.

Итак, результаты исследования спектров действия и эффективности фотосинтеза по всему спектру для зеленых водорослей, проведенные с максимальным соблюдением всех методических условий, немногочисленны. Однако все они одинаково указывают на падение как физиологической, так и квантовой эффективности фотосинтеза в сине-зеленой области по сравнению с красной. Причины этого падения до сих пор окончательно не выяснены и, к сожалению, внимание ученых к фотосинтезу в этой области спектра невелико. Гораздо больше исследований посвящено изучению спектров действия фотосинтеза в красной и дальней красной области, в связи с выяснением эффективности для фотосинтеза различных форм хлорофилла (Рабинович, 1962).

### Эффективность различных лучей спектра для фотосинтеза высших растений

Для высших зеленых растений спектры действия фотосинтеза изучены менее подробно, чем для водорослей. Выяснение же энергетической эффективности фотосинтеза и максимальных квантовых выходов по спектру ограничено в первую очередь оптическими трудностями, возникающими при работе с этими объектами. Негомогенность строения листьев особенно затрудняет оценку роли отдельных пигментов для фотосинтеза. Оптическую плотность листьев невозможно изменять так, как у супензии водорослей. Вследствие этого нельзя спектр поглощения пигмента сопоставить со спектром действия фотосинтеза. Поэтому листья высших растений, главным образом, являются объектами для изучения не энергетической, а физиологической эффективности для фотосинтеза света разного качества и интенсивности (Gabrielsen, 1960).

В течение трех последних десятилетий сделано несколько попыток определения спектра действия фотосинтеза и физиологической эффективности различных лучей спектра для высших растений. К ним относятся работы Гувера, Габриельсена, Бернса, Стоя, Иокум и Блинка.

Гувер (Hoover, 1937) работал с листьями пшеницы, выращенной на свету ламп накаливания (16 000 лк) в контролируемых условиях (температура 21° и постоянная влажность), при повышенной (в 2—3 раза по сравнению с естественной) концентрации CO<sub>2</sub>. Спектр действия фотосинтеза определялся в пределах от 365 до 750 мк на прямолинейном участке световой кривой при ненасыщающих фотосинтез интенсивностях света, порядка 3000 лк, т. е. свет выравнивался по количеству падаю-

щей энергии. Концентрация  $\text{CO}_2$  в опытах и температура были те же, что и при выращивании. Поправка на дыхание — среднее из двух определений (до и после экспозиции растений на свету). Опыты проводились с тремя источниками освещения: солнечным светом, лампой накаливания и ртутной лампой. Подробная характеристика фотосинтеза по спектру получена с помощью фильтров Христиансена, пропускавших лучи узких участков спектра. Усредненная кривая спектра действия фотосинтеза представлена на рис. 3.

Полученные результаты указывают, что фотосинтез неодинаков по всему спектру — от 365 до 750 мкм. Он имеет два четких максимума, которые соответствуют максимумам поглощения света хлорофиллом в красной и синей области — 665 и 440 мкм.

Пределом осуществления фотосинтеза Гувер считает участки спектра в коротковолновой области — ниже 365 мкм и в длинноволновой — между 720 и 750 мкм. Далее автор отмечает, что увеличение пропускания и отражения света листом в зеленой области снижает эффективность падающего зеленого света для фотосинтеза. Спектр действия фотосинтеза, полученный Гувером и пересчитанный на одинаковое количество падающих квантов света, представлен на рис. 4 (Burns, 1938). При таком расчете второй, коротковолновый максимум фотосинтеза становится больше, чем первый.

Обстоятельное исследование Габриельсена по выяснению спектральной зависимости фотосинтеза сделано в основном на растении горчицы, выращенной в естественных условиях освещения (Gabrielsen, 1940). В опытах использовались растения одного возраста (к началу образования цветов). Свет

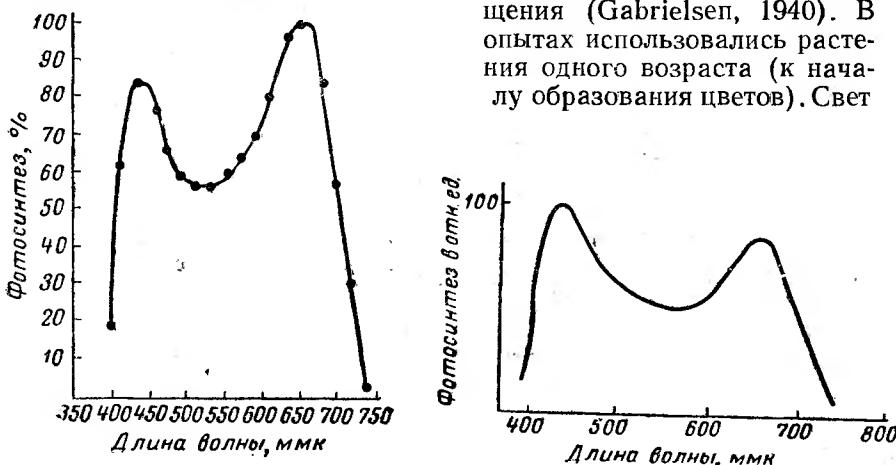


Рис. 3. Спектр действия фотосинтеза для листьев пшеницы (Hoover, 1937)

Рис. 4. Спектр действия фотосинтеза (по Гуверу), рассчитанный на одинаковое количество квантов (Burns, 1938)

разного спектрального состава, так же как в опытах Гувера, выравнивался по количеству падающей энергии. Характеристика изменений фотосинтеза по спектру проводилась менее подробно, чем у Гувера. С помощью светофильтров вычленялись три участка спектра: сине-голубой, зелено-желтый и оранжево-красный. Фотосинтез определялся на отрезанном листе, в токе воздуха, при естественной концентрации  $\text{CO}_2$ . Истинная интенсивность фотосинтеза вычислялась путем внесения поправки на дыхание. Для часовой экспозиции дыхание в темноте составляло около 1 мг  $\text{CO}_2$  на 50 см<sup>2</sup> в час.

Таблица 1  
Спектральная зависимость интенсивности фотосинтеза у горчицы  
(Gabrielsen, 1940)

Источник освещения	Фильтр	Максимум пропускания светофильтра, $\lambda$	Область спектра, вычленяемая светофильтром, $\lambda$	$Q_\lambda = \frac{A}{A_{\text{ок}}}$
Солнечный свет	Сине-голубой . . . . .	435	410—465	0,35
	Зелено-желтый . . . . .	540	500—580	0,60
	Оранжево-красный . . . . .	660	620—700	1,00
Лампа накаливания, обогащенная сине-фиолетовыми лучами	Сине-голубой . . . . .	440	410—465	0,37
	Зелено-желтый . . . . .	545	500—590	0,62
	Оранжево-красный . . . . .	645	610—680	1,00
Кинолампа	Сине-голубой . . . . .	440	410—475	0,39
	Зелено-желтый . . . . .	545	500—590	0,59
	Оранжево-красный . . . . .	660	620—700	1,00

Примечание. А — интенсивность фотосинтеза на свету данного спектрального состава.

$A_{\text{ок}}$  — интенсивность фотосинтеза на оранжево-красном свете.  
 $Q_\lambda$  — физиологическая эффективность фотосинтеза.

Спектр действия фотосинтеза (вернее, физиологическая эффективность  $Q$  для различных участков спектра) определялся при 100 кал на 50 см<sup>2</sup>/час (около 23 400 эрг/см<sup>2</sup>·сек), т. е. при одинаковом количестве падающей энергии. Интенсивность фотосинтеза при этом составляла около 2 мг  $\text{CO}_2$ /50 см<sup>2</sup>·час. При испытании действия трех источников освещения (солнечного света и ламп, приближающихся по составу радиации к солнечному спектру, но несколько различавшихся между собой, главным образом по интенсивности) автором получены в общем совпадающие между собой результаты. В табл. 1 приводятся данные по спектру действия фотосинтеза у горчицы (Gabrielsen, 1940).

Во всех случаях Габриельсен получил результаты, которые указывают, что максимум фотосинтеза соответствует красно-оранжевой части спектра.

Фотосинтез падает от красной к зеленой области и наименьшие показатели дает для синего света. Следовательно, в отличие от данных Гувера, наименьшие значения фотосинтеза Габриельсеном получены не для желто-зеленой, а для сине-голубой области спектра. Автор склонен объяснить эти различия тем, что концентрация хлорофилла у исследуемых объектов — горчицы в его опытах и пшеницы в опытах Гувера — была неодинаковой: значительно ниже у пшеницы. К сожалению, это чисто априорное заключение, не подтверждено прямыми экспериментами, поскольку измерения концентрации пигментов или количества поглощенного листом света в зависимости от спектрального состава Габриельсеном не проводились.

Такую спектральную зависимость фотосинтеза Габриельсен позже получил и для других растений (Gabrielsson, 1948).

Кроме того, было исследовано, как может влиять на поглощение света в отдельных участках спектра концентрация хлорофилла в листьях (Gabrielsson, 1948a). Оказалось, что в природных условиях для большинства видов растений концентрация хлорофилла в листьях такова, что обеспечивает практически одинаковое поглощение, особенно для синей и красной области. Следовательно, концентрация хлорофилла для большинства листьев высших растений не может являться фактором, определяющим эффективность фотосинтеза по спектру. Поэтому учет эффективности фотосинтеза по спектру в первом приближении для листьев можно вести по количеству падающих квантов, а не по поглощенных. Только в очень молодых листьях концентрация хлорофилла ниже насыщающей, однако это существенно для эффективности фотосинтеза только тогда, когда интенсивности света будут очень низкими.

Позднее специальные исследования спектров поглощения листьев для широкого диапазона высших растений различных зон местообитания, принадлежащих к различным семействам, подтвердили в основном выводы Габриельсена (Клешнин, Шульгин, 1959; Клешнин, 1960; Шульгин, Клешнин, 1959; Шульгин, 1960; Tageeva et al., 1961; Montravieff, 1963).

Наиболее совершенными в методическом отношении опыты по определению спектра действия фотосинтеза у высших растений следует считать опыты Стоя (Stoy, 1955), который, как и Гувер, работал с проростками пшеницы, выращенными в контролируемых условиях при искусственном освещении. Концентрация хлорофилла в листьях была высокой. Фотосинтез и темновое дыхание, на которое вводилась поправка при вычислении интенсивности фотосинтеза, определялись с помощью инфракрасного газоанализатора. В опытах применялась система мощ-

ных ламп, из спектра которых с помощью интерференционных светофильтров вырезались соответствующие области. Ниже приводится спектр действия фотосинтеза, полученный исследователем при выравнивании света по эйнштейнам/см<sup>2</sup> ( $8,05 \cdot 10^{-9}$  эйнштейн/см<sup>2</sup> для 430 мкм было равно  $2,25 \cdot 10^4$  эрг/см<sup>2</sup> · сек, а для 650 мкм —  $1,46 \cdot 10^4$  эрг/см<sup>2</sup> · сек.).

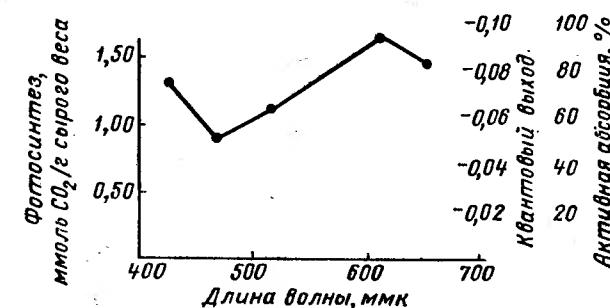


Рис. 5. Спектр действия фотосинтеза пшеницы (Stoy, 1955)

Автор полагает, что его данные находятся в соответствии с результатами Габриельсена. Однако на рисунке ясно видно наличие двух максимумов фотосинтеза (красного и меньшего синего при 430 мкм). Последнее противоречит опытам Габриельсена и совпадает с результатами, полученными Гувером. Применение интерференционных фильтров позволило Стою более подробно, чем в опытах Габриельсена, исследовать синюю часть спектра и показать снижение фотосинтеза от 430 к 470 мкм, что наблюдал и Гувер (см. рис. 3). Области спектра с максимумом 430 и 470 мкм соответствуют значительному поглощению света каротиноидами. В то же время при 470 мкм поглощение света каротиноидами несколько слабее, чем при 430 мкм. Между тем в этой области (470 мкм) ясно видно большее падение фотосинтеза, чем в области 430 мкм. На основании этих результатов Стоя делает предположение о наличии в листе фотоактивных в области 470 мкм каталитических систем, с помощью которых поглощенная энергия помимо фотосинтеза используется на другие процессы (например, восстановление нитратов). Этой системой могут быть флавопротеины.

Йокум и Блинкс (Yokum, Blinks, 1955), определяя квантовые выходы у морских водорослей, для сравнения провели также опыт с зелеными листьями *Phyllospadix scouleri*. Результат, который они получили, указывает, что квантовые выходы падают в области ~500 мкм. По мнению авторов, это свидетельствует

о меньшей эффективности каротиноидов для фотосинтеза по сравнению с хлорофиллом.

Несколько отличны от всех описанных опытов работы Бернса (Burns, 1937, 1938). Этот исследователь определял фотосинтез и поглощение энергии света на одном и том же объекте. Спектр поглощения света пигментами исследовался следующим образом: учитывалось количество падающего света, а также отраженного и прошедшего через ацетоновую вытяжку пигментов той же оптической плотности, что и в листе. Таким образом получался спектр, названный автором «первичный спектр поглощения». Кроме того, количество поглощенного листом света определялось и с помощью интегрирующей сферы. Данные обоих способов определения не всегда давали одинаковые результаты, очевидно вследствие явлений рассеивания в мутной среде, которую представляет собой лист, особенно лист хвойных (Рабинович, 1953). Метод определения фотосинтеза — потенциометрический. Эффективность различных лучей для фотосинтеза определялась количеством света, необходимым для достижения компенсационного пункта фотосинтеза.

Для хвои сосны наименее эффективной оказалась область спектра 400—500 мк. После 550 мк (557 мк) наблюдалось увеличение эффективности использования света (источник света — ртутные лампы с системой светофильтров). Те же результаты получены и для хвои ели. Для проростков же пшеницы максимум фотосинтеза приходился на 430 мк (Burns, 1942).

Можно сделать вывод, что в синих лучах хвоя сосны поглощает свет какими-то неактивными для фотосинтеза пигментами. У пшеницы это неактивное в синей области поглощение, отсутствует вовсе или же выражено незначительно. Таким образом, Бернс пытается объяснить различия в структуре спектра действия фотосинтеза для разных растений физиологическими особенностями исследуемых объектов. К сожалению эти работы не привлекли к себе должного внимания, но, по-видимому, Бернс, используя в работе разные типы наземных растений, столкнулся с явлением филогенетической адаптации, в данном случае выразившемся в изменении спектра действия фотосинтеза. Серебристая сосна, которая наименее эффективно использовала в опытах Бернса коротковолновый свет, относится к группе светолюбивых растений (Kramer, Decker, 1944), а по некоторым наблюдениям (Lubimenko, 1923; Любименко, 1924а, 1926), коротковолновый свет действительно менее, чем длинноволновый благоприятен для фотосинтеза сосны. Только в самое последнее время начали обращать внимание на роль адаптивных эффектов для спектров поглощения пигментов у зеленых растений (см. гл. V). Вероятно, измерение спектров действия фотосинтеза у представителей различных групп высших растений могло бы дать существенные материалы о приспособлении фотосин-

тетического аппарата растений к окружающим световым условиям.

Итак, из всех приведенных работ только в одной (Stoy, 1955) говорится, что меньшая эффективность для фотосинтеза коротковолновых лучей может быть объяснена затратами в этой области энергии света, поглощенной хлорофиллом, на иные, чем фотосинтез, процессы, спектр действия которых отличается от спектра действия фотосинтеза. Этим процессом он считает вызванное светом восстановление никрозов с участием флавопротеинов. Однако в 1943 г. Эмерсон и Льюис (Emerson, Lewis, 1943) нашли, что освещение клеток хлореллы коротковолновыми лучами резко усиливает дыхание (определенное по поглощению кислорода). Постановка этих опытов была такова, что вначале измерялось поглощение кислорода (дыхание) в темноте, до освещения, затем уменьшение поглощения на свету (за счет появления фотосинтеза) и снова — дыхание в темноте, после воздействия светом различных длин волн. После освещения коротковолновым светом, во второй период темноты, дыхание всегда оказывалось больше, чем до освещения. Фотосинтез был также меньше в этой области. Максимальный эффект увеличения дыхания («экстра»  $O_2$ ), обнаружен для этого растения в области 480 мк. При 435 и 530 мк эффект усиления дыхания светом уменьшался. Однако дыхание и в этом случае было больше, чем после освещения красным светом. Исследователи сделали заключение, что спектральный состав света оказывает влияние на интенсивность дыхания. Поэтому они предлагают поправки на дыхание вносить дифференцированно для каждой длины волны света. В то же время авторы указывают, что физиологическая природа «экстра» — поглощения кислорода, по-видимому, иная, чем обычного дыхания. Поскольку активация дыхания совпадает с лучами той области спектра, которые поглощаются каротиноидами, было высказано предположение, что каротиноиды участвуют в активации дыхания светом и что снижение квантового выхода в синей области обусловлено именно этим фактом. Таким образом, падение фотосинтеза в синей области спектра по сравнению с другими может быть вызвано, вероятно, не только поглощением света неактивными для фотосинтеза пигментами, но также тем, что этот свет вызывает реакции, отвлекающие поглощенную энергию от восстановления  $CO_2$ , что приводит к падению фотосинтеза.

Итак, спектр действия фотосинтеза имеет всегда максимум в красной области и затем менее ярко выраженный — в синей. Иногда у высших растений наблюдается пологое падение фотосинтеза от красной области к синей, без появления второго максимума. Следовательно, начиная от 570—580 мк, в коротковолновой области спектра эффективность использования света для фотосинтеза всегда ниже, чем в красной. Величина снижения

неодинакова по спектру. Наименее эффективны, по данным опытов Стоя, Гувера, Габриельсена, синие лучи области 480 мкм, а по данным Бернса,— 436 мкм. Более длинноволновая область спектра — от 480 до 580 мкм, к сожалению, исследована мало.

Обсуждая вопрос об активности лучей различных участков спектра для фотосинтеза, необходимо несколько коснуться значения для фотосинтеза крайних областей спектра видимой радиации, лучи которых, хотя и поглощаются хлорофиллом, но оказываются мало эффективными для фотосинтеза. Это касается областей спектра ниже 380 мкм и выше 700 мкм. Изучение фотосинтеза за пределами этих областей, казалось бы, не представляет особого интереса для физиологов, так как интенсивность фотосинтеза в этих областях составляет ничтожную долю по сравнению с фотосинтезом в области от 400 до 680 мкм. Однако коротковолновая область интересна в связи с выяснением возможного использования в фотосинтезе ближних ( $\lambda > 360$  мкм) ультрафиолетовых лучей, которые содержатся в естественном излучении на больших высотах. Этот вопрос представляет интерес также при выборе источников освещения для светокультуры растений, так как длинноволновый ультрафиолет имеет существенное значение для жизнедеятельности растений (Гурский и др., 1961; Дубров, 1963).

Принципиальные возможности использования ближнего и дальнего ультрафиолета для фотосинтеза и история вопроса рассмотрены в сводке Габриельсена (Gabrielsen, 1960).

Коротковолновой границей спектра для фотосинтеза зеленых растений можно, по-видимому, считать участок спектра около 330 мкм. Более далекая область 320—260 мкм является уже областью резкого подавления фотосинтеза. Так, спектральная кривая эффективности подавления фотосинтеза ультрафиолетовым облучением у хлореллы имеет максимум в области 250 мкм. При 265 мкм подавление составляет около 50%, при 320 мкм падает почти до нуля (Белл, Меринова, 1961а). Действие ультрафиолета (254 мкм) вызывает явление хлороза у молодых листьев ячменя. При этом хлороз появляется не только в непосредственно облученных, но и в соседних участках листьев. Предполагают, что ультрафиолет нарушает синтез хлорофилла. Ответственны за это нарушение легкоподвижные водорастворимые соединения, возникающие под влиянием освещения ультрафиолетом (Chessin, Cohen, 1962).

Недавно (McLeod, Kanwisher, 1962) были исследованы квантовые выходы фотосинтеза в области ближнего ультрафиолета. Найдено, что квантовая эффективность ниже 350 мкм быстро падает. Падение, по-видимому, вызывается присутствием веществ, поглощающих свет и таким образом конкурирующих с хлорофиллом за падающую световую энергию. Ниже 270 мкм выделение кислорода не происходит.

В высокогорных районах коротковолновая граница использования света для фотосинтеза распространяется, возможно, дальше, чем в местностях, где солнечный свет содержит мало ультрафиолета (Gabrielsen, 1960; Гурский и др., 1961; Шахов и др., 1962). Возможно, что это связано с адаптацией каким-либо образом высокогорных растений к большим дозам ультрафиолета в солнечном спектре. Можно думать, что роль ультрафиолета для фотосинтеза и его эффективности должна приобретать особое значение в тех условиях, где в общем светопотоке имеется значительное количество ультрафиолета. Однако действие ультрафиолета на аппарат фотосинтеза и его функцию изучено недостаточно.

Особое место занимают исследования падения фотосинтеза в дальней красной области спектра. Однако этот эффект, открытие которого тесно связано с изучением «второго эффекта Эмерсона» — ролью дополнительного света для фотосинтеза, удобнее рассмотреть несколько позднее.

### 3. СВЕТОВЫЕ КРИВЫЕ ФОТОСИНТЕЗА В РАЗНЫХ УЧАСТКАХ СПЕКТРА

Фотосинтез меняется в зависимости от интенсивности света нелинейно. Эту зависимость принято изображать в виде кривой. Если на оси абсцисс откладывать увеличивающиеся интенсивности света, на оси ординат — интенсивность фотосинтеза, то вначале, до определенных интенсивностей, кривая будет иметь прямолинейный участок. В этом участке, вследствие малой интенсивности освещения, фотосинтез ограничивается недостатком фотопродуктов. С увеличением интенсивности освещения кривая постепенно выходит на плато. Это происходит тогда, когда интенсивность фотосинтеза начинает ограничиваться нефотохимическими реакциями. Скорость перехода световой кривой фотосинтеза в горизонтальную линию (плато) сложное явление, подробная интерпретация его не входит в нашу задачу (Рабинович, 1953; Gaffron, 1960). Можно только указать, что наступление плато и его уровень определяются целым рядом внутренних и внешних факторов. Внутренние факторы — условия поглощения света фотосинтезирующим органом в зависимости от его структуры, концентрации пигмента, устойчивости фотосинтетического аппарата к воздействию светом, скорости темновых реакций фотосинтеза. К внешним факторам относятся концентрация CO<sub>2</sub>, влажность, температура и в первую очередь условия освещения. Все факторы, влияющие на ход световой кривой фотосинтеза, принято делить на факторы «слабого» и «сильного» света, т. е. на такие, которые проявляются только на слабом или на сильном свете (на плато). К первым относятся концентрация фотосинтетически активных и неактивных пигментов, плотность

сусpenзии водорослей и структура листа, спектральный состав света. Ко вторым — температура, концентрация  $\text{CO}_2$ , энзимов и питательных веществ (рис. 6). Как видно на рисунке, кривые 1 и 3 имеют разный угол наклона при ненасыщающих интенсивностях света и сливаются в районе плато. Кривые 1 и 2, наоборот, имеют одинаковый угол наклона на слабом свету и разный уровень плато (короткие стрелки на рисунке указывают положение компенсационных пунктов фотосинтеза).

Определение максимального квантового выхода фотосинтеза возможно только на линейном участке световой кривой. Именно в этих условиях будет максимально эффективна фотохимическая работа фотосинтетического аппарата. Квантовый выход выше линейного участка в зоне, близкой к насыщению, естественно, должен падать. Однако возможно, что даже на восходящем участке световой кривой имеются два отрезка, неравнозначных для эффективности фотосинтеза (около компенсационного пункта фотосинтеза и выше).

Подъем кривой фотосинтеза ниже компенсационного пункта может быть в два раза круче, чем подъем при более высоких интенсивностях света. Это означает, что эффективность фотосинтеза, а следовательно и квантовый выход, могут меняться даже в пределах начального участка световой кривой (Кок, 1948). Правда это явление, называемое в литературе «эффектом Кока», наблюдается не всегда, условия и причины его появления окончательно не выяснены (Белл, Меринова, 1964). Предполагается, что в любом участке спектра ход световой кривой соответствует описанной выше картине (рис. 6) и что уровень фотосинтеза на плато одинаков для всех длин волн света. Иными словами, при любой длине волны, при насыщающих интенсивностях, скорость фотосинтеза должна стать независимой от длины волны и спектр действия фотосинтеза должен потерять всякую структуру (ср. рис. 6, 1 и 3). Это положение прочно вошло в литературу (Рабинович, 1953, 1959). В то же время оно высказано без достаточных оснований. Дело в том, что спектральная зависимость хода световых кривых фотосинтеза вплоть до насыщения исследована мало.

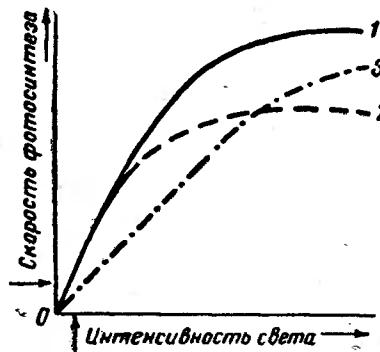


Рис. 6. Световые кривые фотосинтеза (Gaffron, 1960)

1 — нормальный ход кривой; 2 — при недостатке  $\text{CO}_2$ , отравлении цианидом или низкой температуре; 3 — при недостатке хлорофилла, отравлении наркотиками или подавлении выделения кислорода. Короткие стрелки — компенсационный пункт фотосинтеза

ниже компенсационного пункта может быть в два раза круче, чем подъем при более высоких интенсивностях света. Это означает, что эффективность фотосинтеза, а следовательно и квантовый выход, могут меняться даже в пределах начального участка световой кривой (Кок, 1948). Правда это явление, называемое в литературе «эффектом Кока», наблюдается не всегда, условия и причины его появления окончательно не выяснены (Белл, Меринова, 1964). Предполагается, что в любом участке спектра ход световой кривой соответствует описанной выше картине (рис. 6) и что уровень фотосинтеза на плато одинаков для всех длин волн света. Иными словами, при любой длине волны, при насыщающих интенсивностях, скорость фотосинтеза должна стать независимой от длины волны и спектр действия фотосинтеза должен потерять всякую структуру (ср. рис. 6, 1 и 3). Это положение прочно вошло в литературу (Рабинович, 1953, 1959). В то же время оно высказано без достаточных оснований. Дело в том, что спектральная зависимость хода световых кривых фотосинтеза вплоть до насыщения исследована мало.

Для высших растений спектральные световые кривые впервые были получены Габриельсеном (Gabrielsen, 1940) для горчицы. Описание методики опытов приведено выше, в связи с данными о спектрах действия фотосинтеза. Световые кривые фотосинтеза сняты вплоть до насыщающих интенсивностей желто-зеленого и красного света (рис. 7). Для синего света,

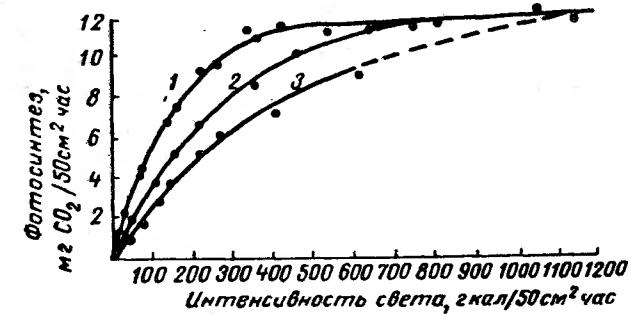


Рис. 7. Спектральные световые кривые фотосинтеза у горчицы (Gabrielsen, 1940)

1 — красный свет; 2 — зеленый; 3 — синий

вследствие недостаточной интенсивности в опытах, измерений фотосинтеза при насыщающих интенсивностях не производилось (рис. 7). Наклон световых кривых к оси абсцисс для разных участков спектра оставался постоянным в широких пределах интенсивностей.

Световое насыщение фотосинтеза, как видно из рис. 7, раньше всего наступало для красной области спектра, позднее всего — для синей; желто-зеленый свет занимал промежуточное положение. Уровень фотосинтеза на плато был одинаков для красного и зеленого света. Для синего света насыщение фотосинтеза, как указывалось, не достигнуто. Поэтому уровень плато остался неизвестным. Физиологическая эффективность разных лучей спектра (выше компенсационного пункта в данных опытах) при фотосинтезе 2—10  $\text{мг}/50 \text{ см}^2 \cdot \text{час}$  оставалась постоянной (табл. 2). При этом для всего исследованного участка световой кривой фотосинтеза интенсивность света в коротковолновой области спектра, обеспечивающая одинаковый с красной областью фотосинтез, значительно превышала квантовое равенство падающего света<sup>1</sup>.

Позже (Stoy, 1955) спектральные кривые фотосинтеза определялись для пшеницы (методические приемы подробно описаны

<sup>1</sup> Однаковое количество падающих квантов в опытах Габриельсена достигалось при соотношении синего и красного света около 1,6—1,7.

Таблица 2

Интенсивность света (в относительных единицах), обеспечивающая одинаковый фотосинтез в разных участках спектра (Gabrielsen, 1940)

Фотосинтез, мг $\text{CO}_2/50 \text{ см}^2\text{-час}$	Свет		
	сине-фиолето- вый	желто-зеленый	оранжево- красный
2	2,50	1,75	1,00
4	2,43	1,64	1,00
6	2,43	1,69	1,00
8	2,56	1,66	1,00
10	—	1,64	1,00

ны в разделе «Спектр действия фотосинтеза и спектральная эффективность фотосинтеза». На рис. 8 представлены световые кривые фотосинтеза пшеницы для  $\lambda$  430, 470, 520, 615 и 655 мкм (в сравнении с белым светом). Белый свет, как видно, давал

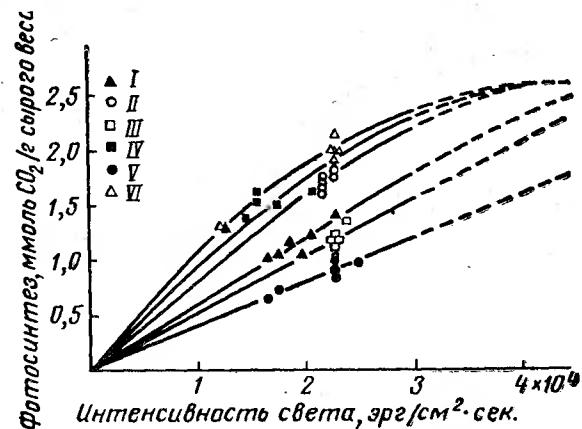


Рис. 8. Спектральные световые кривые фотосинтеза у пшеницы (Stoy, 1955)  
I — 430 мкм; II — 470 мкм; III — 520 мкм; IV — 615 мкм;  
V — 655 мкм; VI — белый свет

наиболее высокие показатели фотосинтеза по сравнению с любым «цветным» светом по всей длине световой кривой. Положение световых кривых для красного света было выше, чем для любого другого цветного света. Наиболее низкое положение световых кривых получено для области 470 мкм. К сожалению, из-за недостаточных интенсивностей света в опытах определения фотосинтеза при насыщающих интенсивностях не сделаны.

Поэтому вывод о том, что полученные данные находятся «в хорошем соответствии с данными Габриельсена, по которым максимальная ассимиляция для всех длин волн (включая белый свет) асимптотически приближается к одной и той же величине» (Stoy, 1955), нам кажется преждевременным и, по крайней мере, требующим экспериментального подтверждения.

В наших исследованиях световые кривые фотосинтеза в разных участках спектра определялись при учете фотосинтеза по выделению кислорода. Измерения фотосинтеза проводили манометрическим методом Варбурга (Воскресенская, 1947). Газообмен кислорода на свету мог быть как положительным, так и отрицательным, в зависимости от активности фотосинтеза (выделение кислорода) и дыхания (поглощение кислорода). Компенсационный пункт фотосинтеза — нулевые показатели газообмена по кислороду.

Растения в опытах отличались по степени светолюбия. Светолюбивые растения (подсолнечник, табак и кукуруза) выращивали на грядах при обычном солнечном освещении. Представителем теневыносливых растений можно считать фасоль (сорт Триумф), которая, в отличие от первой группы растений, выращивается без особых признаков угнетения под люминесцентными лампами в условиях оранжереи. К тенелюбам были отнесены растения: аспидистра — типичный тенелюб, страдающий при высоких освещенностях, плющ, переносящий слабые освещенности, и бегония. Последнюю группу растений выращивали на северном окне в лаборатории.

Во всех опытах, описанных в настоящей и последующих главах, мы придерживались принципа деления фотосинтетически активной радиации («ФАР» — Белл, 1955, Ничипорович и др. 1961, Ничипорович, 1963) на два участка — длинноволновый (условно, «красный свет») и коротковолновый — «синий свет». Граница деления спектра проходила около 580 мкм. Ширина участков спектра варьировала в отдельных опытах в зависимости от применявшихся источников света и светофильтров. От этого же могло несколько изменяться и положение максимума освещения в спектре (Воскресенская, 1953, 1955; Воскресенская, Гришина, 1956, 1960—1962; Гришина, Воскресенская, 1963). Однако принцип деления спектра всегда оставался одним и тем же. При работе с «красным» светом исключалась возможность поглощения света каротиноидами. Коротковолновый участок света, по существу сине-зеленый свет, наоборот, кроме максимума поглощения хлорофилла захватывал весь спектр <sup>спектральной</sup> действий каротиноидов.

В первых опытах светопоток измерялся с помощью люксметра, снабженного светофильтром с известной спектральной характеристикой (Воскресенская, 1953). Позднее интенсивность света учитывалась с помощью термостолбика (марки Киппа и

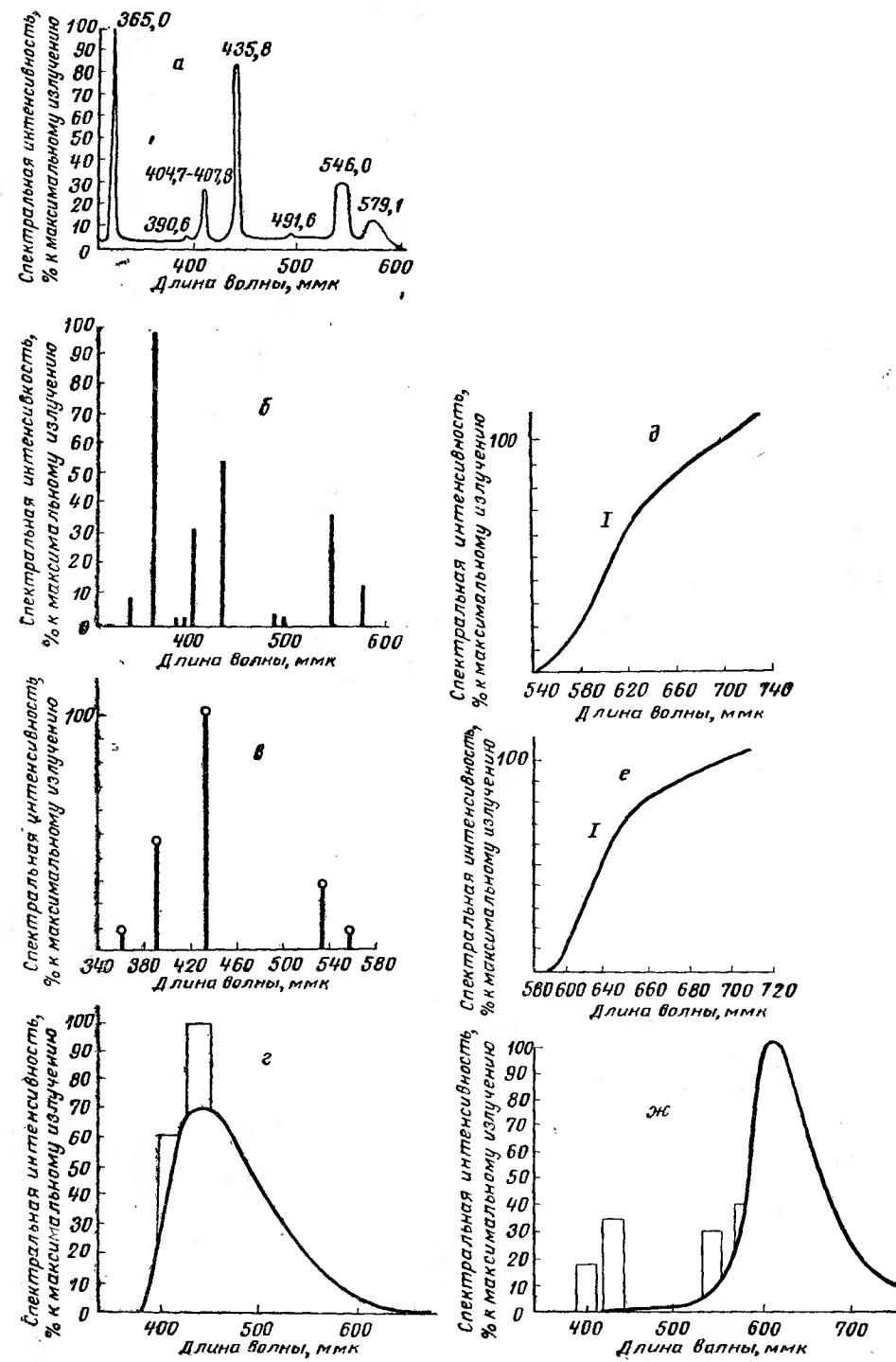
Зонена). При этом дальняя красная и ближняя инфракрасная радиация в источниках освещения учитывалась с помощью светофильтра КС-19 (пропускание от 680 мкм и выше). Показания гальванометра со светофильтром КС-19 вычитались из общих показаний. Употреблялся также фитоактинометр Белла. Этот прибор измеряет практически неизбирательно светопоток по всему участку спектра фотосинтетически активной радиации (400—700 мкм) и отградуирован в объективных единицах — эрг/см<sup>2</sup> · сек (Белл, 1955). Учет радиации обоими методами давал хорошие совпадения результатов.

Источник «красного света» в опытах — лампы накаливания. Водный экран из проточной воды снимал дальнюю инфракрасную радиацию (от 1000 мкм и более).

Красная область спектра вычленялась с помощью жидкого светофильтра из  $K_2Cr_2O_7$ , который поглощал все коротковолновые лучи вплоть до 580 мкм, или же с помощью оптического светофильтра КС-11 («красный свет»). Дальняя красная и ближняя инфракрасная радиация (700—1000 мкм) не удалялась. Источник синего света — ртутно-кварцевые лампы высокого давления: ИГАР-2 (500 вт) с защитой из простого стекла от ультрафиолета или ПРК-7 (мощностью 1000 вт) с защитой от ультрафиолета стеклом ванны с проточной водой. Под водным экраном помещалась кювета с жидким светофильтром ( $CuSO_4$ ) или же оптический светофильтр СЗС-18. Фильтр снимал весь длинноволновый фон радиации до 580 мкм и часть зеленых лучей ламп. Следовательно, в большинстве случаев «синий» свет — это свет ртутных линий — 436, 546 и 577 мкм с максимумом при 436 мкм, а также общий фон излучения лампы короче 580 мкм. В зависимости от светофильтра доля зеленых лучей (линии 546 и 577 мкм) изменялась. В части опытов источником освещения являлись также люминесцентные (Иванов, 1938, 1948) красные и синие лампы со светофильтрами.

Таким образом, работа проводилась с широкими участками спектра. Однако примесь синих лучей на красном свете, как и красных на синем, была полностью исключена. Характеристика источников освещения и светофильтров представлена на рис. 9. В опытах с определением световых кривых фотосинтеза употреблялись лампа накаливания и лампа ПРК-7 с жидкими светофильтрами. (рис. 9, д и б). Фотосинтез замерялся при 4-5 интенсивностях света, расположенных как выше, так и ниже

Рис. 9. Распределение энергии в спектре излучения источников синего и красного света за стеклянными оптическими и жидкими светофильтрами (в %). Синего света: а — ртутной лампой высокого давления ИГАР-2 за светофильтром из 12%-ного  $CuSO_4$ ; б — ртутно-кварцевой лампой ПРК-7 за светофильтром из 12%-ного  $CuSO_4$ ; в — лампой ПРК-7 за фильтром СЗС-18; г — люминесцентными лампами синего света Красного света: д — лампами накаливания за светофильтром из 15%-ного  $K_2Cr_2O_7$ ; е — лампами накаливания за фильтром КС-11; ж — люминесцентными лампами красного света



компенсационного пункта. При этом получали спектральные световые кривые фотосинтеза листьев.

В табл. 3 приводятся компенсационные пункты фотосинтеза в длинноволновой и коротковолновой областях спектра.

Растения в таблице расположены в порядке возрастания светолюбия. Принадлежность растений к группе тенелюбов или светолюбов хорошо иллюстрируется положениями компенсаци-

Таблица 3

Интенсивности света (в  $\text{эрд}/\text{см}^2 \cdot \text{сек}$ ), компенсирующие фотосинтез и дыхание в длинноволновых и коротковолновых лучах (Воскресенская, 1959)

Растение	Интенсивность света	
	красного	синего
Аспидистра . . .	500	1800
Плющ . . . . .	550	1800
Бегония . . . . .	600	4600
Табак . . . . .	3400	8000
Фасоль . . . . .	4000	12 000
Кукуруза . . . . .	5000	27 000
Подсолнечник . . .	7000	20 000

стения) в 3 и даже 7 раз больше, чем на красном. Такие различия в интенсивности света далеко превышают квантовые соотношения падающего света для наших источников освещения<sup>1</sup>.

Позже нам удалось показать, что коротковолновый свет активирует некоторые ферментные системы, участвующие в дыхательном процессе. Это обстоятельство может влиять на газообмен кислорода в районе компенсационных пунктов, когда недостаток света ограничивает фотохимические реакции хлоропласта, а дыхание клетки активировано коротковолновым светом (Воскресенская, Зак, 1957; Воскресенская, Гришина, 1961). Именно большей активностью дыхания на синем свету мы склонны объяснить различия в положении компенсационных пунктов на красном и синем свету в наших опытах, так же как и падение эффективности фотосинтеза у хлореллы в коротковолновых лучах, на слабом свету (Emerson, Lewis, 1943). Подробнее роль фотоактивных систем клетки для светового дыхания будет обсуждаться в разделе «Действие спектрального состава света на поглощение кислорода». Сейчас важно лишь отметить, что, выясняя эффективность различных лучей для ассимиляции

<sup>1</sup> Квантовые соотношения в зависимости от источника и системы светофильтров колебались в пределах синий : красный = 1,6—1,8 : 1.

$\text{CO}_2$ , необходимо учитывать все возможные фотоактивные катализитические системы как хлоропласта, так и целой клетки. Эти системы, работая как регуляторные механизмы на различных уровнях возбуждения, в зависимости от условий освещения, очевидно, могут влиять на эффективность фотосинтеза, особенно при низких интенсивностях, когда фотопроявления фотосинтеза находятся в минимуме.

Ниже приводятся спектральные световые кривые фотосинтеза для подсолнечника, кукурузы, табака и фасоли (рис. 10). Как видно, ни у одного из этих растений фотосинтез не вышел на световое плато. Световая кривая фотосинтеза для коротковолнового света у этих растений находится ниже, чем для длинноволнового.

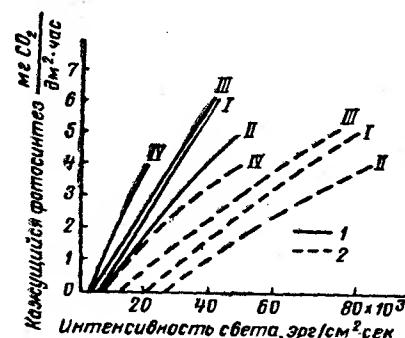


Рис. 10. Спектральные световые кривые фотосинтеза листьев подсолнечника (I), кукурузы (II), табака (III) и фасоли (IV)

I — красный свет; 2 — синий свет

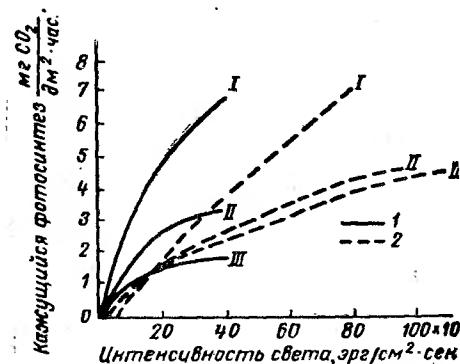


Рис. 11. Спектральные световые кривые фотосинтеза листьев бегонии (I), плюща (II), аспидистры (III) и фасоли (IV)

I — красный свет; 2 — синий свет

Иная картина наблюдается для бегонии, плюща и аспидистры (рис. 11). Особенно интересен ход кривых для последнего растения. Вначале, при низких освещенностях, как и для других растений, интенсивность фотосинтеза на красном свету выше, чем на синем. При  $20 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup> · сек на красном свету кривая фотосинтеза достигает плато. На синем свету плато наблюдается только около  $80 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup> · сек. Более позднее световое насыщение фотосинтеза на синем свету подтверждает предположение о том, что «действие коротковолновой радиации равносильно фактору низких освещенностей» (Gabrielsen, 1960). Однако фотосинтез аспидистры на плато для синего света почти вдвое выше, чем для красного (Воскресенская, 1955, 1959).

В отличие от аспидистры, плющ относится, скорее, к группе теневыносливых, чем тенелюбивых растений. Он выдерживает

достаточно высокие интенсивности освещения в разреженных южных лесах Кавказа и может быть широко использован как основное газонное растение в южных зонах. Плато фотосинтеза для этого растения получено только на синем свете (около  $80 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup>·сек). Для красного света плато окажется где-то в районе этих же интенсивностей или несколько ниже. Судя по ходу кривых, и для этого растения фотосинтез при насыщающих интенсивностях света, возможно, будет выше в синих лучах. Для бегонии при высоких интенсивностях света также становится более благоприятным коротковолновый свет (рис. 11).

Расчет физиологической эффективности (см. выше) красного и синего света для фотосинтеза по всей длине световой кривой фотосинтеза представлен в табл. 4 и 5.

Таблица 4

Физиологическая эффективность для фотосинтеза красного и синего света различной интенсивности, ( $\times 10^3$  эрг/см<sup>2</sup>·сек)

Интенсивность фотосинтеза, мг CO <sub>2</sub> /dm <sup>2</sup> ·час	Красный		Синий		Отношение синего к красному		Красный		Синий		Отношение синего к красному		Красный		Синий		Отношение синего к красному	
	Красный	Синий	Красный	Синий	Красный	Синий	Красный	Синий	Красный	Синий	Красный	Синий	Красный	Синий	Красный	Синий	Красный	Синий
Подсолнечник      Кукуруза      Табак      Фасоль																		
0	7	20	2,8	5	27	5,4	4	12	3,0	3	8	2,7	—	—	—	—	—	—
1	12	34	2,8	12	40	3,3	9	23	2,5	7	15	2,1	—	—	—	—	—	—
2	18	46	2,5	20	56	2,8	15	37	2,4	12	24	2,0	—	—	—	—	—	—
3	24	60	2,5	30	74	2,4	22	51	2,3	15	35	2,3	—	—	—	—	—	—
4	29	73	2,5	39	90	2,3	28	65	2,3	20	51	2,5	—	—	—	—	—	—
5	35	85	2,4	48	107	2,2	34	79	2,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	41	98	2,4	—	—	—	41	95	2,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Из приведенных в таблицах данных следует:

1. В районе компенсационного пункта (фотосинтез от 0 до  $1,2-2$  мг CO<sub>2</sub>/dm<sup>2</sup>·час) для всех испытанных растений имеется участок интенсивности света, когда соотношение синих и красных лучей, обеспечивающих одинаковый фотосинтез, выше, чем при более высоких освещенностях.

2. Участок высокого отношения синего света к красному затем сменяется более низким отношением, которое некоторое время остается стабильным. Для светолюбивых растений это стабильное отношение равно 2,3—2,5. У тенелюбов (аспидистра и плющ) отношение несколько иное — 1,8—2,2. Последнее указывает на более благоприятное использование этими растениями коротковолнового света. В отличие от светолюбов у тенелюбов линейный участок световой кривой с постоянным соотношением интенсивности синего и красного света невелик. При приближении к насыщению отношение синего к красному свету начинает

Таблица 5

Физиологическая эффективность для фотосинтеза красного и синего света различной интенсивности ( $\times 10^3$  эрг/см<sup>2</sup>·сек)

Фотосинтез, мг CO <sub>2</sub> /dm <sup>2</sup> ·час	Красный		Синий		Отношение синего к красному		Фотосинтез, мг CO <sub>2</sub> /dm <sup>2</sup> ·час	Красный		Синий		Отношение синего к красному		Фотосинтез, мг CO <sub>2</sub> /dm <sup>2</sup> ·час	Красный		Синий		Отношение синего к красному			
	Красный	Синий	Красный	Синий	Красный	Синий		Красный	Синий	Красный	Синий	Красный	Синий		Красный	Синий	Красный	Синий	Красный	Синий	Красный	Синий
Бегония      Плющ      Аспидистра																						
0	0,6	4,6	7,6	0	0,4	2,0	5,0	0	0,4	1,8	4,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1	3,0	13,0	4,3	0,5	2,0	6,0	3,0	0,2	1,0	4,0	4,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	6,0	21,0	3,5	0,7	3,0	8,0	2,7	0,4	1,5	6,0	4,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	9,0	31,0	3,5	1,0	4,0	11,5	2,8	0,5	2,0	7,0	3,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	14,0	43,0	3,0	1,2	5,0	13,5	2,7	0,6	2,5	8,5	3,4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	21,0	54,0	2,6	1,5	7,5	17,0	2,2	0,8	4,5	10,5	2,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	30,0	65,0	2,2	1,7	9,5	19,5	2,0	1,0	7,0	13,5	1,9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	41,0	77,0	1,8	2,0	12,0	22,5	1,8	1,2	10,0	15,5	1,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	2,2	14,5	30,5	2,1	1,5	17,0	20,0	1,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	2,5	17,0	39,0	2,2	1,7	22,5	22,5	1,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	3,0	23,0	50,0	2,1	1,9	40,0	30,0	0,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	3,5	40,0	61,0	1,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

падать. Это опять-таки свидетельствует о более благоприятном для тенелюбов действии в районе насыщения синих лучей, чем красных. Факт более высокого фотосинтеза тенелюбивого растения аспидистры при насыщающих интенсивностях синего света нам кажется весьма существенным. Он ставит под сомнение широкое вошедшее в литературу утверждение (Рабинович, 1953) о том, что при насыщающих интенсивностях света фотосинтез для всех участков спектра должен быть одинаков, так как в этих условиях величину фотосинтеза определяют только темновые реакции. Очевидно, для листьев аспидистры освещение коротковолновыми лучами способствовало протеканию таких фотопререкций, которые увеличивали интенсивность фотосинтеза даже при высоких освещенностях. Эти результаты свидетельствуют также о том, что понятие световой адаптации к условиям освещения, по крайней мере в филогенезе, возможно, включает фактор не только интенсивности света, но и его различного спектрального состава (Любименко, 1924, 1926).

Насколько нам известно, опыт с аспидистрой (Воскресенская, 1955; 1959) до 1961 г. был единственным, на основании которого можно было допустить неравнозначность квантов

красного и синего света для фотосинтеза даже при насыщающих интенсивностях света. Как указывалось выше, спектр действия фотосинтеза обычно измеряют при слабых интенсивностях света. Только в 1961 г. появилась работа Маклеода (McLeod, 1961)

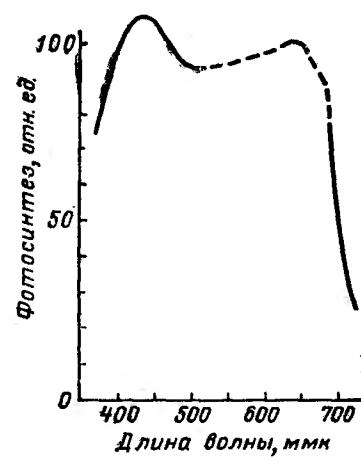


Рис. 12. Спектр действия фотосинтеза хлореллы при насыщающих интенсивностях света (McLeod, 1961)

лучах (680 мкм), минимум — в области 650—510 мкм и второе падение — от 680 к 694 мкм (рис. 12). Для *Phormidium persicinum*, растения, не содержащего хлорофилла *b*, а имеющего только хлорофилл *a*, каротиноиды и фикобилины, спектр действия фотосинтеза имел максимум в области поглощения фикоцианинов (550—615 мкм) и лишь небольшой подъем — в области поглощения хлорофилла. Для водоросли *Botrydiopsis alpina*, которая содержит хлорофилл *a*, каротиноиды, но не имеет хлорофилла *b*, найдены два максимума — в красной области при 695 мкм и синей — 420 мкм. Появляется также третий, небольшой пик в области 600 мкм. Таким образом, спектр действия фотосинтеза при насыщающих интенсивностях света обладал структурой, которая была характерна для каждой водоросли. Важно отметить, что больший максимум фотосинтеза в синих лучах (440 мкм), чем в красных (680 мкм), полученный для хлореллы, напоминает описанные выше данные наших опытов с аспидистрой (рис. 11). Если учесть, что хлорелла — тенелюбивое растение, то сходство в результатах становится объяснимым с точки зрения благоприятного действия коротковолновых лучей на фотосинтез тенелюбов.

Против утверждения Габриельсена о равнозначности квантов света разного спектрального состава при насыщающих интенсивностях света свидетельствуют также результаты опытов (Rabinovitch, Govindjee, 1961), в которых для трех видов водорослей (*Anacystis*, *Chlorella*, *Porphyridium*) в области 700 мкм было обнаружено более ранее световое насыщение фотосинтеза с низким положением плато по сравнению с областью 690 мкм. Более высокая интенсивность фотосинтеза хлореллы при насыщающих интенсивностях света наблюдалась также в случае добавки 4% синего света к красному по сравнению с одним красным (Hauschild, Nelson, Krotkov, 1964).

В связи с вышеизложенным, нам представляется, что категорически отрицать структуру в спектре действия фотосинтеза при насыщающих интенсивностях света преждевременно; следовательно, преждевременно утверждать, что действие качества света на фотосинтез может проявиться только при ненасыщающих интенсивностях света. Как показано выше, одной из причин различного положения компенсационных пунктов фотосинтеза на красном и синем свету может быть активация синими лучами дыхания (Emerson, Lewis, 1943; Данилов, 1935, 1940; Воскресенская, Зак, 1957; Воскресенская, Гришина, 1960, 1961). Дыхание, в зависимости от физиологического состояния растения и его принадлежности к определенному экотипу, может быть различно. Этим обстоятельством, с нашей точки зрения, объясняется «неустойчивое» отношение синего света к красному, обеспечивающее одинаковый фотосинтез вблизи компенсационного пункта. С увеличением интенсивности света доля дыхания по отношению к фотосинтезу уменьшается (Воскресенская, Гришина, 1960, 1961; Hoch, Owens, Kok, 1963) и дыхание начинает играть малую роль в общем газообмене. Последнее приводит к стабилизации отношения синий — красный свет.

Наличие структуры в спектре действия при насыщающем свете может быть следствием того, что эффективность использования световой энергии для фотосинтеза и в этих условиях определяется не только темновыми, но и фотохимическими реакциями, активность которых различна в зависимости от спектрального состава света. Таким образом, интенсивность фотосинтеза зависит от спектрального состава света по всей длине световой кривой. Зависимость эта сложная. При ненасыщающих интенсивностях коротковолновые лучи менее эффективны для фотосинтеза, чем длинноволновые. При насыщающих интенсивностях, по некоторым данным, эффективность этих лучей даже выше, чем длинноволновых. Очевидно, вопрос о спектральной зависимости фотосинтеза нельзя считать окончательно решенным.

#### 4. «ВТОРОЙ ЭФФЕКТ ЭМЕРСОНА» И ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О ДВУХ ФОТОХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЯХ ФОТОСИНТЕЗА

В последние годы пересматривается классическое представление о природе фотосинтеза — о том, что единая фотохимическая реакция лежит в основе механизма фотосинтеза, и выдвигается новая гипотеза — о необходимости сопряжения в фотосинтезе двух фотохимических реакций, возбуждаемых светом разной длины волн. Толчком к активному исследованию этого вопроса послужили работы Варбурга и Эмерсона. Варбург (Warburg et al., 1954, 1955) впервые наблюдал, что добавление к монохроматическому свету света иной длины волны увеличивает квантовые выходы фотосинтеза. Так, у хлореллы, предварительно выращенной на белом свете, он обнаружил резкое падение квантовых выходов фотосинтеза в монохроматическом красном свете (645 мк). Добавление незначительных («катализических», по словам Варбурга) количеств сине-зеленого света восстанавливало величину квантовых выходов до первоначально найденных на белом свете. При удалении сине-зеленого света сначала снижалась активность фиксации  $\text{CO}_2$ , а затем выделения кислорода. Варбург предполагает поэтому, что в растении под действием сине-зеленого света возникает «люминофермент», который влияет на механизм фотосинтеза, в первую очередь, меняя условия восстановления  $\text{CO}_2$ . Определение спектра действия этого фермента показало, что максимум приходится на 460 мк. Предполагается, что «люминофермент» — обратимо изменяющийся под влиянием света в активную форму пигмент типа глазного пурпурна, возможно какой-либо каротиноид-протеид. К сожалению, дальнейшего развития эта интересная гипотеза в исследованиях самого Варбурга не получила. Однако она, по-видимому, послужила толчком для работ Эмерсона по выяснению роли дополнительного света для фотосинтеза.

Последнему не удалось подтвердить экспериментов и выводов Варбурга (Emerson, 1958). В то же время был установлен иной эффект действия дополнительного света. Он в какой-то мере объяснял обнаруженное ранее падение фотосинтеза в дальней красной области. Как указывалось выше, квантовый выход фотосинтеза у хлореллы начинает резко падать после 680 мк и около 700 мк доходит почти до нуля. В то же время полоса поглощения хлорофилла *a* (единственного хлорофилла, поглощающего свет в этой области спектра) заканчивается только около 800 мк (см. рис. 2). Прибавка к дальнему красному свету (~700 мк) дополнительного, более коротковолнового (650 мк), резко повышала квантовые выходы фотосинтеза у хлореллы. Увеличение интенсивности фотосинтеза в дальней красной области спектра при действии дополнительного

света не является результатом прямого сложения интенсивностей основного и дополнительного света, а значительно превышает его. Максимум благоприятного действия дополнительного света на фотосинтез зеленых водорослей совпадает с областью поглощения света хлорофиллом *b*; бурых и красных водорослей, содержащих фикобилины, — с областью поглощения света этими пигментами. Поэтому у зеленых водорослей свет более длинноволновый, чем 685 мк, мало активен в фотосинтезе. Дополнительный свет в опытах отличался от употреблявшегося Варбургом как по спектральному составу, так и по интенсивности (был значительно выше каталитического). На основании экспериментов делается вывод, что для эффективного фотосинтеза недостаточно поглощения света одним хлорофиллом *a*, а необходимо возбуждение двух пигментов — хлорофилла *a* и *b* в зеленых растениях и хлорофилла *a* и фикобилинов в бурых, красных и синезеленых водорослях. Это заключение позднее получило название «второго эффекта Эмерсона», или эффекта «увеличения» (Emerson, Chalmers, Cederstrand, 1957; Emerson, 1958a; Emerson, Rabinowitch, 1960; Myers, French, 1960; Рабинович, 1962; Hommersand, Нахо, 1962 и др.). В некоторых случаях эффект Эмерсона не проявляется или принимает даже обратный знак. Такое явление, возможно, связано с условиями выращивания растений, возрастом культуры и соотношением основного и дополнительного света в опытах. Однако четкой корреляции между этими факторами и эффектом Эмерсона пока не установлено (Govindjee, Rabinowitch, Thomas, 1960; Рабинович, 1962). Для бурых и красных водорослей эффект «увеличения», связанный, как было показано, с участием в нем дополнительных пигментов и хлорофилла *a*, найден впервые Блинксом и поэтому получил название «эффекта Блинкса» (Blinks, 1960).

Еще до работ Эмерсона методом дифференциальной спектрофотометрии были показаны изменения в спектре поглощения света фотосинтезирующими организмами в области поглощения цитохромов (420, 428, 555 мк), специфичных для фотосинтетического аппарата (цитохромы типа *c*, *b*, *f*). Эти изменения указывали на окисление цитохромов, вызываемое светом. Предполагалось, что окисление происходит с участием хлорофилла *i*, возможно, связано с фотофосфорилированием (Duysens, 1964). Эти данные, как и данные об усилении поглощения кислорода в коротковолновых лучах (Emerson, Lewis, 1943; Воскресенская, Гришина, 1960, 1961) и активации восстановления нитратов синими лучами (Stoy, 1955), указывают на то, что различные участки спектра могут быть неравнозначны для фотосинтеза, вследствие активации некоторых реакций, отвлекающих часть энергии от основного процесса фотосинтеза — усвоения  $\text{CO}_2$  и выделения  $\text{O}_2$ . Поэтому эффекты увеличения фотосинтеза,

наблюдаемые при действии дополнительного света, можно трактовать двояко:

1. В фотосинтезе имеется только одна фотохимическая реакция, в которой утилизируется энергия. Небольшое количество энергии, поглощаемое различными фоточувствительными системами, сенсибилизирует другие фотохимические реакции. Эти реакции активируют фермент или промежуточные продукты, влияющие на скорость фотосинтеза, дыхания или другие процессы, в которых участвует кислород.

2. Согласно второй возможности в фотосинтезе должны происходить две фотохимические реакции, сравнимые по употребляемому в них количеству энергии.

Первая точка зрения долгое время поддерживалась опытами по определению флуоресценции, в которых было показано, что вся энергия, поглощенная дополнительными пигментами, употребляется на фотосинтез только благодаря ее передаче хлорофиллу *a*. Иными словами, предполагалось, что окончательно фотосинтез сенсибилизируется только возбужденной молекулой хлорофилла *a* с максимумом 680 мк, будь то прямое поглощение фотона света этим пигментом или же его возбуждение фотоном, перенесенным от другого пигмента, первоначально поглотившего свет (Duysens, 1951, 1956). Такое положение действительно исключает возможность двух фотохимических реакций. Однако в последнее время показано, что энергия, поглощенная дополнительными пигментами, может использоваться непосредственно на фотосинтез или по крайней мере на его отдельные реакции, без обязательной миграции к хлорофиллу *a* (Duysens, 1956). Кроме того, и сам хлорофилл *a*, по-видимому, не весь равнозначен для фотосинтеза. Существование различных форм хлорофилла, обладающих неодинаковыми максимумами поглощения по спектру, достаточно хорошо доказано (Krasnovsky, 1960; Красновский, 1962; Рабинович, 1962). Так, Красновским Красновским, Кособуцкая, 1952) были найдены две формы хлорофилла *a* — мономерная (с максимумом поглощения 670 мк) и агрегированная (678 мк). Соотношение между обеими формами менялось в процессе развития растений. Фотоустойчивость двух форм и их активность в фотохимической реакции были неодинаковыми. Позднее различные формы хлорофилла *a*, в частности с максимумом поглощения 695 мк, были обнаружены другими авторами, и их активность и роль для фотосинтеза исследуются в связи с изучением механизма первичного акта усвоения света растением (French, 1958; Brown, French, 1959).

Далее, найдено, что каждая из двух различных форм хлорофилла *a* с разными максимумами поглощения в дальней красной области (680 и 700 мк) обладает самостоятельной флуоресценцией (Butler, 1962). Такие же результаты получены одно-

временно в лаборатории Красновского (Карапетян, Литвин, Красновский, 1963; Карапетян, 1963). Кроме того, в последних публикациях Дейзенс (Duysens, Ames, 1962) подчеркивает, что одна из форм хлорофилла *a* становится способной к флуоресценции только за счет света, поглощаемого дополнительными пигментами. По-видимому, эти пигменты не только переносят дополнительную энергию к хлорофиллу *a*, но и способствуют превращению его в какую-то иную форму, т. е. активно участвуют в механизме фотосинтеза. Поэтому приписывать только хлорофиллу *a* активную роль в трансформации энергии, оставляя на долю других пигментов пассивную роль переносчиков энергии, пока, очевидно, преждевременно.

Тем более это преждевременно, поскольку результаты исследований указывают на то, что превращение фотона света в энергию химических связей, т. е. осуществление фотосинтеза происходит с участием фотоактивных каталитических систем — цитохромов и др. (Красновский, 1955; Krasnovsky, 1960; Chance, Nishimura, 1960; Hill, Bonner, 1961; Duysens, Ames, 1962; Lundegårdh, 1963, 1964).

Возможно, что разные формы хлорофилла с избирательным поглощением по спектру, связаны с различными системами, играющими роль в отдельных звеньях фотосинтеза. Для эффективного фотосинтеза необходима цикличность процесса, которая связана с поглощением света разными формами хлорофилла и которая обеспечивает взаимодействие фотопродуктов отдельных реакций. Таким образом, представление о двух фотохимических реакциях, очевидно, получает реальную, экспериментальную основу.

Сейчас наибольшее распространение получила точка зрения, согласно которой необходимость сочетания двух фотохимических реакций объясняется тем, что в результате каждой реакции образуется особый фотопродукт, который вызывает различные химические реакции. Только определенное сочетание этих реакций может обеспечить эффективный фотосинтез (French, 1960—1961, 1961—1962; Френч, Форк, 1962). Экспериментальной основой для этого положения послужили следующие опыты. Для буровой водоросли *Porphyridium cruentum* была обнаружена разная эффективность выделения кислорода (измеряемого полярографически) при освещении светом 694 мк (хлорофилл) и 567 мк (максимумом поглощения для фикоэритрина). Свет, поглощаемый дополнительным пигментом, оказался гораздо более эффективным для выделения кислорода. Максимум поглощения кислорода (в темновой период, следующий сразу за освещением), наоборот, соответствовал длине волн в 694 мк (French, 1960, 1961, 1962; Френч, Форк, 1962). Определен срок жизни продуктов фотопрореакций, оказавшийся различным для разных длин волн. Был сделан вывод о том, что выделение кислорода

да в первую очередь связано с деятельностью дополнительных пигментов (фотоактивная система II), поглощение кислорода — с хлорофиллом *a* (фотоактивная система I). Таким образом, спектр действия двух процессов не совпадал. Подобные результаты получены также для других водорослей (Blinks, 1960).

Для изолированных хлоропластов шпината также показано (Fork, 1961—1962; Fork, 1963), что эндогенное (без добавления реагентов Хилла) выделение кислорода имеет максимум в области поглощения света хлорофиллом *b* (650 мк). Без добавления кофакторов процесс очень неустойчив. Он достигает максимальной величины к 30 сек. освещения и затем резко падает до очень низких показателей. Первоначальная величина может быть восстановлена добавкой к исходному свету дальнего красного. Как видно, и для хлоропластов выделение кислорода связывается с хлорофиллом *b*. В общей форме механизм действия двух фотохимических реакций в фотосинтезе связан с образованием и взаимодействием двух веществ *X* и *Y*. Предполагают, что (*X*) образуется при поглощении света хлорофиллом *a* (система I) (*Y*) — дополнительным пигментом (система II). Свет разных длин волн вызывает, вследствие перекрывания спектров поглощения пигментов, образование и *X*, и *Y*, но в различных пропорциях, в зависимости от активности поглощения света тем или иным пигментом. На смешанном свете, регулирующем оптимальное соотношение *X* и *Y*, наблюдается максимальная эффективность фотосинтеза (Френч, Форк, 1962).

Помимо газообмена по кислороду с представлениями о двух фотохимических реакциях пытаются связать такие процессы, как циклическое и нециклическое фотофосфорилирование, образование трифосфопириддинуклеотидов, восстановление и окисление цитохромов (Fewson, Black, Gibbs, Cordon, Elliwanger, 1962; Jones, Myers, 1963; Kok, Hoch, Cooper, 1963). В лаборатории проф. Арнона (Калифорнийский университет в Беркли) получен ряд результатов, указывающих, что нециклическое и циклическое фотофосфорилирование связано с различными фотопреакциями фотосинтеза. Спектральная зависимость нециклического фотофосфорилирования указывает на его связь с реакцией выделения кислорода, для этой реакции необходимо участие дополнительных пигментов (хлорофилла *b*). Циклическое фотофосфорилирование происходит с помощью только хлорофилла *a*. Поэтому процесс активно протекает в области 700 мк, где свет поглощается только длинноволновой формой хлорофилла *a*.

Недавно Дейзенс и др. (Duysens, Ames, 1962; Ames, Duysens, 1962) с помощью чувствительной дифференциальной абсорбционной спектрофотометрии исследовано значение двух пигментных систем у буровой водоросли *Porphyridium cruentum* и синевеленої *Anacystis nidulans*. Обнаружено, что окисление цито-

хрома, подобного цитохрому *f*, вызывается возбуждением системы I, содержащей хлорофилл *a*, и восстановление этого цитохрома — возбуждением системы II, содержащей хлорофилл *b* или фикобилины. На основании ряда экспериментальных доказательств высказывается гипотеза, что при возбуждении первой системы происходит окисление цитохрома и восстановление CO<sub>2</sub> (через образование ТПН·Н). Вторая система восстанавливает окисленный цитохром и выделяет кислород. Обе пигментные системы содержат хлорофилл *a* и фикоэритрин или фикоцианин. Различие в действии двух пигментных систем обусловлено, очевидно, разным положением длинноволновых максимумов пигментов (680 и 560 мк). Активность первой системы больше на свете 680 мк и меньше на свете 560 мк, второй системы — наоборот.

Во всех современных схемах фотосинтеза предусмотрено участие в фотосинтезе двух фотохимических реакций, вызываемых пигментными системами, которые имеют различные максимумы поглощения по спектру. В процесс переноса электрона между этими системами включаются цитохромы и пластохиноны. Не исключено также участие флавоцротеинов (Hill, Bendall, 1960; Hill, Bonner, 1961; Duysens, 1964; Lundegårdh, 1963, 1963a, 1964). В качестве примера, иллюстрирующего представление о двух фотохимических реакциях, можно привести схему (рис. 13), предложенную Дейзенсом (Duysens, 1964). Эта схема составлена главным образом на основании измерения дифференциальных спектров фотосинтезирующих организмов при действии различных факторов: качества света, ингибиторов, смены газовой фазы и т. д.

На рис. 13 представлена транспортная цепь переноса водорода или электрона при фотосинтезе высших растений и водорослей. Оксидоредуктазы на рисунке показаны в том состоянии восстановленности, которое для них характерно в темноте, *in vivo*. Цитохром с-420, возможно идентичный цитохрому *f* высших растений, в темноте восстанавливается. Направление стрелок указывает направление транспорта водорода или электрона. Как указывают величины E<sub>0'</sub> (слева на рисунке), стрелки, опущенные вниз, соответствуют реакциям, которые могут проходить спонтанно в темноте (с уменьшением свободной энергии).

Двойными линиями со стрелками вверх обозначены две фотопреакции, вызываемые поглощением света различными пигментными системами. При поглощении света hν<sub>1</sub> в пигментной системе I неидентифицированное вещество РН окисляется до Р. Одновременно в этой системе восстанавливается вещество X, которое в свою очередь через ТПН·Н и ряд других оксидоредуктаз восстанавливает ФГК (фосфоглицериновую кислоту). Во второй световой реакции hν<sub>2</sub> в пигментной системе II одновременно восстанавливаются и окисляются неидентифицированные

соединения  $Q$  и  $ZH$ :  $Z$  окисляет воду,  $QH$  восстанавливает  $P$  через хинон и цитохром. Свет  $h\nu_1$  главным образом возбуждает систему I, свет  $h\nu_2$  — систему II. Фотосинтетическое фосфорилирование предполагают между  $QH$  и  $P$ , возможно между хиноном и цитохромом или  $P$ . Дополнительное фосфорилирование может быть между  $XH$  и  $P$ .

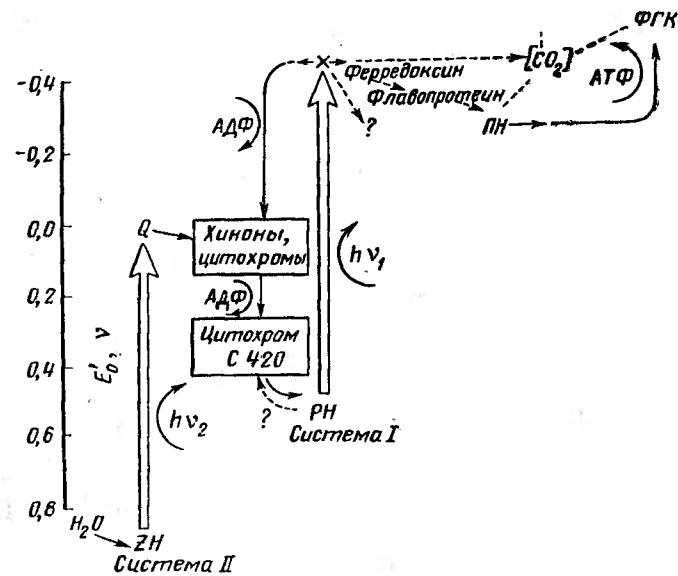


Рис. 13. Схема транспорта электрона (и водорода) в фотосинтезе с учетом взаимодействия двух фотохимических реакций (Duysens, 1964)

У пурпурных бактерий существует только одна пигментная система, по-видимому, соответствующая системе I.

Мы ограничились краткими, общими сведениями по данному вопросу. Более подробную информацию можно получить, например, в сводках Клайтона (Clayton, 1964) и Дейзенса (Duysens, 1964). Как видно, все результаты указывают, что усвоение световой энергии и ее последующее использование зависят от спектрального состава света, поглощаемого фотосинтезирующей клеткой. Из этого следует, что избирательное отношение отдельных реакций фотосинтеза к качеству света является результатом необходимого сочетания двух первичных реакций фотосинтеза. Однако нельзя исключить, по-видимому, также регуляцию использования запасенной растением энергии света путем возбуждения каталитических систем хлоропласта и клетки, имею-

щих различные спектры поглощения, например цитохромы, флавопротеины, пигменты фотоморфогенеза и др.

По крайней мере, исследование роли дополнительного света в фотосинтезе — вопрос чрезвычайно актуальный. Его всестороннее изучение, вероятно, внесет много нового в раскрытие механизма фотосинтеза и во многом, очевидно, объяснит быстрые адаптивные эффекты фотосинтетического аппарата как к интенсивности, так и к спектральному составу света.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящая глава в значительной мере носит характер вводной. Поэтому в начале главы даны общие понятия о спектрах действия фотосинтеза, физиологической, энергетической и квантовой эффективности по спектру. Указаны необходимые экспериментальные приемы, обеспечивающие получение правильных результатов в отношении этих показателей.

Обсуждение значения спектрального состава света для интенсивности процесса фотосинтеза главным образом сосредоточено на анализе спектральных световых кривых фотосинтеза. Можно сказать, что у растений, выросших на белом, смешанном свете, даже при равных для фотосинтеза условиях освещения красным и синим светом (при одинаковом количестве падающих квантов) световая кривая фотосинтеза в красных лучах (область спектра 580—720 мкм) всегда располагается выше, чем в синих (400—580 мкм). Таким образом, наибольшей физиологической эффективностью для фотосинтеза обладают длинноволновые лучи. Анализ хода спектральных световых кривых показал, что по длине световой кривой физиологическая эффективность коротковолновых (400—580 мкм) лучей неодинакова: она наименьшая в области компенсационных пунктов, затем эффективность возрастает и на некотором участке кривой до начала насыщения остается постоянной по отношению к эффективности красных лучей. Низкая физиологическая эффективность синих лучей в районе слабых освещенностей, очевидно, связана с тем, что эти лучи активируют дыхательные системы клетки. Поэтому при определении физиологической эффективности синих лучей, так же как и при определении спектров действия и квантовой эффективности фотосинтеза в районе компенсационных пунктов, необходимо принимать во внимание возможность возбуждения синим светом дыхательных систем клетки, имеющих спектр поглощения в области спектра действия фотосинтеза. В связи с этим поправку на дыхание следует вводить по показателям не темнового дыхания, а дыхания на свету данного спектрального состава. В противоположном случае малая эффективность коротковолновых лучей в районе компенсационных пунктов может быть ошибочно приписана неэффек-

тивности данных лучей для фотохимических реакций фотосинтеза, а не тому факту, что в этих лучах активируются реакции, противоположные по знаку фотосинтезу.

Что касается более высоких интенсивностей синего и красного света, то отношение к этим участкам определяется степенью светолюбия растений. Так, у теневыносливых растений физиологическая эффективность синих лучей выше, чем для светолюбов. Особенно заметно это в районе светового насыщения фотосинтеза, где для некоторых растений обнаружен больший фотосинтез на синем свете по сравнению с красным.

Большая физиологическая эффективность коротковолновых лучей для фотосинтеза тенелюбивых растений в районе, близком световому насыщению, и на световом плато фотосинтеза соответствует возникшему в последнее время представлению о наличии структуры в спектре действия фотосинтеза при насыщающих интенсивностях света. В конце данной главы обсуждается «второй эффект Эмерсона» и возникшее в связи с обнаружением этого эффекта представление об обязательном сочетании для фотосинтеза двух фотопререкций. Очевидно, чрезвычайно существенным моментом в изучении этого вопроса является факт синергического увеличения фотосинтеза при действии света двух различных волн по сравнению с действием света одной длины волн. Однако информация об универсальности двух фотохимических реакций в фотосинтезе касается сравнения эффективности фотосинтеза и отдельных его реакций при освещении объекта светом в районе 700 мкм или же более коротковолновым светом красной области для зеленых растений и светом, поглощаемым фикобилинами, для бурых и красных водорослей. Для выявления универсальности эффекта необходимы, очевидно, систематические определения не только обычных, но и двойных спектров действия фотосинтеза, т. е. определение спектров действия фотосинтеза на фоне постоянного освещения светом той или иной длины волн. При этом сочетание двух лучей должно меняться, очевидно, не только по спектральному составу света, но и по его интенсивности.

Хотя причины, приводящие к увеличению фотосинтеза на смешанном свете по сравнению с монохроматическим, далеко еще не выяснены, сама идея о двух фотохимических реакциях весьма плодотворна. Эта рабочая гипотеза уже принесла много новых ценных экспериментальных результатов. В дальнейшем она, по-видимому, существенно расширят наши представления о фотосинтезе и механизме адаптации фотосинтетического аппарата и функции фотосинтеза растений к различным условиям освещения.

## Г л а в а II

### СПЕКТРАЛЬНЫЙ СОСТАВ СВЕТА И ПРОДУКТЫ ФОТОСИНТЕЗА

#### 1. МНОЖЕСТВЕННОСТЬ ПУТЕЙ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО ПРЕВРАЩЕНИЯ УГЛЕРОДА $\text{CO}_2$

Уже с первых шагов внедрения радиоизотопного анализа в исследования фотосинтеза удалось обнаружить, что углерод углекислого газа очень быстро попадает в самые разнообразные органические соединения. Вслед за работами Рубена и др. (Ruben, Hassid, Kamen, 1939), которые впервые применили изотопы углерода для исследования фотосинтеза, группа калифорнийских ученых во главе с Кальвиным (Calvin, Benson, 1949; Calvin, Bassham, Benson, 1950) начала с помощью этого метода планомерные исследования пути усвоения  $\text{CO}_2$  в фотосинтезе. Уже в первых экспериментах с зелеными водорослями *Scenedesmus* и *Chlorella*, а также листьями ячменя через 20—30 сек. фотосинтеза меченный углерод был найден не только в соединениях углеводного характера, но и в аминокислотах и органических кислотах. Однако, обнаружив  $\text{C}^{14}$  в аминокислотах и органических кислотах, исследователи надолго остались без внимания этот факт и в последующем связывали с фотосинтезом только восстановительный путь превращений углеводов. Такое направление работ вытекало из представления о том, что «продуктами фотосинтеза являются те соединения, которые оказываются меченными только в опытах на свету или с предварительным освещением. Аланин, яблочная и аспарагиновая кислоты, которые очень медленно фиксируют  $\text{C}^{14}$  в темновых опытах без предварительного освещения и значительно быстрее фиксируют его на свету и в темновых опытах с предварительным освещением, являются продуктами как фотосинтеза, так и обратимых реакций дыхания» (Рабинович, 1951, стр. 591).

Пятнадцать лет тому назад Кальвин и его группа, как и большинство исследователей, принимали представление, сложившееся в результате классических экспериментов без применения меченых атомов, о том, что углеводы — единственные продукты фотосинтеза, а многообразие веществ в растении связано с превращениями последних в дыхательном метаболизме. Этот момент, очевидно, и помешал группе Кальвина проанализировать происхождение найденных ими меченых неуглеводных

веществ. Вместе с тем уже давно возникло представление о возможном разнообразии путей превращения  $\text{CO}_2$  в фотосинтезе (Сапожников, 1894; Любименко, 1935; Таусон, 1947; Ничипорович, 1955). Так, например, Ничипорович в 1955 г. писал, что «в зависимости от типа растений, их физиологического состояния, условий питания, температуры, освещения пути превращения первичных продуктов фотосинтеза могут быть разными и приводить к образованию продуктов фотосинтеза различного состава и качества» (Ничипорович, 1955, стр. 269). С 1950 г. в лаборатории фотосинтеза Института физиологии растений были начаты работы по изучению продуктов фотосинтеза. В итоге этих работ, проведенных с применением разнообразных (в том числе и изотопных) методов исследования, для высших растений и водоросли хлореллы было показано, что углеводы не являются единственными продуктами фотосинтеза (Ничипорович, 1950, 1953, 1955; Nichiporovich, 1955; Nichiporovich et al., 1957; Nichiporovich, Voskresenskaya, Butenko, 1959; Зак, 1964).

Подобные данные затем были получены и другими коллективами советских биохимиков и физиологов. Сейчас можно считать установленным, что двуокись углерода, усвоенная растением в восстановительном цикле фотосинтеза, превращается не только в углеводы, но и другие органические соединения. Существенная доля при этом падает на азотистые вещества (Андреева, Плыщевская, 1952; Воскресенская, 1951, 1952; Доман и др., 1952; Незголовова, 1952). Соотношение между углеводами и другими веществами меняется в зависимости от физиологического состояния растений, принадлежаности к определенному семейству и от внешних воздействий, например азотного питания, влажности, температуры, света и др. (Воскресенская, 1952, 1953, 1956; Незголовова, 1956, 1957, 1962; Андреева, 1956; Андреева, Нальборчик, 1957; Андреева и др., 1959; Воскресенская, Гришина, 1956; Заленский, 1957; Zalensky et al., 1958; Заленский и др., 1955; Доман, Ваклинова, 1958; Ваклинова, 1958; Тарчевский, 1958, 1959; Ничипорович, 1962). Не исключено также образование фотосинтетическим путем специфических регуляторов различных физиологических функций в растении (Ничипорович, 1953; 1962; Nichiporovich, Voskresenskaya, Butenko, 1959). Ниже в качестве иллюстрации приводится схема превращений углерода  $\text{CO}_2$  в фотосинтезе, предложенная Ничипоровичем и составленная на основании приведенных выше данных (рис. 14). Примечательно, что в последнее время за рубежом все больше и больше исследуются возможности и пути фотосинтетического образования разнообразных органических веществ зеленого растения (Norris L., Norris R., Calvin, 1955; Mortimer, 1957, 1958; Holm-Hansen et al., 1959; Moses et al., 1959; Burma; Krotkov, 1960; Fogg, 1958; Bassham, Kirk, 1964; Bassham et al., 1964; Бассем, Кальвин, 1962 и др.). В связи с этим взгляд на

продукты фотосинтеза коренным образом изменился и стал близким к развивающемуся советским исследователям.

В настоящее время на основании кинетических опытов и учета активности фотосинтетического и общего метаболического «фондов» органического углерода калифорнийские ученые

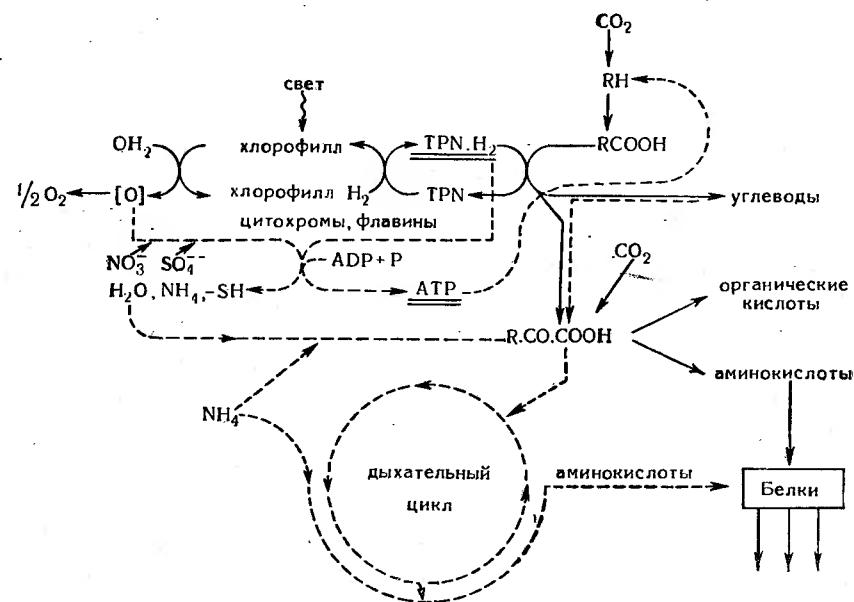


Рис. 14. Фотосинтетический путь превращений  $\text{CO}_2$  (Nichiporovich et al., 1957)

(Бассем, Кальвин, 1962; Calvin, Bassham, 1962) приходят к выводу, что происхождение некоторых аминокислот (аланина, серина, аспарагиновой кислоты) связано с реакциями фотосинтетического цикла и общая доля аминокислот, образованных в фотосинтезе, по отношению ко всему углероду, усвоенному в фотосинтетическом цикле, может составлять свыше 30 %. Цикл фотосинтетического восстановления углерода, согласно Бассему (Bassham, 1964), можно разделить на четыре этапа: 1) карбоксилирование рибулозидифосфата (РДФ) с образованием двух молекул ФГК; 2) восстановление ФГК до триозофосфатов; 3) серия реакций, превращающая пять молекул триозофосфатов до трех молекул пентозофосфатов; 4) фосфорилирование пентозофосфатов с образованием РДФ. Углерод, вступивший в этот цикл в виде  $\text{CO}_2$ , позднее на стадии ФГК или фосфатов сахаров употребляется во вторичных фотосинтетических реакциях. Эти реакции окончательно приводят к синтезу жиров, белков, углево-

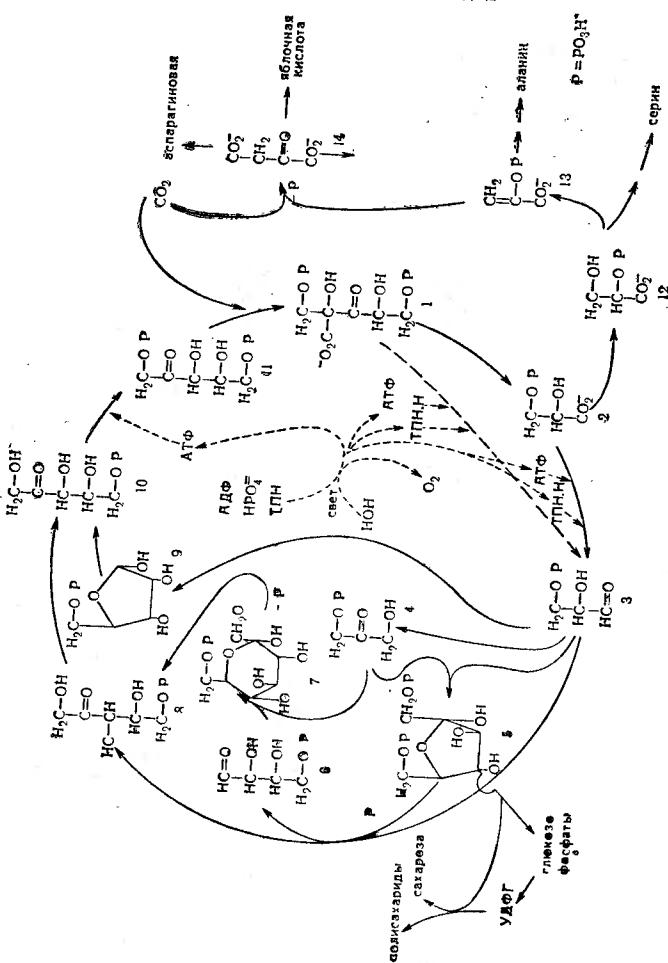
дов и других веществ. Схему фотосинтетических превращений  $\text{CO}_2$ , по Кальвину и Бассему, см. на рис. 15 (Bassham, 1964). Приведенная схема превращений углерода в фитосинтезе в принципе близка к схеме Ничипоровича (см. рис. 14), которая впервые значительно расширила функцию фотосинтеза в метаболизме зеленой клетки.

Однако природа первичного продукта фиксации  $\text{CO}_2$  в фотосинтезе, по-видимому, не может считаться окончательно установленной. Нельзя исключить возможностей карбоксилирования помимо рибулозидифосфата и других соединений (Stiller, 1962). Трудности решения вопроса о природе первичного продукта фиксации  $\text{CO}_2$  и различия в результатах опытов некоторых авторов, изучающих этот продукт, частично объясняются невозможностью стандартизировать способ фиксации такого сложного биологического материала, каким является лист и хлоропласт, и извлечь без изменения продукт первичной фиксации  $\text{CO}_2$ . Все приемы извлечения в той или иной мере нарушают целостность структурных образований, на которых происходит связывание, а затем восстановление  $\text{CO}_2$ . В этом отношении не существует ни одного достаточно нейтрального способа фиксации и извлечения. Спирт (этиловый или метиловый) горячий или холодный, водные растворы, безводные растворители, замораживание и т. п.— все приемы в той или иной мере изменяют как самую ультраструктуру хлоропласта, так и те чрезвычайно лабильные связи, которые, по-видимому, имеются между  $\text{CO}_2$  и тем ферментом (скорее всего, белковой природы), с помощью которого происходит фиксация и восстановление  $\text{CO}_2$  и в состав которого входят, в частности, железо (Бойченко, 1954; Незголова, 1962) и сульфогидрильные группы (Tagava, Agnoli, 1962; Miyachi et al., 1962; Bassham, 1963).

Представление о множественности путей превращения  $\text{CO}_2$  в фотосинтезе позволяет расширить понятие о физиологической функции хлоропласта — высокоорганизованной на запасание «даровой» солнечной энергии органеллы зеленого растения. Хлоропласт выступает в этом случае не только как поставщик углеводов — стандартного продукта для последующего гетеротрофного метаболизма растения. Наоборот, сам хлоропласт, его жизнедеятельность, очевидно, могут быть регуляторами общего обмена веществ растения. Работы лаборатории Сисакяна 1951 г. указывали на значительное разнообразие ферментных систем хлоропласта (Сисакян, 1951). К настоящему времени эти наблюдения значительно расширены и, кроме того, подкреплены данными о том, что катализитические системы и структуры хлоропласта обладают не только общностью, но и существенными отличиями от других органелл клетки (Сисакян, 1959; Jagendorf, 1962). Эти отличия связаны с особенностями усвоения и трансформации световой энергии в химическую.

Рис. 15. Восстановительный цикл углерода в фотосинтезе (Calvin, Bassham, 1962)

1 — рибулозидифосфат; 2 — 3-фосфоглицерат; 3 — глицеральдегид-3-фосфат; 4 — дигидрооксипентенонфосфат; 5 — фруктозо-1,6-дифосфат; 6 — эритрозо-4-фосфат; 7 — седогентуксао-1,7-дифосфат; 8 — кислото-5-фосфат; 9 — рибулозо-5-фосфат; 10 — рибулозо-5-фосфат; 11 — 2-фосфоглицериновая кислота; 12 — фосфоглюцинериновая градиальная кислота; 13 — щавелево-усусная кислота



Изучение путей превращения углерода в фотосинтезе и возможность управления этими путями должны в конечном счете увеличить эффективность фотосинтеза и, следовательно, не только количество урожая, но, очевидно, и его качество.

## 2. ДЕЙСТВИЕ КАЧЕСТВА СВЕТА НА ПРОДУКТЫ ФОТОСИНТЕЗА

До 1950 г. вопрос о влиянии спектрального состава света на превращений  $\text{CO}_2$  в фотосинтезе не был исследован.

Отправным моментом для постановки нами таких исследований явились: 1) предположения Любименко (1935) о наличии в фотосинтезе дополнительных фотохимических реакций, существенных для обмена веществ растений; 2) общие соображения о возможной разнокачественности продуктов фотосинтеза (Ничипорович, 1950); 3) спектральная зависимость эффективности фотосинтеза (см. гл. I); 4) общие указания в литературе о том, что спектральный состав света может влиять на обмен веществ (Palladine, 1899; Ursprung, 1918; Popp, 1926; Kabos, 1936; Dastur et al., 1938; Понтович, 1945). Правда, в большинстве работ определялось влияние света разного спектрального состава на общий обмен веществ незеленого растения, а возможная роль света для превращения  $\text{CO}_2$  в фотосинтезе не принималась во внимание. Разграничения действия качества света на первичный обмен (фотосинтез) и вторичный синтез не проводилось.

Мы пытались выделить действие света различного спектрального состава на превращения  $\text{CO}_2$  в процессе фотосинтеза от его действия на общий метаболизм растений. Исследование проводилось несколькими путями:

1. Сравнивались изменения углеводного и азотистого обмена при продолжительном воздействии светом разного спектрального состава на лист, помещенный в атмосферу с  $\text{CO}_2$  (фотосинтез) или без  $\text{CO}_2$ .

2. С помощью радиоактивного изотопа углерода  $\text{C}^{14}$  исследовались ранние продукты восстановления  $\text{CO}_2$  в фотосинтезе в зависимости от качества света.

Работа проводилась с высшими растениями, главным образом подсолнечником, кукурузой, табаком, фасолью. Растения выращивались на естественном свете, в вегетационном домике или на опытном участке, в основном в условиях почвенной культуры при хорошем снабжении элементами минерального питания. В отдельных специально оговоренных случаях изменялись условия питания азотом. В опыт поступали вполне сформированные, закончившие рост листья 20—30-дневных растений. Эксперименты проводились с отделенными от растений листьями. Влияние качества света на продукты и на интенсивность фотосинтеза выяснилось для двух участков спектра — «красного» и «синего» (см. подробнее гл. I). Таким образом, в этих опытах

определялось действие света двух участков спектра на качественную сторону фотосинтеза — путь фотосинтетического восстановления углерода  $\text{CO}_2$ .

Действие света на продукты исследовалось при одной интенсивности света на восходящем участке световой кривой фотосинтеза. В большинстве опытов эта интенсивность для красного света соответствовала  $40—50 \cdot 10^3 \text{ эрг}/\text{см}^2 \cdot \text{сек}$ ; на синем, при выравнивании света по количеству падающих квантов, интенсивность была в 1,5—1,7 раза выше (см. рис. 9).

### Новообразование углеводов, азотистых веществ и органических кислот при часовых экспозициях

В часовых опытах (5—6 час.) учитывалось одновременно содержание в листьях органического вещества, углеводов и белков до и после экспозиции. Одновременный учет прибавки сухого вещества углеводов и белков за экспозицию позволил сопоставить изменения в метаболизме с количеством вновь образованного в фотосинтезе вещества. Перед экспозицией в листья методом вакуум-инфилтрации вводился раствор  $\text{KNO}_3$  ( $0,02 \text{ M}$ ).

Экспозиция выщечек из листьев на красном и синем свету без  $\text{CO}_2$  давала представление о действии качества света на метаболизм углеводов и белков в отсутствие фотосинтеза. Недостаток углеводов в этом случае мог быть причиной торможения синтеза азотистых соединений. Поэтому при проведении опытов в отсутствие  $\text{CO}_2$  в выщечки листьев дополнительно вводили моносахара (глюкозу и фруктозу). Кроме того, иногда избыток углеводов создавался путем недостаточного снабжения азотом листьев во время выращивания.

Выравнивание светопотоков в опытах по падающим квантам не привело к равенству в накоплении органического вещества на красном и синем свете: на синем оно всегда было ниже (Воскресенская, 1951, 1953). Эти результаты вполне соответствуют изложенным в гл. I данным о том, что для растений, взятых с белого света, синие лучи менее эффективны, чем красные.

Сумма углеводов при фотосинтезе увеличивалась. Однако ни в одном случае она не соответствовала 100% от накопленного вновь вещества (Воскресенская, 1952, 1953). Спектральный состав света существенно влиял на содержание углеводов в образовавшемся веществе. На красном свете их количество было больше, чем на синем (табл. 6). Следовательно, при воздействии коротковолновой радиацией накапливалось относительно больше вещества неуглеводной природы. Этими веществами оказались, в частности, белки (Воскресенская, 1952, 1953). В отсутствие  $\text{CO}_2$  действие качества света на синтез белка из нитратной формы азота не проявилось даже при введении в лист сахаров (табл. 7). В подавляющем большинстве случаев происходило

Таблица 6

Прибыль углеводов и сухого вещества за 5,5 час. фотосинтеза на свету разного спектрального состава

Растение	Опыт	Прибыль сухого вещества, мг на 315 см <sup>2</sup> листовой поверхности		Прибыль углеводов, мг глюкозы на 315 см <sup>2</sup> листовой поверхности		Углеводы, % к общей прибыли сухого вещества	
		красный свет	синий свет	красный свет	синий свет	красный свет	синий свет
Кукуруза	1	37,5	23,8	26,87	15,09	71,6	63,4
	2	52,5	14,5	34,45	4,95	65,6	34,1
Подсолнечник	3	32,6	44,9	21,68	16,92	66,5	37,7
	4	31,5	9,3	25,00	5,39	79,3	58,0
Фасоль	5	101,0	17,4	43,01	2,51	42,6	14,4
	6	38,3	36,0	31,47	16,59	82,2	46,1

Таблица 7

Влияние света разного спектрального состава в отсутствие CO<sub>2</sub> на содержание белкового азота в листьях за 5,5 час. экспозиции

Растение	Опыт	Условия опыта	Площадь листьев, см <sup>2</sup>	Абсолютно сухой вес площасти листьев, мг	Белковый азот, мг на площадь листа	Белковый азот, % к сухому весу площасти листа
Кукуруза выращена на 0,5 нормы азота	1	Контроль (без экспозиции)	315	887,1	23,41	2,63
		Свет				
	2	красный	»	867,1	20,37	2,34
		синий				
То же	2	Контроль	173	485,9	12,87	2,65
		Свет				
	3	красный	»	504,3	13,41	2,65
		синий				
Подсолнечник	3	Контроль	315	1068,1	62,59	5,86
		Свет				
	4	красный	»	1017,2	56,45	5,54
		синий				
Фасоль	4	Контроль	173	306,1	15,73	5,13
		Свет				
	5	красный	»	318,4	14,16	4,44
		синий				

уменьшение количества белка. Итак, при употреблении качестве источника минерального азота окисленной формы ( $\text{NO}_3^-$ ) образование белка в листьях происходило только при наличии фотосинтеза. На свету без CO<sub>2</sub>, несмотря на значительное количество углеводов в листьях, синтез белков практически не обнаружен. Эти результаты находятся в согласии с работами Бурстрёма (Burström, 1943) и Печеницыной (1951), которые также не обнаружили сколько-нибудь значительного синтеза белков на нитратном источнике азота в темноте, незеленых частях растений на свету и зеленых — в отсутствие CO<sub>2</sub> на свету. В то же время они противоречат данным опытов Андреевой (1956), Чеснокова и др. (1959), которые работали с аммиачной формой азота. При употреблении восстановленной формы азота эти исследователи обнаружили синтез белка за счет сахаров для зеленых листьев не только при фотосинтезе, но и на свету в его отсутствие. Очевидно, применение нитратного азота вносит специфику в белковый синтез на свету. За счет нитратов последний наблюдается только в присутствии CO<sub>2</sub>. Вероятно, такой результат связан со спецификой усвоения окисленного азота высшими растениями на свету — его восстановление только при наличии CO<sub>2</sub> (Burström, 1943; Воскресенская, 1953; Андреева, 1951).

Неодинаковое (менее интенсивное на синем свету) накопление органической массы затрудняет определение специфичности действия света разного качества на продукты фотосинтеза. Известно, например, что при низкой освещенности, т. е. при снижении фотосинтеза, одновременно с уменьшением накопления органической массы, так же как и при действии синего света, образуется относительно больше белка, чем углеводов (Сапожников, 1894, Ничипорович, 1953). Чтобы быть уверенным в том, что спектральный состав света специфично, независимо от интенсивности накопления органического вещества, влияет на соотношение продуктов фотосинтеза, во всех дальнейших опытах мы употребляли соотношение светопотоков, обеспечивающее для обоих участков спектра одинаковый фотосинтез и одинаковое накопление органической массы в единицу времени. Такие условия достигались при соотношении интенсивностей красного и синего света около 1 : 2,5.

Полученные результаты указывают, что и в таких условиях содержание белкового азота, как и в предыдущих опытах, было больше при фотосинтезе в коротковолновом участке спектра. На красном свете в некоторых случаях вовсе не найдено увеличение белкового азота, в то же время на синем — обнаруживалась прибавка (Воскресенская, 1952). Количество углеводов, как суммы (после трехчасового гидролиза), так и растворимых, изменяется в зависимости от качества света только при обнаружении белкового синтеза (табл. 8). Когда новообразования белка нет ни на красном, ни на синем свете, то сумма вновь образуемых

Таблица 8

Новообразование углеводов и белков (в  $\mu\text{г}$  глюкозы и белка на  $315 \text{ см}^2$  листовой поверхности) в листьях подсолнечника и кукурузы при фотосинтезе на красном и синем свете (Воскресенская, 1952)

Фракция вещества	Красный		Синий		Красный		Синий		Красный		Синий		Красный		Синий	
	опыт 1	опыт 2	опыт 1	опыт 2	опыт 3	опыт 4	опыт 3	опыт 4	опыт 5	опыт 4	опыт 5	опыт 6	опыт 5	опыт 6	опыт 5	опыт 6
Монозы . . . . .	0,74	2,87	8,08	1,57	3,04	1,44	5,32	1,03	7,42	6,51						
Дисахара . . . . .	4,87	10,65	15,90	9,33	27,69	18,53	19,93	17,35	10,60	9,63						
Крахмал . . . . .	Нет	7,29	1,59	1,46	Нет	Нет	Нет	Нет	Нет	Нет						
Гемицеллулоза . . . . .	0,88	1,75	3,21	2,40	Нет увеличения	1,70	11,69									
Сумма углеводов . . . . .	5,75	7,42	24,02	15,22	12,36	27,43	31,66	25,25	18,38	18,02	16,14					
Белок . . . . .	-10,12	-13,43	-2,75	+6,37	+22,00	+36,81	-10,93	-1,12	+1,31	+10,90	-2,62	+9,56				

Таблица 9

Изменение суммы органических кислот (в  $\mu\text{г}$  яблочной кислоты) в листьях при фотосинтезе (Воскресенская, 1952)

Растение	Опыт	Условия опыта	На 1 $\text{g}$ сухого вещества	Увеличение за экспозицию на $315 \text{ см}^2$ листьев		Растение	Опыт	Условия опыта	На 1 $\text{g}$ сухого вещества	На 315 $\text{cm}^2$ листьев	Увеличение за экспозицию на $315 \text{ см}^2$ листьев
				Подсолнечник	Кукуруза						
Подсолнечник	1	Контроль Свет	10,45	11,01	2,46	Кукуруза	2	Контроль Свет	19,59	17,26	
		красный синий	12,36 12,71	13,47 13,63	2,62			красный синий	20,47 22,42	19,64 21,29	
2	2	Контроль Свет	5,24	4,60		3	Контроль Свет	16,43	12,35		
		красный синий	6,62 8,58	6,58 8,39	1,98 3,79			красный синий	18,48 25,44	14,58 20,50	
Кукуруза	1	Контроль Свет	23,42	21,80							
		красный синий	22,42 24,66	22,43 23,60	0,33 1,80						

углеводов практически одинакова для красного и синего света. Если белок образуется, тогда углеводов на синем свете накапливается меньше, чем на красном. Это уменьшение затрагивает все фракции. Например, в опыте 2 на красном свете увеличения белкового азота не было, на синем оно достигало 6,37  $\mu\text{г}$ ; соответственно, на красном свете накопление углеводов было выше по всем фракциям. В этих условиях удалось наблюдать даже накопление крахмала. В опыте 3, где образование органического вещества было особенно интенсивным, на синем свету образовалось выше 36  $\mu\text{г}$  белка, на красном — 22  $\mu\text{г}$ . Образование крахмала на синем свете, возможно, вызвано тем, что весь минеральный азот листвьев был израсходован на синтез белка уже задолго до окончания срока экспозиции. В результате этого в последние часы экспозиции на обоих участках образовались углеводы. Итак, в условиях практически одинакового накопления органической массы растениями также проявляется положительное действие синего света на новообразование белка. По-видимому, коротковолновые лучи оказывают специфическое, независимое от интенсивности света, положительное действие на образование белков при фотосинтезе. Образование азотистых соединений и углеводов представляет собой, по нашему мнению, отдельные ветви превращений промежуточного продукта фиксации  $\text{CO}_2$ . В зависимости от условий скорость превращения промежуточного продукта в углеводы и белки может меняться. Коротковолновая радиация, активируя превращение промежуточного продукта восстановления двуокиси углерода в азотистые соединения, уменьшает долю продукта, превращающегося в углеводы по принципу конкурентных отношений (Воскресенская, 1952).

Помимо белков и углеводов, за 5—6 час. экспозиции во вновь образованном веществе накапливаются также органические кислоты. На синем свете кислот накапливается значительно больше (табл. 9), чем на красном (Воскресенская, 1952). Отсюда можно заключить, что освещение коротковолновыми лучами способствует не только увеличению количества белка, но и повышает содержание органических кислот во вновь созданном в результате фотосинтеза органическом веществе. Как указывалось выше и другими исследователями изучалось действие качества света на накопление белков в листьях при часовых экспозициях (Чесноков и др., 1959). Диски из листьев подсолнечника выдерживались на растворе  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  в течение 6 час. на свете или в темноте в присутствии  $\text{CO}_2$  и без нее (но на растворе глюкозы). Спектральная характеристика источников света и светофильтров, а также использованные интенсивности света в работе не указаны. Ниже приводится таблица из работы, на основании результатов которой авторы делают заключение: «О неосновательности утверждений, что спектральный состав света влияет на синтез белка при фотосинтезе». В оригинальной таблице авторов

не сделан расчет белкового и небелкового органического азота в процентах к накопленному веществу. В то же время только такой расчет дает возможность наглядно оценить интенсивность белкового синтеза по отношению к вновь образованному веществу, если увеличение органического вещества за экспозицию различно.

Таблица 10

Влияние качества света на образование азотистых веществ (в мг на 314 см<sup>2</sup> за 6 час.) в дисках, вырезанных из листьев подсолнечника (по Чеснокову и др., 1959)

Свет в опыте	Увеличение веса дисков	Фотосинтез с поправкой на дыхание (серия 1) и поступление глюкозы (серия 2)	Увеличение			
			белкового азота		органического азота	
			на площадь листьев	% к накопленному веществу	на площадь листьев	% к накопленному веществу
<b>Серия 1 (+CO<sub>2</sub>)</b>						
Белый . . . . .	68	117	1,43	2,1	6,29	9,2
Красный . . . . .	35	84	1,68	4,8	5,29	15,1
Синий . . . . .	8	57	0,70	8,7	3,95	49,2
Зеленый . . . . .	6	54	1,10	18,3	4,26	71,0
Темнота . . . . .	-49	0	0,85	—	2,73	—
<b>Серия 2 (глюкоза)</b>						
Белый . . . . .	168	217	2,76	1,6	7,55	4,5
Красный . . . . .	117	166	3,45	2,8	7,35	6,2
Синий . . . . .	99	148	3,12	3,1	6,39	6,4
Зеленый . . . . .	67	116	2,31	3,4	4,59	6,8
Темнота . . . . .	38	87	2,17	5,6	4,03	—

Примечание. Процентное содержание азота пересчитано нами.

Мы попытались это сделать (см. 5 и 7-ю графы табл. 10). При таком расчете ясно видно, что действие глюкозы и CO<sub>2</sub> на свету различно. В первой серии (там, где было CO<sub>2</sub> и, следовательно, фотосинтез) синтез белка зависел от спектрального состава света и, как в наших опытах, максимум синтеза приходился на сине-зеленый свет. То же относится и к остальным азотистым органическим соединениям. Что касается опытов без CO<sub>2</sub> в присутствии глюкозы, то здесь качество света также оказывало влияние на накопление белка. Однако сам процесс был значительно менее активен, чем при фотосинтезе. Содержание органического азота, количества которого при питании глюкозой было больше, чем в случае фотосинтеза, подвергалось небольшим колебаниям в зависимости от качества света.

Если не считать, что во всех случаях (свет, темнота, свет без CO<sub>2</sub>+глюкоза) исследователи наблюдали, в отличие от нас, синтез азотистых веществ, то их данные вполне соответствуют нашим и указывают на то, что коротковолновые лучи усиливают белковый синтез. Возможность синтеза белка в темноте и на свету за счет сахарозы в присутствии иона аммония указывалась нами ранее. В то же время отчетливо видно, что активность белкового синтеза на свету в присутствии CO<sub>2</sub> существенно выше, вероятно благодаря возможности усвоения в этих условиях и NO<sub>3</sub>.

Итак, коротковолновая радиация оказывает специфическое активирующее действие на увеличение доли белков и органических кислот в синтезированном из CO<sub>2</sub> органическом веществе. На свету без фотосинтеза новообразования белков из нитратной формы азота не происходит. Можно думать поэтому, что изменения в обмене веществ при действии света разного спектрального состава в первую очередь связаны с направленностью первичного синтеза, т. е. фотосинтеза.

Однако приведенные данные были получены с применением методики, которая в настоящее время не может считаться вполне современной и свободной от недостатков. Так, в отрезанных листьях при часовых экспозициях, по-видимому, всегда снижается интенсивность синтеза белка. В крайних случаях наблюдается даже его распад. Контроль также нельзя считать лишенным недостатков (освещение листьев красным или синим светом в отсутствие CO<sub>2</sub>). Безусловно, наиболее показательными являются кратковременные опыты с радиоактивной двуокисью углерода, которые позволяют путем измерения скорости обнаружения метки C<sup>14</sup> в различных веществах в значительно большей мере расчленить первичный и вторичный синтезы веществ.

Тем не менее с помощью приведенной выше методики впервые были получены результаты, указывающие, что изменения в обмене веществ при воздействии спектрального состава света начинаются с изменений в соотношении продуктов фотосинтеза. Попутно были подтверждены эксперименты Сапожникова (1894) и Бурстрёма (Burström, 1942, 1943) о создании неуглеводных продуктов в фотосинтезе. Особенно существенно, что при различных способах выравнивания светопотока по одинаковому количеству падающих квантов (т. е. разной интенсивности накопления сухого вещества) и по выравненному накоплению сухого вещества (т. е. при значительно большем количестве квантов синего света) эффект качества света на продукты был одинаков. Иными словами, органического вещества при фотосинтезе на синем свете могло быть накоплено меньше, столько же или большие, чем на красном свете; но влияние этого участка спектра на усиление синтеза белка оставалось всегда (если вообще новообразование белка имело место).

## Кратковременные опыты с радиоактивной двуокисью углерода

### Действие качества света на распределение $C^{14}$ по фракциям (главным образом свободных углеводов)

С помощью радиоактивного изотопа углерода  $C^{14}$  (Камен, 1948; Верховская и др., 1955) можно проследить действие света разного спектрального состава на распределение меченого углерода среди метаболитов листа за короткие экспозиции — секунды, минуты (Воскресенская, 1953, 1956; Воскресенская, Гришина, 1956). В этом случае качество метаболитов, в которые попадает метка, указывает вещества, на образование которых влияет спектральный состав света. Такой метод позволяет также определить, связано ли это действие в первую очередь с фотохимическими реакциями хлоропласта или с влиянием на общий метabolизм целой клетки (Calvin, Bassham, 1962).

Исследование действия качества света на продукты фотосинтеза с помощью радиоактивного метода мы начали в 1952 г. (Воскресенская, 1953).

Экспозиция отрезанных листьев проводилась в герметически замкнутой ртутью камере из стекла или плексигласа, емкостью около  $150\text{ см}^3$  (Воскресенская, 1953)<sup>1</sup>. После экспозиции материал фиксировался 2 мин. кипящей водой или кипящим этанолом различных концентраций. Фиксатор подкислялся нескользкими каплями 10%-ной HCl для удаления газообразной  $CO_2$  и разрушения меченого карбоната, которые могли накапливаться в листе и оставаться неусвоенными в органические вещества при коротких экспозициях с высоким содержанием  $CO_2$  в газовой фазе. Экспозиции проводились всегда при насыщающих фотосинтез концентрациях  $CO_2$  — от 1 до 3%. Содержание меченого углерода в опытах менялось в зависимости от задач эксперимента и длительности экспозиций. Для экспозиций в разных участках спектра отбирался лист, из супротивных половинок которого в средней части листа делались высечки по  $10-15\text{ см}^2$ . Всего площадь листьев в большинстве опытов была  $75\text{ см}^2$ . Таким образом обеспечивалось хорошее усреднение материала. Соотношение интенсивности синего и красного света было 2,5 : 1.

Показателем интенсивности фотосинтеза являлась общая радиоактивность, усвоенная листом, которая сопоставлялась с радиоактивностью отдельного, интересующего нас вещества или группы близких по составу веществ. Вещества или группы веществ, содержащие радиоактивность, разделялись с помощью ионообменных смол и распределительной хроматографии на бу-

<sup>1</sup> Как показано (Pennell, Weatherly, 1954), в таких условиях ртуть не вызывает ингибирующего действия на метabolизм.

маге. Некоторые вариации в подготовке растений в отдельных опытах оговариваются особо, при описании опытов.

В методических опытах было проверено действие качества света на распределение радиоактивности между водорастворимыми и нерастворимыми веществами клетки за короткие экспозиции. При этом было установлено, что практически весь радиоактивный изотоп углерода в листьях подсолнечника за время от 5 сек. до 5 мин. на красном и на синем свету целиком сосредоточен в водорастворимых веществах (Воскресенская, 1953). Это соответствует данным, полученным для ряда растений при освещении их белым светом (Доман и др., 1952).

На основании полученных данных в дальнейшем, если экспозиция не превышала 5 мин., работа проводилась только с фракцией водорастворимых веществ.

Таблица 11

Радиоактивность различных фракций листьев подсолнечника (в % от общей радиоактивности водорастворимых соединений) при фотосинтезе на красном и синем свету (Воскресенская, 1953)

Опыт	Экспозиция, сек.	«Белковая»		Углеводы	Вещества, адсорбированные ионообменными смолами	«Белковая»		Углеводы	Вещества, адсорбированные ионообменными смолами
		Синий свет	Красный свет			«Белковая»	Углеводы		
1	5	47,4	6,1	46,5	45,8	7,5	46,7		
	30	40,7	9,2	50,0	43,1	7,0	50,1		
	90	18,0	11,3	70,6	12,5	10,7	76,7		
	180	22,7	16,0	61,2	15,1	50,1	34,8		
2	5	39,8	0,0	60,2	69,1	2,5	28,4		
	30	52,3	3,7	43,9	71,8	7,5	20,7		
	90	23,6	11,4	65,0	32,7	13,8	53,6		
	180	22,0	20,1	57,8	15,1	44,9	40,0		

В табл. 11 представлены данные по распределению  $C^{14}$  между водорастворимыми веществами в листьях подсолнечника на красном и синем свету. Таблица составлена на основании опубликованных данных (Воскресенская, 1953).

Радиоактивность «белковой» (осаждаемой уксуснокислым свинцом) фракции в первые 30 сек. фотосинтеза составляла около половины (опыт 1), а иногда и до 70% (опыт 2) всего усвоенного листом  $C^{14}$ . Каких-либо определенных различий в эту экспозицию для красного и синего света заметить не удалось: в первом опыте радиоактивность фракции была одинакова, во втором — больше на красном свету. К 90 сек. обнаружилось рез-

кое уменьшение процента радиоактивности «белковой» фракции, так как радиоактивность других фракций возрастала со временем быстрее. Между 90 и 180 сек. скорость накопления  $C^{14}$  в «белковой фракции» становится различной для красного и синего света — выше на синем.

Как видно из табл. 11, в первые 90 сек. фотосинтеза практически весь  $C^{14}$  распределился между фракцией веществ, адсорбируемых обмениниками, и «белковой» фракцией. Высокую радиоактивность фракции веществ, осаждаемых уксуснокислым свинцом, в первые секунды фотосинтеза можно объяснить карбоксилированием активных групп белка и прочих, способных к карбоксилированию соединений, осаждаемых солями тяжелых металлов (Незговорова, 1951). Поскольку скорость процесса ограничивается количеством активных групп, способных к карбоксилированию, то с увеличением времени экспозиции скорость карбоксилирования должна уменьшаться. И действительно к 90 сек. наблюдается резкое падение процента  $C^{14}$ , сосредоточенного в белковой фракции. Большая активность «белковой фракции» за первые секунды фотосинтеза, мы полагаем, была вызвана тем, что в наших опытах лист прямо переносился с обычной концентрации  $CO_2$  в условия с повышенной концентрацией (от 1 до 3%). При этом происходило прежде всего насыщение листа  $CO_2$  с присоединением ее ко всем возможным акцепторам. Как показано, затем  $CO_2$  из этого «запаса» может расходоваться на восстановительный цикл фотосинтеза (Незговорова, 1962). Для нас это побочное явление, вызванное особенностями проведения экспериментов, не являлось существенным, поскольку различия в действии качества света проявились в белковой фракции только после 90 сек.

Радиоактивность веществ, адсорбированных катионитом и анионитом, менялась в зависимости от качества света. На синем свете содержание радиоактивности в веществах, адсорбируемых ионообменными смолами, было выше. В первом опыте различие между красным и синим светом стало заметным лишь к 90 сек. экспозиции, во втором — раньше. По-видимому, такое явление вызвано тем, что растения в опытах, проводимых в разные сроки, обладали различной активностью метаболизма. Фракция, адсорбируемая ионообменными смолами, чрезвычайно неоднородная. Она включает практически все водорастворимые соединения, за исключением свободных сахаров и веществ, осажденных уксуснокислым свинцом. Поэтому до момента активного образования сахаров трудно ждать появления существенных различий в этой фракции.

Четкие результаты получены для фракции углеводов. Их радиоактивность к моменту активного образования (после 90 сек.) оказалась значительно меньше на синем свете и больше на красном. Это коррелирует с убылью активности, снимаемой

ионообменными смолами. На рис. 16 графически изображены данные опытов с подсолнечником.

Итак, при групповом разделении веществ в кратковременных опытах с  $C^{14}$  удалось констатировать быстрое (через 90 сек.) проявление действия качества света на активность образуемых

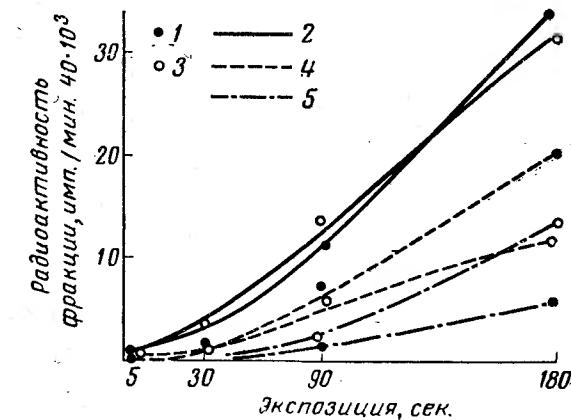


Рис. 16. Радиоактивность различных фракций по отношению к общей радиоактивности спиртовой фракции у подсолнечника (Воскресенская, 1953)  
 1 — синий свет; 2 — общая радиоактивность; 3 — красный свет; 4 — радиоактивность, снятая ионообменными смолами; 5 — радиоактивность свободных углеводов

в фотосинтезе водорастворимых веществ у молодых листьев подсолнечника. При этом синий свет способствовал накоплению метки в веществах неуглеводной природы, красный — в углеводах, т. е. полученные данные были подобны результатам опытов без изотопов.

Действие качества света на распределение  $C^{14}$  по группам веществ проявляется также и для других растений, находящихся в различном возрасте и состоянии. Это можно проиллюстрировать следующим опытом со взрослыми растениями сахарной свеклы, подсолнечника и табака (табл. 12). Листья сахарной свеклы были взяты для опыта в конце сентября, в период, когда эти растения, вообще обладающие высокой способностью к образованию сахарозы (Курсанов, Туркина, 1954), синтезируют ее особенно активно в связи с усиленным транспортом в корнеплод (Оканенко, 1957). Растения подсолнечника, в отличие от предыдущего опыта, были также взяты в конце вегетации и имели уже сформированную корзинку. Растения табака брали в опыт до начала бутонизации, в августе.

Данные табл. 12 указывают, что все растения обнаружили резкую реакцию на спектральный состав света. Радиоактивность, снятая катионитом, которая в этом опыте включала и белки, была выше на синем свете. Среди веществ, извлеченных катионитом, кроме белка можно предполагать наличие ряда органических соединений: аминокислоты, пептиды, а также фосфорные эфиры сахаров. Характер соединений, адсорбированных на катионите, для красного и синего света был, по-видимому, различен. В пользу этого свидетельствует сравнительно малое падение активности со временем на синем свету и большое — на красном.

Накопление радиоактивности во фракции нейтральных веществ — свободных углеводов — на синем свете, как и в предыдущих опытах, было значительно меньше, чем на красном, для всех растений.

Таким образом, результаты приведенных опытов подтверждают ранее полученные материалы о специфическом влиянии качества света на состав продуктов фотосинтеза. Одновременно можно заметить, что распределение радиоактивности по фракциям зависит от видовых особенностей и физиологического состояния растений. Наиболее активно  $C^{14}$  попадал во фракцию углеводов в листьях табака (радиоактивность углеводов на красном свете к 5 мин. доходила до 70%). Это соответствует данным о большом содержании подвижных сахаров в листьях растения в раннем возрасте (Шмук, 1940).

В то же время распределение радиоактивности внутри группы сахаров между сахарозой, глюкозой и олигосахарами на красном и синем свету при 10 мин. экспозиции практически не найдено. (Объектом были листья кукурузы.) Подавляющее количество радиоактивных сахаров было представлено сахарозой для красного и синего света.

На красном свете радиоактивность глюкозы была несколько меньше, чем на синем, а олигосахаров — больше. Однако изменения настолько невелики, что они могут рассматриваться лишь как тенденция.

Итак, суммарная радиоактивность свободных сахаров во всех опытах была меньше на синем свете. Однако уменьшение, очевидно, затрагивает всю группу свободных сахаров, поскольку изменений в соотношении между отдельными сахарами не замечено.

Действие качества света на радиоактивность сахаров проявляется для одного и того же растения, находящегося в различном онтогенетическом состоянии. Эти данные (Воскресенская, Гришина, 1956) были получены для двух видов табака, резко отличающихся темпом крахмалонакопления: *Nicotiana silvestris* — длиннодневный вид табака и *Nicotiana tabacum*, сорт Мериленд-Мамонт — короткодневный. Табаки высевались в два срока —

Таблица 12  
Распределение  $C^{14}$  по фракциям в листьях разных растений при экспонировании на красном и синем свetu  
(Воскресенская, Гришина, 1956 г.)

Растение	Экспози- ция, мин.	Красный свет						Синий свет						
		Радиоактивность на катионите			Углеводы			Радиоактивность на катионите			Углеводы			
		Общая ра- диоактив- ность стрио- или подраство- венных ве- ществ, имк/мин	% к общей радио- актив- ности	% к общей радио- актив- ности	Общая ра- диоактив- ность стрио- или подраство- венных ве- ществ, имк/мин	% к общей радио- актив- ности	% к общей радио- актив- ности	Общая ра- диоактив- ность на катионите	% к общей радио- актив- ности	% к общей радио- актив- ности	Общая ра- диоактив- ность на катионите	% к общей радио- актив- ности	% к общей радио- актив- ности	
Сахарная свекла	2	13 580	7080	52	644	5	5860	43	10 750	5825	55	2230	20	2700
	6	—	—	—	—	—	—	—	52 700	28 200	53	12 045	23	12 460
Подсол- нечник	2	6900	5050	73	1380	20	484	7	6240	4890	79	1060	16	260
	6	45 460	20 440	45	8480	18	16 540	37	58 140	37 940	66	11 120	19	9180
Табак сор- та Мери- ленд-Ма- монт	2	54 893	15 250	28	26 590	49	13 053	24	50 582	24 906	49	17 486	35	9190
	5	140 492	28 450	20	18 437	13	93 555	67	174 547	71 700	41	48 590	28	54 255

второй на 50 дней позднее первого. Половина растений первого срока в 50-дневном возрасте ставилась в условия короткого 8-часового дня, остальные оставались все время на обычном летнем дне Московской области. Мериленд-Мамонт бутонизировал и цвел на коротком дне и вегетировал на длинном, Сильвестрис — наоборот. За 7 дней перед опытом все растения помещались на нормальный длинный день. Табак второго срока посева находился к моменту опыта в состоянии розетки или самого начала образования стеблей и отличался бурным темпом роста.

Таким образом, опыт проводился с табаком разного возраста. Растения первого срока, в зависимости от длины дня, вегетировали, бутонизировали или цвели, второго срока — только вегетировали.

На табл. 13 представлено распределение радиоактивности между водорастворимой фракцией и нерастворимым остатком для двух табаков, находящихся в различных фазах развития (табл. 13).

Как обычно, соотношение синего и красного света в опытах было около 2,5, однако, благодаря различному физиологическому состоянию (неодинаковый темп ростовых процессов и фаза развития), в отдельных опытах общая активность фиксации  $C^{14}O_2$  (фотосинтез) на красном и синем свету была различна. При этом иногда она совпадала для одного срока экспозиции и различалась для другого. Как видно, для листьев табака существенная радиоактивность в остатке найдена уже при 2-минутной экспозиции. При пяти- и десятиминутных экспозициях радиоактивность остатка достигала иногда 30—40% от общей, усвоенной листом. Как правило, она была выше на красном свету и меньше на синем, т. е. качество света оказывало влияние на скорость попадания метки в спиртонерастворимые вещества. Высокая радиоактивность остатка определяется главным образом наличием крахмала. При этом особых и закономерных различий между действием красного и синего света на радиоактивность крахмала заметить не удалось (табл. 14).

Результаты определения радиоактивности фракции растворимых углеводов и веществ, адсорбируемых на ионообменных смолах, приведены в табл. 15. Вначале кажется, что действие качества света на накопление радиоактивности в растворимых углеводах не дало четкой картины. Так, преимущества красного света проявлялись не во всех опытах и не для всех экспозиций: в некоторых случаях преимущества отмечаются для двух и пятиминутных экспозиций и не наблюдаются при десятиминутных, а иногда, наоборот, отчетливо проявлялись только при 5 или даже 10 мин. Менее всего действие качества света на радиоактивность углеводов проявилось в фазу бутонизации — период резкого замедления ростовых процессов (см. опыт 1 с табаком

Таблица 13

Фаза развития	Экспозиция, мин.	Опыт I, 29.VII, вид Сильвестрис		Опыт II, 6.VIII, вид Сильвестрис		Опыт I, 18.VIII, вид Мериленд-Мамонт		Опыт IV, 25.VIII, сорт Мериленд-Мамонт	
		Красный	Синий	Красный	Синий	Красный	Синий	Красный	Синий
<b>Рассадный период</b>									
2	39	4	208	4	—	—	—	—	—
5	114	1	468	16	—	—	—	—	—
10	259	12	630	37	—	—	—	—	—
<b>Вегетация</b>									
2	28	6	447	3	47	12	56	4	17
5	83	8	461	9	164	34	160	16	72
10	191	12	725	7	295	37	357	33	186
<b>Образование бутона</b>									
2	47	42	33	13	52	10	54	6	22
5	160	33	94	23	114	28	143	14	79
10	398	44	236	32	265	37	342	28	203
<b>Цветение</b>									
2	—	—	—	—	—	37	10	58	5
5	—	—	—	—	—	116	39	117	14
10	—	—	—	—	—	230	31	246	16

Общее содержание  $C^{14} (\times 10^3 \text{ илл./мин. на } 75 \text{ см}^2 \text{ листа})$  и содержание  $C^{14}$  в веществах, не извлекаемых 55%-ным кипящим этанолом (в %), в листьях табака при фотосинтезе на красном и синем свете

Таблица 14

Распределение радиоактивности (в  $\mu\text{R}/\text{мин}$  на  $75 \text{ см}^2$  листьев) в веществах остатка у табака Сильвестрис в различные фазы развития после фотосинтеза на красном и синем свету (опыт I, 29.VII)

Фаза развития	Экспозиция, мин.	Крахмал	Остаток после дегидратации	Сумма	В красном, %	В остатке, %	Крахмал	Остаток после дегидратации	Сумма	В красном, %	В остатке, %
Синий свет											
Бутонизация (длинный день)	2	5040	1380	6420	78	22	4620	420	5040	91	9
	5	33450	4420	37870	88	12	9450	3040	12490	76	24
	10	43700	7730	50430	86	14	33430	6900	40030	82	18
Не бутонизирует (рассадный период, длинный день)	2	4380	870	2250	61	39	3420	3860	7280	47	53
	5	11440	4860	16300	70	30	32540	17320	49860	65	35
	10	6240	18070	24210	25	75	49400	37630	87090	56	44
Не бутонизирует (короткий день)	2	420	700	1120	37	63	2480	3390	5870	42	58
	5	5160	2420	7560	68	32	47240	8050	25290	67	33
	40	19570	6780	17550	60	40	28070	24710	52780	53	47

Сильвестрис). Здесь за двухминутную экспозицию активность углеводной фракции была выше даже на синем свету. К 5 мин. различия сглаживаются (опыт I) или радиоактивность углеводов становится выше на красном свете.

Однако делать выводы относительно действия качества света на углеводы, ограничиваясь определением радиоактивности углеводов только растворимой фракции, в том случае, если нерастворимый остаток обладает значительной радиоактивностью, очевидно, нельзя.

На рис. 17 дано соотношение активности растворимых сахаров и остатка за 5 мин. фотосинтеза листвьев табака на красном и синем свете. Из этих данных ясно видно, что, не учитывая суммарной активности всех углеводных веществ (в том числе и находящихся в остатке), нельзя правильно решить вопрос о положительном или отрицательном действии определенного качества света на накопление активности в углеводах. Так, в одном из опытов, где сумма растворимых углеводов на красном и синем свету была одинакова, радиоактивность остатка — ниже на синем, т. е. полимеризация крахмала проходила активнее на крас-

Таблица 15

Радиоактивность фракций углеводов и веществ, адсорбированных на инообменных смолах, у листьев табака в разные фазы развития в зависимости от качества света (в % от общей радиоактивности)

Фаза развития	Экспозиция, мин.	Опыт I, 29.VII, вид Сильвестрис			Опыт II, 6.VIII, вид Сильвестрис			Опыт III, 18.VIII, вид Мерилент-Мамонт			Опыт IV, 25.VIII, сорт Мерилент-Мамонт		
		на смолах	в витаминах	на витаминах	на смолах	в витаминах	на смолах	на смолах	в витаминах	на смолах	в витаминах	на смолах	в витаминах
Рассадный период	2	Красный	Синий	Красный	Синий	—	—	Красный	Синий	—	—	Красный	Синий
	5	85	15	91	9	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	62	38	70	30	—	—	—	—	—	—	—	—
Не бутонизирует	2	62	42	58	67	33	—	—	—	—	—	—	—
	5	61	39	74	26	22	78	38	62	55	45	79	24
	10	48	52	72	28	16	84	21	79	63	37	76	24
Бутонизирует	2	83	17	71	29	70	30	59	41	86	14	90	10
	5	54	46	53	47	47	63	52	48	80	20	85	15
	10	37	63	46	54	36	64	34	66	66	34	73	27
Цветение	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

ном. Поэтому в сумме количество углеводов оказалось ниже на синем свете. То же можно сказать о двух других опытах, представленных на рисунке.

Как видно, общий уровень накопления сахаров и соотношение растворимых сахаров и остатка у табаков в сильной степени.



Рис. 17. Радиоактивность (в % от общей) растворимых углеводов (I) и крахмала (II). 1 — на красном свете; 2 — на синем свете. Экспозиции: а — 5 мин; б — 10 мин (Воскресенская, Гришина, 1956)

зависели от физиологического состояния растения и сорта. Тем не менее действие света разного качества вызывало изменения в фракции углеводов. Различия в действии качества света в первую очередь обнаруживаются в задержке синтеза высокополимерных углеводов и затем уже — растворимых. Следовательно, при анализе действия качества света на углеводы нельзя ограничиваться исследованием только растворимых, необходим общий анализ как растворимых углеводов, так и крахмала.

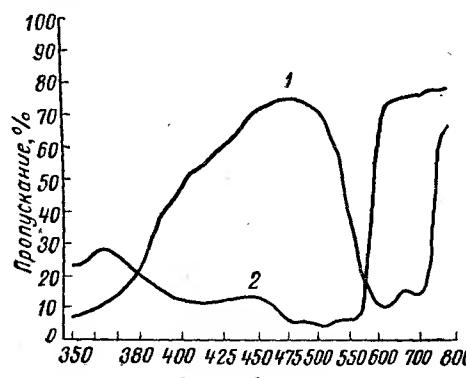


Рис. 18. Характеристика светофильтров, употреблявшихся в работах Трегунна (Tregunna et al., 1962)

1 — синий свет; 2 — красный свет

зом действие качества света на путь углерода. Спектр в опытах этих исследователей делится также на 2 части — «красную» и «синюю». Выше приводится спектральная характеристика применяемого ими света. Как видно из рис. 18, отличия в условиях освещения между нашими опытами и опытами

канадских ученых состоят в следующем: 1) канадские учёные применяли источник света со сплошным излучением для обеих областей спектра; 2) светофильтры в опытах таковы, что оставляли некоторую примесь красных лучей в случае синего света и синих — в случае красного. Определение фотосинтеза проводилось с помощью инфракрасного газоанализатора;  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  добавлялся к  $\text{C}^{12}\text{O}_2$  в замкнутую камеру, присоединенную к газоанализатору. При определении действия качества света на радиоактивность углеводов экспозиция продолжалась от 30 и более минут (Tregunna et al., 1961). Опытным растением был табак, интенсивность света — ненасыщающая фотосинтез. Экспериментальный прием, зачастую применявшийся исследователями вплоть до 1964 г. (Everson, Tregunna et al., 1964), когда однаковое накопление органического вещества достигалось разным временем экспозиции, а не световыми условиями, нам представляется неудачным. По-видимому, при изучении роли фотопреакции для метаболизма такой прием осложняет трактовку полученных результатов, поскольку время экспозиции само по себе может значительно менять распределение активности в отдельных веществах и даже фракциях веществ. В работе с листьями табака из-за различного состояния растений — неодинаковой однородности тканей (вследствие подвядания листьев на красном свете) — соотношение красного и синего света в отдельных опытах было различно. В первом опыте для достижения однакового фотосинтеза интенсивность красного света была почти вдвое больше, чем синего. Во втором опыте, наоборот, интенсивность синего света была больше, чем красного, в 2,5 раза, т. е. соотношение было тем же, что и в наших опытах (табл. 16). Авторы анализировали группы растворимых веществ, в том числе и сахарозу. И в первом и во втором опытах обнаружено, что количество сахарозы выше на синем, чем на красном и белом свете. Отсюда сделан вывод, что синий свет не подавляет синтез углеводов и что для накопления сахаров гораздо более существенно время взятия пробы, чем качество света (листья для опытов на красном и синем свету срезались в разное время суток). Не отрицая влияния различных факторов на содержание углеводов, на основании своих экспериментов мы полагаем, что эти заключения (Tregunna et al., 1962) преждевременны. Впервые для опытов, где снимается спектр действия образования продуктов фотосинтеза, необходимо брать материал, выравненный в отношении «фона», т. е. в одинаковом метаболическом состоянии. Для этого требуется одновременный сбор материала. Затем, для заключительных выводов о действии качества света на накопление свободных углеводов авторам необходимо было проанализировать нерастворимый остаток, который содержал в отдельных случаях до 70% общей активности и всегда был менее активен на синем свете (табл. 16).

Таблица 16

Действие спектрального состава света на распределение фиксированного С среди различных фракций фотосинтетических продуктов (Tregunna, Krotkov, Nelson, 1962)

Условия опыта	Синий	Красный	Белый	Синий	Красный	Белый
	время, в которое срезан лист					
	4 час. 30 мин.	10 час. 40 мин.	12 час. 45 мин.	8 час. 30 мин.	10 час. 35 мин.	1 час. 05 мин.
Интенсивность света, $\text{эр} \cdot 10^4 / \text{см}^2 \cdot \text{сек}$	Опыт 1			Опыт 2		
4,6	8,8	1,1	1,0	1,8	4,6	
Продолжительность экспозиции, мин.	32	31	31	30	30	31
Спирторастворимые вещества . . . . .	54,4	43,3	32,3	50,3	42,5	28,7
Водорастворимые вещества . . . . .	52,0	41,2	30,3	47,2	39,6	27,0
(из них в сахарозе)	25,5	17,6	11,8	22,6	16,4	7,6
Спиртонераствори- мые вещества . . . . .	45,6	56,7	67,8	49,7	57,5	71,3
Общий С, % . . . . .	100	100	100	100	100	100
(мг на лист) . . . . .	2940	2840	3140	2920	2750	2370

Тем более эти утверждения преждевременны, что в следующей работе с несколькими видами водорослей — зелеными (*Chlorella* и *Scenedesmus*) и сине-зеленой (*Microcystis*) те же авторы, вопреки первоначальному утверждению, что качество света не изменяет содержания сахаров, делают противоположный вывод (Hauschild, Nelson, Krotkov, 1962). Во всех случаях одновременно с действием на азотный обмен (увеличением общего содержания аминокислот и изменением соотношения между отдельными аминокислотами) синий свет за 5 мин. экспозиции способствовал уменьшению активности в сахарозе и фосфорных эфирах сахаров. Результаты эти получены для насыщающих (как утверждают авторы) интенсивностей света (табл. 17).

В табл. 17 для разных водорослей четко заметны изменения в продуктах, вызываемые не только видовыми различиями, но в той или иной степени действием качества света на накопление радиоактивности в сахараах и фосфосахараах. Синий свет, как видно, уменьшал радиоактивность углеводной фракции.

Интересные результаты по действию качества света на продукты получены в последнее время в лаборатории Ру во Франции (Galmish, 1963). Исследовалось действие качества света

Таблица 17

Изменения в содержании свободных сахаров и их фосфорных эфиров у водорослей (в *мккюри*) (при экспозиции на красном и синем свету)\* (Hauschild et al., 1962)

Водоросль	Свободные сахара, сумма	Фосфорные эфиры	Свободные сахара, сумма	Фосфорные эфиры
<i>Chlorella</i> . . . . .	78	130	63	133
<i>Scenedesmus</i> . . . . .	1449	1510	1063	1100
<i>Microcystis</i> . . . . .	—	3070	—	2920**

\* Предварительное затемнение 3,4 часа, затем 5 мин. свет в атмосфере с обычной  $\text{CO}_2$  и 30 мин. — с  $\text{C}^{14}\text{O}_2$ .

\*\* Свет в опытах — красный + 4% синего вместо синего.

(синий и красный, сравнительно узкие участки спектра) на фиксацию  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  листьями томатов. Специально сконструированный прибор позволил проводить фиксацию в токе воздуха. При этом фиксации  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  предшествовал фотосинтез в тех же условиях освещения в  $\text{C}^{12}\text{O}_2$  в течение 3 мин. Экспозиция с  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  проводилась в течение 1 сек., затем фотосинтез осуществлялся 40 сек. в тех же условиях освещения, но с  $\text{C}^{12}\text{O}_2$ . В течение 40 сек. снималась кинетика превращения  $\text{C}^{14}$  в РДФ, ФГК, нейтральные сахара, аминокислоты и фосфаты сахаров. Равенство в фиксации  $\text{C}^{14}$  получено при интенсивности синего света в  $45 \cdot 10^3$  и красного в  $9,4 \cdot 10^3 \text{ эрг}/\text{см}^2 \cdot \text{сек}$ . Динамика превращения  $\text{C}^{14}$  на красном и синем свету оказалась резко различной (рис. 19). Ход кривой для ФГК на синем свету свидетельствует, по мнению авторов, о ее высокой удельной активности и быстром цикле обращения (см. появление на синем свету второго пика к 10 сек. освещения). При этом превращение ФГК происходило главным образом не в соединения пентозо-фосфатного цикла, а в другие вещества (см. динамику нейтральных соединений, в том числе аминокислот). Вследствие этого количество образуемого РДФ было невелико. Поэтому и РДФ, и продукт его карбоксилирования — ФГК — обладали высокой радиоактивностью. Однако за счет подавления на синем свету восстановления ФГК и последующего вхождения меченых веществ в пентозо-фосфатный цикл активность фиксации  $\text{CO}_2$  на синем свету по сравнению с красным снижалась. Следовательно, и в этой работе есть указания на то, что, действительно, качество света каким-то образом меняет путь фиксации  $\text{CO}_2$ , уменьшая долю продуктов пентозо-фосфатного цикла на синем свету.

На основании приведенных данных можно сделать вывод о том, что спектральный состав света влияет на накопление свободных углеводов и что синий свет уменьшает их количество.

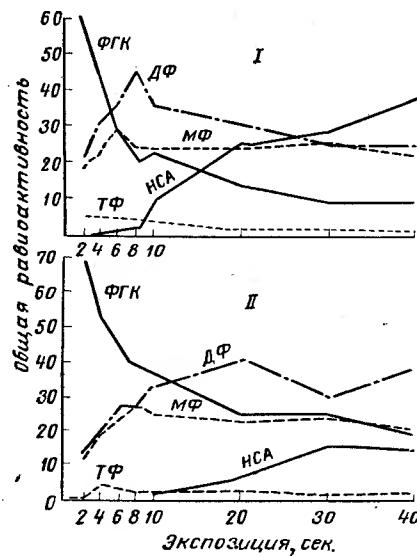


Рис. 19. Распределение  $\text{C}^{14}$  по фракциям на красном и синем свету у листьев томатов (Galmish, 1963). ФГК — фосфоглицериновая кислота; МФ — ДФ-моно и дифосфаты сахаров; ТФ — тризофосфаты; НСА — нейтральные соединения, аминокислоты  
I — синий свет; II — красный свет

фиксации  $\text{CO}_2$  до стадии образования свободных углеводов и фосфосахаров в другие метаболиты (Воскресенская, 1953; Galmish, 1963). В результате количество свободных углеводов уменьшается. Однотипная реакция действия синего света на этот процесс — уменьшение количества углеводов — проявляется как у высших растений, так и зеленых водорослей, независимо от их вида и физиологического состояния (Воскресенская, 1953; Воскресенская, Гришина, 1956; Hauschild et al., 1962; Galmish, 1963).

#### Действие качества света на радиоактивность органических кислот и аминокислот

В предыдущих разделах приводились доказательства усиления белкового синтеза при действии коротковолнового света. Естественно, что активации белкового синтеза должен сопутствовать усиленный синтез безазотистых и азотсодержащих предшественников — органических кислот и аминокислот.

Правда, следует сделать одну оговорку. Как указывалось выше, более низкий уровень накопления свободных сахаров на синем свету определяется возможностями усиленного синтеза в этих условиях азотистых соединений. В отсутствие этой возможности можно ожидать одинаковой активности накопления сахаров. Однако даже в этом случае путь образования сахаров, в частности крахмала, на красном и синем свету может быть различен (Everson et al., 1964). Кроме того, отсутствие новообразования белков в растении — случай редкий. Он может наблюдаться в крайних условиях — при неблагоприятных внешних воздействиях и резком старении организма. По-видимому фотохимическая реакция, возбуждаемая (или активируемая) коротковолновыми лучами, меняет путь

Хорошо известно, что органические кислоты широко распространены не только в специализированных органах (плодах), но и повсеместно в зеленом растении. Они являются важным звеном в обмене веществ как промежуточные соединения, связывающие углеводный и азотистый обмен, как непременные участники процессов распада веществ, а также синтетических процессов, происходящих в растении. В последние годы получены новые, принципиально важные сведения о роли некоторых органических кислот в процессах гетеротрофного и автотрофного усвоения  $\text{CO}_2$  высшими растениями (Stutz, Burris, 1951; Zbinovsky, Burris, 1952; Virtanen et al., 1953; Virtanen, Alftan, 1954; Курсанов, 1959; Курсанов, Кулаева, 1957). Особый интерес для исследования путей превращения углерода при фотосинтезе представляют данные, которые указывают, что уже через несколько секунд фотосинтеза меченный углерод обнаруживается в пировиноградной и щавелевоуксусной кетокислотах, а также в яблочной и гликолевой кислотах (Calvin, Bassham, Benson, 1950; Towers, Mortimer, 1956). Как уже говорилось, с самого начала исследований фотосинтетической фиксации  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  была обнаружена метка  $\text{C}^{14}$  в некоторых простейших аминокислотах: аланине, серине, глицине, аспарагиновой кислоте (Aronoff, Benson, Hassid, Calvin, 1947; Stepka, Benson, Calvin, 1948; Calvin, Bassham, Benson, 1950). Однако вопрос о влиянии качества света на образование органических кислот и аминокислот к началу наших исследований вовсе не был изучен. В то же время он представляет интерес в связи с положительным действием коротковолновой радиации на синтез белка.

Активность образования органических кислот и аминокислот при фотосинтезе в коротковолновых и длинноволновых лучах исследовалась с применением радиоактивного изотопа углерода  $\text{C}^{14}$  (Воскресенская, 1956). Объекты исследований — листья табака и фасоли. Табак (два сорта — *Nicotiana silvestris* и Мериленд-Мамонт) выращивался в вегетационных сосудах в почве, при хорошей обеспеченности всеми элементами минерального питания; фасоль (*Phaseolus vulgaris*, сорт Триумф) — в условиях песчаной культуры, на полной норме питательной смеси Гельригеля по всем элементам минерального питания, кроме азота. В отношении азота растения фасоли испытывали некоторый недостаток ( $\frac{1}{4}$  от нормы), поскольку предполагалось, что недостаток азота позволит ярче уловить различия в действии коротковолновой и длинноволновой радиации на синтез азотистых веществ. Условия освещения, подготовка растений к опыту, принцип выбора пробы были обычными.

В табл. 18 показана радиоактивность органических кислот листьев табака после фотосинтеза на красном и синем свету (при общей одинаковой радиоактивности листьев). Как видно из данных таблицы, радиоактивность кислот после 5 мин. экспо-

Таблица 18

Радиоактивность органических кислот листьев табака (в % от общей радиоактивности  $C^{14}$ , усвоенного листом) после фотосинтеза на красном и синем свету (Воскресенская, 1956)

Опыт	<i>N. silvestris</i>		На синем свету, % от радиоактивности на красном	<i>N. tabacum</i>		На синем свету, % от радиоактивности на красном
	красный свет	синий свет		красный свет	синий свет	
1	—	—	—	11,3	8,2	72
2	4,0	3,1	77	6,7	10,8	161
3	4,9	3,3	67	9,7	3,2	33

ции составляла небольшую долю от общего количества  $C^{14}$ , усвоенного листом. Однако удельная активность фракции была достаточно велика (порядка 500 имп/мин · мг), что является доказательством активного участия этих метаболитов в процессах превращения усвоенного при фотосинтезе углерода.

Радиоактивность органических кислот зависела от видовых особенностей табака. Для табака сорта Мериленд-Мамонт она была выше, чем для сорта Сильвестрис.

Известно, что культурные, высококачественные сорта табака, к которым относится и Мериленд-Мамонт, характеризуются, в отличие от дикого (*N. Silvestris*), повышенным содержанием кислот и пониженным — крахмала (Шмук, 1940). Различия в общем обмене веществ у табаков, очевидно, отразились на скорости попадания  $C^{14}$  в органические кислоты. Однако, несмотря на разницу в общей радиоактивности кислот, оба табака одинаково реагировали на изменение условий освещения. На синем свету в подавляющем большинстве опытов (из пяти только один составил исключение) активность кислот была ниже.

Такие же результаты мы получили и для другого растения — фасоли. При практически одинаковой общей радиоактивности материала (на красном свету 101 430 и синем 113 100 имп/мин на  $75 \text{ см}^2$  листьев) радиоактивность органических кислот составила соответственно 13 200 и 10 900 имп/мин (13,0 и 9,6%) от общей радиоактивности.

За 5 мин. фотосинтеза фасоли на красном и на синем свету оказались меченными кислоты: гликоловая, яблочная, лимонная, винная, щавелевая, глюконовая и неидентифицированная, расположенная на хроматограмме между щавелевой и винной кислотами. Основное количество  $C^{14}$  обнаружено в яблочной и лимонной кислотах. Их радиоактивность (особенно яблочной) подвергалась наибольшим изменениям в зависимости от условий освещения. При этом синий свет снижал по сравнению с красным содержание  $C^{14}$  в яблочной и лимонной кислотах (Воскресенская, 1956).

Причины такого различия в активности кислот на красном и синем свету неясны. Вероятно, это связано с тем, что яблочная кислота, в отличие от лимонной, не является продуктом фотосинтеза (Богданова, 1956). Преимущества красного света для накопления радиоактивности в органических кислотах при 5-минутной экспозиции, противоречат наблюдениям о положительном действии коротковолновой радиации на накопление органических кислот в листе при длительной 5—6-часовой экспозиции на синем свету (табл. 19).

Таблица 19

Радиоактивность органических кислот в листьях фасоли, выращенной на естественном свету и свету красных и синих люминесцентных ламп. Экспозиция 5 мин. (Воскресенская, 1956)

Свет в опыте	Естественный свет		Люминесцентные лампы			
	общая радиоактивность, имп/мин на $75 \text{ см}^2$ листа	% от общей радиоактивности	на синем свету, % от радиоактивности на красном	общая радиоактивность, имп/мин на $15 \text{ mg}$ сухого вещества листа	% от общей радиоактивности	на синем свету, % от радиоактивности на красном
Красный . . .	143 640	5,1	100	8260	3,9	100
Синий . . . .	193 350	3,6	70	5000	5,2	133

Оказалось, что противоречивый результат связан со сроком воздействия синим светом. В специальных опытах активность органических кислот на красном и синем свету сравнивалась для растений, взятых с естественного освещения или предварительно выращенных на красных или синих люминесцентных лампах.

В первом случае радиоактивность органических кислот оказалась меньшие на синем свету, во втором — на красном (табл. 19).

Очевидно, что длительность воздействия определенным светом играла решающую роль для накопления  $C^{14}$  в органических кислотах. Только при установившемся обмене количество органических кислот было устойчиво выше на синем свету. Согласно некоторым данным, достаточно нескольких часов (Воскресенская, 1952) и даже 30—40 мин. (Hauschild et al., 1962), чтобы усиление синтеза органических кислот под влиянием синего света становилось заметным.

Если синий свет усиливает синтез азотистых соединений, то меньшая активность органических кислот может быть следствием их усиленного потребления, а не слабого образования. Возможно, в коротких экспозициях, при внезапном изменении условий освещения именно такое явление имело место; при кратковременном воздействии метаболизм не был сбалансирован. Поэтому потребление органических кислот на синтез аминокислот могло превышать скорость их образования в большей мере на синем, чем на красном свету.

Таблица 21

Изменение условий азотного питания влияло на радиоактивность органических кислот на красном и синем свету. Растения фасоли выращивали на  $\frac{1}{4}$  нормы азота и брали в опыт в два срока (20- и 30-дневные). Каждый раз часть растений за 18 час. перед опытом подкармливали  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  через корни до полной нормы азота по Гельригелю, часть оставалась неподкармленной. Результаты опытов приведены в табл. 20.

Таблица 20

Радиоактивность фракции органических кислот в листьях фасоли на красном и синем свету в зависимости от обеспеченности растений азотом при выращивании. Экспозиция 5 мин.

Обеспеченность растений азотом	Свет в опыте	20-дневные растения		30-дневные растения	
		радиоактивность спирто растворимой фракции, имп/мин на 75 см <sup>2</sup> листа (общая)	радиоактивность фракции органических кислот, % от общей	радиоактивность спирто растворимой фракции, имп/мин на 75 см <sup>2</sup> листа (общая)	радиоактивность фракции органических кислот, % от общей
$\frac{1}{4}$ нормы азота	Красный	153 040	6,2	101 430	13,0
	Синий	194 390	4,4	113 100	9,6
$\frac{1}{4}$ нормы азота + подкормка $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ через корни до полной нормы за 18 час. перед опытом	Красный	146 350	4,3	167 215	7,3
	Синий	171 040	4,3	166 430	6,3

Из данных табл. 20 следует, что при  $\frac{1}{4}$  нормы азота общая радиоактивность спирто растворимых веществ у 30-дневных растений была ниже, чем у 20-дневных, т. е. фотосинтез снижался с увеличением срока азотного голодания. Радиоактивность органических кислот, наоборот, была ниже для первого срока и выше для второго. В то же время в оба срока радиоактивность органических кислот была ниже на синем свете. Подкормка нитратным азотом в первый срок не оказала положительного действия на фотосинтез. Наоборот, на синем свете наблюдалось даже некоторое снижение фотосинтеза. Во второй срок выявилось резкое положительное действие азота на фотосинтез и для красного и для синего света.

Количество органических кислот при подкормке в первый срок уменьшилось на красном и не изменилось на синем свете. Во второй — активность органических кислот резко снизилась и на красном и на синем свете. Для 30-дневных растений фасоли определялась также радиоактивность аминокислот (табл. 21).

Радиоактивность аминокислот в листьях 30-дневных растений фасоли на красном и синем свете при различной обеспеченности азотом. Экспозиция 5 мин.

Обеспеченность растений азотом	Свет в опытах	Удельная радиоактивность, имп/мин на 1 мг		Радиоактивность в аминокислотах, %
		спиртовой фракции	суммы аминокислот	
$\frac{1}{4}$ нормы	Красный	1167	490	42
	Синий	1300	711	54
Подкормка за 20 час. перед опытом до полной нормы	Красный	1922	1320	67
	Синий	1913	1260	65

У голодающих растений она была выше на синем свете, что коррелировало с меньшей радиоактивностью органических кислот в этих условиях. При подкормке радиоактивность аминокислот резко возрастила, практически до одинаковой величины на красном и синем свете.

Этот результат опять таки совпадает с данными по уменьшению радиоактивности органических кислот при подкормке. Падение радиоактивности органических кислот при подкормке азотом растений кукурузы и фасоли наблюдали также Доман и Ваклинова (1958 г.).

Интересно, что в зависимости от степени голодаания растения действие азотной подкормки ( $\text{NO}_3$ ) на фотосинтез было различно: отрицательно или положительно. Качество света усиливало или нивелировало эти изменения: для первого срока (20-дневные растения) на синем свете отрицательное действие азота для фотосинтеза проявлялось ярче, для второго — (30-дневные растения) такого действия уже не обнаружено. По-видимому, подкормка растений нитратным азотом может влиять на фотосинтез как положительно, так и отрицательно. Так, снижение общей радиоактивности веществ, образованных в фотосинтезе, при подкормке нитратным азотом, наблюдал Моиз в работе с белым светом (Моиз, 1959). В то же время известны результаты резко положительного влияния азота на общую радиоактивность, усвоенную растением, т. е. фотосинтез (Нозговорова, 1956).

По-видимому, действие азотной подкормки на фотосинтез определяется степенью голодаания растения по азоту. Если недостаток азота настолько велик, что он нарушает структуру фотосинтетического аппарата, синтез хлорофилла и активных белков, тогда через положительное влияние на эти факторы в первую очередь проявится положительное действие азота на фотосинтез.

Таблица 22

Радиоактивность (в  $\text{mк}/\text{мин}$  на площадь листа) спиртовой фракции листьев фасоли после фотосинтеза на красном и синем свету

Время экспозиции, сек.	Свет в опыте		Общая радиоактивность спиртовой фракции	Время экспозиции, сек.	Свет в опыте		Общая радиоактивность спиртовой фракции
	с $\text{C}^{14}\text{O}_2$	с $\text{C}^{12}\text{O}_2$			с $\text{C}^{14}\text{O}_2$	с $\text{C}^{12}\text{O}_2$	
Опыт 1							
30	—	Красный	8700	30	—	Красный	5360
30	—	Синий	6090	30	—	Синий	7680
30	60	Красный	8700	30	30	Красный	4080
30	30	Синий	7830	30	30	Синий	7240
30	120	Красный	17 840	30	120	Красный	8400
30	120	Синий	25 400	30	120	Синий	21 900
Опыт 2							

в органические соединения при выдерживании в немеченой  $\text{CO}_2$  было более активно в случае синего света.

Поскольку радиоактивности спирторастворимых веществ на красном и синем свету, как видно из табл. 22, различались, для удобства идентификации отдельных фракций и соединений в стартовое пятно хроматограммы наносилось количество материала, одинаковое по радиоактивности. Напоминаем, что исходное количество немеченых веществ в листе («фон») благодаря одновременному отбору пробы было одинаково для красного и синего света.

Результаты определения радиоактивности фракции органических кислот для обоих опытов представлены в табл. 23. Они свидетельствуют о том, что в первые моменты экспозиции  $\text{C}^{14}$  в органических кислотах составляет значительный процент от всего  $\text{C}^{14}$ , усвоенного листом, особенно на красном свете. К 150 сек. относительная радиоактивность кислот в первом опыте падает уже до 4—8% (количество, которое мы находили обычно и при пятиминутных экспозициях). Во втором опыте к 140 сек. радиоактивность кислот изменялась незначительно. Особо следует отметить, что в пяти случаях из шести результат подобен опытам с пятиминутными экспозициями, т. е. содержание  $\text{C}^{14}$  в кислотах выше на красном свете.

Данные определения аминокислот (спиртовая фракция) представлены на радиоавтографе (рис. 20 и табл. 24, 25). На радиоавтографе (рис. 20) в первую экспозицию четко видны два пятна, которые по расположению соответствуют аминокислотам — аспаргиновой (вверху) и аланину (внизу). К 150 сек. экспозиции слабая активность обнаруживается также в глутаминовой кислоте.

Результаты, подтверждающие правильность такой точки зрения, были получены, например, Осиповой (1953). Если такого явления нет, снижение фотосинтеза связано в первую очередь с особенностями усвоения листом нитратной формы азота на свету — конкуренцией за фотохимический восстановитель. Значение качества света в этом случае будет подробно разобрано нами (см. гл. IV). При подкормке, вместе с увеличением количества аминокислот различия в их активности для красного и синего света исчезали. Итак, азотная подкормка, данная голодающим растениям, сглаживала действие спектрального состава света на накопление радиоактивности как в аминокислотах, так и органических кислотах. В связи с этим возникает вопрос, будет ли проявляться положительное действие коротковолновой радиации на синтез аминокислот при постоянном хорошем снабжении азотом или же только при азотном голодании?

Как известно, метод меченых атомов дает возможность зафиксировать топографию процесса в данный период времени. Скорость и емкость процесса с помощью этого метода можно определить, только исследуя динамику перераспределения радиоактивности в атмосфере немеченой  $\text{CO}_2$  после кратковременной экспозиции в  $\text{C}^{14}\text{O}_2$ . При непрерывной же длительной подкормке  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  количество метки в промежуточных метаболитах ограничивается физиологической емкостью процесса их образования. Поэтому при различной скорости попадания метки в соединения может наступить такой момент, когда за счет насыщения процесса активность их будет одинакова. Различия проявятся только в продуктах их превращения. Чтобы избежать такого явления, действие качества света на органические кислоты и аминокислоты исследовалось в динамике. Растения для этих опытов выращивали все время при высокой обеспеченности азотом.

Было проведено два опыта с фасолью. Для первого опыта фасоль выращена в вегетационном домике летом, на естественном дне, для второго — весной, в оранжерее. В каждом опыте проводились три экспозиции: первая, самая короткая (30 сек.) — в камере с изотопом  $\text{C}^{14}$ ; при остальных экспозициях лист выдерживали 30 сек. в камере с изотопом  $\text{C}^{14}$ , а затем переносили в атмосферу с обычной  $\text{CO}_2$ , где и оставляли в тех же условиях освещения от 60 до 150 сек. (Воскресенская, 1956).

В табл. 22 показана общая радиоактивность веществ спиртовой фракции на красном и синем свету для обоих опытов. Данные этой таблицы свидетельствуют, что общая радиоактивность на красном и синем свету была такова, что обнаруженные различия в радиоактивности аминокислот (см. табл. 24, 25) нельзя отнести за счет более слабого, в случае синего света, фотосинтеза. Наоборот, как видно из данных таблицы, усвоение  $\text{C}^{14}\text{O}_2$

Таблица 23

Радиоактивность (в % от общей) фракции органических кислот \* в листьях фасоли после фотосинтеза на красном и синем свету (Воскресенская, 1956)

Опыт	Время экспозиции, сек.		На красном свете, %	Время экспозиции, сек.		На синем свете, %
	с $\text{C}^{14}\text{O}_2$	с $\text{C}^{12}\text{O}_2$		с $\text{C}^{14}\text{O}_2$	с $\text{C}^{12}\text{O}_2$	
1	30	—	28	30	—	11
	30	60	9	30	30	29
	30	120	8	30	120	4
2	30	—	27	30	—	16
	30	30	29	30	30	26
	30	110	25	30	110	19

\* Органические кислоты выделялись при многочасовой экстракции кислым эфиrom.

Таблица 24

Суммарная радиоактивность аминокислот (аспарагиновой и аланина) после фотосинтеза на красном и синем свете

Первый опыт  
(Воскресенская, 1956)

Время экспозиции, сек.	Красный свет, имп/мин	Время экспозиции, сек.		Синий свет, имп/мин
		с $\text{C}^{14}\text{O}_2$	с $\text{C}^{12}\text{O}_2$	
30	—	19	30	—
30	60	26	30	30
30	120	76	30	120

(ниже аспарагиновой). Конечно, не исключена возможность, что при более длительном выдерживании радиоавтографа удалось бы обнаружить активность и в других аминокислотах, характерных для фотосинтетического цикла, например серине и глицине. Однако существенно, что аспарагиновая кислота и аланин были кислотами, в которых сосредоточивалось подавляющее количество  $\text{C}^{14}$  аминокислот за короткие промежутки времени как на красном, так и на синем свете. В то же время количество  $\text{C}^{14}$  в этих кислотах было всегда выше на синем свете. В табл. 24 приведена радиоактивность пятен кислот (аспарагиновой и аланина), элюированных с хроматограммы. Данные таблицы, как и радиоавтографа, указывают, что синтез как аспарагиновой

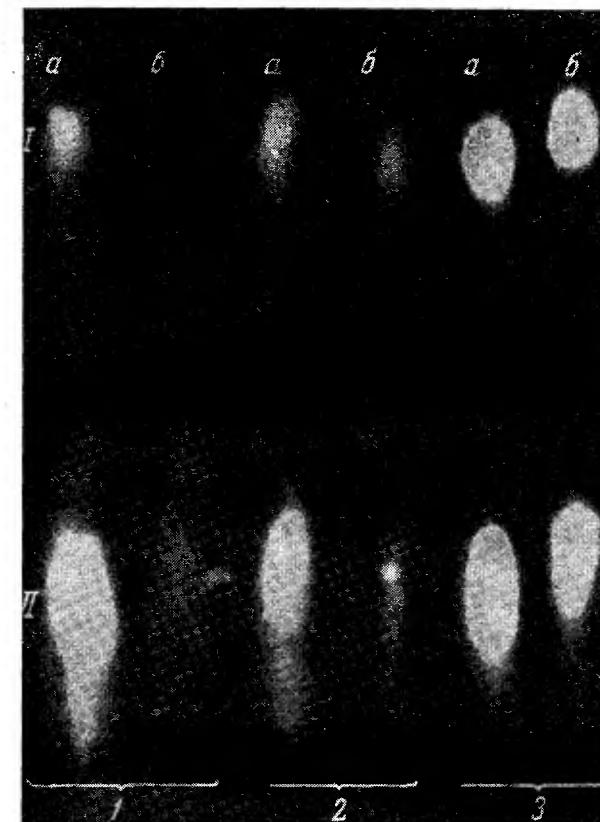


Рис. 20. Радиоавтограф аминокислот фасоли

I — аспарагиновая; II — аланин.  
Экспозиция на синем (a) и красном (б) свете: 1 — 30 сек.,  
2 — 60 сек. (на синем свете), 90 сек. (на красном свете);  
3 — 150 сек.

кислоты, так и аланина проходил с самого начала экспозиций более интенсивно на синем свете. В первом опыте особенно большие различия (см. радиоавтограф на рис. 20) получены для аланина.

Для первой и третьей экспозиций (одинаковых по времени) разница в активности процесса на красном и синем свете составляет около 30%.

Во втором опыте четко обнаружена радиоактивность только в аспарагиновой кислоте. Радиоактивность аланина была незначительна. Различия в результатах первого и второго опытов для аминокислот, так же как и для органических кислот, можно объяснить разным физиологическим состоянием взятых в опыт рас-

Таблица 25

Радиоактивность аспарагиновой кислоты листьев фасоли  
после фотосинтеза на красном и синем свету.  
Второй опыт (Воскресенская, 1956)

Время экспозиции, сек.		Радиоактивность			
c C <sup>14</sup> O <sub>2</sub>	c C <sup>18</sup> O <sub>2</sub>	имп./мин. в пятне	пятна, %	имп./мин. в пятне	% от крас- ного света
		<b>Красный свет</b>		<b>Синий свет</b>	
30	—	11	100	30	272
30	30	53	»	92	173
30	60	112	»	162	144

тений. В первом опыте растения были выращены в жаркую и сухую погоду на ярком солнечном свету, во втором — в оранжереи при слабом освещении. Преимущественное накопление радиоактивности в аланине при высокой температуре и освещенности наблюдал также Тарчевский (1958). Активность аспарагиновой кислоты на синем свету и в этом опыте оказалась значительно выше, чем на красном (табл. 25).

Интересно отметить, что радиоактивность аспарагиновой кислоты, отнесенная к общему количеству C<sup>14</sup>, усвоенного листом, составляла, особенно в первые две экспозиции, довольно существенную величину — на синем свету 25—30%, на красном — 12—15%. Кинетические опыты указывают также, что с увеличением времени экспозиции в немеченой CO<sub>2</sub> различие в радиоактивности промежуточных веществ (аминокислот) сглаживается, очевидно, за счет насыщения процесса образования аминокислот (см. табл. 25 и рис. 20).

Итак, исследование кинетики процесса показало, что скорость попадания и расходования углерода C<sup>14</sup>O<sub>2</sub> неодинакова в органических кислотах и аминокислотах при фотосинтезе на свету разного качества. Реакция листа на свет в отношении синтеза этих соединений проявляется весьма быстро: по крайней мере, в наших опытах она была заметна уже через 30 сек. фотосинтеза.

Существенно, что специфическое положительное действие синего света на синтез аминокислот проявляется не только при недостатке, но и при повышенной дозе азота в среде. Синий свет всегда увеличивает по сравнению с красным радиоактивность азотистых соединений; при этом наиболее активно на синем свете метится аспарагиновая кислота (см. рис. 20, табл. 25).

С помощью нингидрина (трикетогидринденгидрат) было произведено определение активности C<sup>14</sup> в карбоксильных группах аспарагиновой кислоты и аланина. Кислоты наносились на диск

и затем 5 раз (до постоянной активности) обрабатывались 1%-ным раствором нингидрина (pH-5) при подогревании на водянной бане (Gibbs, 1951). Типичные результаты многократно повторенных опытов приведены в табл. 26. Как видно, за 5 мин.

Таблица 26

Радиоактивность аспарагиновой кислоты и аланина на красном и синем свету до и после обработки нингидрином (в имп./мин. в пятне)

Радиоактивность	Аспарагино- вая кислота	Аланин	Аспарагино- вая кислота	Аланин
				<b>Красный свет</b>
Исходная . . . . .	80	169	386	106
После обработки . . .	37	71	177	44
Процент в карбоксиль- ных группах . . . . .	46,3	42,0	46,0	41,0

экспозиции количество радиоактивности в карбоксильных группах обеих кислот было одинаково на красном и на синем свете. Эти данные, очевидно, указывают, что путь образования аланина и аспарагиновой кислоты на красном и синем свету за 5 мин. экспозиции был одинаков, т. е. природа углеродного предшественника этих кислот была одинакова на красном и синем свете.

Подобный вывод о распределении метки в аланине был сделан Кейлом и Эмерсоном (Cayle, Emerson, 1957) на основании опытов с хлореллой, экспонированной 30 сек. на красном и синем свете. Однако, как показали позднейшие исследования (Зак, 1964), при более длительном воздействии синего света (5 мин.) у хлореллы аланин также может возникать на синем свете иным путем, чем на красном свете. Поэтому вопрос о пути возникновения отдельных аминокислот в зависимости от качества света, по-видимому, нельзя считать окончательно решенным.

Как указывалось выше (см. табл. 23), уже к 30 сек. фотосинтеза C<sup>14</sup> попадает во многие ди- и трикарбоновые кислоты. Однако часть усвоенного C<sup>14</sup>, по-видимому, используется на синтез аминокислот на более ранней стадии — образовании кетокислот, поскольку аланин и аспарагиновая кислота могут быть образованы путем трансаминирования или прямого аминирования соответствующих кетокислот (Towers, Mortimer, 1956; Rosenberg, Capindale, Whatley, 1958; Моиз, 1962; Кретович, 1962). Этим можно объяснить то, что активность синтеза аминокислот на красном и синем свете не всегда коррелирована с уменьшением активности ди- и трикарбоновых кислот (см. табл. 23). Недавно было показано, что у зеленых растений содержание кетокислот выше в листьях, чем в корнях. Предполагают, что кето-

Таблица 27

Включение  $C^{14}$  в аминокислоты и фосфорные эфиры за 30 сек. фотосинтеза  
(Cayle, Emerson, 1957)

Свет, мк	Фракция	Общая радиоактивность, имп/мин	Удельная радиоактивность, имп/мин	$\frac{436}{644}$	Радиоактивность аминокислот к общей, %
436	Аминокислоты . . . .	13 760	220 500	1,7	4,4
	Фосфорные эфиры . . .	296 500	—		
	Общая активность . . .	310 260	—		
644	Аминокислоты . . . .	10 150	132 400		3,6
	Фосфорные эфиры . . .	272 500	—		
	Общая активность . . .	282 650	—		

На синем свetu найдено увеличение удельной активности таких аминокислот, как аланин, глицин и серин. Путь образования аланина, как показало расщепление молекул аминокислот, был одинаков на красном и синем свetu. В карбоксиле аланина содержалось 66—70% всей активности. То же было установлено нами, как указывалось выше, для аспарагиновой кислоты и аланина. Исследователи также склонны считать, что предшественником аланина является пировиноградная кислота (Воскресенская, 1955; Cayle, Emerson, 1957).

Наибольший интерес с точки зрения специфики действия качества света на продукты фотосинтеза представляют данные по расщеплению глицина. Распределение меченого углерода в молекуле глицина было таково: на синем свetu карбоксил содержал 21%, на красном — 42%  $C^{14}$  от общей радиоактивности глицина. Такое распределение указывает на различие путей образования глицина на красном и синем свetu. Таким образом, в 1957 г. впервые ставится вопрос о возможности образования различными путями одних и тех же веществ при воздействии на растение светом разного спектрального состава. Подобные работы были возобновлены только в 1964 г. (Hess, Tolbert, 1964; Зак, 1964). Определение остальных веществ, названных «фракцией фосфорных эфиров», в работе Кейла и Эмерсона произведено слишком суммарно (только в виде бариевых солей), для того чтобы делать какие-либо определенные выводы.

Таким образом, эксперименты Кейла и Эмерсона (несмотря на то, что они работали с узкими участками спектра, а мы — с широкими) подтверждают наши выводы. Существенно, что эти результаты получены при насыщающих фотосинтез интенсивностях света. Это дает право считать, что качество света за счет специфической фотохимической реакции может оказывать действие на фотосинтетический путь превращений  $CO_2$  не только на

кислоты образуются при фотосинтезе и транспортируются в корни (Кретович, Гейко, 1964).

Источником для образования кетокислот могла явиться фосфоглицериновая кислота, полученная в результате карбоксилирования рибулозидифосфата. При дегидрировании и дефосфорилировании ФГК может быть образован пируват — углеродный предшественник аланина. Наличие  $\beta$ -карбоксилазы в хлоропластах и возможность  $\beta$ -карбоксилирования пирувата, образованного в восстановительном цикле углерода (Bandurski, Creiner, 1953; Bandurski, 1955; Siu, 1962), делает возможным образование щавелевоуксусной кислоты — углеродного предшественника аспарагиновой. Правда, аланин может быть образован также из глицериновой кислоты (Racusen, Agonoff, 1953; Школьник, Доман, 1959). Образование аспарагиновой кислоты у фотосинтезирующих растений наблюдалось и в результате конденсации  $C_2 + C_2$ -соединений (Nelson, Krolikov, 1956). Однако такие возможности для света разного качества пока остаются неисследованными.

Впервые за рубежом вышеизложенное мнение о специфическом действии качества света на путь превращений  $CO_2$  было поддержано в 1956 г. Бассемом и Кальвином (Bassham, Calvin, 1956).

Начиная с 1957 г. стали появляться публикации других авторов по действию качества света на продукты фотосинтеза. Так, Кейл и Эмерсон (Cayle, Emerson, 1957; Cayle, 1957) изучали действие качества света (преимущественно линий 436 и 644 мк) на образование аминокислот и фосфорных эфиров сахаров у хлореллы за 30-секундную экспозицию. Опыты проводились, по-видимому, при световом насыщении ( $\sim 8$  микроЕйнштейн·см/мин). Клетки водоросли подготавливались двояко: 1) экспозиция непосредственно после темнового периода («переходное состояние фотосинтеза») и 2) экспозиция после трехминутного выдерживания на свetu без  $C^{14}O_2$  («стабильное состояние»). Как заключает один из авторов (Cayle, 1957), фотосинтез во время переходного и стабильного периодов характеризовался «решительным превосходством внедрения  $C^{14}$  в аминокислоты при 436 мк по сравнению с 644 мк».

Ниже приводится таблица из работы Кейла и Эмерсона (табл. 27). Как видно, различия в общей радиоактивности аминокислот для красного и синего света были хотя и небольшие, но устойчивые. Очень большие различия обнаружены в удельной радиоактивности. Вызывает удивление малый процент радиоактивности аминокислот по сравнению с общей. По имеющимся данным, для хлореллы за 30 сек. фотосинтеза активность аминокислот должна быть не меньше 25—30% (Бассем, Кальвин, 1962). В работе же Кейла и Эмерсона она не превышает 4,5%.

восходящей ветви световой кривой при ненасыщающих фотосинтез интенсивностях света, но и на плато.

В последнее время кратковременное действие красного и синего света на состав продуктов фотосинтеза для высших и низших растений, в том числе и азотистых, изучается в лаборатории Кроткова в Канаде (Krotkov, 1960; Hauschild, Nelson, Krotkov, 1961; Hauschild, Nelson, Krotkov, 1962; Hauschild, Nelson, Krotkov, 1962a; Tregunna, Krotkov, Nelson, 1962), во Франции (Roux et al., 1960; Galmish, 1963), в СССР (Зак, 1964; Андреева, Коржева, 1964), в США (Hess, Tolbert, 1964).

Канадские ученые исследуют действие качества света на продукты фотосинтеза, употребляя в работе с водорослями свет насыщающих фотосинтез интенсивностей, для высших растений — широкие соотношения красного и синего света, обеспечивающие одинаковый фотосинтез в красных и синих лучах.

Кроме того, применяется подравнивание радиоактивности меченых веществ или усвоенной  $\text{CO}_2$  (в мг) различным временем экспозиции на красном и синем свету. Правомочность последнего способа уравнивания фотосинтеза обсуждалась выше. В опытах этих авторов для хлореллы при 5- и 30-минутных экспозициях синий свет или добавка синего к красному (4%) увеличивали радиоактивность аспарагиновой кислоты. Радиоактивность аланина не всегда увеличивалась под влиянием синего света. Глицин и серин оказались менее радиоактивными на синем свете. Подобные результаты были затем получены для табака при 30-минутной экспозиции. Показано, что из двух аминокислот (глицина и серина) радиоактивность глицина подвергается наибольшим колебаниям в зависимости от качества света (табл. 28).

Наиболее обстоятельна и интересна работа Хаусшилда и др. (Hauschild et al., 1962a), в которой объектами являлись: *Chlorella*, *Scenedesmus*, синезеленая водоросль *Microcystis* и фотосинтезирующая бактерия *Chromatium*. Выше мы несколько коснулись этой работы в связи с изложением результатов по действию качества света на свободные углеводы и фосфаты сахаров. Остановимся подробнее на анализе других соединений.

Таблица 28

Распределение фиксированного углерода в глицине и серине (в % от водорастворимой фракции) у табака при 30-минутной экспозиции  
(Tregunna et al., 1962)

Аминокислоты	Опыт 3			Опыт 4		
	Белый	Красный	Синий	Белый	Красный	Синий
Глицин + серин . . . . .	17,8	19,7	10,5	16,3	17,5	8,2
Глицин . . . . .	7,9	12,5	4,3	9,5	11,0	3,4
Серин . . . . .	9,9	7,2	6,2	6,8	6,5	4,8

Определялась общая радиоактивность и радиоактивность веществ, растворимых в холодном этиловом спирте, куда относились: аминокислоты, органические кислоты, сахара и фосфорные эфиры. Подготовка — пятиминутное освещение растения красным или синим светом в атмосфере  $\text{C}^{12}\text{O}_2$ , затем 30 ми. с  $\text{C}^{14}\text{O}_2$ . В зависимости от объекта активность фракции спирто-растворимых веществ по отношению к общей радиоактивности менялась, но составляла не менее 70%. Распределение радиоактивности между аминокислотами, органическими кислотами и фосфатами сахаров определялось особенностями метаболизма объекта. Однако, независимо от этого, качество света меняло активность всех соединений в одном направлении для всех растений. Наиболее ярко влияние качества света проявилось, по словам авторов, «после предварительного затемнения растений на несколько часов перед опытом. На синем свете (или даже при добавке 4% синего света к основному красному) увеличивалась активность аспарагиновой кислоты, глютаминовой, серина, иногда глицина и аланина. Общая сумма аминокислот также возрастила на синем свете. Под влиянием синего света увеличивалась радиоактивность яблочной кислоты. После предварительного затемнения одновременно с более яркими различиями для красного и синего света наблюдалось увеличение активности в таких типичных метаболитах темнового обмена, как фумаровая, янтарная и глютаминовая кислоты. Поскольку эффект синего света ярче обнаруживался (особенно у хлореллы) после темнового периода времени, исследователи полагают, что «активная форма зависит от света энзима, которая направляет ток электронов в фотосинтезе, частично превращается в неактивную форму в темноте». Этим энзимом авторы, пока без достаточных на то оснований, считают «фитохром» — фотоактивную систему фотоморфогенеза (Borthwick et al., 1961). Вывод исследователей об обязательном затемнении перед опытом растений для получения эффекта синего света нам кажется преждевременным. Так, этими исследователями у *Scenedesmus* найдено изменение в продуктах при действии синего света по сравнению с красным и без предварительного затемнения. У двух других водорослей подобный вариант (красный и синий свет) без предварительного затемнения отсутствует. В наших опытах (Воскресенская, 1953, 1956; Воскресенская, Гришина, 1956), опытах Кейла и Эмерсона (Cayle, Emerson, 1957), Ру (Roux et al., 1960; Galmish, 1963), Зак (1964), спектральный состав света также оказывал влияние на продукты фотосинтеза без предварительного затемнения. Как видно, вопрос этот требует дополнительного исследования. В работе последнего времени (Everson, Tregunna, Nelson, Krotkov, 1964) с листьями табака распределение  $\text{C}^{14}$ , в зависимости от освещения белым, красным или синим светом, изучалось для различных соединений спирто-растворимой и нерастворимой фрак-

ций. Синий свет по сравнению с красным уменьшал включение  $\text{CO}_2$  в глицин. В то же время обнаружено увеличение удельной радиоактивности крахмала. На красном свете радиоактивность метки  $C_3$  и  $C_4$  глюкозы из крахмала была одинакова. На синем свете  $C_4$  был более радиоактивен, чем  $C_3$ , что давало типичную асимметрию метки гексозы. При этом увеличение метки в  $C_4$  на синем свете соответствовало уменьшению радиоактивности в глицине. Предполагают, что крахмал в растении в зависимости от качества света может образоваться различными путями. В одном случае через фосфогексозы цикла Кальвина, в другом — через гликогеновый цикл.

Представляет интерес удачная попытка авторов заменить действие синего света только небольшой добавкой синего (4%) к красному. Вопрос этот требует тщательного исследования, поскольку количество добавляемого света может дать суждение о характере фотоактивной на синем свете системы, меняющей фотосинтетический обмен  $\text{CO}_2$ .

Особенно следует отметить результаты, полученные Хаусшильдом и др. (Hauschild et al., 1963a) для фотосинтезирующей бактерии *Chromatium*. В данном случае фиксация  $\text{CO}_2$  происходила в анаэробных условиях (атмосфера  $\text{N}_2$ ). При этом не обнаружено различий в продуктах фотосинтеза при действии света разного спектрального состава.

Французский исследователь Гальмиш (Galmish, 1963) первым начал изучать действие света при очень коротких экспозициях. Система интерференционных светофильтров, применявшихся исследователем, давала возможность работать, в отличие от группы канадских ученых, с чистым светом, без фона синих или красных лучей. Гальмиш показал, что в листьях томатов  $\text{C}^{14}$  фиксируется в зависимости от качества света в различные фракции уже в первые 2—3 сек. экспозиции. Другим существенным выводом из этих опытов является также то, что интенсивность фиксации в синих лучах могла быть резко повышена прибавлением небольших количеств дальнего красного света. Подобный результат автор связывает с «эффектом увеличения» — второй эффект Эмерсона (см. гл. I).

Андреева и Коржева (1964) определяли активность фиксации  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  листьями подсолнечника на красном и синем свете различной интенсивности (от  $3,6 \cdot 10^4$  до  $18 \cdot 10^4$  эрг/см<sup>2</sup>·сек). Условия освещения — лампа накаливания и ДРЛ (рутно-кварцевая лампа) с соответствующей системой светофильтров. Экспозиция от 10 до 60 мин., в зависимости от интенсивности света в опыте, обеспечивала одинаковое накопление радиоактивности в листьях. Синий свет способствовал увеличению радиоактивности «группы аспарагиновой кислоты» (аспаргиновая, серин, глицин), глютаминовой и  $\gamma$ -аминомасляной и уменьшению радиоактивности аланина. Соотношение между этими аминокислотами

менялось только при высоких интенсивностях света. «Слабый свет»  $3,6 \cdot 10^4$  эрг/см<sup>2</sup>·сек. не изменял соотношения между отдельными аминокислотами. Общее содержание аминокислот в опытах не учитывалось. Авторы предполагают, что влияние качества света на продукты фотосинтеза может быть связано с действием высокоэнергетической системы фотоморфогенеза (Mohr, 1962).

Зак (1964) провела обстоятельное исследование действия спектрального состава света на фотосинтез хлореллы при пятиминутных экспозициях. Источники освещения и система светофильтров были те же, что в опытах Андреевой и Коржевой (см. выше), интенсивности света в опытах различные, вплоть до насыщающих. Определялось действие качества света на состав аминокислот, а в отдельных опытах на их количество. В последнем случае, как обычно, увеличилась активность синтеза аминокислот при действии синего света. Что касается действия качества света на соотношение отдельных аминокислот, то оно, как утверждает автор, проявилось только для высоких интенсивностей света: «При трех первых интенсивностях, далеких от насыщающих, не обнаружено никаких различий в распределении  $\text{C}^{14}$  во фракции аминокислот». Однако, как видно из таблицы, взятой из работы Зак (1964), различия в соотношении аминокислот наблюдались и при малых интенсивностях. Правда, они трудно интерпретируются, поскольку имеют иногда (например, для первой группы аминокислот — аспарагиновой, серина, глицина, а также глютаминовой) обратную, нежели на высоком свете, зависимость (табл. 29).

Таблица 29

Распределение  $\text{C}^{14}$  в аминокислотах (в % от суммы радиоактивности всех аминокислот на хроматограмме) в разных условиях освещения  
(Зак, 1964)

Аминокислота	Интенсивность света, эрг/см <sup>2</sup> ·сек							
	7 315	13 063	37 620	56 430	4 703	8 360	22 990	35 530
	Синий свет						Красный свет	
Аспарагиновая, серин, глицин . . . . .	32,9	44,4	50,0	44,1	36,7	53,2	56,7	26,9
Глютаминовая . . .	6,1	5,8	7,0	30,5	8,2	4,3	2,9	2,4
Аланин, тирозин . .	39,9	39,0	25,6	25,4	33,8	27,7	23,5	18,8
Валин, фенилаланин .	21,2	10,8	7,4	Следы	21,3	14,8	16,9	26,9

Очевидно, вопрос о действии или отсутствии действия качества света на соотношение аминокислот, а следовательно, и на путь их образования, нельзя считать окончательно решенным,

## Влияние качества света на путь усвоения $\text{CO}_2$ при частичном отравлении фотосинтеза

вопрос этот требует дальнейшего тщательного изучения. Интересные результаты получены Зак (1964) при расщеплении молекул глицина, серина и аланина, образованных на красном и синем свету высоких интенсивностей. Изменения были таковы, что указывали на усиление синим светом реакций гликолатного цикла. Это сказалось в изменении соотношения меченого углерода в карбоксиле и восстановленной группе таких кислот, как глицин и аланин. Результаты расщепления молекул глицина подтверждают данные, полученные Кейлом и Эмерсоном. Что касается аланина, то возможность его образования через цикл гликоловой кислоты, которую предполагает Зак, весьма вероятна.

Хесс и Толберт (Hess, Tolbert, 1964) изучали распределение продуктов фотосинтеза у хлореллы, выращенной на красном или синем свету. Адаптивный эффект водоросли к свету разного качества выражался в том, что при дальнейшем кратковременном экспонировании в разных условиях освещения (3 мин. на белом, красном или синем свету) водоросль, выращенная в синих лучах, фиксировала  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  в продукты гликолатного цикла, на красном — в продукты пентозо-фосфатного цикла, в частности в фосфосахара. Подробнее результаты см. в гл. V.

Шампини (Champigny, 1959) оказалась единственным исследователем, не нашедшим влияния качества света на распределение активности в аминокислотах.

По данным ее экспериментов, активность аминокислот зависела только от интенсивности света в опытах. Объект исследования — водоросль *Rhodosorus marinus*. Однако, по мнению Хаушильда и др. (Haushild et al., 1962), «ее метод исследования не был достаточно чувствительным».

Как видно, во всех перечисленных работах (за исключением работы Шампини) исследователи установили изменение соотношения радиоактивности в продуктах фотосинтеза в зависимости от качества света. Эти изменения касаются не только соотношения отдельных групп веществ (например, углеводов, органических кислот, аминокислот и др.), но и путей образования отдельных аминокислот и даже крахмала (Cayle, Emerson, 1957; Зак, 1964; Emerson et al., 1964; Hess, Tolbert, 1964). При этом аналогичные результаты получены для высших и низших фотосинтезирующих растений (зеленые и синезеленые водоросли). Все исследователи констатировали увеличение общей активности аминокислот под влиянием синего света. Что касается данных о действии света на активность отдельных аминокислот (увеличение или уменьшение), полученных разными авторами, эти результаты, по-видимому, свидетельствуют о том, что, работая с разными объектами и сроками экспозиции, исследователи фиксировали различные моменты динамики образования и расхода аминокислот.

Различия в соотношении меченых продуктов на свету разного качества, по-видимому, можно объяснить изменением пути превращений промежуточного продукта фотосинтеза под влиянием какой-то фотохимической реакции. Мы полагаем, что фоторецепторная система (или системы), вызывающие эту реакцию, являются частью фотосинтетического аппарата и локализованы в хлоропластах. Такое предположение допустимо, поскольку синтез азотистых соединений (вплоть до белка) может быть осуществлен в хлоропласте (Андреева, 1956; Сисакян, 1959; Мелик-Саркисян, Сисакян, Светайло, 1962; Осипова, Николаева, 1964; Lyttleton, 1962; Brawerman, 1962; Микульская, Одинцова, Сисакян, 1964; Ничипорович, 1962; Небер, 1963). В хлоропласте имеется также широкая возможность для образования органических кислот (Моиз, 1962), метаболизма углеводов и т. д. В хлоропласте найдены фотоактивные в коротковолновой области каталитические системы (Jagendorf, 1962), в то же время отсутствует цитохромоксидаза дыхательного цикла (James, Das, 1957; Моиз, 1962; Jagendorf, 1962; Lundegårdh, 1964; James, Leech, 1964) и найдены только оксидаза гликоловой и редуктаза глиоксилевой кислот (флавиновые природы). Однако локализация последних ферментов в хлоропласте, скорее всего, связана с реакциями фотосинтетического цикла (Zelitch, Barber, 1960; Моиз, 1962); поэтому, по крайней мере на свету в хлоропласте не имеется условий для осуществления всех реакций аэробного дыхания в классическом смысле, как это показано для митохондрий.

Однако в целой клетке, как известно (Михлин, 1960; Рубин, 1960), имеются фотоактивные системы дыхания (флавиновые и цитохромные). Можно было думать, что изменения в пути фиксации  $\text{CO}_2$  под влиянием синего света локализованы в целой клетке главным образом не в хлоропласте, а в цитоплазме. Если влияние качества света связано с механизмом фотосинтеза, тогда подавление фотосинтеза должно приводить к уменьшению действия коротковолновых лучей на путь превращения углерода. Если же это не так, то различия в метаболитах при подавленном фотосинтезе могли проявиться даже ярче.

Для проверки этого предположения мы определяли продукты фиксации  $\text{CO}_2$  на свету разного спектрального состава у зеленых растений при частичном отравлении фотосинтеза. В качестве ингибитора фотосинтеза был использован фенилуретан.

Исследованиями Варбурга, Гаффрана, Эмерсона, Хилла и многих других установлено, что фенилуретан ингибирует фотосинтез при малых и больших интенсивностях света, подавляет фотохимическую активность хлоропластов (реакция Хилла). Та-

Таблица 30

Влияние фенилуретана (в % от общей радиоактивности спиртовой фракции) на распределение радиоактивности в различных соединениях

Свет в опыте	Условия опыта	Углеводы	Аминокислоты и фосфорные эфиры	Органические кислоты
Красный	Контроль . . . . .	64	26	10
	Опыт с фенилуретаном	16	67	17
Синий	Контроль . . . . .	28	42	29
	Опыт с фенилуретаном	5	74	21

фенилуретана резкое уменьшение общей активности фиксации  $\text{CO}_2$  сопровождалось изменением характера продуктов фиксации. Вместо углеводов начинали преимущественно накапливаться аминокислоты.

В опытном варианте различия в углеводной фракции на красном и синем свету в пользу красного сохранились и стали даже несколько больше, чем в контроле, за счет более резкого снижения радиоактивности углеводов в случае синего света. Для фракции аминокислот различия на красном и синем свету, наоборот, сгладились (67 и 74% вместо 26 и 42% в контроле), поскольку радиоактивность последних возрастила интенсивнее на красном свете. Под воздействием фенилуретана уменьшились также различия в радиоактивности органических кислот на красном и синем свету.

Полученные данные свидетельствуют, что максимальные различия в пути усвоения углерода на свету различного спектрального состава проявляются при нормальном фотосинтезе. Подавление процесса уменьшает различия в группе аминокислот (резко увеличивая долю последних в продуктах) и органических кислот.

Определение радиоактивности индивидуальных веществ показало следующее (табл. 31): радиоактивность аспарагиновой кислоты в контроле составляла 8% от общей радиоактивности фракции аминокислот на красном свете и 23% — на синем. Радиоактивность аланина в контроле оказалась одинакова на красном и синем свете. Возможно, что аланин, не накапливающийся обычно в больших количествах в клетке, к 6 мин. экспозиции в коротковолновых лучах быстрее использовался на синтез белка.

При отравлении фотосинтеза фенилуретаном, радиоактивность аланина увеличивается в одинаковой мере на синем и красном свете. Радиоактивность же аспарагиновой кислоты больше увеличивается на красном свете. Как видно из табл. 31, воздей-

ким образом, действие его проявляется прежде всего на фотохимической стадии фотосинтеза (Рабинович, 1951; Кузин, Школьник, 1951).

Мы ингибиравали фотосинтез, помещая растение в пары фенилуретана. При таком способе фенилуретан действует постепенно, за длительный срок. Объект — 20-дневные растения кукурузы (сорт Стерлинг). Растение вместе с вазоном помещалось в герметически закрывающуюся стеклянную камеру. На дно камеры в качестве источника  $\text{CO}_2$  наливался буфер Варбурга № 9. Чтобы предотвратить поглощение почвой выделяющейся из буфера  $\text{CO}_2$ , поверхность почвы в вазоне заливалась парафином. Такое растение было контрольным. У опытного растения в камеру дополнительно вносился фенилуретан, насыщенный тонким слоем в чашки Петри. Камеры с растениями помещались на рассеянном свету (на окне лаборатории). Для экспериментов отбирались растения, выдержанные в парах фенилуретана 43—45 час. Подавление фотосинтеза при такой экспозиции составляло 65—80%, а дыхание существенно не затрагивалось.

Отделенные от растения листья экспонировались в камере с  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  6 мин. на красном или синем свету. Фиксация материала проводилась 2 мин. кипящим 80%-ным этанолом с последующей экстракцией спиртовой фракции путем хроматографического разделения, учитывалось распределение радиоактивности по группам (органические кислоты, аминокислоты и сахара).

Необходимо отметить, что фракция аминокислот содержала фосфорные эфиры, а также, очевидно, некоторые уже меченные за 6 мин. экспозиции цептиды. Поэтому фракцией аминокислот мы называем ее условно. При определении активности отдельных соединений проводились идентификация, повторная хроматография и элюция веществ. Интенсивность освещения в опытах выравнивалась по количеству падающей энергии и составляла около  $90 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup>·сек.

Естественно, что при выравнивании света по энергии фиксация  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  на синем свете была значительно менее активна, чем на красном. Общая радиоактивность спиртовой фракции в контроле на синем свете была  $14 \cdot 10^3$ , на красном —  $37 \cdot 10^3$  имп/мг·мин. Обработка фенилуретаном уменьшала фиксацию  $\text{CO}_2$ .

Степень подавления фотосинтеза зависела от спектрального состава света в опыте. На красном свете фиксация  $\text{CO}_2$  по сравнению с контролем составляла 25%, на синем — 36%.

Групповой анализ органических кислот, углеводов и фракции, содержащей аминокислоты, показал следующее (табл. 30).

В контролльном варианте синий свет, как обычно, подавлял образование углеводов по сравнению с красным. Усиленное накопление активности в аминокислотах и органических кислотах — типичная картина для действия синих лучей. При действии

Таблица 31

Влияние фенилуретана на радиоактивность аспарагиновой кислоты и аланина (в % от общей радиоактивности фракции аминокислот)

Свет в опыте	Условия опыта	Аспарагиновая кислота	Аланин
Красный	Контроль	8	9
	Опыт	32	21
Синий	Контроль	23	10
	Опыт	40	23

ствие фенилуретаном, резко снижая фотосинтез, изменяло соотношение продуктов фотосинтеза, подобно действию синего света. Поэтому различия в продуктах на красном и синем свету стглаживались. В этой связи интересно упомянуть результаты работы Дейзенса, который, изучая дифференциальные спектры фотосинтеза в коротковолновой и длинноволновой областях спектра, наблюдал стглаживание различий в спектрах при действии *n*-этилуретана. Изменения в спектрах в его опытах были связаны с окислением и восстановлением цитохромов, участвующих, по его гипотезе, в транспорте электрона в хлоропласте (см. гл. I). При действии фенилуретана, независимо от качества света, вместе с резким снижением активности фиксации превращение промежуточного продукта происходит в основном в аминокислоты и органические кислоты. По-видимому, последний путь более устойчив к неблагоприятным воздействиям, чем восстановительный пентозо-фосфатный путь, ведущий к образованию углеводов.

Подобное действие фенилуретана на продукты фотосинтеза для белого света наблюдалось ранее (Newburgh, Buggis, 1954). В этом случае воздействие наркотика было кратковременным (вакуум-инфилтратии в лист перед опытом). Тем не менее одновременно с подавлением общей активности фиксации  $\text{CO}_2$  фенилуретан подавлял путь превращений ФГК в фосфорные эфиры сахаров и активировал накопление радиоактивности в аланине.

Увеличение радиоактивности аспарагиновой и яблочной кислот наблюдал Мортимер при действии иодацетата на фиксацию  $\text{CO}_2$  у сахарной свеклы (Mortimer, 1960). Автор делает вывод о существовании в растении пути фиксации  $\text{CO}_2$  помимо восстановления ФГК. Действие монойодуксусной кислоты, как известно, препреждает основной путь восстановления  $\beta$ -кетокислоты (Metzner et al., 1957) и ФГК в цикле Кальвина, что усиливает альтернативный путь превращений ФГК в фосфоэнолпируват

(Кандлер, Лизенкеттер, 1962; Stiller, 1962). Последний может быть, как указывалось, углеродным предшественником аланина и аспарагиновой кислоты. В наших опытах после обработки растений фенилуретаном основная радиоактивность аминокислот была также сосредоточена в аланине и аспарагиновой кислоте.

Таким образом, фенилуретан снижал активность фотосинтеза, подавляя реакции восстановления ФГК и усиливая реакции альтернативного пути ассимиляции  $\text{CO}_2$ . Поскольку синий свет также активирует эти реакции, действие фенилуретана на путь превращений  $\text{C}^{14}$  на синем свету проявилось слабее, чем на красном.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенные в настоящей главе материалы, с нашей точки зрения, достаточно убедительно показывают, что спектральный состав света изменяет путь превращений фотосинтетически усвоенной  $\text{CO}_2$ . Эти изменения вызываются возбуждением какой-то фоторецепторной системы хлоропластов, активной в коротковолновых лучах спектра (область 400—580 мк). Коротковолновая радиация изменяет путь фиксации  $\text{CO}_2$  аналогично ряду других воздействий (снижение интенсивности света, ингибирование основных реакций цикла Кальвина ядами). Последнее свидетельствует, что фотопреакция, возбуждаемая синим светом, вызывает, так же как и эти воздействия, блокировку какого-то основного энзиматического звена, регулирующего превращение промежуточного продукта фиксации  $\text{CO}_2$  в восстановительный цикл Кальвина. В данном случае увеличиваются возможности метаболизма  $\text{CO}_2$  по иному, альтернативному пути. В этом смысле воздействие качества света на продукты фотосинтеза можно рассматривать как неспецифическую реакцию (Тарчевский, 1965). Специфичность же реакции проявляется в том, что изменение в пути превращений  $\text{CO}_2$  начинается с поглощения света фоторецептором. Изменение состояния последнего под влиянием синего света приводит к подавлению одной и возбуждению другой цепи ферментативных реакций, участвующих в превращениях  $\text{CO}_2$ . В конечном счете это приводит к активации образования азотистых органических соединений и к абсолютному увеличению белкового синтеза в синих лучах.

В каком же звене превращений  $\text{CO}_2$  можно искать эти изменения? Возможности отвлечения части продуктов от основного цикла превращений (цикла Кальвина), по-видимому, имеются на многих этапах (см. рис. 15). С помощью ядов эти возможности показаны для карбоксилирования РДФ и образования 3-ФГК (а также нестойкого промежуточного продукта фиксации  $\text{CO}_2$  —  $\beta$ -кетокислоты), восстановления 3-ФГК до триозофосфатов, регенерации триозофосфата до пентозо-5-фосфата (Stiller, 1962). Так, восстановление ФГК ингибируется ядом на SH-групп-

ны (например, моноиодуксусной кислотой). Особо чувствительной стадией фотосинтеза к воздействию этого ингибитора является также восстановление  $\beta$ -кетокислоты (Кандлер, Лизенкеттер, 1962), превращающейся, по-видимому, в основном в ФГК (Metzner, Simon, Calvin, 1957; Metzner et al., 1958).

Следовательно, моноиодуксусная кислота может ингибировать восстановление ФГК. Причиной этого является блокировка дегидрогеназы глицероальдегидфосфата, как известно, содержащей SH-группы. Наличие этой дегидрогеназы в хлоропластах доказано (Heber, Pon, Heber, 1963). При фотосинтезе найдена корреляция между содержанием ФГК и пирувата (Gaffron, 1960). Поэтому можно считать, что моноиодуксусная кислота, блокируя восстановление ФГК, тем самым способствует ее превращению в пируват. Повторное карбоксилирование пирувата приведет к образованию щавелевоуксусной кислоты. Таким образом, частичное выведение из цикла Кальвина продукта фиксации  $\text{CO}_2$  в виде кетокислот вполне вероятно. Кетокислоты являются источником образования ряда аминокислот, в том числе  $\alpha$ -аланина и аспарагиновой кислоты, а также яблочной (Моиз, 1962). Если принять во внимание, что синий свет увеличивает образование аланина, яблочной и аспарагиновой кислот, то можно предполагать, что синий свет вызывает цепь реакций, в конечном итоге приводящих к ингибированию восстановления ФГК. Синий свет может активировать и иной альтернативный путь превращений  $\text{CO}_2$ . При этом изменения будут наблюдаться как на первичных этапах усвоения  $\text{CO}_2$ , так и на промежуточных этапах цикла Кальвина. Основанием к такому предположению является следующее. Известно, что карбоксилаза РДФ максимально работоспособна только при высоком содержании в среде  $\text{CO}_2$  (Stiller, 1962). Несоответствие между условиями работы карбоксилазы РДФ и естественными концентрациями  $\text{CO}_2$  в атмосфере делает сомнительной универсальность РДФ и цикла Кальвина в фотосинтетическом восстановлении  $\text{CO}_2$ . Возможность усвоения  $\text{CO}_2$  помимо карбоксилирования рибулезодифосфата активно обсуждается в литературе. В СССР этот вопрос исследуется Бойченко, которая первая начала работы по изучению фиксации  $\text{CO}_2$  вне клетки, на изолированных хлоропластах (Бойченко, 1954; Бойченко, Захарова, 1955, 1956; Бойченко, Саенко, 1959; Бойченко, Удельнова, 1962), Кузиным (Кузин, Саенко, 1959), Незголововой (Незголовова, 1962), Тарчевским (Тарчевский, Карпилов, 1963); за рубежом исследуется Мортимером (Mortimer, 1958, 1960, 1961), Кандлером (Кандлер, Лизенкеттер, 1962), Варбургом (Warburg, 1962), а также Сеном и Базу (Sen, Basu, 1961).

Известно, что в определенных условиях (недостаток  $\text{CO}_2$ , избыток  $\text{O}_2$ , высокие освещенности или действие некоторых ядов) гликоловая кислота и продукты ее превращений могут становиться одними из основных продуктов фотосинтеза (Schon, Ven-

son, Bassham, Calvin, 1950; Benson, Calvin, 1950; Толберт, 1962; Pritchard, Griffin, Whittingham, 1962; Тарчевский, Вдовина, Гайнутдинова, 1961; Bassham, Kirk, 1962; Warburg, Krippahl, 1960).

Широкое распространение гликоловой кислоты в зеленых тканях растений и продукта ее окисления — глиоксилевой — впервые было открыто Колесниковым. Этот же исследователь отметил существенное значение данной кислоты для биосинтезов, в частности для образования таких аминокислот, как глицин (Колесников, 1949, 1962).

Исследования Колесникова были позднее подтверждены Толбертом и др. (Tolbert, Cohan, 1953; Kearney, Tolbert, 1962). Ими же подробно изучается роль «гликолатного цикла» в фотосинтезе. Гликолатный цикл включает образование кетокислоты (глиоксилевой) через окисление гликолата оксидазой флавиновой природы. Глиоксилевая кислота в результате восстановительного аминирования может образовать глицин. Кроме того, глиоксилевая кислота может быть также источником для образования серина. Последний, дезаминируясь (через оксилируват), превращается в глицерат и гексозы. Гликолевая кислота является транспортной формой продуктов фотосинтеза из хлоропласта в клетку и, таким образом, служит связующим звеном между первичным синтезом веществ и биосинтезами (Tolbert, Cohan, 1953; Pritchard, Whittingham, Griffin, 1961; Pritchard, Griffin, Whittingham, 1962; Толберт, 1962; Kearney, Tolbert, 1962; Rabson et al., 1962; Orth et al., 1962). С операциями гликолатного цикла может быть связано появление глицериновой кислоты (Доман и др., 1958; Mortimer, 1961) и сахарозы (Jimenez et al., 1962) при фотосинтезе. Образование гликоловой кислоты происходит, по мнению большинства исследователей, в восстановительном пентозо-фосфатном цикле из первого и второго углеродных атомов промежуточного продукта за счет окисления последнего. Образованная фосфогликоловая кислота с участием фосфатазы легко превращается в гликоловую, поэтому накопления первой при фотосинтезе практически не происходит. Допускается возможность образования гликоловой кислоты независимо от цикла Кальвина *de novo* в качестве промежуточного продукта восстановления  $\text{CO}_2$  (Stiller, 1962).

Можно думать, что на синем свету по сравнению с красным создаются, так же как при действии яда — изоникотинилгидразида, высоких концентраций кислорода или низких концентраций  $\text{CO}_2$  (Pritchard et al., 1961; Bassham, Kirk, 1962), более благоприятные условия для образования гликоловой кислоты, будь то ее образование *de novo* или же путем прямого окисления фосфосахаров.

Результаты разобранных выше работ Кейла и Эмерсона (Cayle, Emerson, 1957), Зак (1964), Хесс и Толберт (Hess,

Tolbert, 1964), указывают, несомненно, на активацию реакций гликолатного цикла синим светом. Это и понятно, так как ферменты, участвующие в превращениях гликоловой — глиоксилевой кислот, имеют флавиновую природу. Правда, исследование вопроса еще только начато и требует дальнейших существенных экспериментальных доказательств. Для детального изучения действия качества света на фиксацию  $\text{CO}_2$  важно проведение балансных опытов в сочетании с кинетическими исследованиями. Тогда можно будет, очевидно, наблюдать изменения в метаболизме  $\text{CO}_2$ , вызванные фотохимической реакцией попеременно в различных звеньях сложной цепи превращений не только азотистых, но и иных соединений, образуемых при фотосинтетической фиксации углерода. Так же существенна постановка опытов с различными ингибиторами. Пока получены только наиболее общие сведения о действии качества света на продукты фотосинтеза. Установлено, что коротковолновая радиация усиливает синтез аминокислот, органических кислот и уменьшает количество (по крайней мере, при ненасыщающих интенсивностях света) свободных углеводов, а также фосфосахаров (у водорослей). Кроме того, показан различный путь образования некоторых аминокислот (глицина, аланина) и для синего света найдено усиление реакций гликолатного цикла. Время проявления реакций на качество света точно не изучено. Изменения в соотношении аминокислот наблюдаются к 25—30 сек. Однако возможно, что изменения проявляются очень рано (через 2—3 сек. освещения) и связаны не только с превращениями ФГК в ФЭП, но и с отвлечением фиксации  $\text{CO}_2$  в другие вещества на более ранних стадиях (Gal'mish, 1963). В частности, весьма вероятно, что углеродный предшественник глицина, образованный при фотосинтезе на красном и синем свету, различен. В одном случае (на красном) это производное от ФГК, а в другом (на синем) — вещества какой-то, например двухуглеродной природы. О природе фотопротеина, вызывающего эти изменения, можно сказать пока только в самой общей форме. Эффект синего света на синтез аминокислот проявляется как при освещении синим светом широкого диапазона длин волн — от 400 до 580  $\text{мкм}$ , так и освещением линией 436  $\text{мкм}$  (эта линия лежит в области поглощения света флавопротеинами). Усиление белкового синтеза также наблюдается при освещении светом 400—580  $\text{мкм}$  (Воскресенская, 1952) или же светом в области 480  $\text{мкм}$  (Mohr, 1964). Поэтому фотопротеином могут являться флавиновые системы, поглощающие свет в синей области спектра. Не исключена возможность участия в реакции цитохромов. Эти ферментные системы, активированные синим светом, изменяют окислительно-восстановительный режим хлоропласта и клетки, что является причиной изменения пути превращения  $\text{CO}_2$ . Интересны указания на то, что изменения пути ассимиляции углерода наблюда-

ются уже при небольшой добавке синего света к красному (Hauschild et al., 1962a; Ohlenroth, Mohr, 1964). Этот факт, по-видимому, указывает на низкое световое насыщение реакции, вызываемой синим светом. Не исключено поэтому, что фотопротеины, хотя и локализованы не только в цитоплазме, но и в хлоропласте, однако не связаны в комплексе с хлорофиллом, т. е. не являются участниками первичной, электронтранспортной цепи в фотосинтезе. Однако это предположение требует экспериментального подтверждения.

До сих пор мы говорили о действии качества света на путь фотосинтетических превращений  $\text{CO}_2$ , имея в виду сравнительно ранние стадии образования аминокислот, органических кислот и растворимых углеводов. В то же время выше указывалось, что синий свет способствует биосинтезу белков (Воскресенская, 1952). Возможно, что синий свет способствует синтезу активных белков — регуляторов процессов метаболизма клетки, например, таких, как цитохромоксидаза (Рубин, Чернавина, 1955; Чернавина, 1959; Воскресенская, Гришина, 1959), каталаза, аскорбиноксидаза (Appleton, Pyfrom, 1955). Все приведенные результаты касаются зеленых растений. Однако имеются данные об усилении синтеза белков синим светом у незеленых растений, где источником для этого вторичного синтеза являются углеводы. Поэтому отдельить в целой клетке превращение промежуточного продукта фотосинтеза под влиянием света разного качества от общего метаболизма невозможно. Впрочем, в настоящее время наиболее признанным является представление, согласно которому восстановительный цикл углерода  $\text{CO}_2$  в фотосинтезе целиком относится к темновым реакциям (Арон, 1962). Тогда принципиальные грани между превращениями ранних продуктов фотосинтетической фиксации  $\text{CO}_2$  и общим метаболизмом при фотосинтезе стираются.

Происхождение тех или иных метаболитов прежде всего, по-видимому, должно определяться местом локализации синтеза и источником энергии. Если для синтетических процессов употребляется энергия света, запасенная в растении в результате окислительно-восстановительных реакций фотосинтеза, а не энергия, полученная в результате окислительно-восстановительных реакций дыхания, и образование этих соединений связано с деятельностью хлоропласта, то следует считать, что вещества являются продуктами фотосинтеза. В недавно вышедшей из печати книги Кальвин и Бассем (Calvin, Bassham, 1962) высказывают близкую к этой точку зрения на фотосинтез и продукты фотосинтеза (см. также Bassham, 1963).

Следовательно, влияние такого фактора, как качество света, должно проявляться при фотосинтезе на всех стадиях превращения (биосинтеза) восстановленной  $\text{CO}_2$ , где участвуют фотоак-

тивные катализитические системы, и таким образом регулировать общий метаболизм зеленой клетки и, вероятно, растения.

Отвлечение значительной доли  $\text{CO}_2$  от циклического процесса восстановления в пентозо-фосфатном цикле может снизить активность фотосинтеза, что мы и наблюдаем в опытах с неадаптированными растениями. Возможно, синий свет вызывает также какие-то реакции, приводящие к отвлечению усвоенной световой энергии от ассимиляции  $\text{CO}_2$  на иные процессы, связанные с использованием световой энергии. Подробно этот вопрос разбирается в гл. III и IV.

### Г л а в а III

## ДЕЙСТВИЕ СВЕТА НА ПОГЛОЩЕНИЕ КИСЛОРОДА РАСТЕНИЯМИ

В настоящей главе изложены исследования, касающиеся поглощения кислорода зелеными и незелеными растениями в различных условиях освещения и после освещения, в темноте (последействие света на поглощение кислорода).

Показателями активности дыхательного газообмена аэробно живущих зеленых растений принято считать количество кислорода, поглощенного в единицу времени, или выделенной в тех же условиях углекислоты. При величине дыхательного коэффициента, близкой или равной единице, действительно правомочно, определяя один из показателей газообмена, характеризовать им общую скорость дыхания. Однако в настоящей главе мы пытаемся показать, что у зеленых растений на свету суммарное поглощение кислорода связано с различными механизмами его восстановления, из которых только один соответствует обычным представлениям о дыхательном метаболизме. На свету поглощение кислорода и выделение  $\text{CO}_2$ , по-видимому, изменяются не всегда синхронно. Реально нами изучалось только поглощение кислорода. Поэтому мы считаем себя вправе назвать эту главу не «Действие света на дыхание», а «Действие света на поглощение кислорода растениями». Нами получено значительное количество данных, в особенности по действию спектрального состава света на поглощение кислорода. Эксперименты других исследователей также излагаются. Однако обзор литературы не претендует на полноту.

Основная цель главы — показать, как влияет свет на поглощение (и восстановление) кислорода зелеными растениями, и попытаться связать некоторые изменения количественной и качественной сторон фотосинтеза при смене спектрального состава света с указанным процессом. Материалы по поглощению кислорода на свету незелеными листьями приводятся потому, что сравнение действия света на незеленые и зеленые части растений, с нашей точки зрения, является одним из экспериментальных приемов, позволяющих выявить возможные изменения функций

растений (в данном случае внешне выражаются в поглощении  $O_2$ ), вызываемые появлением хлорофилла и переходом растений на автотрофный тип питания.

## 1. ПОГЛОЩЕНИЕ КИСЛОРОДА НА СВЕТУ НЕЗЕЛЕНЫМИ РАСТЕНИЯМИ

### Действие спектрального состава и интенсивности света

Скорость поглощения кислорода на свету и в темноте незелеными растениями является критерием действия света на дыхание этих объектов. Наличие достаточно полной сводки Вейнтрауба (Weintraub, 1944) по действию света на дыхание растений избавляет нас от необходимости подробно излагать историю вопроса. Отметим лишь, что первые работы появились более 100 лет назад (Morot, 1894) и немалая заслуга в изучении явления принадлежит в основном русским исследователям (Puriewitsch, 1890; Palladin, 1894; Maximov, 1902; Löwschin, 1908). Большинство экспериментаторов обнаружили активацию дыхания у незеленых растений на «белом» свету. Кроме того, Бонные и Манжен, работая с фильтрованным солнечным светом, наблюдали различное действие на дыхание света разного спектрального состава (Weintraub, 1944). Наиболее последовательно вопрос исследовался немецкими учеными (Föckler, 1938; Monfort, Rosenstock, 1950; Rosenstock, 1951). Вначале было установлено, что на белом свету у бесхлорофильных органов и тканей всегда наблюдается поглощение кислорода. Скорость его, аналогично скорости выделения  $CO_2$ , меняется в зависимости от предварительной подготовки объекта и условий освещения в опыте: увеличение интенсивности белого света, а также увеличение предварительного темнового периода перед освещением усиливают дыхание. В дальнейшем оказалось, что не все лучи спектра действуют на процесс одинаково. На большом количестве объектов (корни, клубни, семена различных растений) было установлено, что только наиболее коротковолновые лучи — ближние ультрафиолетовые лучи (380 мкм) и сине-зеленые (400—580 мкм) усиливают дыхание тканей. Прибавление длинноволновых лучей (выше 580 мкм) резко уменьшало или даже полностью подавляло активацию. Удалось констатировать полный параллелизм между скоростью выделения углекислоты и поглощением кислорода. Этот факт давал основание считать, что у незеленых растений на свету поглощение кислорода связано с дыхательным метаболизмом. Температурный оптимум светового и темнового дыхания был одинаков, что также свидетельствует в пользу указанного выше заключения. Область спектра, в которой найдена стимуляция дыхания (380—580 мкм), близко совпадает с областью поглощения

света каротиноидами, а также некоторыми ферментами дыхания. Вследствие этого предполагают, что названные соединения участвуют в стимуляции дыхания светом. Что касается природы действия ультрафиолета, то Феклер (Föckler, 1938) подчеркивает особую роль состояния плазмы — высокую чувствительность последней к действию ультрафиолета. Однако системы, ответственные за активацию дыхания, подробно не исследовались автором.

В поисках причин, вызывающих изменение пути фиксации  $CO_2$  при действии синего света по сравнению с красным у зеленых и незеленых растений (см. гл. II), мы проводили определения

Таблица 32

Влияние красного и синего света одинаковой интенсивности на поглощение кислорода (в  $\mu\text{кл } O_2$  на  $10 \text{ см}^2$  в час) листьями незеленых растений  
(Воскресенская, Зак, 1957)

Растение	Синий свет	Красный свет	Темнота
<i>Zea mays</i> (этиолированные листья) . . . . .	35,0	40,0	11,0
То же . . . . .	42,0	47,0	15,1
<i>Codiaeum pictum</i> (желтые) . . . . .	43,0	35,0	33,0
<i>Aspidistra elatior</i> (белые) . . . . .	52,0	22,0	22,6
<i>Pandanus veitchii</i> (белые) . . . . .	21,0	11,0	—

скорости поглощения кислорода на незеленых листьях ряда высших растений в темноте и при освещении коротковолновыми и длинноволновыми лучами видимой части спектра (Воскресенская, Зак, 1957; Воскресенская, 1959, 1961; Voskresenskaya, 1961). Источники света, светофильтры и условия освещения в опытах — те же, что и для определения фотосинтеза (см. гл. I). Сравнение активности поглощения кислорода листьями в разных условиях (темнота, красный и синий свет) производилось монометрическим методом в аппарате Варбурга при температуре 25°. Выделяемая высечкой листа углекислота поглощалась 4%-ной NaOH (Воскресенская, Зак, 1957).

Опытные объекты — 12-15-дневные этиолированные проростки кукурузы (*Zea mays*), а также бесхлорофильные участки листьев пестролистных форм некоторых растений: *Codiaeum pictum*, *Aspidistra elatior* и *Pandanus veitchii*<sup>1</sup>. Два первых объекта (*Zea mays* и *Codiaeum pictum*) имели желтые листья, два вторых — белые. В табл. 32 приведены данные об активности поглощения кислорода на красном и синем свету одинаковой интенсивности ( $30 \cdot 10^3$  эрг/ $\text{см}^2 \cdot \text{сек}$ ) и в темноте.

<sup>1</sup> Листья пестролистных растений взяты из Главного ботанического сада.

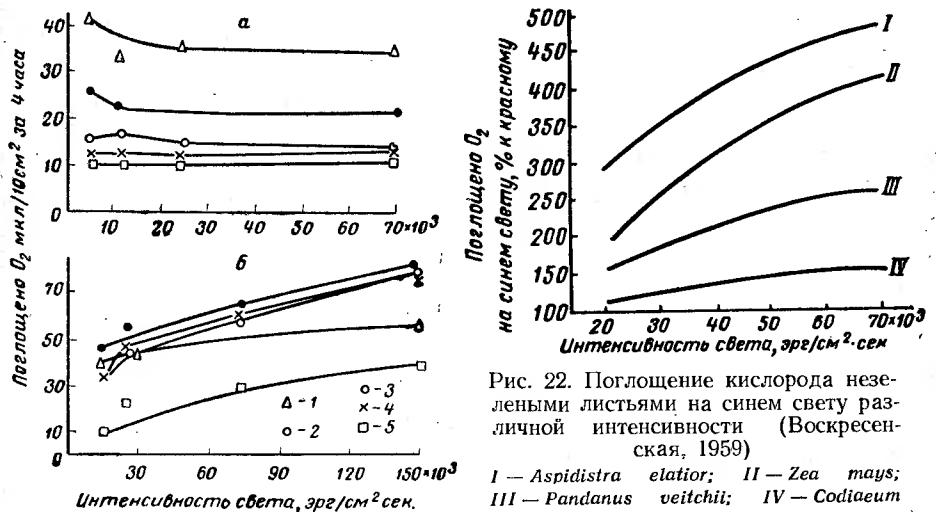


Рис. 21. Поглощение кислорода листьями растений при различном спектральном составе и интенсивности света (Воскресенская, Зак, 1957)

*a* — красный свет; *b* — синий. Растения: 1 — *Codiaeum pictum*; 2, 4 — *Aspidistra elatior*; 3 — *Zea mays*; 5 — *Pandanus veitchii*

образом, только синий свет включал дыхание. В связи с этим было интересно установить, как влияют на поглощение кислорода различные интенсивности красного и синего света. Результаты этого опыта представлены на рис. 21 и 22. Как видно из рисунков, увеличение интенсивности красного света даже в 10 раз не изменяет скорости поглощения кислорода. В коротковолновых же лучах оно было сразу выше темнового и увеличивалось с увеличением интенсивности света. Если для  $30 \cdot 10^3 \text{ эрг}/\text{см}^2 \cdot \text{сек}$  на синем свете поглощение кислорода было выше в 1,5—3,5 раза, то при  $70 \cdot 10^3 \text{ эрг}/\text{см}^2 \cdot \text{сек}$  разница с красным светом и темнотой в большинстве случаев составляла уже 3—5 раз (см. рис. 21). Насыщенные реакции на синем свете не было найдено. В пределах испытанных интенсивностей света поглощение кислорода продолжало возрастать, хотя между  $60$  и  $70 \cdot 10^3 \text{ эрг}/\text{см}^2 \cdot \text{сек}$  уже незначительно (рис. 22).

Таким образом, уже первые опыты показали, что спектр действия поглощения кислорода незелеными листьями ограничивался коротковолновыми (до  $580 \text{ мкм}$ ) лучами.

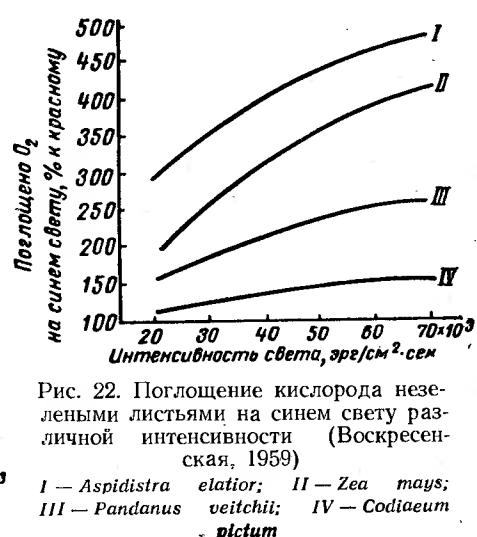


Рис. 22. Поглощение кислорода незелеными листьями на синем свете различной интенсивности (Воскресенская, 1959)

I — *Aspidistra elatior*; II — *Zea mays*; III — *Pandanus veitchii*; IV — *Codiaeum pictum*

Оказалось, что на красном свете и в темноте поглощение кислорода было практически одинаковым. На синем свете (той же интенсивности, как и красный) наблюдалось существенное увеличение дыхания. Таким

## Природа активации поглощения $\text{O}_2$ коротковолновыми лучами

Измерения на спектрофотометре СФ-4 спектра поглощения спирто-ацетоновой вытяжки из листьев указывают, что вытяжка из желтых листьев называемых выше растений поглощает в области каротиноидов 45—55% света, в то время как вытяжка из белых листьев — меньше 10% (рис. 23). Несмотря на такие различия в содержании каротиноидов, все исследованные объекты обнаруживают значительную активацию поглощения кислорода синими лучами, причем преимущества для растений, богатых каротиноидами, заметить не удалось ни при низких, ни при высоких освещенностях после  $60 \cdot 10^3 \text{ эрг}/\text{см}^2 \cdot \text{сек}$  (см. рис. 21 и 22). В области спектра от  $400$ — $580 \text{ мкм}$  свет может поглощаться наряду с каротиноидами фотоактивными дыхательными системами клетки — цитохромной и флавиновой. При действии красного света активация всех указанных систем исключена. Увеличение активации поглощения кислорода с возрастанием интенсивности синего света вплоть до  $70 \cdot 10^3 \text{ эрг}/\text{см}^2 \cdot \text{сек}$  делает возможным участие каротиноидов в этом процессе, поскольку для дыхательных систем (например, цитохромоксидазы) плата возбуждения лежит при низких интенсивностях света.

Активная на свете оксигеназа каротиноидов найдена у хлореллы (Warburg, Krippahl, Gewitz, Völker, 1958). Оксигеназа отличается устойчивостью к дыхательным ядам, а также и тем, что ее деятельность не сопровождается выделением  $\text{CO}_2$ . Неизвестно присутствует ли она в незеленых частях растений. Таким образом, вопрос об участии каротиноидов в активации поглощения кислорода окончательно не решен.

Галстон и Бекер (Galston, Baker, 1951) предполагают участие оксидаз флавиновой природы в окислительных процессах, активируемых синим светом: они установили активацию окисления индолилуксусной кислоты лучами коротковолновой области

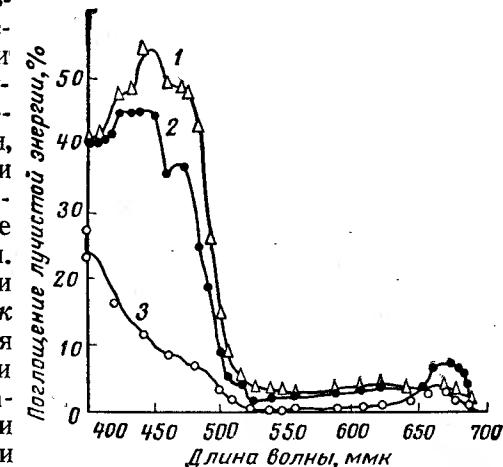


Рис. 23. Спектр поглощения спирто-ацетоновой вытяжки из листьев (Воскресенская, 1959)

1 — *Codiaeum pictum*; 2 — *Zea mays*; 3 — *Pandanus veitchii*

спектра при добавлении к раствору частично очищенной оксидазы, выделенной из этиолированных проростков гороха. Предполагается, что эта активируемая синим светом оксидаза имеет флавопротеиновую природу. Залтман (Saltman, 1955), определяя поглощение кислорода у альбиносных проростков злаков, нашел также, что процесс активируется коротковолновыми лучами. Автор полагает, что активация вызывается флавопротеиновой оксидазой клетки. Указаний относительно участия другой терминальной оксидазы — цитохромоксидазы в процессе активации поглощения кислорода коротковолновой радиацией у растений мы не встречали, хотя известно, что последняя имеет широкое распространение у незеленых растений и локализована главным образом в центрах дыхательного метаболизма — митохондриях (Smith, Chance, 1958). Наличие цитохромоксидазы в суспензии зеленых и незеленых листьев кукурузы и аспидистры проверялось нами манометрическим методом (Воскресенская, Зак, 1957). Табл. 33 видно, что как у зеленой, так и незеленой суспензии

Таблица 33

**Активность цитохромоксидазы в разных условиях освещения**  
(Воскресенская, Зак, 1957)

Растение	Поглощение кислорода				
	мкл за 30 мин на 3,5 мл суспензии (0,56 г/листьев)			% к темноте	
	синий свет	красный свет	темнота	синий свет	красный свет
<i>Zea mays</i> (зеленые листья) . . . . .	44,6	—	24,1	185	—
То же . . . . .	—	32,4	39,2	—	82
	64,3	—	39,5	162	—
	—	50,8	54,2	—	93
<i>Zea mays</i> (этолированные листья) . . . . .	95,0	—	80,7	117	—
То же . . . . .	—	69,9	69,4	—	100
	95,3	—	85,1	112	—
	—	49,4	60,8	—	81
<i>Aspidistra el.</i> (зеленые листья) . . . . .	—	51,6	72,7	—	71
» (белые листья) . . . . .	90,0	—	73,6	122	—

была обнаружена цитохромоксидаза. Действие ее активируется синим светом (Warburg, Negelein, 1929). Интересно отметить, что эта активация оказалась больше у зеленой суспензии. Что касается красного света, то естественно, что активация цитохромоксидазы не обнаружена, поскольку она не поглощает свет в этой области. Небольшое подавление реакции в красном

свете по сравнению с темнотой, наблюдавшееся почти во всех опытах, объясняется трудно. Можно предположить наличие в суспензии систем, поглощающих длинноволновый свет и способных инактивировать цитохромоксидазу. Возможно, этим объясняются наблюдения (Resonstock, 1951), по которым прибавление к коротковолновым лучам длинноволновых уменьшало поглощение кислорода, а не просто сохраняло реакцию на прежнем уровне.

Другое доказательство присутствия цитохромоксидазы — действие азота натрия — ингибитора металлоконтактирующих оксидаз и окислительного фосфорилирования (Диксон, Уэбб, 1961). Азот Na инфильтрировался в листья этиолированной кукурузы. Контроль — инфильтрация воды. Предварительные опыты показали, что подавление темнового поглощения кислорода у незеленых листьев происходит при концентрации азота  $Na \cdot 10^{-3} M$ .

Таблица 34

**Действие азота натрия на поглощение кислорода незелеными листьями на красном и синем свету одинаковой интенсивности** (Воскресенская, Зак, 1957)

Условия опыта	Поглощение кислорода					
	мкл $O_2 / 5 \text{ см}^2 \cdot \text{час}$	%	мкл $O_2 / 5 \text{ см}^2 \cdot \text{час}$	%	мкл $O_2 / 5 \text{ см}^2 \cdot \text{час}$	%
Контроль . . . . .	Темнота		Синий свет		Красный свет	
Азот натрия $2 \cdot 10^{-3} M$	16,0	100	56,9	100	15,8	100
	10,5	65	26,7	46	10,6	67

Как видно из табл. 34, на длинноволновом свету подавление реакции ядом было таким же, как и в темноте. Следовательно, системы, с помощью которых у незеленых листьев происходит поглощение кислорода на красном свету и в темноте, одинаковы. Синий свет значительно активировал поглощение кислорода в контроле. При действии яда остаточное дыхание на синем свету было меньше, так как относительная величина подавления была выше на синем свете, чем на красном и в темноте. Таким образом, с помощью  $NaN_3$  вновь было показано участие в поглощении кислорода незелеными листьями металлоконтактирующей оксидазы, активируемой светом в области 400—580 мк. Остаточное дыхание приходилось, очевидно, на долю оксидаз, не содержащих тяжелые металлы.

Наиболее прямое доказательство участия цитохромоксидазы в поглощении кислорода — подавление дыхания окисью углерода (James, 1953; Джеймс, 1956). При работе с CO мы употребляли бесхлорофильные участки листьев и этиолированные проростки кукурузы. Опыты проводились манометрическим методом в аппарате Варбурга в сосудиках, приспособленных для работы с

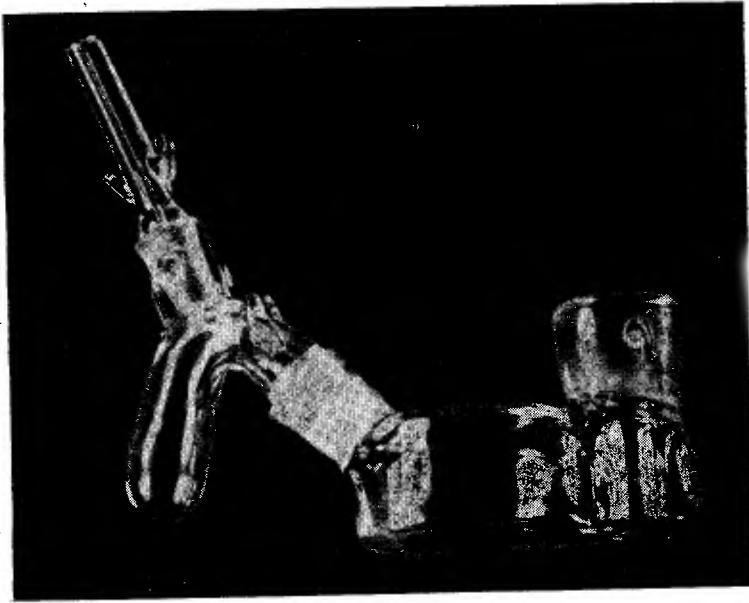


Рис. 24. Модифицированный сосудик Варбурга

листом и пригодных для быстрой смены газовой фазы. Контроль — поглощение кислорода в атмосфере воздуха на синем свете и в темноте. Приводим фотографию модифицированного нами сосудика (рис. 24). Он приспособлен для верхнего освещения. С ним удобно работать с суспензиями хлоропластов, хлореллы и высечками листа. Конструкция предусматривает смену газовой фазы, позволяет определять действие различных ядов на фотосинтез, дыхание, изучать фотофосфорилирование, реакцию Хилла, работать методом двух сосудиков Варбурга.

В описываемых ниже опытах, после часовых контрольных измерений дыхания объектов, в сосудики пропускался ток 80%-ной окиси углерода в смеси с воздухом. Через 40—60 мин. вновь начинались замеры поглощения кислорода (табл. 35).

При действии CO в темноте подавление дыхания в среднем достигло 50%, на свету большая доля подавления снижалась, так как комплекс цитохромоксидазы с CO разрушался синим светом. Следовательно, опыты с CO также указывают на наличие у незеленого растения активной цитохромоксидазы и на ее участие в активации поглощения кислорода синим светом. Невосстановленная на свету доля дыхания может быть отнесена за счет полифенолоксидазы, комплекс которой с CO не диссоциирует в видимой области спектра.

Итак, можно говорить о появлении различий в окислительно-

восстановительном режиме для незеленого листа при освещении светом разного качества, поскольку синий свет активирует поглощение кислорода, а красный не меняет его по сравнению с темнотой. За усиление поглощения кислорода на синем свету ответственны хотя бы частично, оксидазы, активируемые коротковолновой реакцией, в частности, как показано нами, цитохромоксидаза. Роль каротиноидов для активации остается недостаточно

Таблица 35  
Действие CO на поглощение кислорода в темноте и на синем свету  
(Воскресенская, Зак. 1957)

Растение	Условия опыта	Поглощение O <sub>2</sub> , мкл на 10 см <sup>2</sup> за 60 мин		Активация светом, % к темноте	Подавление дыхания, % к контролю	
		темнота	свет		темнота	свет
<i>Zea mays</i> (этиолированные листья)	Контроль	13,1	28,8	220	47	11
	CO	7,0	25,8			
То же . . . . .	Контроль	12,1	30,7	253	33	15
	CO	8,2	26,2			
<i>Codium</i>	Контроль	9,1	22,7	260	66	34
	CO	3,1	15,1			
То же . . . . .	Контроль	11,5	25,8	225	50	14
	CO	5,8	22,3			
<i>Aspidistra</i>	Контроль	13,7	22,2	162	45	28
	CO	7,6	16,1			
<i>Pandanus</i>	Контроль	30,6	72,6	237	50	2
	CO	15,2	71,2			

ясной. Поскольку системы, участвующие в поглощении кислорода на свету и в темноте, одинаковы, то, вероятно, поглощение кислорода на свету происходит по тому же дыхательному механизму, что и в темноте. На синем свете активность процесса увеличивается за счет активации ферментных систем клетки, поглощающих свет в этой области. Для длинноволновых лучей, не активирующих указанные выше ферментные системы, поглощение кислорода, естественно, остается таким же, как в темноте.

## 2. ПРИЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЕЙСТВИЯ СВЕТА НА ПОГЛОЩЕНИЕ КИСЛОРОДА ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИМИ ОРГАНИЗМАМИ

Хорошо известно, что измерения поглощения кислорода зелеными растениями на свету представляют почти непреодолимые трудности, поскольку процесс, если таковой имеется в нормально

фотосинтезирующем растении, всегда происходит одновременно с выделением кислорода. В то же время вопрос этот весьма существен при исследовании дыхательного газообмена на свету, выяснении взаимосвязи дыхания и фотосинтеза и возможного значения кислорода для механизма фотосинтеза.

Значение света для поглощения кислорода исследуют с помощью различных методических приемов. Среди них можно назвать следующие: 1) определение последействия света на поглощение кислорода в темноте (последействие освещения на процесс); 2) определение поглощения кислорода на свету в отсутствие фотосинтеза; 3) определение поглощения кислорода при фотосинтезе; 4) исследования явления фотоокисления. Кратко остановимся на характеристике указанных приемов.

Трудности, возникающие при измерении двух идущих в противоположном направлении процессов обмена кислорода на свету, побуждают измерять поглощение  $O_2$  после выключения света. Следовательно, по последействию света судят о значении и величине поглощения  $O_2$  на свету. При этом последействие изучается как в короткие — секундные, минутные промежутки времени после освещения, так и в длительный период темноты (Бриллиант, 1949, Френч, Форк, 1962).

При использовании второго метода тем или иным способом исключается фотосинтез. Обычно это достигается удалением из газовой фазы  $CO_2$  или ингибированием фотосинтеза ядами и наркотиками. Результаты, полученные в таких условиях, возможно, не соответствуют истинной величине поглощения кислорода при фотосинтезе. Тем не менее этот прием может дать представление о потенциальной возможности зеленого растения к поглощению  $O_2$  на свету, механизме этого поглощения и о световой зависимости процесса (Föckler, 1938; Bode, 1940; Gaffron, 1940).

Методическим недостатком при работе в атмосфере без  $CO_2$  считают возможное искажение показаний скорости поглощения  $O_2$  за счет повторного использования  $CO_2$  дыхания в фотосинтезе и выделения в газовую fazу кислорода. Однако, по некоторым данным, не следует опасаться этого явления. Так, в опытах Варбурга (Warburg et al., 1949) на слабом красном свету при интенсивном качании манометрического сосудика с плотной суспензией хлореллы (т. е. в условиях, благоприятных для дыхания и крайне неблагоприятных для фотосинтеза)  $CO_2$  дыхания в фотосинтезе не использовалась. Чесноков и Базырина (Чесноков, Базырина, 1932) утверждают также, что при концентрации  $CO_2$  ниже  $0,2 \cdot 10^{-5} M$  фотосинтез высших растений падает до нуля. Наконец, исследования последнего времени также указывают на то, что  $CO_2$  дыхания около компенсационного пункта по  $CO_2$  не используется на фотосинтез (Вознесенский, 1964). По-видимому, возможное искажение величины поглощения  $O_2$  за счет фотो-

синтеза дыхательной  $CO_2$ , если иногда и наблюдается, то ограничено довольно узкими экспериментальными условиями — очень высоким дыханием и слабыми интенсивностями света.

О специфичности ядов можно говорить уверенно только в отношении определенных ферментных систем, но не в отношении процессов. Поэтому при работе с ядами или наркотиками существует реальная опасность неполного подавления фотосинтеза или частичного угнетения поглощения  $O_2$ . Это тем более вероятно, что в настоящее время трудно найти специфичные системы, которые не участвовали бы одновременно в обоих противоположных по знаку процессах — фотосинтезе и дыхании. Таким образом, при работе с ингибиторами нужна тщательная проверка специфичности их действия.

Изучение поглощения  $O_2$  на свету при фотосинтезе возможно только с применением изотопов. Казалось бы, это наиболее прямой и «чистый» способ изучения вопроса. Обычно при применении такого метода кислород, обогащенный  $O^{18}$ ,дается в газовую fazу; кислород воды — среды, в которую погружена водоросль, — целиком  $O^{16}$ . Сдвиг в соотношении  $O^{16}$  к  $O^{18}$  на свету в газовой fazе должен характеризовать величину фотосинтеза и поглощения  $O_2$ . Пользуясь изотопами  $O^{16}$  и  $O^{18}$ , можно исследовать зависимость фотосинтеза от наличия  $O_2$  в газовой fazе при различных интенсивностях и спектральном составе света. Если измерения сопровождаются также определением скорости обмена двуокиси углерода с применением  $C^{14}O_2$ , тогда можно выявить изменения в дыхании на свету по каждому компоненту газообмена. Таким образом, появляется возможность одновременного изучения механизма поглощения кислорода на свету, влияния процесса на фотосинтез и связи его с темновым дыханием. Как видно, это наиболее плодотворный метод исследования вопроса. При умелом его использовании можно одновременно решить многие стороны проблемы. Однако использование метода требует некоторых определенных условий эксперимента, которые ограничивают широкую трактовку получаемых результатов. Определения должны проводиться при достаточно низких концентрациях  $O_2$  в среде (ниже нормальных), показатели фотосинтеза должны быть невысокими. Последнее приводит к необходимости работать с малыми освещенностями или ограничивать выбор специфическими объектами, имеющими низкое световое плато фотосинтеза. В противном случае изменение в соотношении изотопов  $O^{16}$  к  $O^{18}$  окажется трудно уловимым. По той же причине употребляется обычно высокое обогащение  $O^{18}$ . Наличие диффузационного барьера между газовой fazой и жидкостью и возможности изотопной дискриминации (Steeman Nielsen, 1955; Brown, Weiss, 1959) также осложняют вопрос. Наконец, весьма существенная ошибка может наблюдаться за счет биологического фракционирования изотопов  $O^{16}$  и  $O^{18}$  во время дыхания, в котором проис-

ходит преимущественное использование более легкого кислорода  $O^{16}$  (Виноградов и др., 1959, 1960). Наиболее свободным от ошибок является метод измерения обмена  $O^{16}$  и  $O^{18}$  при естественном содержании изотопа кислорода ( $O^{18}$ ) в воде, без дополнительного обогащения воды тяжелым кислородом. Такой метод в последние годы с успехом применяется в Институте аналитической и геологической химии АН СССР (Виноградов, Кутюрин, 1962). В последнее время обмен  $O^{16}$  и  $O^{18}$  при фотосинтезе изучается также за счет измерений кислорода не в жидкой, а в газовой фазе (Hoch, Owens, Kok, 1963). С помощью полупроницаемой мембранны образовавшийся газ из реакционной камеры отсасывается (почти при нормальном давлении) к массспектрометру, где и анализируется. Данный метод позволяет вести непрерывные отсчеты в динамике.

Следует признать, что обе описанные выше модификации сводят к минимуму многие недочеты изотопного анализа. Таким образом, при учете всех необходимых поправок этот способ изучения вопроса является наиболее перспективным.

Можно назвать еще один прием изучения действия атмосферного кислорода на фотосинтез. В данном случае без употребления изотопов  $O_2$  определяется величина фотосинтеза при различном парциальном давлении кислорода в атмосфере (косвенный метод).

Исследование действия кислорода на фотосинтез при ненормально высоких интенсивностях света (явление фотоокисления) представляет особый способ изучения роли кислорода для фотосинтеза.

### 3. ПОСЛЕДЕЙСТВИЕ КАЧЕСТВА И ИНТЕНСИВНОСТИ СВЕТА НА ПОГЛОЩЕНИЕ КИСЛОРОДА ЗЕЛЕНЫМИ РАСТЕНИЯМИ

Изучение фотосинтеза и дыхания во время освещения дает материал о связи этих двух процессов при большем или меньшем преобладании первого процесса. Последействие света можно рассматривать как переходный период, когда при смене автотрофного типа питания на гетеротрофный, влияние первого типа питания остается еще существенным.

Последействие света в течение коротких (секундных или минутных) экспозиций относится к разряду индукционных эффектов, возникающих при переходе свет — темнота.

Как известно, эти эффекты широко исследуются в связи с изучением механизма фотосинтеза, энергетики процесса, особенностей фотосинтетической фиксации  $CO_2$ , возможного использования энергии дыхания в фотосинтезе и др. (Vejlby, 1961; Семененко, 1962).

В то же время существует более широкое толкование индукционных эффектов — как результата биологического ответа клет-

ки и организма на смену любых условий (Беликов, 1960; Беликов и др., 1962). В любом случае при этом ответной реакцией растения будет расстройство, адаптация и репарация всех систем и структур растительного организма на всех уровнях: молекулярном, клеточном, органном и организме. Поэтому считают, что характер кинетических кривых, полученных в индукционный период, может отражать не только особенности механизма какого-либо индивидуального процесса, а общий ход трех вышеуказанных моментов ответной реакции клетки или растения. Предполагая, что такое явление может иметь место, в настоящем разделе мы будем рассматривать последействие качества света на поглощение кислорода в длительный период темноты — за многоминутные экспозиции. При этом мы преследуем цель — выяснить длительность и характер последействия света на поглощение кислорода в связи с возможным значением предыдущих условий освещения для общего обмена растений.

Ускорение дыхания после периода освещения впервые наблюдали Бородин (Borodin, 1881), Палладин (Palladin, 1894), позднее Варбург, Негелайн (Warburg, Negelein, 1922). Затем вопрос исследовался еще некоторыми авторами (Spoehr, McGee, 1923; Raaij van der, 1932; Данилов, 1939; Decker, 1955; Tregunna et al., 1961; Tregunna et al., 1964). Почти все замечали усиление дыхания после периода освещения при учете обмена как по  $O_2$ , так и по  $CO_2$ . Степень влияния была различна в зависимости от световой подготовки. Последействие спектрального состава света на дыхание изучалось Даниловым (Данилов, 1935, 1936, 1939), Эмерсоном и Льюисом, а также Боде (Emerson, Lewis, 1943; Bode, 1940). Первый исследователь нашел усиление дыхания в темноте вслед за освещением водорослей светом различного спектрального состава. Эмерсон и Льюис, работа которых подробно разобрана в гл. I, показали, что в темноте поглощение кислорода суспензией хлореллы было активнее после освещения лучами (даже очень слабой интенсивности) с длиной волны 440—530 мк. Максимум стимуляции приходился на 480 мк. Относительная активация поглощения кислорода синим (480 мк) светом может достигать в темноте 60 %. Последействие света на дыхание (поглощение кислорода) постепенно уменьшалось с увеличением времени темновой экспозиции. Но даже к 40 мин. темноты величина первоначального дыхания еще не была достигнута. Исследователи относят эффект действия коротковолновой радиации за счет деятельности каротиноидов. Известно существование оксигеназы каротиноидов. Однако она активна только на свету и сразу выключается в темноте (Warburg et al., 1958). Поэтому последействие слабого синего света на дыхание (поглощение кислорода) скорее всего связано не с каротиноидами, а с возбуждением коротковолновой радиацией фотоактивных систем цитоплазмы.

Боде (Bode, 1940) выращивал мох *Fontinalis* под красными (580—700 мкм) и синими (400—580 мкм) светофильтрами («красный» и «синий» материал). Источник освещения — естественный дневной свет или свет лампы накаливания. Перед опыты растения выдерживали несколько часов в темноте. Затем они освещались красным или синим светом в течение двух часов в отсутствие CO<sub>2</sub>. После этого в темноте определялось последей-

Таблица 36

Последействие света и фотосинтеза на дыхание хлореллы \*  
(в мкл O<sub>2</sub> час на 100 млн. клеток)

Опыт	Дыхание, в темноте до освещения	Условия освещения			Дыхание в темноте после освещения	Активация дыхания светом, % к первоначальному дыханию
		свет в опыте	интенсивность, 10 <sup>8</sup> эрг/см <sup>2</sup> ·сек	продолжительность экспозиции, час.		
1	7,4	Синий	43	3	10,2	133
	7,4	Красный	57	3	8,6	116
2	8,2	Синий	24	1	10,2	124
	7,8	Красный	36	1	6,0	77
3	5,1	Синий	5,6	2	6,2	122
	5,2	Красный	9,0	2	5,8	111
4	6,2	Синий	Постепенное снижение интенсивности с 43 до 5,6	4	8,6	139
	8,4	Красный		4	8,5	101
5	7,8	Синий	43	1	9,4	120
6	9,5	Синий	43	2	1-й час опыта — 15,6 2-й час опыта — 14,3	164

\* Равномерная культура. Общее число клеток в сосудике — 360—380 млн., фотосинтез в буфере Варбурга № 9.

ствие света на поглощение кислорода. Активация дыхания после освещения по сравнению с темнотой была найдена и для синего и для красного материала. При этом активация была всегда выше после освещения синим светом.

Таким образом, в отличие от результатов Эмерсона и Льюиса, активирующее последействие света проявилось для обоих участков. Возможно, это связано с более длительным периодом предварительного затемнения растений, отсутствием фотосинтеза или, наконец, с тем, что в опытах Боде использовались высокие интенсивности света.

Другие опыты проводили с хлореллой, элодеей, конскими бобами и табаком без предварительного затемнения растений. После часового опыта по определению первоначального дыхания в

темноте сразу включался синий или красный свет. На свету в атмосфере с CO<sub>2</sub> (буфер Варбурга № 9) растения фотосинтезировали. В некоторых опытах возможность фотосинтеза устранилась. Для этого буфер заменялся 5%-ной KOH, поглощающей CO<sub>2</sub>. После выключения света манометры качались с открытыми кранами в течение 30—40 мин. в темноте. Затем начинали отсчеты, обычно продолжавшиеся два часа. В табл. 36 приведены результаты опытов с хлореллой. В этом случае на свету водоросль фотосинтезировала. В темноте после синего света всегда наблюдалась значительная активация поглощения O<sub>2</sub>. После красного света активации или не было, или же она была ниже, чем после синего света. Интенсивность красного света при этом была даже выше, чем синего. Активация несколько усиливается с увеличением интенсивности света или же продолжительности освещения в опыте. Различия в степени активации для отдельных опытов, которые проводились в разные дни с разной культурой, вероятно вызваны неодинаковым физиологическим состоянием опытных растений.

В табл. 37 приведены результаты опытов с табаком, когда освещение не сопровождалось фотосинтезом. Как видно из данных табл. 36, 37, в наших опытах, проведенных с различными интенсивностями света, последействие света на поглощение кислорода прежде всего зависело от качества света. Активация дыхания после синего света в темноте у хлореллы (Emerson, Lewis, 1943) наблюдалась уже после очень низких интенсивностей. Поэтому можно думать, что активирующее действие слабого синего света на последующее темновое поглощение кислорода связано с низким световым насыщением оксидаз дыхания.

Гесснер (Gessner, 1938) наблюдал повышение дыхания у зеленых листьев после воздействия ультрафиолетом. Он пришел к выводу, что стимуляция дыхания вызывается не фотосинтезом, а прямым возбуждением дыхательной системы. В то же время стимуляция дыхания светом связывается с накоплением продуктов фотосинтеза и их активным использованием в последующий период темноты (Бриллиант, 1949).

Таким образом, последействие света на дыхание может наблюдаться независимо от того, сопровождалось ли освещение

Таблица 37

Последействие света на дыхание листьев табака (Боскресенская, Гришина, 1961)

Опыт	Дыхание, % от первоначального после 2 час. экспозиции на свету	
	синий	красный
1	121	95
2	135	116
3	146	74

Примечание. Газовая фаза без CO<sub>2</sub>, экспозиция 2 часа. Опыт 1 и 2 на синем свету при интенсивности 24·10<sup>8</sup>, красном — 36,7·10<sup>8</sup> эрг/см<sup>2</sup>·сек. Опыт 3 на синем свету при интенсивности 36,6·10<sup>8</sup>, красном — 57·10<sup>8</sup> эрг/см<sup>2</sup>·сек.

фотосинтезом или нет. Это последействие оказывается даже в том случае, если дыхание до освещения уже было чрезвычайно высоким. Так, в опытах с элодеей, темновое дыхание которой из-за неблагоприятных для фотосинтеза условий было высоким (см. табл. 38, вариант «контроль»), освещение синим светом все

Таблица 38

Последействие света на поглощение кислорода при высоком исходном дыхании растений элодеи (в  $\mu\text{кл}$   $\text{O}_2$  на 300  $\text{mg}$  свежего веса в час)

Опыт	Темнота до освещения	Свет в опыте *	Темнота после освещения	Поглощение $\text{O}_2$ , % к первому периоду темноты
Контроль	42,8	Красный	38,4	89
	42,8	Синий	63,5	148
$\text{NaN}_3$	Не определено	Красный	11,0	—
	»	Синий	9,8	—

\* Экспозиция 4 часа.

же активировало процесс. Красный свет практически не изменял показателей предыдущего периода темноты (экспозиция 4 час.). Освещение в опыте постепенно снижалось каждый час, начиная от 57 до  $5,6 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup>·сек.

При выдерживании веточек элодеи в течение 18 час. в темноте на растворе азива натрия (концентрация 0,01 M) существенная доля дыхания подавлялась и различия в последействии красного и синего света исчезали: остаточное дыхание во второй период темноты после освещения было одинаковым. Это указывает на то, что азид натрия подавляет, по-видимому, металлокомплексы оксидазы дыхания, активируемые синим светом. Такой результат похож на данные, полученные с незелеными растениями.

В итоге можно сказать, что свет оказывает влияние на последующее поглощение кислорода зелеными листьями в темноте. Активация вызывается главным образом коротковолновым светом. Для активации не обязательно наличие фотосинтеза. Величина реакции может быть существенной (порядка 140—160% от первоначального дыхания до освещения) и сохраняется в темноте довольно продолжительное время (по крайней мере до 3 час.). Видимый коротковолновый свет, как и ультрафиолет, вероятно, активирует системы дыхания и тем самым способствует активации поглощения кислорода, т. е. последействие света на дыхание зеленых листьев имеет ту же природу, что и действие качества света на незеленые растения (активация терминальных оксидаз клетки). По-видимому, последействие света связано с активацией синим светом оксидаз цитоплазмы, так как оксидазы хлоропластов (оксигеназа каротиноидов и фотооксидаза) активны только на свету (Warburg et al., 1958; Nieman, Vennesland, 1959). Ко-

нечно, поскольку активность дыхания зависит от субстрата, нельзя исключать возможного влияния субстрата на усиление дыхания после освещения, тем более что активация иногда наблюдается и после красного света.

Таким образом, свет разного спектрального состава, так же как и белый свет, накладывает отпечаток на последующий гетеротрофный обмен растения. Поскольку время последействия качества света длительное, то трудно предположить, что растения, находящиеся во время освещения на свету различного спектрального состава, в темноте будут осуществлять метаболизм сразу одинаково. Поэтому должна приниматься во внимание активация дыхания светом для общего обмена растений в суточном ритме освещения. Особенно существенное значение этот факт может иметь при синхронной культуре хлореллы на свету различного спектрального состава, а также при светокультуре растений. Однако и в естественных условиях на белом свету это явление, вероятно, будет иметь место и оказывать влияние, в частности, на гетеротрофную фиксацию  $\text{CO}_2$  и осуществление фотоперiodической реакции растений (Аксенова, 1962).

#### 4. ОСОБЕННОСТИ ПОГЛОЩЕНИЯ КИСЛОРОДА НА СВЕТУ ЗЕЛЕНЫМИ РАСТЕНИЯМИ

##### Световая зависимость поглощения кислорода в отсутствие фотосинтеза

Действие качества света на поглощение кислорода зелеными листьями в период освещения изучено мало. К началу наших исследований существовали лишь три работы. В работе Феклера (Föckler, 1938) для подавления фотосинтеза у опытного растения *Potamogeton lutens* (высшее водное растение) применялся фенилуретан (в концентрации 0,06%). Было найдено уменьшение поглощения кислорода по сравнению с темнотой на синем свете. Для красного и зеленого света поглощения вовсе не удалось обнаружить. В опытах Боде (Bode, 1940), проведенных в атмосфере без  $\text{CO}_2$  с мхом *Fontinalis*, и синий и красный свет по сравнению с темнотой активировали поглощение кислорода. Активация оказалась выше на синем свете. Различия в данных Феклера и Боде можно объяснить тем, что отравление фотосинтеза фенилуретаном в опытах первого исследователя было неполным. На подобную возможность указывает и сам автор. В 1956 г. появилась еще одна работа по действию света на скорость поглощения кислорода зелеными отрезками стеблей гороха (Hunter et al., 1956). Опыты проводились также в атмосфере без  $\text{CO}_2$ . В этом случае красный свет по сравнению с темнотой тормозил поглощение кислорода, все остальные более коротковолновые лучи, так же

как и белый свет, активировали. Установить какую-либо корреляцию между наличием различных дыхательных субстратов и активностью поглощения кислорода на свету исследователям не удалось. Приведенными работами, пожалуй, и ограничиваются литературные данные по действию качества света на поглощение кислорода зелеными растениями.

Объясняя изменения в продуктах фотосинтеза на красном и синем свету сдвигом окислительно-восстановительных условий в клетке, мы, естественно, должны были исследовать действие качества света на поглощение кислорода зелеными растениями (Воскресенская, Гришина, 1960, 1961; Voskresenskaya, 1961; Воскресенская, 1961).

Основные опыты проводили манометрически в атмосфере, лишенной  $\text{CO}_2$ , при освещении объектов светом лампы накаливания или ртутно-кварцевой высокого давления (ПРК-7). Отличительная особенность условий освещения — употребление более узких, чем обычно, участков спектра. Последнее достигалось применением стеклянных оптических светофильтров. Характеристику условий освещения см. на рис. 9. Наряду с действием спектрального состава света на поглощение кислорода изучали также действие интенсивности света. Таким образом, спектральные световые кривые процесса снимались аналогично фотосинтезу. Опытными объектами были листья растений табака, фасоли, кукурузы, бобов конских, веточки водного растения элодеи и водоросль сценедесмус. Наземные растения выращивали в вазонах при хорошем снабжении питательными веществами, летом — при естественном освещении, остальное время — в вегетационном домике на свету ламп ДРЛ. Поглощение кислорода на свету определяли в отсутствие  $\text{CO}_2$  (при ее поглощении 5%-ной КОН) или при отравлении фотосинтеза ядом.

Поглощение кислорода исследовалось на одной высечке листа при последовательном чередовании темноты и света или при одновременном определении поглощения кислорода в темноте и на свету для различных высечек листьев. В первом случае «темновые» варианты до освещения и после него несколько отличались друг от друга, т. е. сказывалось последействие света на дыхание. Однако увеличение темнового дыхания после освещения было небольшим, поэтому величина поглощения кислорода на свету сравнивалась с его поглощением в первый период темноты, т. е. до освещения. Показатели поглощения кислорода даются для стационарных условий процесса: показания манометров начинали учитывать только спустя 40—50 мин. после включения или выключения света.

На рис. 25 показано действие качества и интенсивности света на поглощение кислорода зелеными листьями по отношению к темновому (темновое принято за 100%). Оказалось, что у зеленых листьев поглощение кислорода на свету, как синем, так и

красном, не равно темновому. При этом примечательно, что малые интенсивности света по сравнению с темнотой в обоих случаях подавляют процесс. В данном опыте, например, поглощение кислорода на слабом свету составляло 50—70% от темнового. Такое подавление поглощения кислорода слабым светом наблюдалось во всех опытах без исключения. Увеличение интенсивности

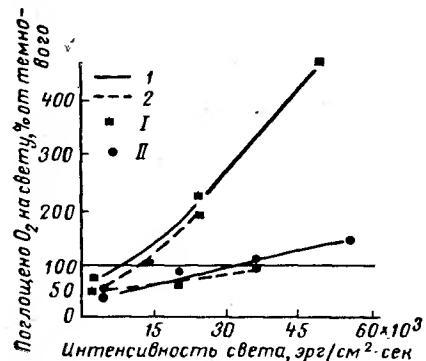


Рис. 25. Поглощение кислорода зелеными листьями на свету в % от темнового (Воскресенская, Гришина, 1960)

I — табак; 2 — фасоль, I — на синем свете,  
II — на красном свете

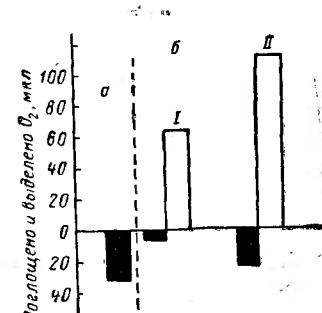


Рис. 26. Фотосинтез и поглощение кислорода на красном свете различной интенсивности и темновое дыхание листьев табака (Воскресенская, 1963)

а — темнота; б — свет. I —  $36,7 \cdot 10^3 \text{ эрг}/\text{см}^2 \cdot \text{сек}$ ; II —  $57,7 \cdot 10^3 \text{ эрг}/\text{см}^2 \cdot \text{сек}$

света активирует процесс, поэтому при высоких интенсивностях может наблюдаться превышение светового поглощения кислорода над темновым, особенно на синем свете. Для табака и фасоли, которые имели небольшое темновое поглощение кислорода (поправка 12—14 мкл/час), активация процесса светом наивысшей интенсивности составляла по сравнению с темнотой для синего — 300—400, для красного — 150—170% (рис. 25). В данном опыте превышение светового поглощения кислорода над темновым на синем свете наблюдалось уже при  $15 \cdot 10^3 \text{ эрг}/\text{см}^2 \cdot \text{сек}$ , на красном около  $37 \cdot 10^3 \text{ эрг}/\text{см}^2 \cdot \text{сек}$ . В других опытах с растениями, у которых темновое дыхание было выше, чем в настоящем опыте, абсолютные величины интенсивности света, при которых наступала активация процесса, менялись. Однако оставалась та же световая зависимость: подавление процесса слабым светом, увеличение его с увеличением интенсивности света, а также более активное поглощение кислорода на синем свете, чем на красном.

Выше приведены результаты следующего опыта, в котором для листьев табака определялись темновое дыхание, фотосинтез и световое дыхание на красном свете (рис. 26). Темновое дыха-

ние листьев в этом опыте было в 2,5 раза выше, чем в предыдущем (табак выращивался в оранжерее в марте и апреле и, по-видимому, вследствие высоких температур имел повышенную интенсивность дыхания). Как видно из рисунка, световое дыхание в данном случае при интенсивности света  $36,7 \cdot 10^8$  эрг/см<sup>2</sup>·сек было значительно ниже темнового. Даже при наивысшей интенсивности красного света ( $57,7 \cdot 10^8$  эрг/см<sup>2</sup>·сек) поглощение кислорода на свету составляло лишь 80% от темнового.

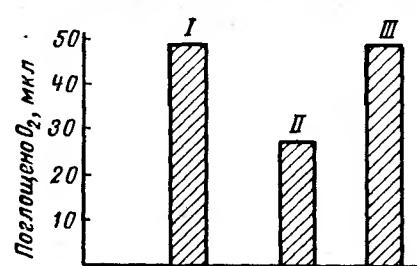


Рис. 27. Поглощение  $O_2$  на красном (II) и синем (III) свету и в темноте (I) листьями табака (Воскресенская, 1963)

Членные в атмосфере без  $CO_2$ , на фотосинтезирующие растения, поскольку неизвестно, определяется в таких условиях истинная величина поглощения кислорода при фотосинтезе или лишь потенциальная возможность процесса. Однако недавно для водорослей при насыщающих фотосинтез и световое дыхание интенсивностях красного света найдено, что последнее по величине составляет около 30% от фотосинтеза (Hoch, Owens, Kok, 1963). При этом опыт проводили с  $O^{16}$  и  $O^{18}$ , массспектрометрически, и такая величина получена при нормальном фотосинтезе. Возможно поэтому, что величина поглощения  $O_2$ , найденная нами для красного света, близка к истинной.

Возвращаясь к рис. 26, подчеркиваем, что в данном случае, когда темновое дыхание листьев было высоким, даже сильный красный свет не активировал процесс по сравнению с темнотой.

В следующем опыте темновое дыхание листьев табака было еще выше, чем в предыдущем (рис. 27). Соответственно поглощение кислорода на красном свете уже составляло не 80, а только 58% от темнового. В то же время синий свет, даже менее интенсивный, чем красный, дал вновь более высокие показатели поглощения кислорода (98% от темноты).

Итак, на свету поглощение кислорода усиливается с увеличением интенсивности света. Эффективность коротковолновой радиации для процесса выше, чем длинноволновой даже при одинаковом количестве падающей энергии, не говоря уже о квантовом равенстве освещения (см. рис. 26 и 27). В то же время ранее было показано (см. гл. I и II), что для фотосинтеза

светолюбивых растений, выращенных на белом свetu, коротковолновые лучи всегда менее эффективны даже при расчете на падающие или поглощенные кванты.

Таким образом, выделение кислорода (фотосинтез) и поглощение имеют различную эффективность по спектру. Первый процесс для растений, выращенных на смешанном белом свetu, эффективнее происходит в длинноволновой области спектра, второй — в коротковолновой.

Различие в действии качества и интенсивности света на поглощение кислорода незелеными и зелеными листьями заставляет предполагать, что природа поглощения кислорода на свetu у зеленых и незеленых листьев неодинакова (Воскресенская, Зак, 1957; Voskresenskaya, 1961). Для незеленых растений поглощение кислорода и в темноте и на свetu связано с дыхательным метаболизмом, а активация синим светом — с усилением деятельности терминальных оксидаз дыхания. Для зеленых такого заключения сделать нельзя; действие света даже самых малых интенсивностей в этом случае не активирует, а, наоборот, подавляет аэробную фазу дыхания, поскольку сравнительно слабый свет, даже синий, подавляет поглощение кислорода по сравнению с темнотой. Это подавление особенно заметно у растений, обладающих высоким темновым дыханием.

Уже давно Kok (1948) наблюдал подавление слабым белым светом дыхания для очень тонких суспензий хлореллы. Броун и Вейсс (Brown, Weiss, 1959) для *Ankistrodesmus braunii* (зеленая водоросль) констатировали подавление выделения  $CO_2$  (т. е. подавление дыхания) слабым красным светом. Kok, как и мы, работал с атмосферой, лишенной  $CO_2$ . Что касается опытов Броуна и Вейсса, то они проводились в таких условиях, когда употребление кислорода  $O^{16}$  и  $O^{18}$  позволяло учитывать одновременно как поглощение, так и выделение кислорода. В последнее время Hoch и др. (Hoch et al., 1963), применив  $O^{16}$  и  $O^{18}$ , для зеленой и синевеленной водорослей установили подавление дыхания слабым красным светом. Подавление поглощения кислорода слабым светом показано также для фотосинтезирующих бактерий (Fork, 1963). Поэтому очевидно, что наблюдавшееся нами и другими исследователями подавление поглощения кислорода слабым светом не является результатом методической ошибки. Что касается увеличения активности поглощения кислорода с усилением света, то она констатирована для красного света, помимо нас, Броуном и Вейсом (Brown, Weiss, 1959) и позднее Хохом и др. (Hoch et al., 1963) масс-спектрометрическим методом.

Из сказанного следует, что изученная нами световая зависимость поглощения кислорода имеет место. Возможно только, что в присутствии фотосинтеза абсолютные величины этого поглощения будут ниже.

## Другие особенности поглощения кислорода на свету

**Нетождественность процесса с фотоокислением.** Известно, что нефизиологические (значительно более высокие, чем требуется для насыщения фотосинтеза) интенсивности света вызывают явление фотоокисления (Frank, French, 1941; Myers, Burr, 1940; Рабинович, 1951, и др.). При длительном освещении фотоокисление приводит к резкому снижению и даже полному подавлению фотосинтеза. Такое явление наблюдал, например, Феклер для папоротника. При высоких освещенностях фотосинтез этого растения быстро падал и заменялся минусовыми показателями выделения кислорода. Феклер (Föckler, 1938) полагает, что это явление вызвано прямым действием света на протоплазму: увеличением проницаемости, аэрации и, как следствие, окислением хлорофилла. Подобные результаты были получены также для хлореллы (Myers, Burr, 1940). При очень высоких освещенностях (порядка 100 000 лк) показатели фотосинтеза хлореллы постепенно заменялись минусовыми. Эффект фотоокисления при кратковременном воздействии сильным светом затем в определенных условиях может быть частично или полностью обратим. Фотоокисление усиливается с уменьшением концентрации  $\text{CO}_2$  (Frank, French, 1941). Франк и Френч подробно исследовали это явление в атмосфере без  $\text{CO}_2$  на листьях хризантемы и других растений. Оказалось, что процесс связан с окислением С-соединений, преимущественно углеводов, и при длительном воздействии приводит к деструкции хлорофилла. Фотоокисление может наблюдаться как в живых, так и в свежеубитых (кипячением) растениях. Поэтому полагают, что фотоокисление — неэнзиматический процесс, сенсибилизируемый хлорофиллом. Реакция возбуждается как красными, так и синими лучами. Показано, что как красный, так и синий свет высокой интенсивности практически в одинаковой мере тормозят фотосинтез хлореллы. Из этого делается заключение, что весь фотоактивный комплекс (хлорофилл и каротиноиды) участвует как в фотосинтезе, так и в фотоингибировании — фотоокислении (Frank, French, 1941). Рабинович (1951, стр. 534) в качестве рабочей гипотезы полагает, что: «первичный фотохимический процесс фотоокисления *in vivo* идентичен первичному фотохимическому процессу фотосинтеза. Он сочетается со вторичными реакциями, катализируемыми нечувствительными к нагреванию катализаторами, например комплексными соединениями железа. В фотосинтезе тот же первичный процесс связан со вторичными реакциями, катализирующимися истинными теплочувствительными энзимами». В отсутствие  $\text{CO}_2$  фотоокисление зависит от парциального давления кислорода, увеличиваясь с увеличением концентрации последнего в широких пределах. Полагают (Myers, Burr, 1940; Frank, French, 1941),

что фотоокисление тормозит процесс фотосинтеза вследствие образования наркотических веществ (подобно фенилуретану и другим наркотикам), которые, обволакивая поверхность хлорофилла или фотоактивного комплекса хлоропласта, снижают возможность фотохимического акта фотосинтеза. Рядом исследователей изучались изменения в метаболизме, связанные с процессом фотоокисления (Sironval, Kandler, 1958; Kandler, Sironval, 1959). Установлено, что при освещении клеток хлореллы светом высоких интенсивностей разрушение хлорофилла наступает через 2—3 часа освещения. «Индукционная фаза» обратима в темноте. Продолжительность ее зависит от концентрации кислорода, интенсивности света и специфической фотостабильности хлореллы. Разрушение хлорофилла (выцветание) начинается после индукционного периода как следствие нарушения координации общего метаболизма клетки. Во время индукционной фазы сильно подавляется фотосинтез, увеличивается эндогенное дыхание, уменьшается окислительное фосфорилирование. Полагают, что эффект высоких интенсивностей света подобен эффекту ультрафиолетовой радиации и рентгеновских лучей и что первичная реакция организма на свет высоких интенсивностей, возможно, состоит в образовании радикалов и соответствующих перекисей. Выцветание хлорофилла — второй эффект, следствие нарушения стабильной структуры хлоропласта в результате ингибирования метаболизма. По существу, авторы присоединяются к мнению Франка и Френча, Майерса и Берра о том, что причина падения фотосинтеза и деструкции хлорофилла — разрушение фотосинтетического аппарата. Кроме того, подробный анализ изменений метаболизма еще раз подтверждает, что реакции фотоокисления приводят к глубоким, при определенных условиях необратимым нарушениям структуры и функции хлоропласта. Примечательно в связи с этим, что фотоокисление, вызывающее световое торможение фотосинтеза, скорее всего проявляется у тенелюбов и адаптированных к слабому свету растений. Возможно, что это световое торможение фотосинтеза, связанное с явлением фотоокисления, зачастую является моментом, определяющим уровень плато фотосинтеза у разных экотипов растений. Так, определение скорости фотоокисления хлорофилла в хлоропластах на сильном красном свету оказалось хорошим показателем определения степени светолюбия растений (Осипова, Ашур, 1963).

Является ли поглощение кислорода при нормальном для данного объекта освещении процессом, родственным фотоокислению, — вопрос, существенный для выяснения возможного механизма поглощения кислорода на свету и его значения для фотосинтеза. Для определения природы активации поглощения кислорода физиологическими интенсивностями света мы провели опыты, подобные опытам Франка и Френча по определе-

нию природы фотоокисления. Сравнивалось поглощение кислорода на свету для убитых одноминутным кипячением в воде и для живых листьев. Методика была целиком заимствована из работы Франка и Френча (Frank, French, 1941), которые не нашли при такой обработке различий в величине фотоокисления (по поглощению кислорода) для убитых и живых листьев. Оказалось, что (табл. 39) у убитых листьев при низких интенсивностях света поглощение кислорода не обнаруживается. При самых высоких (но не насыщающих фотосинтез) — оно не превышает 20% от контроля. На синем свету поглощение  $O_2$  убитыми листьями наблюдалось при меньших интенсивностях, чем на красном (табл. 39). Тем не менее даже на синем свету для

Таблица 39

**Поглощение кислорода (в мкл  $O_2$  на 5 см<sup>2</sup>/час)** убитыми и живыми листьями табака в зависимости от спектрального состава и интенсивности света  
(Воскресенская, Гришина, 1960)

Интенсивность света, эрг/см <sup>2</sup> ·сек·10 <sup>3</sup>	Контроль, (живой лист)	Опыт (убитый лист)	% от контроля	Интенсивность света, эрг/см <sup>2</sup> ·сек·10 <sup>3</sup>	Контроль, (живой лист)	Опыт (убитый лист)	% от контроля
Синий свет							
Красный свет							
2,8	15,8	Поглощения нет	0	4,0	5,2	Поглощения нет	0
13,6	33,4	5,0	14,9	20,0	9,2	То же	0
24,0	32,7	6,9	21,0	36,0	8,4	»	0
24,0	27,8	2,7	10,0	—	—	—	—
47,0	51,7	11,4	22,0	57,7	19,6	3,7	48,8

убитых листьев реакция никогда не превышала  $1/5$  от поглощения кислорода живыми листьями. Поэтому можно думать, что поглощение кислорода при физиологических условиях опытов в основном имеет иную, ферментативную природу, чем явление фотоокисления.

**Действие азота натрия.** Возникает вопрос, какое отношение имеет процесс поглощения кислорода на свету к обычному, темновому типу дыхания, и не связано ли его усиление на интенсивном свете просто с активацией аэробной фазы темнового дыхания светом. Если последнее имеет место, тогда яды, подавляющие деятельность терминалных оксидаз, например азот натрия, должны были подавлять поглощение  $O_2$  на свету. Яд вводился в лист методом вакуум-инфилтрации в концентрациях, подавляющих деятельность терминалных оксидаз (Stenlid, 1949; James, 1953). На рис. 28 показано действие азота натрия на поглощение кислорода в темноте и на синем свете. Из рисунка

видно, что в темноте азот натрия в концентрации  $7 \cdot 10^{-3} M$  существенно (до 40—50%) ингибировал поглощение кислорода. Следовательно, значительная доля темнового дыхания у листьев табака осуществляется за счет металлоодержащих оксидаз.

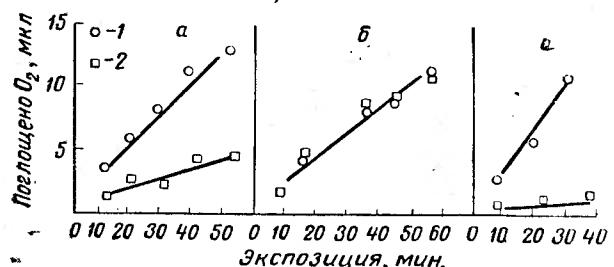


Рис. 28. Действие азота натрия на поглощение кислорода в темноте (а) и на свету (б) листьями табака  
1 — контроль; 2 — азот натрия (Воскресенская, Гришина, 1960)

Напомним, что широкое распространение цитохромоксидазы у взрослых зеленых растений, пожалуй, сейчас ни у кого не вызывает сомнения (Hartree, 1957; Smith, Chance, 1958). При включении синего света различия для контроля и опыта у тех же листьев не обнаруживались: на свету яд не действовал на поглощение кислорода. Оно оставалось одинаковым все время освещения как в контроле, так и в опыте. При выключении света первоначальная картина подавления поглощения кислорода в опыте восстановливалась. В темноте снова и даже в большей мере, чем раньше (из-за большого срока воздействия), обнаруживалось подавление дыхания. Устойчивое к воздействию азота натрия поглощение кислорода на свету найдено для хлоропластов шпината. Полагают, что это поглощение связано с фотооксидазой, типичной только для зеленых тканей (Nieman, Vennesland, 1957, 1959; Nieman, Nakamura, Vennesland, 1959; Bishop, Nakamura, Blatt, Vennesland, 1959).

При высоких интенсивностях как коротковолновой, так и длинноволновой радиации азот натрия мало влиял на поглощение кислорода (наблюдалось лишь незначительное — порядка 10% в данном опыте — снижение реакции на синем свете). Для слабого света, вследствие малых абсолютных показателей поглощения кислорода, труднее сделать определенное заключение. Тем не менее подавление поглощения кислорода  $NaN_3$  на слабом свете было меньше, чем в темноте (табл. 40).

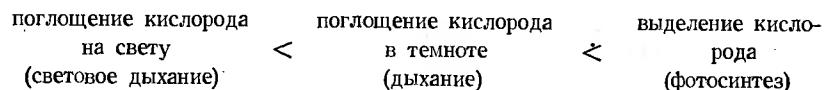
На основании данных рис. 28 и табл. 40 можно предположить, что для зеленого листа природа ферментов, участвующих в поглощении кислорода на свету и в темноте, а также сам механизм этой реакции различны.

Таблица 40

Действие азиды натрия на поглощение кислорода (в мкл  $O_2$  на 5 см<sup>2</sup>/час) листьями табака в зависимости от спектрального состава и интенсивности света (Воскресенская, Гришина, 1960)

Условия освещения	Сильный свет			Слабый свет		
	$24 \cdot 10^3$ эрг/см <sup>2</sup> ·сек			$2,3 \cdot 10^3$ эрг/см <sup>2</sup> ·сек		
	контроль	$NaN_3$ $7 \cdot 10^{-3}$ M	% подавления реакции	контроль	$NaN_3$ $7 \cdot 10^{-3}$ M	% подавления реакции
Темнота . . . . .	17,3	7,4	58	18,3	9,7	47
Синий свет . . . . .	22,3	20,2	10	3,2	3,7	—
Темнота . . . . .	25,4	10,1	60	—	—	—
Темнота . . . . .	21,4	11,7	47	10,6	6,9	35
Красный свет . . . . .	14,5	14,6	Нет	3,4	2,6	23
Темнота . . . . .	20,0	13,8	31	—	—	—

Известно, что азид натрия тормозит не только дыхание, но и фотосинтез (выделение кислорода). Чувствительность этих реакций к яду различна: выделение кислорода чувствительнее, чем дыхание (Рабинович, 1953; Huzisige, 1954; Lewin, Mintz, 1955). Оказалось, что концентрации  $NaN_3$ , полностью подавляющие фотосинтез листьев табака и существенно ингибирующие дыхание в темноте, практически не действуют на световое поглощение кислорода при достаточно интенсивном освещении (Воскресенская, Гришина, 1960). По чувствительности к отравлению азидом натрия фотосинтез, дыхание в темноте и поглощение  $O_2$  на свету располагаются следующим образом:



Малая чувствительность светового поглощения кислорода к  $NaN_3$  доказывается еще следующим опытом. Азид натрия инфильтрировали в отрезанные листья конских бобов в двух концентрациях, которые, как было предварительно проверено, в разной степени подавляли темновое дыхание ( $5 \cdot 10^{-3}$  и  $1,5 \cdot 10^{-2}$  M). Контролем была инфильтрация воды. После освобождения межклетников от воды определялось (табл. 41) поглощение кислорода у контрольных и опытных образцов в атмосфере, лишенной  $CO_2$  в темноте, затем на свету (синий свет —  $43 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup>·сек).

Как видно из данных таблицы, в темноте степень подавления дыхания определялась концентрацией инфильтрированного в лист яда. Подавление составляло 32 и 67%. На свету карти-

Таблица 41

Действие азиды натрия на поглощение кислорода на свету и в темноте бобами конским \* (Воскресенская, Гришина, 1960)

Опыт	Условия опыта	Поглощение кислорода, мкл $O_2$ в час на 5 см <sup>2</sup> листа	Подавление реакции, %	Поглощение кислорода, мкл $O_2$ в час на 5 см <sup>2</sup> листа	Подавление реакции, %
Темнота					Синий свет
1	Контроль	—52,0	0	—40,0	0
	$NaN_3 5 \cdot 10^{-3}$	—35,7	32	—31,8	20
2	Контроль	—29,0	0	—39,8	0
	$NaN_3 1,5 \cdot 10^{-2}$	—9,7	67	—32,4	19

\* Опыты проводились в разные дни.

на оказалась иной. Во-первых, независимо от величины темнового дыхания (которое в опытах 1 и 2 было различно), поглощение кислорода на свету в контроле оказалось одинаковым.

Подавление реакции азидом натрия на свету было меньше, чем в темноте. Увеличение концентрации яда, в отличие от темноты, не усиливало ингибиции.

Приведенные результаты вновь подтверждают вывод, что поглощение кислорода на свету особенно высоких интенсивностей имеет, в основном, иную природу, чем в темноте. Небольшое подавление поглощения кислорода азидом натрия на свету в этих опытах, так же как в опытах с табаком (см. табл. 40), связано скорее всего с реакциями и энзимами дыхательного цикла вне зеленых частей растения. Эти реакции на свету, так же как в темноте, подавлялись действием  $NaN_3$ . Однако доля темнового дыхания на свету, как следует из величины подавления реакции (в %), небольшая.

Поглощение кислорода на свету и в темноте у водных растений — элодеи и зеленой одноклеточной водоросли *Scenedesmus* дало сходные результаты.

При действии азиды натрия на элодею обнаружено подавление темнового дыхания на 50—60%, полное подавление фотосинтеза. Оставалось световое поглощение кислорода, активируемое коротковолновым светом. У *Scenedesmus* как фотосинтез, так и дыхание оказались гораздо более устойчивыми к азиду натрия (Кутюрин, Воскресенская и др., 1964).

Следует особо отметить два факта: фотосинтетическая функция *Scenedesmus*, полностью подавленная ядом, через 1,5—2,5 часа освещения частично восстанавливается, темновое дыхание практически не подавлялось азидом, что, очевидно, указывает на отсутствие у этого организма металлокомплексов терминалльных оксидаз (Колесников, Эйнер, 1961; Эйнер, 1962).

Мы уже говорили, что прямо сопоставить величины обоих процессов (световое поглощение кислорода и фотосинтез) при раздельном определении нельзя. Однако следует обратить внимание на различную эффективность лучей двух участков спектра для этих процессов.

Рис. 29 дает представление о величине кажущегося фотосинтеза и о потенциальных способностях к световому поглощению

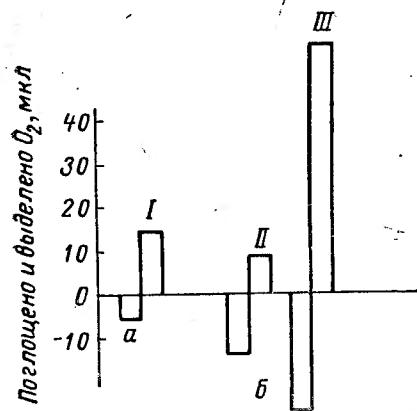


Рис. 29. Фотосинтез и поглощение кислорода на красном (а) и синем (б) свету элодеи (Воскресенская, 1963)

Интенсивность света (эр/см<sup>2</sup>·сек): I— $4 \cdot 10^3$ ; II— $2.4 \cdot 10^3$ ; III— $43 \cdot 10^3$

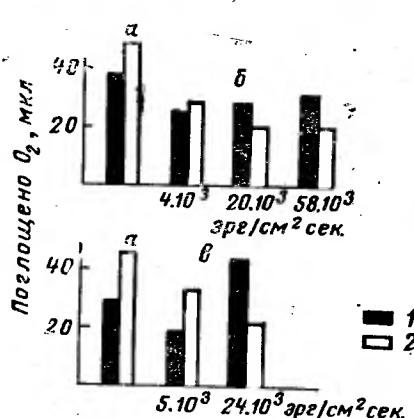


Рис. 30. Влияние сахара на поглощение кислорода на свету и в темноте листьями табака (Воскресенская, Гришина, 1961)

а — темнота; б — красный свет; в — синий свет; 1 — контроль; 2 — сахароза

кислорода у элодеи на красном и синем свету разных интенсивностей. Из рисунка видно, что даже при неблагоприятных для фотосинтеза условиях (физиологическое состояние элодеи, при котором был слабо выражен фотосинтез) и, вероятно, завышенных (вследствие определения реакции в отсутствие фотосинтеза) данных по поглощению кислорода, это поглощение кислорода меньше, чем фотосинтез, так же как и в опыте с табаком (см. рис. 26). Исключение составляют только очень низкие (ниже компенсационного пункта) интенсивности синего света, где доля темнового дыхания в общем поглощении  $O_2$  составляет значительную величину (см. гл. I). Поэтому, если и существует своего рода конкуренция между фотосинтезом и поглощением кислорода, даже в самых неблагоприятных для фотосинтеза условиях (но при нормальных освещенностях и в присутствии  $CO_2$ ) отвлечение световой энергии на восстановление кислоро-

да будет существенно меньше, чем потребуется для фотосинтеза.

Итак, на свету существует процесс поглощения листьями кислорода, нетождественный темновому по чувствительности к азиду натрия, связанный, вероятно, со специфическими фотохимическими реакциями хлоропласта.

Однако автотрофным органом зеленого растения является только хлоропласт, а во всех остальных частях клетки даже на свету должен осуществляться гетеротрофный тип обмена. Поэтому наряду с описанным выше механизмом поглощения кислорода в листе, очевидно, сохраняется обычный механизм, локализованный в плазме, в митохондриях и связанный с дыхательными системами и превращениями органического вещества. Соотношение между этими механизмами, по-видимому, определяется возможностями фотохимического аппарата растения и величиной темнового дыхания.

**Действие сахара.** Известно, что в темноте дыхание резко усиливается введением сахара (Джеймс, 1956). Если на свету поглощение кислорода связано с усилением аэробной фазы дыхания, то сахароза должна была усиливать реакцию. Наоборот, при отсутствии прямой связи, реакция не должна была изменяться.

Листья опытного растения — табака обогащались сахарозой при выдерживании высечек на 0,05 M растворе в течение 18—20 час. на слабом свете (для более интенсивного введения в лист сахарозы, Чесноков и др., 1959) или с помощью инфильтрации. Контроль — выдерживание листьев на воде или ее инфильтрация. При обоих способах введения сахарозы результаты были одинаковыми.

На рис. 30, представлены типичные данные по поглощению кислорода на свету и в темноте у контрольных и обогащенных сахарозой листьев. Из этого рисунка видно, что в результате обогащения листа сахарозой темновое дыхание в опытном варианте усиливалось по сравнению с контролем на 30—40%. Следовательно, проявилась общезвестная реакция — стимуляция дыхания экзогенным субстратом. Листья, имевшие такое различное дыхание, далее освещались. Результаты, полученные при освещении, показали, что реакция контрольных листьев на интенсивность света и его спектральный состав имела обычный, установленный ранее характер: поглощение кислорода на свету отличалось от темнового — на слабом оно было ниже темнового, с увеличением интенсивности — возрастало. Четко заметна стимуляция поглощения кислорода коротковолновым светом ( $24 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup>·сек). В присутствии сахарозы свет выше  $20 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup>·сек не только не стимулировал процесс, но даже

Таблица 42

Влияние обогащения листа сахарозой на поглощение кислорода листьями табака \* на свету и в темноте (Воскресенская, 1961)

Опыт	Условия освещения		Инфильтрированы	Поглощение кислорода, мкг/час на 5 см <sup>2</sup> поверхности листа		
	качество света	интенсивность, эрг/см <sup>2</sup> ·сек 10 <sup>3</sup>		в темноте	на свету	в темноте после освещения
1	Синий	24	Вода	30,2	24,5	35,3
			Сахароза	46,2	23,1	48,9
2	Синий	24	Вода	21,8	22,5	28,5
			Сахароза	34,8	22,4	37,4
3	Красный	58	Вода	35,2	25,7	48,1
			Сахароза	45,6	14,5	52,0
4	Красный	58	Вода	110,5	71,8	81,8
			Сахароза	148,7	80,7	105,6
5	Синий	5,6	Вода	26,9	11,5	22,4
			Сахароза	37,4	21,9	31,4

\* Опыты проводились в разные дни.

лодые растения табака) некоторое повышение дыхания в присутствии сахарозы наблюдалось даже на сильном красном свете.

Действие экзогенного субстрата дыхания (глюкозы) на поглощение кислорода на красном свете и в темноте изучалось

Таблица 43

Действие света на скорость поглощения кислорода у фитофлагелляты (в мкл О<sub>2</sub> на мг сухого веса) (Weiss, Brown, 1959)

Условия опыта	Темно-та	Свет	Темно-та
Контроль . . . . .	15	28	17
Опыт (глюкоза) . . . . .	35	33	34

для фитофлагелляты (*Ochromonas malchamensis*), обладающей подавленной функцией фотосинтеза и высоким дыхательным метаболизмом (Weiss, Brown, 1959). После голодаания растения в течение 24 час. в темноте в суспензию вводилась глюкоза. Контролем была голодающая культура. Опыт проводился на красном свете (табл. 43).

Как видно, приведенные результаты весьма сходны с полученными нами. В темноте экзогенная глюкоза резко усилила ды-

ингибировал его по сравнению с контрольным вариантом. Возможные причины этого ингибиования будут обсуждены далее. Сейчас только важно отметить, что присутствие сахарозы при сравнительно высокой интенсивности света не стимулировало поглощение кислорода. Эти опыты указывают, что поглощение кислорода на сильном свете не связано с активацией темнового типа дыхания.

На слабом свете ( $4,5 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup> · сек, ниже компенсационного пункта фотосинтеза) при общей малой активности поглощения кислорода по сравнению с темнотой найдена некоторая (на красном небольшая, на синем существенная) стимуляция реакций в присутствии сахарозы. Очевидно, в случае низких интенсивностей света, когда фотохимические реакции, а следовательно, и образование фотохимического восстановителя ограничены недостатком световой энергии, некоторая доля поглощения кислорода может быть связана с процессом обычного темнового дыхания, которое активируется введением сахарозы. Тем не менее поглощение кислорода даже в присутствии сахарозы не достигает величины темнового дыхания, что указывает на торможение аэробной фазы дыхания даже слабым светом.

Большая величина поглощения кислорода в присутствии сахарозы на слабом синем свете по сравнению с красным связана с возбуждением этими лучами терминальных оксидаз дыхания (Воскресенская, Зак, 1957; Воскресенская, Гришина, 1961). Некоторая активация дыхания сахарозой в красных лучах соответствует мнению о том (Сисакян, Красновский и др., 1959), что энергия возбуждения хлорофилла светом может быть передана на цитохромоксидазу.

Описанное выше ингибирование сахарозой поглощения кислорода при сравнительно высоком освещении было констатировано во всех многократно повторенных опытах. В некоторых случаях подавление было только менее выражено, чем изображено на рисунке.

Отсутствие активации дыхания сахарозой на сильном свете не связано с использованием сахарозы в предшествующий период темнового дыхания. При последовательном измерении поглощения кислорода в темноте и на свету в присутствии сахарозы для одного и того же листа оказалось, что обычное действие сахарозы — увеличение темнового дыхания — проявилось и после освещения листьев во второй период темноты (табл. 42).

Значит, экзогенный субстрат дыхания на свету оставался неиспользованным. Активация поглощения кислорода светом в этих опытах отсутствовала. В опыте 5, где интенсивность синего света была мала, наблюдалась (см. также рис. 30) активация по сравнению с контролем поглощения кислорода при введении в лист сахарозы. В опыте 4 при очень высоком темновом дыхании (мо-

хание по сравнению с контролем. В то же время введение глюкозы очень мало изменило скорость поглощения кислорода на свету. Без введения глюкозы поглощение кислорода на свету резко возрастало.

Эти опыты опять-таки указывают, что не дыхательный субстрат ответствен за поглощение кислорода на свету даже у растений с высоким дыханием. Данные с сахарозой, аналогичные нашим, получены также недавно Хох и др. (Hoch et al., 1963) для водорослей. Активированное высоким светом поглощение кислорода подавлялось прибавлением экзогенного сахара. В темноте сахароза усиливалась дыхание.

В многочисленных опытах с инфильтрацией радиоактивной глюкозы и сахарозы в диски листьев табака при разных условиях освещения (красный и синий свет) мы не могли обнаружить сколько-нибудь существенного образования радиоактивной  $\text{CO}_2$  в результате окисления сахаров. В то же время поглощение кислорода в зависимости от качества и интенсивности света давало целую гамму величин активации или подавления реакции светом. С другой стороны, показано, что кислород не является необходимым для превращения сахаров на свету (MacLachlan, Porter, 1959; Bishop, 1961). Все это, очевидно, свидетельствует против обязательной взаимосвязи между поглощением кислорода и метаболизмом сахарозы до  $\text{CO}_2$  на свету, выше компенсационного пункта фотосинтеза.

Хотя фотохимическое (индивидуированное светом) поглощение  $\text{O}_2$  происходит у зеленых растений в любом участке спектра (по крайней мере в пределах от 400 до 720 мк), его величина определяется спектральным составом света. Мы считаем, что этот фактор для реакции чрезвычайно существен. Поэтому роль качества света для реакции мы постараемся разобрать особо, однако после того как будет обсуждена вообще возможность существования световой зависимости поглощения  $\text{O}_2$  в условиях нормального фотосинтеза. Последнее нам кажется необходимым, поскольку справедливо было бы возразить, что благодаря особенностям экспериментального приема (определения процесса в отсутствие фотосинтеза) наши выводы нельзя считать универсальными.

#### Световая зависимость поглощения кислорода при фотосинтезе

Первые работы с применением изотопов кислорода для изучения фотосинтеза сделаны Броуном с сотр. (Brown, 1953; Brown, Webster, 1953; Good, Brown, 1955 и др.). Подробное описание работ дано в монографии Рабиновича (Рабинович, 1959). Не останавливаясь поэтому на деталях, укажем лишь, что на ряде объектов, в том числе на высших растениях (ячмень), Броун и другие определяли действие света на поглощение кислорода

при одной, произвольно выбранной в каждом опыте слабой интенсивности света. При этом для разных растений получены неодинаковые результаты: подавление поглощения кислорода светом, отсутствие влияния и стимуляция поглощения кислорода. Недостатком этих работ мы считаем несистематическое исследование действия света: отсутствие световых кривых процесса, малые освещенности в опыте, малые концентрации  $\text{O}_2$  (не выше 9%) и высокие —  $\text{CO}_2$ , а также возможное существование «диффузионного барьера» между газовой фазой и жидкостью при массспектрометрических исследованиях. Позднее Броун с сотрудниками исследовал световые кривые поглощения кислорода на красном свете некоторыми водорослями (Brown, Weiss, 1959; Weiss, Brown, 1959). Работы сделаны с двумя водорослями *Ankistrodesmus braunii* (водоросль, подобная физиологически и морфологически *Scenedesmus*) и *Ochromonas malchamensis* (фитофлагеллят), отличающиеся низким световым плато фотосинтеза и высоким дыханием (т. е. организм обладал подавленной фотосинтетической функцией). Работа проводилась с четырьмя изотопами: углеродом  $\text{C}^{12}$  и  $\text{C}^{14}$  (в виде  $\text{CO}_2$ ) и кислородом  $\text{O}^{16}$  и  $\text{O}^{18}$ . На темновой обмен  $\text{CO}_2$  и диффузионный барьер между газовой фазой и жидкостью вводились соответствующие поправки. Одновременно и непрерывно с помощью радиометрии и массспектрометрии замечались изменения в соотношении изотопов в газовой фазе сосудика при освещении суспензии красным светом различной интенсивности и в темноте (свет не превышал интенсивности, насыщающей фотосинтез водорослей). Авторы установили, что поглощение кислорода при фотосинтезе подчиняется световой зависимости так же, как выделение  $\text{O}_2$  и поглощение  $\text{CO}_2$  (фотосинтез) (рис. 31). Выделение же  $\text{CO}_2$  с появлением света уменьшалось и затем оставалось неизменным при любой интенсивности, т. е. соотношения между поглощением  $\text{O}_2$  и выделением  $\text{CO}_2$  на свету не обнаружено. Авторы полагают, что это поглощение  $\text{O}_2$  на свету вызвано взаимодействием атмосферного кислорода с фотохимическим, а не субстратным восстановителем и окислением последнего атмосферным кислородом (вероятно, через ряд коэнзимов).

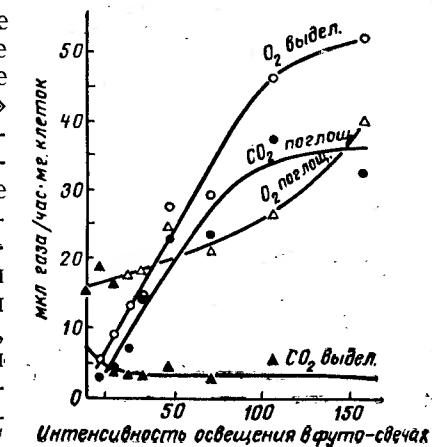


Рис. 31. Влияние интенсивности света на газообмен у голодающих клеток *Ochromonas malchamensis* (Weiss, Brown, 1959)

Таблица 44

Фотосинтетический коэффициент у хлореллы на свету разного качества и интенсивности \*

Интенсивность освещения, эрг/см <sup>2</sup> .сек	O <sub>2</sub> , мкл	CO <sub>2</sub> , мкл	CO <sub>2</sub> /O <sub>2</sub>	Интенсивность освещения, эрг/см <sup>2</sup> .сек	O <sub>2</sub> , мкл	CO <sub>2</sub> , мкл	CO <sub>2</sub> /O <sub>2</sub>
Синий свет				Красный свет			
48·10 <sup>3</sup>	50,0	49,0	0,98	58·10 <sup>3</sup>	73,0	78,5	1,07
	65,8	68,5	1,05		46,5	47,5	1,02
	69,5	74,0	1,06		53,0	57,5	1,08
24·10 <sup>3</sup>	46,5	46,5	1,00	37·10 <sup>3</sup>	38,4	41,5	1,08
	30,0	31,2	1,04		17,6	16,7	0,95
	32,0	33,0	1,03		26,6	29,2	1,10
14·10 <sup>3</sup>	23,0	23,1	1,00	20·10 <sup>3</sup>	19,5	22,5	1,15
	34,8	39,0	1,12		17,0	18,0	1,06
	35,6	40,5	1,13	9·10 <sup>3</sup>	11,0	11,8	1,07
5,6·10 <sup>3</sup>	13,0	14,2	1,09		8,8	9,8	1,10
	14,3	16,0	1,11	4·10 <sup>3</sup>	7,2	8,2	1,12
					5,9	7,0	1,18

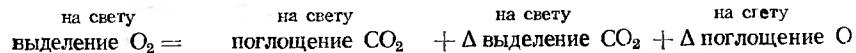
\* Определен методом двух сосудиков Барбурга, содержание CO<sub>2</sub> — 10%, 300 млн. клеток сосудике. Расчет — на 100 млн. Время опыта — 30 мин.

Публикации начали появляться после издания наших основных работ об особенностях поглощения (и восстановления) кислорода на свету (Hoch et al., 1963). Хох и другие исследовали газообмен O<sub>2</sub> у *Scenedesmus* (зеленая водоросль) и *Anacystis nidulans* (синезеленая), выращенных при 10 000 лк и температуре 25—30°.

Усовершенствование методики позволило избежать диффузионных эффектов, а также высокого обогащения O<sub>2</sub><sup>18</sup>. Обмен кислорода вначале определялся в темноте, а затем на красном свете различной интенсивности. Исследователи пришли к выводу, что свет оказывает двойной эффект на поглощение кислорода: ингибирует (по сравнению с темнотой) при низких интенсивностях света и активирует при средних и высоких (рис. 32). Авторы указывают, что «величина как ингибирования, так и увеличения поглощения кислорода отличалась для разных проб культуры, но качественные особенности оставались всегда одними и теми же». Поглощение кислорода в среднем составляло около 30% от фотосинтеза вплоть до насыщающих интенсивностей света. Основной вывод авторов, так же как и результаты, совпадает с нашими данными и выводами. В то же время эти результаты получены для фотосинтезирующих водорослей в атмосфере с CO<sub>2</sub>. Следовательно, можно не сомневаться в том, что определение поглощения O<sub>2</sub> на свету в отсутствие фотосинтеза неискажает

зимов и ферментов, участвующих в передаче электрона и протона к O<sub>2</sub>).

По предположению авторов, превращения фотоокислителя (OH) и фотовосстановителя (H) независимы. Поэтому количество образованного при восстановлении фотоокислителя (OH) кислорода не коррелировано с расходом фотовосстановителя (H). Последний (H) наряду с использованием на восстановление CO<sub>2</sub> может отвлекаться также на восстановление атмосферного O<sub>2</sub>. Вследствие этого количество восстановленной CO<sub>2</sub>, в зависимости от условий, не будет равно выделенному O<sub>2</sub>, а практически всегда меньше, согласно уравнению:



И действительно, в опытах авторов при высоких освещенностях и малой концентрации CO<sub>2</sub> в среде отношение +O<sub>2</sub> к —CO<sub>2</sub> (фотосинтетический коэффициент) достигало 4,2; при нормальной концентрации CO<sub>2</sub> — 1,1.

Таким образом, авторы полагают что фотовосстановитель может быть использован на восстановление CO<sub>2</sub> и O<sub>2</sub> в конкурентных отношениях, которые складываются в пользу восстановления (поглощения) O<sub>2</sub> при малой концентрации CO<sub>2</sub> и высокой освещенности.

В то же время известна стабильность фотосинтетического коэффициента, который остается близким к единице при различных условиях освещения, концентрации CO<sub>2</sub> и O<sub>2</sub> для различных типов растений. Гаффрон (Gaffron, 1940) не нашел отклонений от единицы, но лишь слабое увеличение CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> для *Scenedesmus* при изменении парциального давления кислорода в широком диапазоне. Постоянство фотосинтетического коэффициента наблюдалось также нами для водоросли хлорелла в разных условиях освещения (табл. 44).

Как видно из таблицы, в тех условиях, когда можно ожидать изменений не только в фиксации CO<sub>2</sub>, но и в скорости поглощения кислорода (увеличение интенсивности света и смена его спектрального состава), фотосинтетический коэффициент изменился мало и незакономерно. Однако Бриттен (Brittain, 1957) наблюдал уменьшение фотосинтетического коэффициента (CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>) у хлореллы (с 0,93 до 0,63) при изменении парциального давления кислорода.

Таким образом, пока не существует единого мнения о стабильности фотосинтетического коэффициента при разном парциальном давлении кислорода.

С помощью улучшенной массспектрометрической методики обмен кислорода у фотосинтезирующих зеленых и синезеленых водорослей изучается в настоящее время в лаборатории Кока.

истинной величины и что сделанные на основании этой методики выводы можно распространить на нормально фотосинтезирующие растения.

При высокой интенсивности света в опытах Хоха и других скорость фотосинтеза водорослей со временем уменьшалась

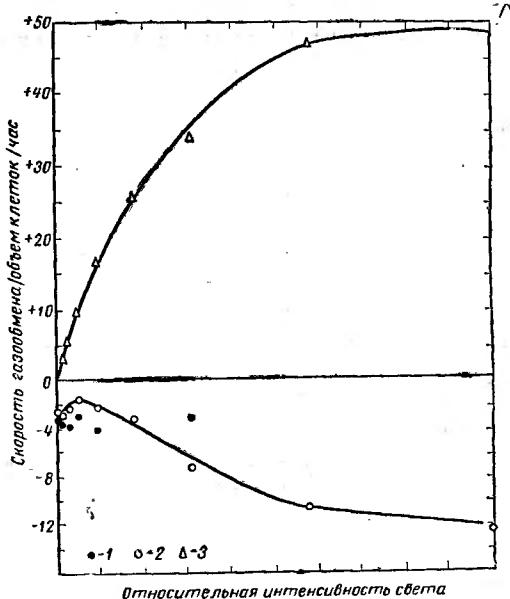


Рис. 32. Выделение и поглощение кислорода на свету синезеленой водорослью *Anacystis nidulans* (Hoch et al., 1963)

1 — поглощение кислорода в темноте; 2 — поглощение кислорода на свету; 3 — выделение кислорода

при низких же интенсивностях она оставалась постоянной длительное время. Вероятно, что падение фотосинтеза было вызвано увеличением концентрации  $O_2$  в среде и активацией поглощения кислорода.

С помощью дихлорфенилдиметилмочевины (ДХФДМ — яда на выделение  $O_2$  и реакцию Хилла) (Wessels, Van der Veen, 1956, Gaffron, 1960) Хох и др. (Hoch et al., 1963) пытались выявить поглощение кислорода, связанное с механизмом фотосинтеза. Оказалось, что ДХФДМ оставляет незатронутой ту долю поглощения кислорода, которая наблюдается при низких интенсивностях освещения и подавляет ту долю, которая увеличивается с увеличением интенсивности света и фотосинтеза, т. е. ту, которая по-видимому, связана с реакциями фотохимического аппарата фотосинтеза. Хох и другие полагают, что поглощение кислорода

связано с повторным окислением восстановленного пиридину-клебтида и что эта реакция сопряжена с образованием АТФ, необходимой для регуляции фотосинтетического метаболизма клетки и ростовых процессов на свету. Нами совместно с Кутюриным (Институт геохимии и аналитической химии АН СССР) были проведены (1964) массспектрометрические определения обмена кислорода у зеленых растений в темноте и на свету разного спектрального состава в присутствии фотосинтеза и при его подавлении. О характере поглощения кислорода в темноте и на красном и синем свету судили по величине фракционирования изотопов кислорода в темноте и на свету.

Ранее в лаборатории Виноградова было показано, что изотопный состав кислорода, выделяемого растениями в процессе фотосинтеза, меняется в зависимости от температуры и физиологического состояния растений. Установлено, что причиной этих изменений является различный уровень дыхательного метаболизма. Величина отклонения изотопного состава кислорода воды пропорциональна интенсивности дыхания и степени фракционирования изотопов (т. е. разделения изотопов  $O^{16}$  и  $O^{18}$ ) кислорода в этом процессе. Последняя величина выражается коэффициентом фракционирования  $\alpha$ , который зависит от физиологического состояния растений и температуры (Виноградов и др. 1959, 1960; Виноградов, Кутюрин, 1962).

В связи с изложенным очевидно, что коэффициент фракционирования  $\alpha$  мог служить дополнительным показателем, характеризующим механизм индуцированного светом поглощения кислорода для синего и красного света. И действительно, если механизм этого индуцированного светом восстановления кислорода аналогичен механизму обычного дыхательного восстановления кислорода, тогда на синем свету по сравнению с красным должно было наблюдаться большее фракционирование изотопов кислорода. Если же индуцированное светом восстановление кислорода на красном и синем свету происходит по одному, например фотохимическому механизму, то можно ожидать, что фракционирования изотопов кислорода наблюдаться не будет, так же как в случае фотохимического разложения воды при фотосинтезе растений (Виноградов, Кутюрин, 1962).

Опыты проводили с высшим водным растением *Elodea canadensis* и водорослью *Scenedesmus obliquus*. Для подавления фотосинтеза и терминальных, металлоксодержащих оксидаз дыхания применялся азид натрия.

Растения для опытов экспонировались в герметической установке, позволяющей отбирать пробы воды или суспензии водорослей, в которых определялось содержание кислорода методом Винклера. Из отдельной пробы кислород извлекали методом вакуумной дегазации, очищали от влаги и углекислого газа и переводили в ампулы для массспектрометрического анализа.

Изотопный анализ кислорода проводился на двухлучевом массспектрометре МС-2 компенсационным методом (Виноградов и др., 1959, 1960), с точностью  $\pm 0,03$ — $0,06$  (относительный процент). Источником света служили лампы накаливания, помещаемые на расстоянии 30 см с двух сторон опытного сосуда. Для красного света применяли лампы мощностью 300 вт, для синего — 500 вт. Инфракрасная радиация снималась водой. Опытный сосуд погружали в раствор 15%-ного бихромата калия (в случае красного света) или 12%-ного медного купороса (в случае синего света), которые пропускали свет в области физиологической радиации, поглощаемой хлорофиллом от 580—730 мкм и 380—580 мкм. Синий и красный свет выравнивались по энергии, определявшейся с помощью термостолбика. Во всех опытах интенсивность падающего света составляла 50 000 эрг/см<sup>2</sup>·сек.

В специальных опытах были подобраны концентрации азида Na и время воздействия ядом, необходимые для полного отравления фотосинтеза. После такой подготовки растения отмывали от яда и переносили в опытные сосуды для экспозиции. Таким образом, как и в опытах с листьями высших наземных растений, измерялось последействие яда на фотосинтез и дыхание. Результаты опытов с различным спектральным составом света без азида представлены в табл. 45. Две последние колонки таблицы показывают, что интенсивность дыхания растений в темноте и теоретически рассчитанная интенсивность дыхания на свету — одного порядка, за исключением двух опытов — 2 и 7 (на красном свете). Теоретически рассчитываемая интенсивность дыхания на свету определялась из уравнения, выведенного ранее (Виноградов и др., 1959, 1960). При этом исходили из предполагаемого равенства коэффициента фракционирования  $a$  при дыхании в темноте и на свету, другими словами, — из предположения о постоянстве механизма темнового дыхания. Опыты 4 и 6 свидетельствуют об уменьшении интенсивности дыхания (на синем и белом свету). В остальных случаях увеличение «дыхания» составляло не более 15%. Как показывают данные, для *Elodea* и *Scenedesmus* при фотосинтезе характерна меньшая степень фракционирования изотопов кислорода при его поглощении (восстановлении) на синем и белом свету по сравнению с красным (табл. 45).

В табл. 46 приведены коэффициенты фракционирования, выведенные по известной формуле (Виноградов и др., 1959), для опытов с *Elodea* и *Scenedesmus* при воздействии азида натрия, т. е. в отсутствие фотосинтеза. В этом случае для *Elodea* порядок фракционирования на красном и синем свету оставался таким же, как при фотосинтезе. Немногочисленные данные, полученные для *Scenedesmus*, казалось бы, противоречат данным с *Elodea*. На синем свете для *Scenedesmus* фракционирование даже несколько возрастило. Объяснение подобного явления, возможно,

Таблица 45  
Влияние спектрального состава света на изотопный состав кислорода, выделяемого при фотосинтезе \* (Кутюрин, Воскресенская и др., 1964)

Растение	Опыт	Время года, месяц	Условия опыта		Спектраль- ный состав света	Интенсивность выде- ляемого кислорода мл. О <sub>2</sub> /г в час	O <sup>18</sup> , % выде- ляемого кислорода	O <sup>18</sup> , атомн. % по сравнению с водой	Дыхание, % от фотоген- теза (теорети- ческий)	Дыхание, % (темновой контроль)
			t °C	Экспози- ция, час						
<i>Elodea canadensis</i>	1	VII	24	4	Белый	1,4	0,1992	0,0014	27	27
	2	IX	25	1,25	Красный	1,7	0,2000	0,0019	49	30
	3	IX	25	1,5	Синий	0,68	0,2000	0,0019	49	42
	4	IX	22	1,5	Синий	0,63	0,1986	0,0005	20	28
<i>Scenedesmus obliquus</i>	5	VII	20	2	Белый	20,7	0,1986	0,0005	14	13
	6	VII	21	3	»	22,9	0,1983	0,0002	5	10
	7*	IV	22	2	Красный	9,3	0,2004	0,0020	50	7
	8*	IV	25	1	Синий	2,1	0,1996	0,0015	43	30
	9	IV	25	2	»	28,3	0,1982	0,0001	5	7
	10	IV	25	1	»	26,4	0,1984	0,0003	13	10

\* Процент O<sup>18</sup> воды = 0,1981.

\*\* Старая культура водорослей.

кроется в специфике действия азида натрия на дыхание *Scenedesmus*. Как указывалось ранее, при действии азида натрия подавления дыхания в темноте у *Scenedesmus* не обнаружено. Иногда была найдена даже некоторая стимуляция процесса. Из данных табл. 46 также видно, что подавления темнового дыхания этим ядом достигнуть не удалось. При 18-часовой экспозиции в  $1 \cdot 10^{-1} M$   $\text{NaN}_3$  вместе со значительной активацией дыхания наблюдалось и увеличение фракционирования в темноте.

Мы должны подчеркнуть, что приведенные в табл. 46 результаты указывают на существование принципиальной разницы между характером поглощения и восстановления кислорода на красном и синем свету. При отравлении темнового дыхания азидом Na в том и в другом случае наблюдается поглощение кислорода на свету (табл. 46), причем более активное, чем в темноте. Но на синем свету процесс поглощения (и восстановления) кислорода происходит без фракционирования ( $\alpha=1,000$ ), а на красном свету с фракционированием ( $\alpha=1,012$ ), характерным для дыхания и окисления (Виноградов, 1962). Как указывалось,  $\alpha=1,000$  свойственна для фотохимического механизма реакций. Поэтому полученный результат свидетельствует о том, что на синем свету индуцированное светом восстановление кислорода происходит не по механизму обычного дыхательного восстановления. На красном свету, так же как и на синем, восстановление кислорода связано с фотохимическими реакциями фотосинтеза, т. е. происходит фотоиндуцированное восстановление кислорода. Однако механизм восстановления аналогичен восстановлению кислорода при темновом дыхании. Пока трудно сказать, будут ли неотравленные ядом клетки обнаруживать различие в  $\alpha$ -фракционировании при действии красного и синего света. Однако большая разница в степени фракционирования изотопов кислорода при фотосинтезе на красном свету по сравнению с белым и синим (см. табл. 45, опыты 2 и 7) позволяет предположить существование такой закономерности в нормальных условиях для фотосинтезирующих растений.

Справедливо предположение, что поглощение кислорода, индуцированное светом, вызывается взаимодействием его с фотохимическим восстановителем. Этот фотовосстановитель (природа которого пока не установлена), образованный в результате усвоения хлорофиллом фотона света, вероятно, восстанавливает ферментные системы хлоропласта. Последние, реагируя с атмосферным кислородом, в свою очередь восстанавливают его. Однако механизм самого восстановления различен на синем и красном свету. Это соответствует участию различных ферментных систем или, скорее, разному механизму восстановления кислорода этими системами. Какие это системы и какие вещества восстанавливают кислород на свету — определить трудно. Можно лишь заметить, что, во-первых, ферментные системы хлоропласта,

Таблица 46  
Влияние света и азида натрия на коэффициент фракционирования изотопов кислорода при поглощении кислорода водными растениями (Кутюрье, Воскресенская и др., 1964)

Растение	Опыт	Время, месяц	Условия опыта	Концентрация	Обработка ядом	Время, часы	Экспозиция, час	Температура, $^{\circ}\text{C}$	Интенсивность поглощения $\text{O}_2, \text{мл}/\text{г}/\text{час}$	$\alpha$ -Фракционирование
<i>Eloea canadensis</i>	1	IV	Темнота	—	—	—	2	19	0,68	1,005
	2	IV	»	—	—	—	1,5	21	0,88	1,004
	3	IV	Красный свет	$1 \cdot 10^{-2} M$	20	1,5	21	0,23	1,005	1,005
	4	IV	Синий свет	$5 \cdot 10^{-2} M$	20	1,5	21	0,85	1,010	1,010
	5	IV	Темнота	$5 \cdot 10^{-2} M$	20	1,25	22	0,82	1,000	1,000
	6	IX	»	—	—	4,0	20	0,48	1,009	1,009
	7	IV	»	—	—	1,5	18	0,54	1,012	1,012
	8	IX	»	$7,5 \cdot 10^{-2} M$	26	1,5	22	0,19	0,010	0,010
	9	IX	»	$7,5 \cdot 10^{-2} M$	26	3,0	22	0,45	0,013	0,013
	10	IX	Красный свет	$7,5 \cdot 10^{-2} M$	45	1,0	19	0,87	0,012	0,012
<i>Scenedesmus obliquus</i>	11	IX	»	$7,5 \cdot 10^{-2} M$	28	1,25	20	1,30	0,011	0,011
	12	IX	Синий свет	$7,5 \cdot 10^{-2} M$	26	1,5	20	1,43	1,006	1,006
	13	IX	»	$7,5 \cdot 10^{-2} M$	26	1,5	22	1,23	1,000	1,000
	14	IX	»	—	—	—	2,6	20	0,14	1,000
	15	IV	Темнота	—	—	—	2,6	18	0,63	1,008
	16	IV	»	$1 \cdot 10^{-1} M$	18	3	21	2,00	1,020	1,020
	17	IV	Синий свет	$1 \cdot 10^{-1} M$	44	2	21	0,69	1,012	1,012

восстанавливающие кислород по фотохимическому механизму, поглощают свет в синей области спектра (Воскресенская, Гришина, 1960); во-вторых, в этой роли не может выступать цитохромоксидаза, при действии которой найден эффект фракционирования с коэффициентом  $\alpha = 1,010 - 1,012$  (Feldman, Vost, Benson, 1959). Возможно, это цитохромы и флавины хлоропласта, участники электротранспортной цепи фотосинтеза (Красновский, 1957; Merkel, Nickerson, 1954; Lundegårdh, 1963, 1964).

### Два типа поглощения кислорода на свету

В итоге можно утверждать, что у фотосинтезирующих растений существуют два механизма, каждый из которых способен восстанавливать кислород. Первый механизм подавляется светом, второй — им возбуждается. Только косвенными приемами удается расчленить два названных процесса. На свету же в целой клетке всегда измеряется сумма двух процессов поглощения кислорода, соотношение между которыми меняется в зависимости от состояния растения и условий освещения. Первый процесс относится к обычному типу темнового дыхания. Он ингибитируется ядами на металлы содержащие оксидазы дыхания, активируется присутствием экзогенных сахаров. Уже слабые интенсивности света ингибируют поглощение кислорода, связанное с темновым типом дыхания. Второй тип отличается от первого своей световой зависимостью, нечувствительностью к воздействиям азидом натрия и цианом. Он не усиливается при введении сахаров и таких органических кислот, как янтарная и лимонная (Weiss, Brown, 1959; Воскресенская, Гришина, 1960, 1961; Hoch et al., 1963; Lundegårdh, 1964).

В целом листе или целой клетке оба типа поглощения кислорода на свету (темновой и вызванный фотохимическими реакциями фотосинтеза), естественно, учитываются суммарно. При слабых интенсивностях света суммарное поглощение кислорода ниже темнового. С увеличением интенсивности света оно увеличивается. При сравнении светового дыхания с дыханием в темноте оказывается, что абсолютные интенсивности света, при которых ингибирование дыхания светом сменяется его активацией, могут меняться. Это естественно, поскольку та величина, с которой сравнивается световое дыхание, т. е. дыхание в темноте, до освещения, может быть резко различной (выше и ниже) в зависимости от физиологического состояния растений. Активность же светового дыхания будет также зависеть от активности фотохимических реакций хлоропласта, содержания в атмосфере  $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ .

Поэтому световая граница перехода от ингибирования дыхания светом к его активации, с нашей точки зрения, — не самый важный момент для светового поглощения кислорода. Важно то, что в общем поглощении кислорода поглощение, связанное с

осуществлением обычного темнового дыхания выше компенсационного пункта фотосинтеза, у фотосинтезирующих организмов невелико.

Совокупность всех исследований светового дыхания дает возможность представить соотношение двух типов поглощения кислорода на свету в общей форме графиком (рис. 33). На оси ординат для света и темноты в относительных единицах дана скорость поглощения кислорода, связанная с обычным типом темнового дыхания (I), и поглощение (и восстановление) кислорода, вызванное хлорофиллом и светом (II). На оси абсцисс — возрастающие интенсивности света в относительных единицах. Из рисунка видно, что отношение между темновым типом дыхания (I) и возбуждающим поглощением света хлорофиллом (II) с увеличением интенсивности освещения меняется в пользу последнего. Поскольку поглощение кислорода, вызываемое фотохимическими реакциями фотосинтеза, имеет ту же световую зависимость, что и фотосинтез, с нашей точки зрения, можно назвать его, в отличие от обычного темнового, фотосинтетическим поглощением кислорода.

В связи с изложенным способ расчета так называемого «истинного фотосинтеза» (по определению кажущегося с поправкой на темновое дыхание) нельзя признать правильным. Разберем оба случая, когда расчет газообмена ведется по  $\text{CO}_2$  и по  $\text{O}_2$ .

1. С достаточной долей вероятности установлено, что выделение  $\text{CO}_2$  (дыхание) на свету уменьшается (Brown, Weiss, 1959; Nishida, 1962a) или может вовсе прекратиться (Заленский, 1957; Rither, 1956), реакции цикла Кребса так же как и гликолиз подавлены (Weigl et al., 1951; Heber et al., 1964). Следовательно, при учете темнового дыхания по  $\text{CO}_2$  и суммировании последнего с показателем кажущегося фотосинтеза истинный фотосинтез всегда будет завышен (дыхание, определенное по  $\text{CO}_2$  в темноте, не равно световому и больше, чем определенное на свету по выделению  $\text{CO}_2$ ).

2. Общее поглощение кислорода на свету складывается из поглощения кислорода, связанного с дыхательными превращениями, которые подавлены на свету, и поглощения кислорода, связанного с фотохимическим аппаратом растения.

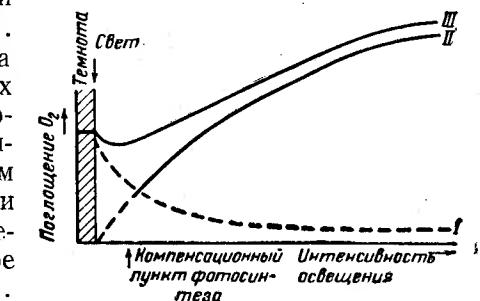


Рис. 33. Световая зависимость поглощения кислорода

I — «темновой тип» поглощения кислорода на свету, II — поглощение кислорода, инициированное светом; III — «световое поглощение» кислорода (Воскресенская, 1965)

Первый тип поглощения подавляется на свету, возможно, в той же мере, что и выделение  $\text{CO}_2$ ; второй — зависит от интенсивности и спектрального состава света и связан не с дыхательным метаболизмом, а с фотохимическими реакциями хлоропласта. При определении дыхания по кислороду в темноте он естественно не учитывается. На свету же этот род поглощения, не связанный с расходом субстрата дыхания, влияет не на кажущийся фотосинтез (через усиление дыхания), а на истинный, уменьшающий его интенсивность. Как было показано выше, это уменьшение может достигать значительной величины. В то же время падение интенсивности фотосинтеза за счет такого рода дыхания учесть невозможно при определении дыхания в темноте.

Таким образом, при внесении поправок на кажущийся фотосинтез путем определения дыхания в темноте по кислороду, как и по  $\text{CO}_2$ , показатели фотосинтеза будут завышены по сравнению с истинным фотосинтезом. В то же время влияние поглощения кислорода на истинный фотосинтез не будет учтено.

По-видимому, фотосинтетическое поглощение  $\text{O}_2$  на свету всегда имеет место. Это неотъемлемая часть работы фотохимического аппарата аэробно живущих зеленых растений. При этом фотосинтетическое поглощение  $\text{O}_2$  происходит как при фотосинтезе, так и без него. Наибольшая эффективность реакции, как показано нами, приходится на коротковолновый участок спектра.

Что касается предполагаемого фотохимического механизма процесса, то возможно, что он включает взаимодействие атмосферного кислорода (через ряд энзиматических систем) с фотовосстановителем. Если восстановитель универсален, весьма вероятно восстановление  $\text{CO}_2$  и кислорода по принципу конкурентных отношений.

## 5. ЗНАЧЕНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО ВОССТАНОВЛЕНИЯ КИСЛОРОДА ДЛЯ АССИМИЛЯЦИИ $\text{CO}_2$

### Влияние парциального давления кислорода на фотосинтез

Если фотосинтетическое восстановление кислорода, составляющее существенную величину от светового дыхания, вызвано восстановлением кислорода фотохимическим восстановителем, то можно ожидать, что условия, способствующие усиленному поглощению кислорода, должны приводить к снижению истинного фотосинтеза.

Косвенные данные о том, что атмосферный кислород изменяет уровень фотосинтеза (ассимиляцию  $\text{CO}_2$ ), получены в опытах с влиянием различных концентраций атмосферного кислорода на фотосинтез высших растений и зеленых водорослей. Ингибирующий эффект кислорода на скорость фотосинтеза хлореллы был

впервые открыт в 1920 г. Варбургом — «Эффект Варбурга» (Warburg, 1920). Затем Гаффрон (Gaffron, 1940) показал для *Scenedesmus*, что изменение концентрации кислорода в среде от 0,2 до 100% не меняет отношения  $\text{CO}_2$  к  $\text{O}_2$ . Однако присутствие высоких концентраций кислорода в среде снижало не только кажущийся, но и истинный фотосинтез.

Подавление фотосинтеза кислородом обнаружено для ряда высших и низших зеленых растений, а также для красных водорослей (Turner et al., 1956). Величина подавления фотосинтеза разными концентрациями кислорода меняется в зависимости от физиологического состояния и объекта. Подавление фотосинтеза кислородом выше при малых концентрациях  $\text{CO}_2$ . Мак Алистер и Майерс первыми нашли подавление фотосинтеза кислородом на 25% для пшеницы при концентрации кислорода 21%, низких концентрациях  $\text{CO}_2$  ( $0,03\%$ ) и на свету, близком к насыщению (Mc Alister, Myers, 1940). Эффект был подтвержден Тернером и др. Подавляющее действие высоких концентраций кислорода на фотосинтез обратимо (Turner, Todd, Brittain, 1956; Turner, Shortman, King, 1958).

Увеличение концентрации  $\text{CO}_2$  снижает эффект кислорода. При высоких, насыщающих фотосинтез концентрациях  $\text{CO}_2$  ( $91 \cdot 10^{-6}$  моль/л) эффект кислорода не существует (Wassink, Vermueler, et al., 1938; Briggs, Wittigahm, 1952). Он обнаруживается только при концентрации  $\text{O}_2$  в 20% и выше. Так, при насыщающем свете торможение фотосинтеза хлореллы чистым  $\text{O}_2$  варьирует от 5%, при очень высоких концентрациях  $\text{CO}_2$  ( $1700 \cdot 10^{-6}$  моль/л) до 85% при низкой ( $1 \cdot 10^{-6}$  моль/л). При низкой концентрации  $\text{CO}_2$  подавление фотосинтеза на 22% наблюдалось даже 20%  $\text{O}_2$  в среде (Tamija, Huzisige, 1949). Зависимость эффекта от интенсивностей света (более низких, чем насыщающие) исследована недостаточно. Так, лишь в одной работе определялся фотосинтез хлореллы для различных концентраций  $\text{O}_2$  около компенсационного пункта при 400—800 лк (Tamija, 1949). Эффект кислорода на фотосинтез в этих условиях не обнаружен. Что касается измерений эффекта в пределах освещенностей более высоких, но не насыщающих фотосинтез, то одни исследователи обнаружили насыщение для действия кислорода на фотосинтез уже при малых освещенностях, другие — констатировали увеличение торможения фотосинтеза с увеличением интенсивности света — от 20 до 50% и даже выше (Tigpug, Brittain, 1962). Следует вспомнить, что при высоких освещенностях — больших, чем насыщающие, весьма вероятно появление реакции фотоокисления. Поэтому вопрос о световом насыщении поглощения кислорода требует дальнейших исследований.

В последнее время действие парциального давления кислорода на фотосинтез вновь исследуется с применением радиоизотопной методики. Так, Бассем и Кирк показали, что при двухминут-

Таблица 47

Влияние анаэробиоза на активность фотосинтетической фиксации  $\text{CO}_2$  на красном и синем свету (Воскресенская, 1963, 1964)

Опыт	Условия опыта	Фиксация $\text{C}^{14}\text{O}_2$	Без предварительного продувания азотом				7 мин. продувания $\text{N}_2$ без $\text{C}^{14}\text{O}_2$		
			$\text{ воздух+CO}_2$		$\text{N}_2+\text{CO}_2$		$\text{N}_2+\text{CO}_2$		
			красный	синий	красный	синий	красный	синий	
1	2 мин. фиксации $\text{C}^{14}\text{O}_2$ в атмосфере воздуха или азота	имп./мин. на площадь листа ( $10 \text{ см}^2$ ), %	36 700 100	36 000 100	36 000 98	38 200 106	—	—	
2	3 мин. фиксации $\text{C}^{14}\text{O}_2$ в атмосфере воздуха или азота	имп./мин. на площадь листа ( $10 \text{ см}^2$ ), %	33 200 100	35 500 100	42 300 127	60 600 170	29 700 89	26 000 73	
3	То же	имп./мин. на площадь листа ( $10 \text{ см}^2$ ), %	34 600 100	34 900 100	39 800 115	47 800 137	31 300 90	35 400 101	

отвлекая часть усвоенной энергии от восстановления  $\text{CO}_2$ . По-видимому, большая эффективность восстановления кислорода (и отвлечения энергии) в синих лучах может быть одной из основных причин снижения фотосинтеза в этом случае.

Отсутствие благоприятного действия атмосферы азота на фиксацию  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  за 2 мин. фотосинтеза можно объяснить тем, что за это время не создалось еще достаточных различий в концентрации кислорода в клетке и хлоропластах для контроля и опытного варианта.

Предварительное выдерживание листа в атмосфере азота без  $\text{CO}_2$  в течение 7 мин. не только не увеличило, но, наоборот, подавило активность последующей фиксации  $\text{CO}_2$  в атмосфере азота. Этот результат соответствует мнению о том, что длительный анаэробиоз ингибирует фотосинтез (Gaffron, 1960) и что кислород является необходимым участником механизма фотосинтеза, по крайней мере, аэробов.

Итак, подавление фиксации  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  кислородом наблюдается даже при насыщающей фотосинтез концентрации  $\text{CO}_2$  и обычном содержании кислорода в воздухе. На синем свете величина ингибирования была больше, чем на красном, что соответствует более активному поглощению кислорода в этих условиях. Подобные результаты о влиянии атмосферного кислорода на фиксацию  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  на красном и синем свете были получены для хлореллы (Зак, 1964).

Основываясь на результатах всех исследований действия кислорода на фотосинтез, можно, очевидно, сделать вывод, что часть энергии в фотосинтезе всегда тратится на восстановление

ной экспозиции хлореллы на белом, насыщающем фотосинтез свету, в атмосфере чистого кислорода и в азоте, активность фиксации  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  резко снижена в атмосфере кислорода по сравнению с атмосферой азота. Одновременно изменялся путь фиксации  $\text{CO}_2$  (Bassham, Kirk, 1962). Подобные результаты получены также Зак для красного и синего света (Зак, 1964).

В гл. I было показано, что физиологическая эффективность красных и синих лучей спектра для фотосинтеза листьев высших растений, выращенных в условиях освещения естественным солнечным светом, различна. Синие лучи значительно менее эффективны, чем красные. Для того чтобы получить одинаковый фотосинтез, интенсивность синих лучей должна быть в 2,5–2,6 раза выше, чем красных, что значительно превышает квантовые равенства освещения. Это соотношение остается достаточно стабильным по всей длине световой кривой фотосинтеза до пределов насыщения, за исключением очень низких интенсивностей света, около компенсационного пункта (см. табл. 8 и 9 в гл. I).

Ранее были приведены доказательства того, что световое поглощение кислорода выше компенсационного пункта фотосинтеза представлено главным образом фотосинтетическим поглощением кислорода, которое активируется синим светом. Естественно предполагать, что причиной меньшей эффективности синих лучей для фотосинтеза по сравнению с красными является активация этими лучами фотосинтетического поглощения кислорода. Поэтому нами экспериментально проверялась возможность возникновения конкуренции между фотосинтетическим восстановлением  $\text{CO}_2$  и кислорода и значение для этой конкуренции качества света. Для этой цели был выбран тот же объект, на котором в основном изучались особенности поглощения кислорода на свету,— листья табака. Высечки из листьев экспонировались с  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  при ненасыщающих фотосинтез интенсивностях света и повышенной концентрации  $\text{CO}_2$  (1,5%) в экспозиционной камере. Фиксация материала после экспозиций проводилась кипящим подкисленным этианолом. Интенсивности синего и красного света во всех вариантах опыта оставались постоянными и подбирались таким образом, чтобы в случае атмосферы воздуха (контроль) обеспечить одинаковый фотосинтез. При двухминутной экспозиции различий в активности фиксации для контроля и опыта (азот) не обнаружилось (табл. 47). При увеличении экспозиции до 3 мин. в двух повторно проведенных с разными растениями опытах найдены значительные отличия в фиксации  $\text{CO}_2$ : атмосфера азота по сравнению с воздухом увеличивала активность фотосинтеза и на красном, и на синем свете. Особенно резко увеличение проявилось на синем свете. Это подтверждает наше предположение, что фотосинтетическое поглощение и восстановление кислорода должны влиять на величину истинного фотосинтеза,

кислорода, при любой интенсивности света, нормальном атмосферном давлении кислорода и даже повышенной концентрации  $\text{CO}_2$ . Является ли этот процесс всегда конкурентным по отношению к восстановлению  $\text{CO}_2$  в смысле использования энергии или частично он включается в механизм фотосинтеза,— окончательно не выяснено. Однако следует указать, что при изменении условий осуществления фотосинтеза: уменьшении концентрации  $\text{CO}_2$ , увеличении парциального давления кислорода, изменении условий освещения, наконец, при действии различных ингибиторов можно выявить конкуренцию между восстановлением  $\text{CO}_2$  и кислорода и увеличить или уменьшить ее.

### Доказательства конкуренции кислорода и $\text{CO}_2$ за фотохимический восстановитель

В работах японских исследователей (школа Тамийя) действие различных концентраций кислорода на фотосинтез изучается с помощью изящной методики, которая одновременно позволяет вскрыть механизм поглощения кислорода на свету.

В своих опытах исследователи использовали установленный ранее факт (Calvin, Bassham, Benson, 1950), согласно которому после периода освещения (в атмосфере без  $\text{CO}_2$ ) хлорелла способна в течение некоторого времени фиксировать  $\text{CO}_2$  в темноте по фотосинтетическому пути. Предполагают, что в период предварительного освещения («*preillumination*») образуется универсальный фотовосстановитель. Использование фотовосстановителя в последующий темновой период является причиной фотосинтетической фиксации  $\text{CO}_2$  в темноте. Величина фиксации  $\text{CO}_2$  — критерий влияния различных факторов на накопление фотовосстановителя на свету и на срок его жизни в темноте. Было найдено, что темновое восстановление  $\text{CO}_2$  достигает оптимума только через 15—20 мин. предварительного освещения в отсутствие  $\text{CO}_2$ . Максимальный уровень фотовосстановителя ( $R$ ) сохраняется в течение 1—2 мин. темноты. Поэтому экспозиция в темноте продолжается не более 30 сек. (Miyachi, Isava, Tamiya, 1955). Неизвестное соединение, образуемое на свету ( $R$ ), разрушается при пробульживании  $\text{O}_2$  через суспензию водорослей, при добавлении к суспензии хинона или  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Miyachi et al., 1955).  $R$  исчезает также в присутствии 2,6-дихлорфенолиндофенола, при этом восстановление краски заменяет восстановление  $\text{CO}_2$  (Katoh et al., 1958). Таким образом, авторы заключают, что  $R$  в их опытах — действительно фотовосстановитель, подобный тому (если не тот же), что в реакции Хилла. Влияние кислорода на фиксацию  $\text{CO}_2$  и концентрационная зависимость этого влияния указывают, что  $\text{O}_2$  может, так же как и хинон, 2,6-дихлорфенолиндофенол,  $\text{CO}_2$ , реагировать с этим фотовосстановителем в конкурентных отношениях. Тамия и Хусизиге (Tamiya, Huzisige, 1949)

нашли, что  $R$ , полученный в период предварительного освещения, окисляется молекулярным  $\text{O}_2$ . Основанием этому послужили следующие наблюдения. Было установлено, что во время освещения без  $\text{CO}_2$  возникает  $R$ . Скорость образования  $R$  не зависит от присутствия  $\text{O}_2$ . Однако уровень  $R$  становится ниже, если присутствует  $\text{O}_2$ ; в темноте в присутствии  $\text{O}_2$  и без  $\text{CO}_2$   $R$  разрушается, вероятно за счет обратной реакции с кислородом.

Установлено также влияние кислорода на интенсивность фотосинтеза. Показано, что механизм восстановления кислорода, индуцированного фотохимической реакцией, может включать конкуренцию  $\text{O}_2$  за  $R$  с  $\text{CO}_2$ .

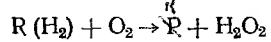
Хотя природа  $R$  авторами окончательно не изучена, однако это соединение не соответствует, как принято считать (Vishniac, Ochoa, 1951; San Pietro, Lang, 1956; Сан-Пьетро, 1962; Арнон, 1962), восстановленному трифосфопиридиннуклеотиду, так как содержание последнего после освещения менялось несущественно и незакономерно. Кинетика образования и исчезновения восстановленного ПН (пиридиннуклеотида) не соответствует кинетике появления или исчезновения  $R$  при различных условиях (Oh-Nama, Miyachi, 1959, 1960; Miyachi et al., 1960). Предполагают, что  $R$  — соединение, содержащее SH-группы и, возможно, связанное с липидами хлоропласта (Benson, 1961). В связи с этим японские исследователи недавно проверили возможность включения  $\text{S}^{35}$  в липиды хлореллы в опытах с *preillumination*. В темноте, после предварительного освещения найдено быстрое и существенное включение серы во фракцию липидов. На свету радиоактивность  $\text{S}^{35}$  в липидах падала. В темноте в присутствии  $\text{CO}_2$  также резко снижался уровень  $\text{S}^{35}$  во фракции. Исследователи проводят параллелизм между действием указанных факторов на  $R$  и включением  $\text{S}^{35}$  в липиды; высказывают предположение об идентичности этих соединений (Miyachi, Miyachi, Tamiya, 1962).

Несмотря на то, что  $R$  является общим восстановителем для ряда окисленных соединений, в том числе для  $\text{O}_2$  и  $\text{CO}_2$ , путь использования его в каждом отдельном случае, по-видимому, определяется теми ферментными системами, которые принимают участие во взаимодействии  $R$  с этими соединениями. Подавляя тем или иным воздействием одни системы и активируя другие, можно увеличить или уменьшить конкуренцию в использовании  $R$  на восстановление различных веществ. Так, например, азид натрия не меняет скорость разрушения  $R$  в темноте и в то же время резко подавляет способность к фиксации  $\text{CO}_2$ . Поскольку разрушение  $R$  в темноте, по данным авторов, связано с его взаимодействием с  $\text{O}_2$ , то  $\text{NaN}_3$  не влияет на реакцию между  $\text{O}_2$  и  $R$  (Miyachi, 1959). Последнее близко совпадает с теми нашими результатами, в которых показано, что в отличие от фотосинтеза и темнового поглощения кислорода, реакция фотохимического

восстановления кислорода нечувствительна к воздействию этим ядом.

В отношении взаимодействия с *R* окислители, по данным Тамия и других, располагаются в следующем порядке:  $O_2 < CO_2 < H_2O_2 <$  хинон.

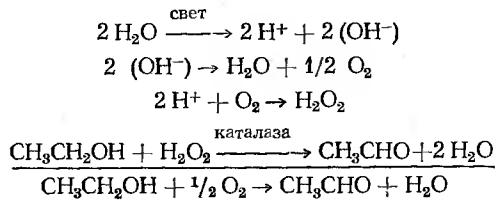
На основании своих исследований авторы предполагают, что кислород реагирует с *R*, восстанавливаясь по типу реакции Мелера до перекиси



— реакция, которая может осуществляться с помощью окисительно-восстановительных систем типа флавиновой оксидазы, нечувствительной к  $NaN_3$ .

Как известно, такая реакция, постулированная Тамия для механизма восстановления кислорода в целой освещенной клетке (Tamiya et al., 1957), показана на хлоропластах (Mehler, 1951). В определенных условиях, в освещенных хлоропластах, атмосферный кислород может выступать как окислитель в реакции Хилла. При этом восстановление  $O_2$  связано с окислением этилового спирта до уксусного альдегида, образованием перекиси водорода и дальнейшим разрушением перекиси катализой. В таких условиях общий баланс кислорода в среде будет минусовым.

В общей форме реакцию Мелера можно написать следующим образом:



Тамия и др. (Tamiya et al., 1957), как уже указывалось, приписывая механизму поглощения  $O_2$  указанную последовательность реакций, распространяют реакцию Мелера на целые клетки и таким образом включают поглощение кислорода в механизм фотосинтеза. Они полагают, что, по существу, действие кислорода на фотосинтез будет проявляться всегда, поскольку «в фотосинтезе при естественных условиях концентрация  $CO_2$  обычно мала (0,03%), а  $O_2$  велика (20%). При таких условиях конкуренция между  $CO_2$  и  $O_2$  за *R* — должна, в большей или меньшей мере, проявляться».

Возможность конкурентного восстановления  $CO_2$  и  $O_2$  допустима также с точки зрения свойств «ферредоксина» — белка, являющегося электронтранспортной системой бактерий. Недавно эта система была найдена у фотосинтезирующих организмов.

В последнее время она активно изучается в лаборатории Арнона (Tagawa, Arnon, 1962; Whatley et al., 1963; Buchanan et al., 1964). Характерными особенностями системы являются: универсальность для всех фотосинтезирующих организмов, низкий потенциал ( $-0,430 E_0$ ), аутооксидабельность, наличие железа (не гема!) и небелковой (скорее всего, в виде цистеина) серы (Blomstrom, Knight, Phillips et al., 1964). При участии редуктазы флавиновой природы ферредоксин восстанавливает ТПН. В отличие от прежних утверждений о том, что результатом фотоакта фотосинтеза является создание АТФ и ТПН (Арнон, 1962), Арнон и сотрудники в настоящее время полагают, что ферредоксин является первым акцептором световой энергии. Восстановление же ТПН происходит в темновом акте при передаче электрона с участием флавинредуктазы от ферредоксина на ТПН. По-видимому, ферредоксин по своим свойствам близок к трифосфоридин-нуклеотидредуктазе Сан-Пьетро (Tagava, Arnon, 1962). В то же время он обладает некоторыми существенными отличиями — более низким потенциалом и способностью непосредственно реагировать с кислородом,  $NO_2$ , возможно также с другими соединениями, восстанавливая их без участия ТПН·Н. Наличие в нем SH-групп позволяет предполагать альтернативный путь фиксации  $CO_2$  без ТПН·Н с участием коэнзима A (Bassham, 1963).

Однако при высоком содержании ТПН ферредоксин в первую очередь отдает свой электрон ТПН (Tagava et al., 1963). Быть может, не ТПН·Н, а ферредоксин ближе по свойствам к гипотетическому *R*. Ферредоксин с успехом используется взамен ТПН — «восстанавливающего фактора» — как в циклическом, так и нециклическом фотофосфорилировании (Tagava et al., 1963a). Очевидно, что свойства ферредоксина позволяют предположить его реакцию на свету с кислородом воздуха с участием оксидоредуктаз флавиновой природы, а возможно, и некоторых цитохромов, например, типа *b*<sub>3</sub> (Lundegårdh, 1964a). Восстановление  $O_2$  поведет к отвлечению части энергии от фиксации  $CO_2$ . В условиях, тормозящих восстановление ТПН, это отвлечение может увеличиться. Однако нельзя исключить также возможность взаимодействия  $O_2$  с восстановленным ТПН. Такая возможность вероятна, поскольку повышенная концентрация кислорода не только снижает активность фотосинтеза, но и меняет путь превращений  $CO_2$  (Bassham, 1963).

#### Предполагаемые механизмы активации поглощения кислорода коротковолновой радиацией

Итак, специфика светового поглощения кислорода зелеными растениями определяется присутствием хлорофилла и вызывает-ся фотохимическими реакциями, локализованными в хлоропласте.

этому и системы, с помощью которых осуществляется поглощение кислорода зелеными растениями на свету, должны быть локализованы в хлоропласте. Процесс происходит, как и фотосинтез, в тех областях спектра, лучи которых поглощаются хлорофиллом, однако он специфично активируется коротковолновой радиацией. Следовательно, можно допустить участие в нем каталитических систем хлоропласта, принципиально работающих в обеих областях спектра, однако активируемых светом коротких длин волн. Не исключена также и другая возможность. Если придерживаться той точки зрения, что фотосинтез происходит по механизму двух фотохимических реакций, то вероятно, одна из фотопререкций в большей мере ответственна за выделение кислорода, а другая — за его поглощение. Только «слаженное» действие двух фотопререкций приведет к наиболее эффективному фотосинтезу (см. гл. I). Пока это предположение мало обосновано экспериментальным материалом, удовлетворительно объясняющим активацию поглощения кислорода синим светом. Поглощение кислорода или усиление окислительных реакций, специфически вызываемых отдельными участками дальней красной области спектра, действительно наблюдаются (Френч Форк, 1962; Mapson, 1964). Однако для синей части спектра этот вопрос практически не исследовался. Только в самое последнее время появились публикации (Lundegårdh, 1964a), указывающие, что и синяя область спектра может быть ответственна за такие реакции. По-видимому, вопрос может быть решен окончательно только при планомерном исследовании спектра действия реакции и применения различных ингибиторов тока электронов в фотосинтезе.

В последнее время все больше накапливается доказательств, что в хлоропласте сосредоточены ферментативные системы как связанные в прочный комплекс с первичной электронтранспортировкой цепью фотосинтеза, так и локализованные в строме хлоропласта (Сисакян, 1959; Chance, Sager, 1957; Халчер, Вишняк, 1962; Камен, 1961; Камен, 1962; Hill, Bonner, 1961; Lundegårdh, 1961, 1963, 1964; Duysens, 1964). Последние могут являться, наряду с ТПН, акцепторами электрона (и водорода) от фотохимического восстановителя (Красновский, Войновская, 1956; Gaffron, 1960; Jagendorf, 1962; Михайлова, 1964). Переходя в восстановленное состояние, они могут участвовать далее в окислительно-восстановительных реакциях хлоропласта, связанных с передачей электрона (и водорода) к восстанавливаемому субстрату (Евстигнеев, 1958). Способность хлорофилла сенсибилизировать как *in vivo*, так и *in vitro* фотовосстановление окисленных коэнзимов и ферментов, осуществляющих перенос электрона к восстанавливаемому субстрату, давно и хорошо известна (Krasnovsky, 1960). Восстановление  $O_2$ , связанное с фотохимическими реакциями хлоропласта, должно, очевидно, определяться количеством образованного восстановителя, способного восстановить

каталитическую систему, реагирующую с кислородом. Этот момент в первую очередь зависит от интенсивности освещения. Для аутооксидабельных цитохромов и флавиннуклеотидов, которые найдены в хлоропластах и предполагаются как участники цепи передачи электрона в фотосинтезе (Камен, 1962; Hill, Bonner, 1961; Lundegårdh, 1963, 1964), возможности восстановления и окисления при любой интенсивности света могут быть больше в коротковолновой области, в которой эти системы поглощают свет (Диксон, Уэбб, 1961). Если система способна реагировать с молекулярным кислородом, реакция взаимодействия в синей области, очевидно, будет протекать более интенсивно, чем в красной. В то же время эти ферменты хлоропласта не являются специфичными оксидазами завершающей фазы дыхательного цикла. Известно, что в хлоропластах нет цитохромоксидазы, подобной цитохромоксидазе дыхательной цепи (James, Das, 1957; James, Leech, 1964; Kouchkovsky, 1959; Lundegårdh, 1964). То же показано для хлореллы (Колесников, Эйнор, 1961; Эйнор, 1962). В зеленных клетках найдена оксидаза гликоловой кислоты флавиновой природы (Колесников, 1954; Gibbs, 1954). Вся ее активность, по-видимому, локализована в хлоропласте (Zelitch, Vagbar, 1960; Zelitch, 1964). Оксидаза окисляет гликоловую кислоту до глиоксилевой (Zelitch, 1958), устойчива к действию  $NaN_3$  и циана, стимулируется прибавлением флавина — аденинмононуклеотида (Kuszma, Tolbert, 1962). Ингибирование оксидазы ведет к значительному накоплению гликоловой кислоты в листьях табака на свету, но не в темноте (Zelitch, 1959). Таким образом, эта оксидаза специфично активна на свету, локализована в хлоропласте и, очевидно, связана с механизмом фотохимического поглощения кислорода. По-видимому, оксидаза неспецифична к субстрату. При этом окисление субстрата до  $CO_2$  в присутствии каталазы не происходит (Gibbs, 1954; Делаван, Бенсон, 1962). Однако нельзя исключать и таких условий, когда на свету в результате окислений наблюдается декарбоксилирование веществ и выделение  $CO_2$ , хотя и менее активное, чем в темноте (Nishida, 1962). Правда, для целой клетки трудно определить, является ли это декарбоксилирование результатом реакций цикла Кребса на свету в цитоплазме, или же, в какой-то мере связано с метаболизмом хлоропласта.

Группой исследователей в хлоропластах шпината и других высших растений найдена активная фотооксидаза цитохрома С флавиновой природы. Она неактивна в темноте. У незеленых растений подобный фермент не обнаружен (Nieman, Vennesland, 1957, 1959; Bishop, Nakataga et al., 1959). Фотооксидаза, окисляющая цитохром С на свету, нечувствительна к тем концентрациям азота натрия (а также циана), которые подавляют деятельность оксидаз дыхания в темноте. Возможно, что эта оксидаза, которой приписывается флавиновая природа, близка или

аналогична оксидазе гликоловой кислоты, а также оксигеназе каротиноидов, о которой шла речь выше. По крайней мере, специфичность субстрата для этой оксидазы неясна.

Итак, обнаруженную нами реакцию мы связываем с передачей электрона (и водорода?) от фотовосстановителя через ряд оксидоредуктаз на кислород и полагаем, что в этой передаче участвуют системы, специфично активируемые синим, вернее, сине-зеленым светом. Зависимость процесса от интенсивности света указывает, что источником энергии для восстановления кислорода (с чем связано его поглощение листом) является энергия света, усвоенная хлорофиллом и используемая далее на восстановление ферментных систем, участвующих в реакциях с кислородом. Активация процесса синим светом свидетельствует о том, что в процессе участвуют системы, возбуждаемые этими лучами. Возможность активации коротковолновыми лучами 400—500 мкм перечисленных выше гематиновых

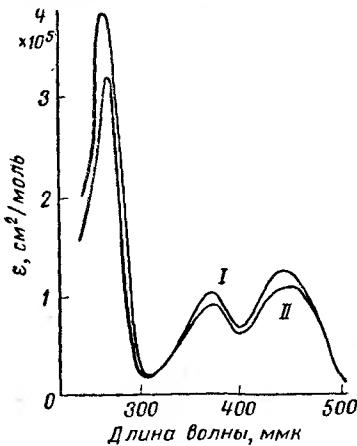
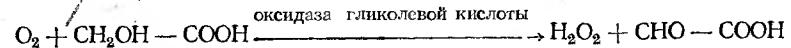


Рис. 34. Спектры поглощения окисленных форм ФМН (I) и ФАД (II) (Диксон, Уэбб, 1961)

и флавиновых систем обоснована спектрами поглощения этих веществ (Morton, 1942; Красновский, 1957; Диксон, Уэбб, 1961). Очевидно, в реакцию восстановления кислорода могут включаться цитохромы (нечувствительные к  $\text{NaN}_3$ ) или же фотовосстановленные флавопротеины могут реагировать непосредственно с  $\text{O}_2$  с образованием перекисей. Спектр окисленной формы флавиннуклеотидов (ФМН и ФАД) определяет возможность увеличения уровня возбуждения этой системы при действии сине-зеленого света (рис. 34). Повышение уровня возбуждения увеличивает возможность отвлечения большего количества фотовосстановителя на гидрирование кофермента. Далее восстановленный кофермент дегидрируется путем передачи молекуллярному кислороду водорода (электрона и водорода) с восстановлением последнего до перекиси. Вероятна также прямая фотосенсибилизация флавинов светом. Так, найдено (Merkel, Nickerson, 1954), что рибофлавин в комплексе с металлом при освещении светом 370 и 440 мкм восстанавливается до лейкоформы и затем, в свою очередь, может восстановить вещество, обладающее подходящим потенциалом. Пока неясно, имеет ли место такое явление для флавопротеинов в целой клетке (Красновский, 1957). Образованная перекись при участии каталазы,

работающей как пероксидаза, может далее реагировать с субстратом, окисляя его (по типу реакции Мелера). Каталаза может восстановить также перекись водорода до воды непосредственно, а выделенный кислород ( $\text{H}_2\text{O}_2 \xrightarrow{\text{каталаза}} \text{H}_2\text{O} + \frac{1}{2}\text{O}_2$ ) будет реагировать с органическими веществами клетки, окисляя их, например, по типу оксидазы гликоловой кислоты



(Колесников 1954а; Делаван, Бенсон, 1962). В реакции взаимодействия флавопротеинов с кислородом, как и в последующих превращениях полученной перекиси, могут принимать участие цитохромы хлоропласта (Камец, 1962; Lundegårdh, 1963). Понятно, не следует исключать также возможность взаимодействия возбужденного флавинового фермента с кислородом на синем свете чисто фотохимическим путем — радикальным, без темновых реакций — образования перекиси (Кутюрин и др., 1964).

Если фотосинтетическое поглощение  $\text{O}_2$  является существенным механизмом, связанным с использованием световой энергии растением, то доля энергии, расходуемой на восстановление  $\text{O}_2$ , по отношению к общей усвоенной энергии должна быть какой-то оптимальной для получения наиболее эффективного фотосинтеза. Для растений, росших на белом свете, эти условия существуют, когда спектры действия отдельных фотоактивных систем и реакций перекрываются. При экспонировании растений в одном или другом участках спектра слаженность работы системы нарушается: освещение синим светом, активирующим поглощение кислорода, приводит к падению активности восстановления  $\text{CO}_2$  по сравнению с фотосинтезом в красном свете.

### Значение кислорода для фотосинтеза

#### Гипотеза Варбурга

Давно известен факт, что длительность пребывания фотосинтезирующего объекта в условиях анаэробиоза в темноте определяет длительность последующего индукционного периода фотосинтеза. Индукционный период может интерпретироваться как время, необходимое для того, чтобы развить выделяющую кислород систему, поскольку предполагается, что ингибирование выделения кислорода в период индукции связано с ингибированием фотосинтеза продуктами ферментации (Gaffron, 1937; Рабинович, 1951; Damaschke et al., 1955). Подавление фотосинтеза анаэробиозом может возникнуть через 2 мин. или менее. Оно обратимо, как только начинает образовываться  $\text{O}_2$  (Warburg, Krippahl, 1958). Это указывает на прямое значение кислорода

для фотосинтеза. Однако Аллен не нашел у сценедесмус ингибирования фотосинтеза в отсутствие кислорода (Allen, 1955). К сожалению, объект исследования этого автора нельзя признать удачным благодаря способности этой водоросли быстро адаптироваться к атмосфере  $H_2$  (объект не является типичным представителем аэробов).

С 1920 года, когда впервые было показано влияние парциального давления кислорода на фотосинтез (Warburg, 1920), Варбург последовательно пытается доказать значение кислорода для механизма фотосинтеза (Рабинович, 1959; Warburg, 1955; Warburg, Krippahl, 1958, 1960; Warburg et al., 1959). Суть гипотезы заключается в том, что нормальный механизм фотосинтеза осуществляется только при обязательном частичном окислении кислородом первоначально восстановленного продукта. Процесс окисления вызывается фотохимическим механизмом зеленой клетки. Согласно опытам Варбурга, для образования одной молекулы кислорода в фотосинтезе достаточно одного кванта красного света. Три кванта света восстанавливают три молекулы  $CO_2$ . Однако из трех восстановленных молекул две вновь окисляются образованным кислородом. Энергия, полученная в результате окисления, потребляется в темноте на образование «фотолита» — комплекса хлорофилла с  $CO_2$ , восстановление которого происходит в новом световом акте. Таким образом, результат реакций — расход трех квантов на восстановление одной молекулы  $CO_2$  до уровня углеводов и выделение одной молекулы  $O_2$ . Механизм реакции таков, что предполагает хотя бы частичное происхождение кислорода из  $CO_2$ . Варбург и его сотрудники активно пытаются добить экспериментальные материалы, подкрепляющие как физическую, так и химическую стороны этой гипотезы.

И действительно, ряд полученных фактов укладывается в рамки развиваемых ими представлений: 1) найдено индуцированное светом поглощение кислорода у хлореллы; 2) обнаружена гликолевая кислота как возможный промежуточный продукт фиксации  $CO_2$ , количество которой коррелировано с концентрацией кислорода (см. гл. II и: Warburg, Krippahl, 1960); 3) показано существование оксидазы флавиновой природы, активной только на свету; 4) показано также, что катализитические количества  $CO_2$  ускоряют реакцию Хилла (Warburg, Krippahl, 1958; Stern, Vennesland, 1962; Stiller and Vennesland, 1962). Предложенная Варбургом в качестве модели реакция фиксации  $CO_2$  предполагает фотолиз  $CO_2$  с участием хинонов и ортофосфорной кислоты как катализатора реакции образования перекиси  $CO_2$  (надугольной кислоты).

Несмотря на заманчивость гипотезы Варбурга о механизме фиксации  $CO_2$ , трудно представить себе фотолиз  $CO_2$  в фотосинтезе, поскольку блестящими опытами с  $O^{18}$  было показано вод-

ное происхождение фотосинтетического кислорода (Виноградов, Тейсс, 1947; Рубен — цит. по Рабиновичу, 1951). Возражение о том, что  $O_2$  частично может все-таки происходить не из воды, снято, с большой долей вероятности, детальными исследованиями механизма процесса (Виноградов, Кутюрин, 1962). Против образования «фотолита» и фотолиза  $CO_2$  свидетельствует также вся сумма данных по механизму фиксации  $CO_2$  хлоропластом. Так, известно, что фиксирующая  $CO_2$  система (включая энзимы) гораздо менееочно связана с фотохимическим комплексом хлоропласта и хлорофиллом, чем система, выделяющая кислород или осуществляющая фотофосфорилирование.

Что касается возможного участия хинонов в выделении  $O_2$ , этот вопрос может подвергаться обсуждению в связи с открытием в фотосинтезирующих клетках коэнзима Q, пластохинона и его аналогов и включением пластохинонов в электронтранспортную цепь фотосинтеза (Jagendorf, 1962; Duysens, 1964).

#### Значение кислорода для метаболизма хлоропласта

Гипотеза Варбурга может быть только одним из предположений, которое в какой-то мере объясняет необходимость поглощения кислорода при фотосинтезе для ассимиляции  $CO_2$ .

Выше уменьшение интенсивности фотосинтеза на синем свете мы связывали с активацией фотохимического процесса восстановления  $O_2$  коротковолновой радиацией и отвлечением, в связи с этим, световой энергии от восстановления  $CO_2$ . Таким образом, увеличение парциального давления кислорода в клетке вызывало уменьшение величины истинного фотосинтеза.

Однако этим дело, вероятно, не ограничивается. Так, одним из возможных влияний  $O_2$  является его действие на некоторые ступени превращений промежуточного продукта в цикле углерода за счет изменения окислительно-восстановительного режима клетки. Полагают, что конкурентное действие  $O_2$  на фиксацию  $CO_2$  может быть связано с действием кислорода на карбоксилирующий энзим (карбоксидисмутазу), активирующий реакцию  $ribo\text{ul}\text{ezo-1,5-difosfat} + CO_2 \rightleftharpoons 2\text{-deglycer-3-fosfat}$  (Tamiya, Huzisige, 1949). Правда, чувствительность карбоксидисмутазы к  $O_2$  ни *in vivo*, ни *in vitro* не установлена (Stiller, 1962). Другая ступень углеродного цикла Кальвина, которая может ингибираваться кислородом, — это подавление активности глицеральдегидфосфат-дегидрогеназы (ГФДГ), катализирующей превращение ФГК в триозы (Tigpner et al., 1956, 1958). Этот энзим реагирует с восстановленным ДПН и ТПН (*R?*). Фермент выделен из хлоропластов и имеет некоторые свойства карбоксидисмутазы (Gibbs, 1952; Tigpner et al., 1958; Heber et al., 1963). Восстановление ФГК происходит с участием АТФ и пиридиннуклеотида. Реакция чувствительна к мононодуксусной кислоте и *n*-хлормер-

курибеноату, активируется цистеином. Тернер и другие исследовали действие  $O_2$  на активность фермента ГФДГ (в присутствии кофакторов ДПН или ТПН) на суспензии хлоропластов свеклы. Активность фермента (ГФДГ) являлась функцией прибавленного цистеина. Малые концентрации мононодуксусной кислоты и *n*-хлормеркурибеноата ингибировали активность фермента. Присутствие высоких концентраций кислорода действовало подобно указанным выше ядам. Предполагают, что тормозящее действие  $O_2$  на активность фермента связано с окислением SH-групп белка, участвующего в восстановлении ТПН (возможно, липоевой кислоты). Отсутствие в среде восстановленного кофактора ТПН·Н тормозит реакцию. В системе изолированных хлоропластов реакция восстановления ФГК с помощью ГФДГ инактивировалась только очень высокими концентрациями кислорода. Однако условия ингибирования фермента кислородом в листе неизвестны. Возможно также, что активация коротковолновым светом поглощения кислорода достаточна для того, чтобы возникали условия торможения усвоения углерода по циклу Кальвина вследствие ингибирования реакции фотоfosфорилирования (Lundegårdh, 1964a). При этом должны увеличиваться возможности фиксации  $CO_2$  по другому пути. По крайней мере, тот факт, что высокие концентрации  $O_2$  действуют подобно некоторым ферментным ядам, блокируя один и усиливая другой путь превращения  $CO_2$ , является весьма существенным для объяснения действия качества света на продукты фотосинтеза. Известно, что редокспотенциал может определять активность ферментных систем, особенно сильно влияя на ферменты, содержащие сульфидрильные группы (Энгельгардт, Саков, 1943; сб. «Ферменты», 1964).

Выше уже говорилось о том, что увеличение парциального давления кислорода, усиление интенсивности света, уменьшение концентрации углекислоты в среде — факторы, действующие на изменение продуктов фотосинтеза в одинаковом направлении. Все они увеличивают альтернативный путь фиксации  $CO_2$  по гликолатному циклу. Такая возможность показана, как в опытах с целыми фотосинтезирующими растениями, так и с хлоропластами. Последнее является доказательством того, что реакции, приводящие к увеличению гликолатного пути фиксации  $CO_2$ , наблюдающиеся при разном парциальном давлении  $O_2$  и  $CO_2$ , начинаются с хлоропласта (см. гл. II).

Освещение объекта сильным светом или лучами коротковолнового участка спектра усиливают поглощение кислорода по сравнению со слабым или красным светом. В то же время сильный свет способствует увеличению гликоловой кислоты в продуктах фотосинтеза (Calvin, Benson, 1949; Тарчевский и др., 1962). При изучении действия качества света на поглощение кислорода мы помещали растения с белого света на свет коротковолновых

или длинноволновых лучей. Такое изменение условий освещения создавало для поглощения кислорода резко отличные условия: в одном случае — в сторону увеличения, в другом — уменьшения процесса по сравнению с обычными. Поэтому при одной и той же концентрации  $O_2$  в среде его парциальное давление в хлоропласте могло быть резко различно на красном и синем свету. Вследствие этого коротковолновые лучи могли усилить все реакции, ведущие к подавлению пути превращений углерода по циклу Кальвина. Красный свет, наоборот, увеличивает возможности восстановления  $CO_2$  по циклу Кальвина. Уменьшение доли  $CO_2$ , фиксируемой по основному пути, и усиление альтернативного пути, приводящее к частичному нарушению цикличности процесса, могут быть причинами падения эффективности фотосинтеза в синих лучах.

Существование в зеленом растении фотохимического процесса поглощения кислорода делает весьма актуальным вопрос об изучении действия кислорода на состав продуктов фотосинтеза. Такие опыты, в частности, могут значительно разъяснить механизм действия качества света на состав продуктов фотосинтеза.

#### Другие возможные функции кислорода при фотосинтезе

Помимо указанного влияния  $O_2$  на фотосинтез и обмен веществ в хлоропласте, присутствие в хлоропласте кислорода в повышенной концентрации (особенно при недостатке  $CO_2$ ), очевидно, может ускорить процессы прямого окисления сахаров, например, до широко распространенных в листьях высших растений групп сахариновых кислот, гликоловой кислоты; далее, минуя цикл Кребса, может быть образована лимонная и другие кислоты (Солдатенков, 1962; Михлин, 1960). Таким образом, даже путь включения кислорода в метаболизм углекислоты и органических веществ хлоропласта многообразен. Однако этим не ограничиваются, очевидно, возможности влияния кислорода на фотосинтезирующий орган растения.

Сапожников полагает, что кислород включается в механизм фотосинтеза при помощи взаимопревращения хсантофиллов — лютеин — виолоксантина (Сапожников и др., 1959; Сапожников, 1961).

В последнее время обсуждается возможность включения кислорода в механизм фотосинтеза за счет участия его в основной реакции фотосинтеза — запасании энергии в АТФ (Арион, 1962). В связи с этим изучают роль  $O_2$  в реакциях нециклического фотоfosфорилирования и делают попытки сравнения активности обмена кислорода и нециклического fotofosфорилирования по спектру (Jagendorf, 1962; Krall, Bass, 1962; Hoch et al., 1963; Tagava et al., 1963a).

Очевидно, катализитические количества  $O_2$  необходимы даже в циклическом, квази-«анаэробном» фотофосфорилировании с участием ФМН (Jagendorf, 1962; Stiller, Vennesland, 1962). Кроме того, атмосферный кислород принимает участие в так называемом окислительном фотофосфорилировании, происходящем при окислении фотовосстановленного трихлорфенолиндофенола аскорбатом в системе изолированных хлоропластов (Krogmann, 1961; Эйдельман, 1962; Сисакян, Бекина, 1964). Поскольку кофакторами фотофосфорилирования являются ФМН, а также цитохромные системы (Арнон, 1962), поглощающие свет в коротковолновой области спектра, возникает возможность активации фотофосфорилирования коротковолновыми лучами.

Однако для синей области спектра возможности фотофосфорилирования практически не изучены. Хотя *a priori* и можно было бы предполагать активирование фотофосфорилирования синими лучами, однако Люнdegорд (Lundegårdh, 1964a) показал, что в области сине-зеленых лучей активность фотофосфорилирования изолированных хлоропластов меньше, чем в красных. Поэтому вопрос о действии качества света на фотофосфорилирование нельзя считать решенным.

В то же время растение имеет защитные реакции, с помощью которых фотосинтетическая функция и структура хлоропласта противостоят воздействию резко меняющихся условий поглощения кислорода. Достаточно отметить, что каротин (очевидно  $\beta$ -каротин) в хлоропласте выполняет функцию защиты от фотоокисления и деструкции хлорофилла и фотосинтетического аппарата. Эта функция связана, возможно, с деятельностью оксигеназ каротиноидов, осуществляющей поглощение  $O_2$  и обратимое окисление каротина на свету.

Доказательством защитной роли каротиноидов являются следующие факты: в анаэробных условиях ассимиляция  $CO_2$  и рост клеток бактерий, содержащих мало каротиноидов, остается нормальным; на воздухе такие клетки быстро погибают. В то же время у нормальных по содержанию каротина клеток деструкции аппарата не наблюдается даже в присутствии кислорода (Kohl, 1902; Beck, 1937; Teale, Weber, 1957; Anderson, Robertson, 1960; Griffith et al., 1955; Cohen — Bazile, Stanier, 1958, Станиер, 1962).

Как указывалось, Франк выдвигает теорию непосредственного участия кислорода в фотосинтезе путем наркотизации кислородом части хлорофилла (например, при малых концентрациях  $CO_2$ ). Таким образом уравновешивается образование и разрушение комплекса хлорофилла с  $CO_2$ . Следовательно, Франк полагает, что сам фотохимический аппарат хлоропласта регулирует количество поглощаемой  $CO_2$  за счет выведения из реакции части хлорофилла (Frank J., 1951). К сожалению, эта интересная гипотеза не подтверждена в достаточной мере эксперимен-

тальными данными. В последнее время Франк категорически утверждает, что  $O_2$  не является реагентом реакции Хилла, что конкуренция между окислителем и  $O_2$  возникает не за  $R$  ( $H_2$ ), а за энергию. Столкновение  $O_2$  с возбужденной молекулой хлорофилла приводит к передаче энергии возбуждения на молекулу кислорода. Дальнейшее столкновение активированного кислорода с легкоокисляемым веществом ведет к окислению, связанному с образованием перекиси. В этом состоит сущность фотоокисления. Следовательно, вместо гипотезы об образовании естественного наркотика, который обволакивает хлорофилл, Франк выдвигает теперь предположение о повреждении хлоропласта (Frank, 1957, 1960). Эта новая гипотеза заманчива своей стройностью и может быть применима, очевидно, к случаям высоких освещенностей, внезапной смене освещения (световые удары) и согласуется с устойчивостью реакции фотоокисления к высоким температурам и ядам. Однако она остается пока также недоказанной, как и многие другие явления, связанные с поглощением кислорода на свету. Биохимический аспект проблемы дает большой материал для объяснений, но часто эти объяснения альтернативны.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Содержание главы в значительной мере представлено собственным экспериментальным материалом. Полученные результаты убеждают в том, что поглощение кислорода на свету зеленым фотосинтезирующим растением (будь то высшее или водоросли) существенным образом отличается от поглощения кислорода в темноте. На свету поглощение кислорода фотосинтезирующей клеткой является суммарным выражением двух типов поглощения (восстановления), которые осуществляются по различным механизмам и, вероятно, локализованы в разных частях клетки.

Один тип поглощения кислорода по всем признакам подобен темновому. На свету этот тип поглощения подавляется уже слабыми интенсивностями.

Другой тип возбуждается светом и увеличивается с увеличением интенсивности света. Внешне это выражается в том, что свет оказывает как бы двойное действие на поглощение кислорода: ингибирует его по сравнению с темнотой при низких интенсивностях и активирует его с увеличением интенсивности света. Возбуждаемое светом поглощение происходит во всех участках спектра, где свет поглощается хлорофиллом. Процесс зависит от количества фотохимического восстановителя и активности фотокаталитических систем — оксидоредуктаз хлоропласта. Не исключено, что механизм индуцированного светом восстановления кислорода распространяется на всю зеленую клетку. Эффек-

тивность процесса выше в коротковолновых лучах. При высоких интенсивностях света в суммарном процессе поглощения  $O_2$  на свету поглощение  $O_2$ , вызванное фотохимическими реакциями хлоропласта, значительно доминирует над темновым типом. Различная спектральная эффективность поглощения кислорода может быть объяснена возбуждением синим светом фотоактивных катализитических систем хлоропласта и клетки, участвующих в восстановлении кислорода. В то же время она может быть связана с тем, что из двух химических реакций фотосинтеза лишь одна преимущественно ответственна за поглощение кислорода.

Поглощение кислорода на свету можно назвать световым дыханием (Gaffron, 1960). Тем не менее надо учитывать, что для целой зеленой клетки на свету поглощение кислорода, связанное с темновым дыханием, невелико.

Основное поглощение кислорода вызывается светом. Поскольку последний тип восстановления кислорода обязан своим возникновением фотохимическим реакциям фотосинтеза, целесообразно его называть «фотосинтетическим восстановлением кислорода».

Фотоокисление, вызываемое ненормально высокими интенсивностями света, можно рассматривать лишь как его частный случай, когда при абиологических условиях регуляторные системы фотосинтетического аппарата расстраиваются и процесс теряет первоначальную обратимость.

Значение фотосинтетического поглощения кислорода для механизма фотосинтеза и жизнедеятельности растительной клетки, вероятно, многообразно. Весьма возможно, что то поглощение кислорода, которое обнаруживается при стационарных условиях течения фотосинтеза, тем или иным образом включается в механизм фотосинтеза. Каков путь этого включения,— пока сказать трудно. Это может быть участие в фиксации и превращении промежуточного продукта фотосинтеза.

Кроме того, в стационарных условиях можно ожидать сопряжения восстановления кислорода с фотосинтетическим фосфорилированием. Как было показано, при внезапном действии синего света, увеличения освещенности или концентрации  $O_2$  величина истинного фотосинтеза падает за счет усиления альтернативного пути использования энергии света на взаимодействие ( $R$ ) с кислородом.

В таких условиях, по-видимому, происходит восстановление кислорода и окисление восстановленных катализитических систем и субстратов клетки, несопряженное с накоплением энергии, подобно несопряженному с фосфорилированием окислению в дыхательной цепи (Скулачев, 1962). Иначе говоря, кислород в данном случае выступает дополнительно как звено регуляторной системы, обеспечивающее цикличность процесса усвоения световой

энергии растением. Именно такой случай, вероятно, наблюдается при внезапной замене белого света на синий. На это указывает падение эффективности фотосинтеза под влиянием синего света, неспецифически, подобно многим другим воздействиям (Тарчевский, 1965) связанное с увеличением доли альтернативного пути восстановления  $CO_2$ .

Поскольку фотосинтетическое поглощение (и восстановление) кислорода на свету доминирует над темновым типом дыхания, то способ расчета так называемого «истинного» фотосинтеза, по определению «какующегося» с поправкой на темновое дыхание, очевидно, не имеет большого смысла.

## Г л а в а IV

# ВОССТАНОВЛЕНИЕ НА СВЕТУ ОКИСЛЕННЫХ МИНЕРАЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ОСОБЕННОСТИ НЕКОТОРЫХ БИОСИНТЕЗОВ

### 1. ПОСТАНОВКА ВОПРОСА

Энергия света, поглощенная хлорофиллом и трансформированная затем в «фотохимический восстановитель» (будь это  $R$ , восстановленная форма хлорофилла, радикал и т. д.), в принципе, очевидно, может быть использована на ряд процессов помимо восстановления  $\text{CO}_2$ . В предыдущей главе такая возможность была показана для восстановления кислорода. Этот процесс происходит за счет энергии света, поглощенной хлорофиллом, может снижать активность восстановления  $\text{CO}_2$  и, вероятно, имеет отношение к механизму усвоения  $\text{CO}_2$  зеленым листом. Кроме того, при высоких освещенностях и недостатке  $\text{CO}_2$  путем использования на восстановление кислорода избыточной световой энергии, поглощенной растением, по-видимому, осуществляются серьезные регуляторные реакции, которые поддерживают в равновесии систему хлоропласта, т. е. защищают от разрушения как структуру фотосинтетического аппарата, так и его основную функцию — ассимиляцию  $\text{CO}_2$ .

Использование энергии света на другие метаболические процессы, помимо восстановления кислорода (восстановление других неорганических и органических соединений), также представляет существенный интерес как с точки зрения механизма, так и физиологического значения фотосинтеза. Поэтому правомерен вопрос о том, как используется энергия света, поглощенная хлорофиллом и трансформированная в фотохимический восстановитель, на фиксацию  $\text{CO}_2$  и другие процессы при меняющихся условиях освещения, минерального питания, состояния растений. Ответ на этот вопрос в какой-то мере, вероятно, объяснит причины возникновения разнокачественности продуктов фотосинтеза. Можно предполагать, что при ненасыщающих фотосинтез интенсивностях света использование фотохимического восстановителя на другие процессы может влиять на величину истинного фотосинтеза (ассимиляцию  $\text{CO}_2$ ). В то же время возможность использования электрона, помимо ассимиляции  $\text{CO}_2$  на другие процессы, должна, очевидно, наблюдаться при любой ин-

тенсивности света. Вероятно, что эти возможности будут возрастать после светового насыщения ассимиляции  $\text{CO}_2$  (Ничипорович и др., 1963). Однако для целой фотосинтезирующей клетки такие возможности исследованы недостаточно.

Усложнение органических соединений или увеличение уровня их восстановленности за счет световой энергии, поглощенной хлорофиллом, показано главным образом на суспензиях гранул и хлоропластов, а также на искусственных системах *in vitro* (Красновский, 1948; Vishniac, Ochoa, 1952; Arnon et al., 1954; Евстигнеев, 1958; Jagendorf, 1962).

В изолированных системах прослеживаются (при одновременном добавлении в среду специфических ферментов и кофакторов) отдельные реакции, т. е. фиксируются фрагменты того общего фотосинтетического метаболизма, который предполагается для ненарушенной клетки; причем взаимодействие реакций в изолированной системе может осуществляться по простому принципу обратной связи (Энгельгардт, 1960). Поэтому такие результаты должны служить только указанием на потенциальную возможность осуществления за счет энергии света той или иной реакции в целой зеленой клетке, и на участие в этой реакции определенных ферментных систем хлоропласта. Классическими примерами реакций такого рода могут быть реакция Хилла (Рабинович, 1959), фотофосфорилирование (Agop et al., 1954; Арнон, 1962), усложнение некоторых органических соединений с участием восстановленного светом кофермента — пиридиннуклеотида (Vishniac, Ochoa, 1951; Krasnovsky 1960). Указанные реакции постулируются как основные звенья механизма фотосинтеза: 1) основная окислительно-восстановительная реакция фотосинтеза и образование фотовосстановителя; 2) путь запасания энергии в фотосинтезе (фотофосфорилирование) и 3) способ восстановления  $\text{CO}_2$ .

Возможность использования поглощенной хлорофиллом энергии света на иные процессы в сравнении с фиксацией  $\text{CO}_2$  в первую очередь важна для метаболизма самого хлоропласта. Тонкая структурная организация хлоропласта во многом сходна с ламеллярной структурой митохондрий (Грин, 1961), а ферментные системы, участвующие в транспорте электрона, и весь сложный метаболизм органических соединений включают возможность белкового синтеза (Сисакян, 1951, 1959; Мелик-Саркисян и др., 1962; Андреева, 1956; Осипова, Николаева, 1964; Небер, 1963).

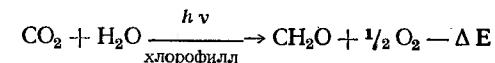
Наличие рибосом (Микульская, Одинцова, Сисакян, 1962) и собственных дезоксирибонуклеиновой и рибонуклеиновой кислот в хлоропласте (Kirk, 1964; Biggins, Park, 1964, и др.) свидетельствуют о такой же возможности. Если метаболизм происходит на свету, то он, очевидно, может не зависеть от наличия субстратных электронов, т. е. уровня дыхательного метаболизма. Как бу-

дет видно из анализа экспериментального материала, на свету действительно наблюдаются метаболические превращения веществ; характер этих превращений указывает, что они происходят за счет использования световой энергии (фотовосстановителя и АТФ).

В целой фотосинтезирующей клетке должна существовать координация тех реакций, которые искусственно разобщаются при исследованиях с изолированными системами. Одним из средств этой координации, вероятно, является регуляция использования энергии на ассимиляцию  $\text{CO}_2$  (фотосинтез) и прочие биосинтезы. Альтернативный путь биосинтеза как один из принципов саморегуляции биологических процессов (Кребс, Корнберг, 1959; Энгельгардт, 1959; «Регуляция клеточного обмена», 1962), нам представляется, может быть распространен на процесс фотосинтеза. При этом, очевидно, он может касаться не только выбора различных метаболических путей превращения  $\text{CO}_2$  (о чем мы уже говорили выше), но и возможности использования фотохимического восстановителя (или  $\text{e}^-$  и водорода) помимо восстановления  $\text{CO}_2$  и на другие процессы (см. гл. III). Как и фиксация  $\text{CO}_2$ , напряженность других процессов, если они обусловлены наличием фотохимического восстановителя, должна определяться световыми условиями. Однако превращение энергии света в энергию химических связей в растении,—фотобиохимический процесс, который происходит с участием ферментных систем. Поэтому активность процесса должна зависеть и от свойств тех специфических ферментов, которые участвуют в передаче электрона от фотохимического восстановителя к субстрату. Само возникновение конкуренции при использовании электрона или фотохимического восстановителя, ее границы и величина, очевидно, будут зависеть также от указанных моментов. Таким образом, можно предположить, что, если первый этап — усвоение фотона света хлорофиллом — произошел и в результате образован фотохимический восстановитель (в общей форме  $XH$  или  $R$ ), то последний может реагировать не с одним, а с различными веществами; эти реакции в хлоропласте (а возможно, и во всей клетке) регулируются внутренними и внешними условиями, определяющими взаимодействие этого  $XH$  с различными соединениями.

Возможна сопряженность этих процессов с фиксацией  $\text{CO}_2$  (Ничипорович, 1953) или же их осуществление независимо от наличия  $\text{CO}_2$ , за счет прямого взаимодействия с фотовосстановителем (см. гл. III). В любом случае, очевидно, световая энергия используется не только на восстановление  $\text{CO}_2$  до уровня углеводов. Она может быть потрачена прямо или через окисление ранее восстановленного промежуточного продукта фотосинтеза на другие процессы.

Тогда в уравнении



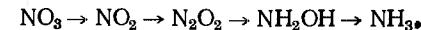
использованная энергия ( $\Delta E$ ) не будет равна количеству образованного органического вещества, а будет выше. Такая возможность была описана в предыдущей главе в связи с процессом поглощения  $\text{O}_2$ , вызываемого фотохимической деятельностью хлоропласта.

В настоящей главе мы попытаемся рассмотреть материалы о действии света на некоторые процессы метаболизма зеленой клетки, главным образом восстановление окисленных соединений азота. Мы не ставим целью подробно исследовать общий механизм превращения указанных веществ. Для логики изложения лишь несколько остановимся на характеристике основных этапов темнового процесса восстановления окисленных соединений.

## 2. ВОССТАНОВЛЕНИЕ НИТРАТОВ

### Восстановление нитратов в темноте

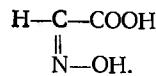
Общеизвестна способность зеленых растений ассимилировать нитратный азот в темноте с образованием аминокислот и белков (Михлин, 1956, 1960). Отдельные этапы восстановления  $\text{NO}_3^-$  до  $\text{NH}_3$  предполагают образование ряда промежуточных соединений. Процесс можно изобразить следующим образом:



Как видно из последовательности реакций, ассимиляция  $\text{NO}_3^-$  до  $\text{NH}_3$  в растениях включает окислительно-восстановительные изменения азота от +5 до -3. Теоретически необходимо 8 ( $\text{H}$ ) для превращения  $\text{NO}_3^-$  в  $\text{NH}_3$ . Окислительно-восстановительные реакции, обусловливающие превращения  $\text{NO}_3^-$  в  $\text{NH}_3$ , осуществляются с участием редуктаз, катализирующих отдельные ступени процесса. При этом восстановленный субстратным водородом пиридиннуклеотид является первоначальным донором электрона и протона, а все ступени восстановления включают участие металлфлавопротеинов, а возможно, и цитохромов (Sadana, McElroy, 1957; Nicholas, 1959; Кретович, 1962). Для темнового восстановления найдена прямая связь между интенсивностью восстановления нитратов и активностью дыхательного метаболизма: анаэробиоз резко подавляет процесс.

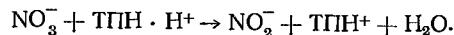
Обычно промежуточные продукты восстановления  $\text{NO}_3^-$  не накапливаются в растениях. Однако при нарушении с помощью каких-либо воздействий равновесия между скоростью восстанов-

ления и дальнейшей переработкой промежуточных продуктов можно наблюдать накопление последних (Kessler, 1959). Так, в некоторых условиях было обнаружено накопление нитритов ( $\text{NO}_2^-$ ), а также гидроксиламина ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ). При наличии в растениях большого количества карбонильных соединений — альдегидов и кетокислот — гидроксиламин обнаруживается в виде оксимов (Кретович, 1962). Основным карбонильным соединением, акцептирующим в растениях гидроксиламин, по некоторым данным (Virtanen, Saris, 1956), является щавелевоуксусная кислота, дающая оксим, который восстанавливается в аспарагиновую кислоту. Возможно также образование в растениях оксида глиоксилевой кислоты — оксиимидукусной кислоты (Колесников, 1950).



Гидроксиламин также может восстанавливаться до аммиака, последний путем прямого аминирования кетокислот затем участвует в образовании аминокислот. Оксимы, по-видимому, прямо восстанавливаются до аминокислот.

Фермент, с помощью которого нитраты восстанавливаются в темноте, найден как у низших, так и у высших растений. Из плесневого гриба *Neurospora crassa* и из листьев сои выделен фермент нитратредуктаза, катализирующий восстановление нитрата растительными тканями. Фермент принадлежит к металлофлавопротеинам. Металлический компонент нитратредуктазы — молибден. Наличие молибдена в ферменте доказано прямым путем: у *Neurospora crassa* обнаружено падение активности нитратредуктазы в отсутствие молибдена. Выведение из среды молибдена путем диализа против цианида (образование металличицианидного комплекса) сопровождается одновременной инактивацией нитратредуктазы (Кретович, 1962; Насон, 1962; Арнон, 1962а). Простетическая группа фермента — флавинадениндинуклеотид. Нитратредуктаза переносит водород с восстановленного ТПН на нитрат (Михлин, 1960):

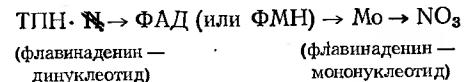


Восстановление нитратов до  $\text{NO}_2^-$  в темноте устойчиво даже к большим концентрациям динитрофенола (ДНФ); это указывает на то, что в этой стадии восстановление окисленного азота не сопровождается тратой макроэргов фосфатов (Kessler, 1959).

У зеленых растений в темноте анаэробные условия подавляют восстановление  $\text{NO}_3^-$ . Однако некоторые микроорганизмы употребляют  $\text{NO}_3^-$  в качестве терминального акцептора водорода или протона, особенно в анаэробных условиях (Nicholas, 1959).

При этом за счет «нитратного типа дыхания» в анаэробных условиях может происходить окислительное фосфорилирование (Jamataka, Ota, Okupuki, 1962).

Таким образом, восстановление нитратов в темноте происходит за счет восстановления субстратным водородом (ё и протоном) ТПН·Н с участием флавинадениндинуклеотида, а также в качестве промежуточного катализатора — молибдена.



Восстановленный молибден передает электроны  $\text{NO}_3^-$  (восстанавливая его) в присутствии нитратредуктазы. Интересно, что наличие молибдена в среде является необходимым условием для образования нитратредуктазы, а следовательно, восстановления нитратов. Так, на *Aspergillus niger*, *Azotobacter* и зеленой водоросли *Scenedesmus* показано, что в отсутствие молибдена для этих растений предпочтительно питание аммиачной, а не нитратной формой азота. Однако Ратнер и Акимочкина (1962) установили, что роль молибдена в азотном метаболизме может не ограничиваться участием в восстановлении нитрата. Его функции могут быть более широкими, поскольку молибден положительно влияет также на усвоение аммиачного азота растениями.

Нитратредуктаза, так же как и нитратредуктаза, представляет собой флавинадениндинуклеотид (у *Neurospora crassa*) или флавинаденинмононуклеотид (листья сои). Активность этих нуклеотидов зависит от присутствия железа и меди (Nicholas, 1959). Нитратредуктаза, так же как и нитратредуктаза, переносит водород на нитрит как с ДНФ·Н, так и с ТПН·Н. С последним восстановление идет более активно. Восстанавливается  $\text{NO}_2^-$  до  $\text{NH}_2\text{OH}$ . Эта стадия восстановления нитратов весьма чувствительна к отравлению ДНФ. Последнее указывает на то, что механизм ее осуществления связан с участием макроэргов фосфора (Kessler, 1959). Интенсивность восстановления  $\text{NO}_2^-$  в темноте, так же как и  $\text{NO}_3^-$ , тесно связана с дыханием. Подавление последнего и условия анаэробиоза ведут к накоплению  $\text{NO}_2^-$ .

Восстановление гидроксиламина происходит с участием гидроксиламинредуктазы — фермента флавиновой природы, содержащего марганец. Процесс требует макроэргов фосфора. Бурстрем в 1939 г. впервые получил экспериментальные данные, на основании которых предполагал участие марганца в восстановлении  $\text{NO}_3^-$  зелеными растениями (Burström, 1939, цит. по Nicholas, 1959). После открытия нитратредуктазы, чувствительной к недостатку молибдена, эта идея была забыта. Однако затем была вновь подтверждена необходимость марганца для восстановления  $\text{NO}_3^-$ , но не на первой, а на последующих стадиях его восстановления.

новления. Оказалось, что марганец является компонентом гидроксиламиныредуктазы. Последняя специфически активировалась Mn у *Neurospora crassa* и бобов сои (Насон, 1962; Nicholas, 1959).

Совокупность изложенных сведений можно представить в виде схемы (табл. 48), на которой последовательность восстановления  $\text{NO}_3^-$  и условия, обеспечивающие это восстановление, даны на примере *Neurospora crassa*.

Таблица 48

Условия, необходимые для восстановления нитратов в растениях (Nicholas, 1959)

Факторы, участвующие в восстановлении азота	Этапы восстановления				
Последовательность окисительно-восстановительных реакций	$\text{NO}_3^- \xrightarrow{2e} \text{NO}_2 \xrightarrow{2e} \text{N}_2\text{O}_2 \xrightarrow{2e} \text{NH}_2\text{OH} \xrightarrow{2e} \text{NH}_3$				
Донор электрона	ТПН-Н или ДПН-Н				
Кофактор	ФАД, пиридоксин	ФАД, пиридоксин	ФАД, пиридоксин		
Степень восстановленности	+5	+3	+1	-1	-3
Потребность в Р	Р или другой анион	Р необходим	Р или другой анион		
Потребность в SH-группах	На всех этапах				
Необходимые металлы	Mo, Cu, Fe, Mg	Cu, Fe, Mg	Mg, Mn		

Итак, восстановление  $\text{NO}_3^-$  в темноте — многоступенчатый процесс, связанный на всех этапах с использованием субстратного электрона. Для осуществления процесса необходим восстановленный пиридиннуклеотид, а также редуктазы, имеющие в качестве простетической группы флавинаденинди- или мононуклеотид. Во все звенья процесса включается металлический компонент, а в некоторые (специфично) — макроэргический фосфор. Активность реакции в темноте определяется активностью дыхания. Вероятно, что кроме кофакторов, указанных в схеме Николаса, существенную роль для восстановления нитратов (передачи электрона) играют, помимо пиридоксина, и другие витамины группы В. Так, в интересных опытах Ратнера и Акимочкиной (Ратнер, Акимочкина, 1962) прибавление тиамина, рибофлавина и никотиновой кислоты наряду с пиридоксином значительно усиливало нитратредуктазную активность в листьях салата.

#### Восстановление нитратов на свету

Активация восстановления нитратов светом в зеленых растениях показана свыше 40 лет назад. Тогда же постулирован механизм фотосинтетического восстановления нитратов (Warburg,

Negelein, 1920). Однако в последующих работах утверждение об активации восстановления нитратов светом подверглось сомнению и эффект света объяснялся вторичными явлениями: увеличением проницаемости плазмы (Warburg, Negelein, 1920; Tottingham, Lowsma, 1928; Lease, Tottingham, 1935), улучшением условий образования углеводов как субстрата для усиления дыхательного метаболизма и т. д. (Dittrich, 1930; Lease, Tottingham, 1935). И действительно, наиболее просто и логично объяснить эффект света для восстановления нитратов косвенным образом за счет накопления в результате фотосинтеза углеводов и после-

Таблица 49

Восстановление нитратов (в мг  $\text{NO}_3^-$  на 100 см<sup>2</sup> листовой поверхности) на свету в присутствии  $\text{CO}_2$  и без нее. Свет —  $16 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup>·сек

Растение	Время экспозиции	с $\text{CO}_2$		без $\text{CO}_2$	
		До экспозиции	После экспозиции	До экспозиции	После экспозиции
Кукуруза . . . . .	3 час.	0,30	0,17	0,30	0,34
Подсолнечник . . . . .	[3 час. 30 мин.]	1,84	1,06	1,08*	1,14*

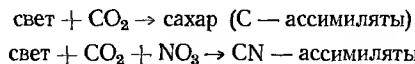
\* Экспозиция 3 часа 10 мин.

дующей их затраты на восстановление  $\text{NO}_3^-$  при дыхании. Тогда процесс на свету будет подобен темновой ассимиляции  $\text{NO}_3^-$ . Однако такое заключение, очевидно, не является правильным. Против него свидетельствует, например, тот факт, что в листьях пшеницы на свету восстановление  $\text{NO}_3^-$  не сопровождается дополнительным выделением  $\text{CO}_2$ , как это бывает при темновом восстановлении нитратов за счет дыхания (Burström, 1942).

Б отсутствие  $\text{CO}_2$  в листьях высших растений и зеленых водорослях, по некоторым данным, восстановления нитратов на свету не происходит. Однако это не означает, что восстановление отсутствует из-за недостатка в клетках субстрата для дыхания (Burström, 1942; Воскресенская, 1951, 1953; Андреева, 1951; Kesseler, 1955). В качестве примера можно привести следующий опыт (Воскресенская, 1953). Для листьев кукурузы и подсолнечника исследовалось влияние света и фотосинтеза на восстановление нитратов. Перед экспозицией на свету нитрат инфильтрировался в виде  $\text{KNO}_3$  в листья в концентрации 0,02 M. В случае фотосинтеза в экспозиционной камере содержался 1%  $\text{CO}_2$ . В отсутствие  $\text{CO}_2$  в листья в качестве источника углеводов входил инверт — глюкоза + фруктоза (Воскресенская, 1951).

Как видно из табл. 49, на свету при наличии фотосинтеза количество  $\text{NO}_3^-$  уменьшается. На свету без  $\text{CO}_2$  количество  $\text{NO}_3^-$  не только не уменьшалось, но, наоборот, несколько увеличивалось.

Обнаруженные ранее параллелизм между восстановлением  $\text{NO}_3$  и  $\text{CO}_2$  на свету и несоответствие между количеством усвоенной  $\text{CO}_2$  и образованных сахаров позволили заключить, что в процессе фотосинтеза, в результате фотохимических реакций, образуются не только углеводы, но и вещества азотистой природы (Burström, 1943) и что восстановление  $\text{NO}_3$  — процесс, фотохимический в своей основе (Burström, 1942; Myers, 1949), однако сопряженный каким-то образом с восстановлением  $\text{CO}_2$ . В общей форме включение окисленного азота в механизм фотосинтеза представляется следующим образом (Burström, 1943; Ничипорович, 1953):



Из последнего уравнения следует, что фотохимический восстановитель не может быть использован на восстановление нитрата непосредственно. Восстановитель специфичен только для фиксации  $\text{CO}_2$ . Восстановление же  $\text{NO}_3$  на свету происходит с участием промежуточного продукта восстановления  $\text{CO}_2$ , в результате взаимодействия последнего с  $\text{NO}_3$  в окислительно-восстановительной реакции. Поскольку восстановление  $\text{NO}_3$  на свету не вызывает дополнительного выделения  $\text{CO}_2$  (Burström, 1942), то очевидно, что, если восстановление нитрата и осуществляется подобным образом, окисление промежуточного продукта вновь до  $\text{CO}_2$  не происходит.

Результаты, близкие к описанным (восстановление при фотосинтезе нитратов за счет окисления некоторых восстановленных продуктов фиксации  $\text{CO}_2$ ) предполагают образование на свету редуцирующих веществ типа альдегидов. Окисление последних с участием специфического фермента приводит к одновременному восстановлению  $\text{NO}_3$ . Восстановление  $\text{NO}_3$  с помощью альдегидов зелеными суспензиями на свету специфично. Замена альдегидов глюкозой, глюкозофосфатом или лактатом не вызывает восстановления нитрата (Михлин, Колесников, 1937).

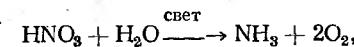
Ассимиляция  $\text{NO}_3$  усиливается пропорционально увеличению интенсивности света. Световое насыщение процесса для листьев высших растений наступает, по-видимому, при высоких освещенностях. По крайней мере, в тех границах световой кривой фотосинтеза, которая была исследована для листьев пшеницы (Burström, 1942, 1943; Stoy, 1955) и для листьев кукурузы и хлопчатника (Воскресенская, 1951, 1953), оба процесса не имели насыщения. Очевидно, световые плато восстановления углекислоты (фотосинтез) и нитратов, близко совпадают (Burström, 1942; Stoy, 1955).

В пользу высокого светового насыщения восстановления  $\text{NO}_3$  для высших растений свидетельствует также стабильность отно-

шения восстановления  $\text{CO}_2$  к  $\text{NO}_3$  (Burström, 1943) при изменении интенсивности света. В то же время это отношение значительно изменяется в зависимости от возраста листа и обеспеченности растения азотом.

Итак, существует в какой-то мере обоснованная экспериментальными материалами точка зрения об обязательной сопряженности восстановления и превращений на свету двух окисленных соединений  $\text{CO}_2$  и  $\text{NO}_3$ .

Однако ряд фактов свидетельствует о возможности прямого взаимодействия фотовосстановителя с  $\text{NO}_3$ , без участия  $\text{CO}_2$ . Эта возможность показана на изолированных хлоропластах и целых фотосинтезирующих клетках водорослей — хлореллы и *Ankistrodesmus braunii*. Варбург и Негелейн (Warburg, Negelein, 1920), как указывалось, первые обнаружили образование аммиака при восстановлении  $\text{NO}_3$  клетками хлореллы на свету в кислой среде. Было высказано предположение о фотохимическом восстановлении  $\text{NO}_3$ , независимом от наличия  $\text{CO}_2$  и продуктов фотосинтеза, по схеме:



т. е. в данном случае  $\text{NO}_3$  как бы заменяло  $\text{CO}_2$  и наблюдался «нитратный фотосинтез». Возражения, обычно выдвигаемые против этого уравнения, основаны на том, что опыты были проведены в нефизиологических условиях (кислая среда). Тем не менее, если восстановление  $\text{NO}_3$  может происходить и в отсутствие  $\text{CO}_2$ , тогда нитраты могут рассматриваться как конкурент  $\text{CO}_2$  по отношению к фотохимическому восстановителю (Рабинович, 1951). И действительно, было найдено, что при насыщающих интенсивностях света в присутствии  $\text{CO}_2$  хлорелла выделяет кислород с большей скоростью при наличии  $\text{NO}_3$ , чем без него. Этот «экстра»-кислород образуется, как предполагают, в результате фотохимического восстановления  $\text{NO}_3$ . При низкой интенсивности света выделение кислорода не зависит от  $\text{NO}_3$ . Однако поглощение  $\text{CO}_2$  в присутствии  $\text{NO}_3$  уменьшается, что свидетельствует в пользу конкуренции между  $\text{CO}_2$  и  $\text{NO}_3$  за фотохимический восстановитель и при низкой освещенности (Van Niel, Allen, Wright, 1953).

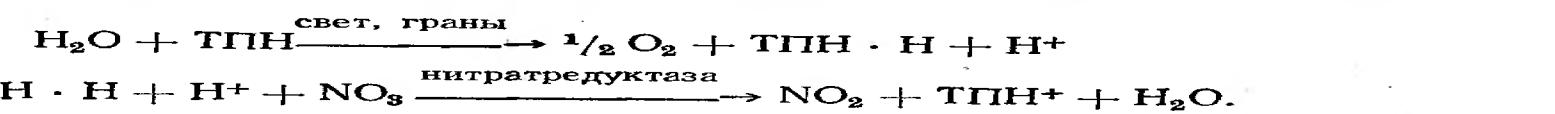
Дальнейшее изучение восстановления  $\text{NO}_2$  и  $\text{NO}_3$  у водорослей привело к заключению, что оба процесса могут проходить как в присутствии  $\text{CO}_2$ , так и в ее отсутствие. Энергетическая эффективность восстановления  $\text{NO}_3$  меньше, чем  $\text{CO}_2$ . Для восстановления  $\text{NO}_3$  до  $\text{NH}_3$  необходимо 73 ккал.,  $\text{NO}_2$  до  $\text{NH}_3$  — 54;  $\text{CO}_2$  до  $\text{CH}_2\text{O}$  — 112. Однако на 1 моль восстановленной  $\text{CO}_2$  выделяется 1 моль  $\text{O}_2$ ; на 1 моль  $\text{NO}_3$  — 2  $\text{O}_2$ , на 1 моль  $\text{NO}_2$  — 1,5  $\text{O}_2$ . Следовательно, на 1 моль выделенного  $\text{O}_2$  при восстановлении  $\text{NO}_3$  и  $\text{NO}_2$  приходится лишь 36 ккал, отсюда энергетический вы-

ход восстановления  $\text{NO}_3$  и  $\text{NO}_2$  по отношению к  $\text{CO}_2$  равен 33% (Bongers, 1956; 1958).

В опытах Бонгерса (Bongers, 1956, 1958) при низких интенсивностях света выделение  $\text{O}_2$  не зависело от характера окислиителя ( $\text{NO}_3$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{CO}_2$ ): скорость во всех случаях оказывалась одинаковой. На сильном свете наступает насыщение процессов, однако дополнительного выделения  $\text{O}_2$  в случае  $\text{NO}_3$  не наблюдалось. Следовательно, восстановление нитратов имело более низкое плато, чем восстановление  $\text{CO}_2$ . Таким образом, не были подтверждены результаты о дополнительном выделении  $\text{O}_2$  в присутствии  $\text{NO}_3$  или  $\text{NO}_2$  для интенсивного освещения.

По данным опытов Хеттори (Hattori, 1962), восстановление  $\text{NO}_3$ , синезеленою водорослью *Anabaena cylindrica* в темноте и на свету осуществляется различными механизмами. Световое насыщение процесса, в отличие от ассимиляции  $\text{CO}_2$ , наблюдается при низких (порядка 1000 лк) интенсивностях света. Восстановление не зависело от присутствия  $\text{CO}_2$ , т. е. результаты опытов похожи на полученные Варбургом и Негелейном и Бонгерс. При низких освещенностях присутствие  $\text{NO}_3$  снижает уровень восстановления  $\text{CO}_2$ . Таким образом, несмотря на то, что у некоторых исследователей величины восстановления  $\text{NO}_3$  без  $\text{CO}_2$  для водорослей были малы, а для листьев восстановление не наблюдалось вовсе (Muers, 1949; Burström, 1943; Воскресенская, 1951, 1953; Kessler, 1955, 1956), очевидно, нельзя не учитывать принципиальной возможности восстановления  $\text{NO}_3$  помимо фиксации  $\text{CO}_2$ . При этом в случае восстановления  $\text{NO}_3$  до  $\text{NH}_3$  в отсутствие  $\text{CO}_2$ , световое плато реакции будет, по-видимому, резко отлично и ниже, чем плато фотосинтеза (Bongers, 1958; Hattori, 1962).

Возможность восстановления  $\text{NO}_3$  без  $\text{CO}_2$  показана также для изолированных гран и хлоропластов. В присутствии ТПН и нитратредуктазы на свету зеленые грани листьев сои и шпината восстанавливают  $\text{NO}_3$  до  $\text{NO}_2$  (Ewans, Nason, 1953; Ducet, Rosenberg, 1957; Jagendorf, 1956). В данном случае, очевидно, вначале при помощи света восстанавливается ТПН — по типу реакции Вишняка и Очоа (Vishnias, Ochoa, 1952) — и затем с помощью образованного ТПН-Н нитратредуктаза восстанавливала  $\text{NO}_3$  до  $\text{NO}_2$ , т. е. реакция проходила следующим образом:



Как видно, механизм восстановления нитратов на свету по этой реакции аналогичен темновому. Однако восстановление ТПН происходит за счет световой энергии. Следовательно, коренное отличие светового восстановления  $\text{NO}_3$  от темнового по этой реакции — это различие в источнике электрона и водорода для

восстановления на свету и в темноте, так же как и в случае фотохимического восстановления кислорода. Являются ли редуктазы и коферменты восстановления  $\text{NO}_3$  на свету теми же, что и в темноте, — остается пока неясным.

Недавно вновь исследовался механизм восстановления  $\text{NO}_3$  изолированными хлоропластами на свету (Del Campo, Panque et al., 1963). К промытым хлоропластам добавлялись активный белок хлоропластов «ферредоксин» (Tagawa, Agop, 1962), как первичный акцептор электрона от хлорофилла, в качестве участников электротранспортной цепи — аскорбат и дихлорфенолиндофенол и бензилвиологен вместо ТПН. Кроме того, добавлялся супернатант (надосадочная жидкость). На свету хлоропласти восстанавливали  $\text{NO}_3$  до  $\text{NO}_2$ . Удаление супернатанта, его кипячение, а также отсутствие бензилвиологена останавливали процесс. В темноте восстановление  $\text{NO}_3$  не происходило. Авторы делают вывод, что  $\text{NO}_3$  может восстанавливаться за счет энергии света, однако прямая реакция с ферредоксином исключается, поскольку необходимы другие участники электротранспортной цепи, в которой  $\text{NO}_3$  является конечным акцептором электрона. Присутствие  $\text{NO}_3$  не тормозило зависящее от света восстановление ТПН с помощью ферредоксина. Поскольку удаление супернатанта полностью ингибировало реакцию, очевидно, нужны какие-то термолабильные кофакторы (ТПН-редуктаза), содержащиеся в надосадочной жидкости хлоропластов.

Спектр действия восстановления нитратов совпадает со спектром поглощения хлорофилла (Stoy, 1955). Интенсивность же восстановления нитратов усиливается с увеличением освещения, как указывалось выше. Все это наилучшим образом свидетельствует в пользу того, что восстановление на свету высшего окисла азота —  $\text{NO}_3$  связано с поглощением света хлорофиллом и с photoхимическими реакциями фотосинтеза. Однако механизм процесса остается недостаточно изучен, поскольку не ясен до сих пор смысл сопряжения реакции с наличием  $\text{CO}_2$  в целой фотосинтезирующей клетке.

Вызвано ли увеличение эффективности восстановления  $\text{NO}_3$  в присутствии  $\text{CO}_2$  тем, что продукты восстановления  $\text{NO}_3$  ингибируют процесс, если нет углеродных акцепторов, или же существуют иные причины малой скорости восстановления  $\text{NO}_3$  в отсутствие  $\text{CO}_2$  в целой клетке, — до сих пор остается неясным. Быть может, в отличие от изолированных систем (сuspension хлоропластов), в целой клетке высших растений существуют какие-то пути усвоения  $\text{NO}_3$ , специфичные для фотосинтеза, не совпадающие с обычной схемой, предусматривающей обязательное восстановление  $\text{NO}_3$  через  $\text{NO}_2$  и гидроксиламин (табл. 48) до  $\text{NH}_3$ .

На такие возможности указывают различия в составе азотсодержащих органических соединений, найденные при питании

зеленых растений аммиачной и нитратной формами азота (Островская, 1961; Ваклинова и др. 1962; Steward, Margolis, 1962; Uziak, 1960; Турчин, 1961). Согласно схеме автотрофной ассимиляции азота, предложенной Кретовичем (Кретович, 1961, 1962), нитрат, не восстанавливаясь до аммиака, в виде гидроксиламина может реагировать с карбонильными соединениями, давая альдо- и кетоксимы с последующим превращением до аминокислот. Сам по себе путь взаимодействия полупродуктов восстановления  $\text{NO}_3^-$  с продуктами фотосинтеза (Burström, 1943; Ничипорович, 1953) весьма вероятен. Однако, является ли это основной причиной отсутствия восстановления  $\text{NO}_3^-$  в высшем растении на свету без  $\text{CO}_2$ , — неизвестно, поскольку в любом случае (и без  $\text{CO}_2$ ) в листе для промежуточных продуктов восстановления нитрата имеются в избытке углеродные акцепторы.

Если восстановление  $\text{NO}_3^-$  с помощью световой энергии вероятно, тогда действие качества света на процесс интересно исследовать в связи с участием в процессе фотоактивных каталитических систем (флавин, цитохромы). Как было показано в гл. II, под влиянием коротковолновой радиации в листе усиливается белковый синтез (в длительных опытах) или увеличивается радиоактивность его предшественников — аминокислот (при коротких экспозициях).

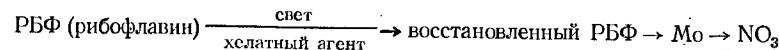
Это явление наблюдалось, в частности, при введении в лист окисленной формы азота в виде  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ . Поэтому возникает вопрос, не начинается ли благоприятное действие коротковолновой радиации на синтез азотистых соединений в фотосинтезе с первых же ступеней — восстановления окисленной формы азота. В утвердительной форме ответ на это предположение дают некоторые исследования (Lease, Tottingham, 1935; Stoy, 1955; Воскресенская, Гришина, 1962).

Стой изучал световые кривые двух процессов — ассимиляции  $\text{CO}_2$  и восстановления  $\text{NO}_3^-$  в разных участках спектра для молодых растущих листьев пшеницы (Stoy, 1955). Интенсивности ассимиляции  $\text{CO}_2$  и восстановления  $\text{NO}_3^-$  с увеличением интенсивности света (вплоть до насыщающей фотосинтез) изменялись параллельно. Восстановление нитратов активировалось коротковолновыми лучами. При этом активация не была связана с увеличением ассимиляции  $\text{CO}_2$ . Наоборот, максимальное усиление восстановления  $\text{NO}_3^-$  приходилось как раз на область спектра, наименее эффективную для фотосинтеза — 480 мк. Отсюда можно сделать вывод, что не всегда восстановление  $\text{NO}_3^-$  зависит от условий ассимиляции  $\text{CO}_2$ , что процесс имеет самостоятельную световую зависимость. Различия в действии света коротковолнового и длинноволнового участков спектра сохранялись по всей длине световой кривой в пределах исследованных интенсивностей (до  $40 \cdot 10^3$  эрг/ $\text{cm}^2 \cdot \text{сек}$ ). Для фотосинтеза листьев пшеницы (ассимиляции  $\text{CO}_2$ ) на красном свете это были

интенсивности, близкие к насыщению, на синем — ненасышающие (Stoy, 1955).

Таким образом, удается наблюдать активацию восстановления  $\text{NO}_3^-$  в той области спектра, где эффективность восстановления  $\text{CO}_2$ , наоборот, снижается.

Предполагается, что восстановление  $\text{NO}_3^-$  на свету, так же как в темноте, осуществляется с участием флавиновых ферментов (Taniguchi, Kamen, 1963), активность которых возрастает под влиянием коротковолновых лучей. Так, в присутствии рибофлавина, хелатного агента — этилендиаминтетрацетата, а также нитратредуктазы, содержащейся в вытяжке из листьев пшеницы, на свету происходит восстановление  $\text{NO}_3^-$  (Stoy, 1956). На основании этих опытов предлагаются альтернативный путь восстановления  $\text{NO}_3^-$  на свету не через  $\text{TPN} \cdot \text{H}$ , а через рибофлавин:



На свету восстановление нитратов в зеленом растении происходит главным образом в листьях, поскольку большая часть нитратов, поглощаемых корнями, не восстанавливается в них до  $\text{NH}_3$ . Именно поэтому в листьях иногда можно наблюдать накопление нитратов (Eckerson, 1932; Колесников, 1950; Воскресенская, 1951, 1953; Турчин, 1961).

В темноте скорость восстановления  $\text{NO}_3^-$  в листьях ничтожна (Burström, 1943; Воскресенская, 1951, 1955; Андреева, 1951). В то же время в темноте, как это 40 лет назад показал Шмук (Шмук, 1925), восстановление  $\text{NO}_3^-$  корнями осуществляется во много раз (в 10 раз) быстрее, чем листьями. Следовательно, Шмук задолго до систематического изучения ферментных систем, восстанавливающих нитраты, обратил внимание на то, что редуктаза нитратов высших растений при темновом восстановлении  $\text{NO}_3^-$  специфически активна в корнях.

В настоящее время имеются результаты (Hageman, Fleisher, 1960), в какой-то мере объясняющие тесную связь восстановления  $\text{NO}_3^-$  в зеленых растениях с действием света. Так, исследована активность нитратредуктазы в зеленых проростках кукурузы, выращенных на нитратной форме азота. Активность нитратредуктазы снижается параллельно с уменьшением интенсивности света при выращивании. После 48 час. затемнения растений остается лишь 10% активности нитратредуктазы по сравнению со световым вариантом. Однако 2 часа освещения вновь значительно восстанавливают активность фермента. После 96 час. пребывания проростков в темноте активность исчезает на цело. Одновременно обнаруживается резкое уменьшение водорастворимых белков и полная потеря жизнеспособности растений. На свету количество образуемых белков коррелировано с

активностью нитратредуктазы и ростом растений. Авторы приходят к выводу, что «нитраты и свет необходимы для образования  $\text{NO}_3$ -редуктазы и нормального роста растений». При искусственном введении нитратредуктазы в растения вновь появляется способность восстанавливать  $\text{NO}_3$ , однако процесс в этом случае проходит с малой скоростью. На основании этого делается заключение, что свет действует на восстановление нитратов не прямо, а через образование нитратредуктазы. Таким образом, в листьях растений, выросших на нитратном источнике азота, обязательно должна действовать нитратредуктаза, но она специфична только к свету. Вероятно, это является одной из причин того, что восстановление зелеными клетками  $\text{NO}_3$  специфично связано со светом.

Поскольку растения, выращенные на аммиачном источнике азота, в этих опытах не образовывали нитратредуктазы и синтез белка происходил как на свету, так и в темноте, можно предполагать, что нитратредуктаза листьев является своего рода адаптивным ферментом. Она возникает в условиях избыточного снабжения растения окисленной формой азота, когда не исключена возможность попадания этой формы в больших количествах в листья и восстановления ее с помощью фотохимического аппарата хлоропласта. В последнее время свойства нитратредуктазы подробно исследованы для водоросли *Ankistrodesmus braunii* (Czygan, 1963).

Таким образом, редуктаза нитратов в зеленых частях растений приспособлена главным образом к фотосинтетическому типу обмена веществ. Поэтому, вероятно, все исследователи, которые работали с нитратной формой азота, наблюдали восстановление  $\text{NO}_3$  только в присутствии  $\text{CO}_2$  и только на свету. Такие результаты послужили поводом к утверждению, что белки,  $\text{CN}$ -продукты (Burström, 1943), образованные в листьях, являются, как и углеводы, продуктами фотосинтеза.

Однако это заключение не может объяснить все стороны азотистого обмена при фотосинтезе. Так, за счет аммиачного азота в хлоропласте могут образоваться белки как на свету, так и в темноте (Андреева, 1956). С другой стороны, восстановление нитратов, резко усиливается в присутствии  $\text{CO}_2$ , однако может происходить, по крайней мере, в случае зеленої водоросли хлореллы (Bongers, 1958) и в ее отсутствие.

Безусловно, вопрос о восстановлении  $\text{NO}_3$  в целой фотосинтезирующей клетке осложняется тем, что для  $\text{NO}_3$  необходимы не только условия восстановления до  $\text{NH}_3$  или  $\text{NH}_2\text{OH}$ , но и углеродные акцепторы.

В случае восстановления  $\text{NO}_3$ , вследствие увеличения уровня восстановленности этого соединения, происходит запасание энергии. Как указывалось, оно менее эффективно, чем в случае восстановления  $\text{CO}_2$  до уровня углевода (Bongers, 1958). Однако

если процесс сопряжен с образованием более восстановленных веществ, чем углеводы ( $\text{CN}$ -соединения), то в сумме запасенная энергия в системе должна увеличиваться (Bassham, 1963).

Активация коротковолновыми лучами восстановления  $\text{NO}_3$  может быть объяснена участием в нем фотоактивных катализических систем клетки или хлоропласта. Какие это системы,— пока остается неясным, хотя можно предполагать активацию синим светом флавиновых компонентов нитратредуктазы.

### Восстановление нитритов на свету

Если предположить, что последовательность восстановления  $\text{NO}_3$  в растениях соответствует описанной выше, то первым промежуточным продуктом восстановления  $\text{NO}_3$  будет  $\text{NO}_2$  (Шмук, 1925; Смирнов, Ерыгин, 1926). Отличительной особенностью восстановления  $\text{NO}_2$  в темноте, как указывалось, являются чувствительность реакции к ДНФ и тот факт, что кофакторами реакции являются железо и медь, а не молибден (Nicholas, 1959). На свету также проявляются отличия восстановления  $\text{NO}_2$  от  $\text{NO}_3$ . Так активация реакции светом значительно сильнее, чем для  $\text{NO}_3$  (Kessler, 1959). Этот факт (Taniguchi, Kampe, 1963) твердо установлен для различных групп растений: фотосинтезирующих бактерий, диатомовых синезеленых и зеленых водорослей (Kessler, 1959; Hattori, 1962), а также высших растений (пшеница, конские бобы, табак) (Колесников, 1950; Vanesco, Verner, 1955; Воскресенская, Гришина, 1961).

Для восстановления нитрита легче выявить фотохимическую природу процесса, чем для нитрата; это можно иллюстрировать следующим примером. Сравнительная скорость выделения кислорода на свету зеленої водорослью *Ankistrodesmus braunii* в результате прибавления к анаэробной суспензии в отсутствие  $\text{CO}_2$  —  $\text{NO}_3$ ,  $\text{NO}_2$  или хинона изображена на рис. 35 (Kessler, 1959). Как видно, начальная скорость выделения кислорода в результате восстановления хинона и  $\text{NO}_2$  в течение 15 мин. практически одинакова и значительно выше, чем для  $\text{NO}_3$ . На каждый моль восстановленного  $\text{NO}_2$  в таких условиях выделяется 1,5 моля кислорода, что соответствует результатам, полученным с хлореллой (Bongers, 1956, 1958), и указывает на то, что  $\text{NO}_2$  восстанавливается до  $\text{NH}_3$ . Реакция с  $\text{NO}_2$  у *Ankistrodesmus braunii* проходила в определенных границах времени по типу реакции Хилла, где хинон был заменен иным окислителем —  $\text{NO}_2$ . Правда, скорость восстановления  $\text{NO}_2$  уменьшалась со временем и не усиливалась дальнейшим прибавлением  $\text{NO}_2$ . Возможно, фотохимическое восстановление  $\text{NO}_2$  уменьшается вследствие недостатка доноров для образуемого  $\text{NH}_3$  и отравления клетки как самим  $\text{NO}_2$ , так и продуктами его восстановления.

Восстановление  $\text{NO}_2$  у *A. braunii* интенсивно протекает в отсутствие  $\text{CO}_2$ . В присутствии  $\text{CO}_2$  активность процесса увеличивается вдвое. Однако это увеличение наблюдалось только при  $15^\circ$ . При  $4^\circ$  влияние  $\text{CO}_2$  оказалось минимальным. В то же время активность восстановления  $\text{NO}_2$  без  $\text{CO}_2$  близка при  $4$  и  $15^\circ$  (Kessler, 1959).

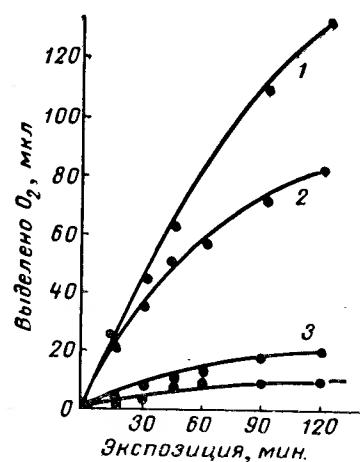


Рис. 35. Реакция Хилла и восстановление  $\text{NO}_3$  и  $\text{NO}_2$  хлоропластами (Kessler, 1959)

1 — хинон; 2 — нитрит; 3 — нитрат;  
— без добавок

ассимиляция  $\text{CO}_2$  продолжала возрастать с увеличением освещенности. Для высших растений, выросших на естественном свете, насыщение реакций, по данным наших опытов, наступает при освещении порядка  $25-30 \cdot 10^3$  эрг/ $\text{см}^2 \cdot \text{сек}$  — интенсивности, близкой к компенсационному пункту фотосинтеза этих растений (Воскресенская, Гришина, 1961).

Основные сведения о характере восстановления  $\text{NO}_2$  на свету целыми фотосинтезирующими клетками получены с водорослями хлореллой и *Ankistrodesmus braunii* и в последнее время с синезелеными водорослями *Anabaena cylindrica*. В отличие от темнового, восстановление  $\text{NO}_2$  на свету у этих растений мало зависело от наличия кислорода в среде, и могло происходить в анаэробных условиях (Kessler, 1956, 1957, 1959; Damaschke, Lübbe, 1958; Hattori, 1962).

Для *A. braunii* — факультативного анаэроба — установлена так же способность восстанавливать  $\text{NO}_2$  атмосферным водородом при участии гидрогеназы (Kessler, 1956). Поэтому световое восстановление  $\text{NO}_2$  для этой водоросли имеет ряд специфических особенностей, интересных с точки зрения физиологии водоросли, но не распространяющихся на механизм фиксации  $\text{NO}_2$ .

остальными зелеными растениями. Тем не менее систематическое исследование светового восстановления  $\text{NO}_2$  проведено только с этой водорослью и хлореллой. Поэтому все представления о механизме восстановления  $\text{NO}_2$  на свету обычно ограничиваются ссылками на работы с этими растениями (Kessler, 1959; Gaffron, 1960; Jagendorf, 1962).

Особенность восстановления  $\text{NO}_2$  высшими растениями на свету до последнего времени изучена весьма недостаточно. До недавнего времени здесь, пожалуй, был твердо установлен лишь факт стимуляции восстановления нитрита светом (Колесников, 1950; Vanekko, Varnier, 1955; Mc Kee, 1962). Некоторые исследователи эту стимуляцию связывают с окислительно-восстановительными превращениями системы «гликоловая — глиоксилевая кислоты» (Колесников, 1950; Михлин, 1956). Однако результаты исследований с водорослями и с изолированными хлоропластами не противоречат и иной возможности — прямого восстановления нитрита с участием ферментативных систем восстановленных светом без одновременного окисления органического субстрата.

Вопрос о действии света на восстановление  $\text{NO}_2$  высшими растениями, важный сам по себе, для нас представлял особое значение в связи с выяснением роли света различного спектрального состава для отдельных стадий усвоения окисленных форм азота при фотосинтезе (Воскресенская и Гришина, 1961а, 1962).

Нитрит в виде натриевой (или калиевой) соли вводили в высечку листьев табака или конских бобов методом вакуум-инфилтрации. Концентрация вводимого в лист нитрита —  $0,01\text{ M}$ . Контроль — инфильтрация воды. После экспозиции в темноте или на свету (разной интенсивности и спектрального состава) листья фиксировали кипящей водой. При этом весь нитрит из листьев переходил в раствор; pH вытяжки из листьев не превышал  $5,0-5,5$ , что является оптимальным условием для восстановления  $\text{NO}_2$  (Kessler, 1959). О восстановлении нитрита судили по разности между количеством  $\text{NO}_2$ , оставшегося в листьях после экспозиции и до нее. Контроль (в зависимости от цели опыта) — листья, убитые сразу после инфильтрации или после выдерживания в темноте до полного освобождения межклетников. В каждом отдельном опыте оговаривается особо, что принималось за контроль. Определение нитрита производили методом Паркера (Parker, 1949).

Ниже приводятся результаты сравнения скорости восстановления  $\text{NO}_2$  в темноте и на свету (табл. 50). Количество введенного нитрита для табака и бобов было различно. Листья последних растений толще и обладают более крупными межклетниками. Поэтому при одинаковой площади листьев, взятых в опыт, количество  $\text{NO}_2$  в случае бобов было больше.

Таблица 50

Восстановление  $\text{NO}_2$  (в  $\gamma$  на  $100 \text{ см}^2$  листовой поверхности) на свету и в темноте листьями табака и конских бобов (Воскресенская, Гришина, 1962а)

Условия опыта	Время экспозиции, мин.	Количество		Время экспозиции, мин.	Количество		Время экспозиции, мин.
		оставшегося $\text{NO}_2$	восстановленного $\text{NO}_2$		оставшегося $\text{NO}_2$	восстановленного $\text{NO}_2$	
Т а б а к		Б о б ы  к о н с к и е		Т а б а к		Б о б ы  к о н с к и е	
Сразу после инфильтрации (контроль)	0	162,5	0	0	466,6	0	0
Темнота . . . . .	60	62,5	100	62	433,0	33	7
Свет (синий, $47 \cdot 10^3$ эрг/ $\text{см}^2 \cdot \text{сек}$ ) . . . . .	30	следы	162,5	100	120	93,0	373
							81

Из данных таблицы видна четкая активация светом восстановления  $\text{NO}_2$  для обоих растений. В темноте восстановление проходило значительно слабее, особенно у бобов конских. Для бобов (у которых сравнимы по времени варианты свет и темнота) видно, что освещение усиливало процесс в 10 раз. Однако на свету восстановление  $\text{NO}_2$  листьями бобов — процесс более медленный, чем у табака. У табака за 30 мин. экспозиции почти полностью восстановился введенный  $\text{NO}_2$ , у бобов за 2 часа — 81%. Различия в скорости восстановления, по-видимому, вызваны видовыми особенностями растений.

Как видно, свет резко ускоряет восстановление  $\text{NO}_2$  по сравнению с темнотой. Подобные наблюдения ранее были сделаны Колесниковым (1950). В дальнейшем при изложении собственных данных мы

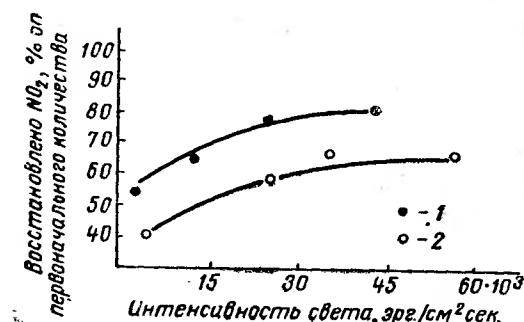


Рис. 36. Световая зависимость восстановления нитритов  
1 — синий свет, 2 — красный свет

будем пользоваться только процентным выражением количества введенного и восстановленного нитрита, поскольку абсолютные величины восстановленного нитрита при одинаковой концентрации вводимого  $\text{NO}_2$  и одинаковой площади листьев в опыте остаются удивительно стабильными для каждого растения.

Восстановление  $\text{NO}_2$  зависело как от интенсивности света, так и от его спектрального состава. Многократно проведенные опыты дали сходные результаты, указывающие на низкое световое насыщение реакции и на четкую активацию ее коротковолновыми лучами. Типичные данные представлены на рис. 36. Здесь прежде всего видны резкие различия в действии коротковолновой и длинноволновой радиации на восстановление  $\text{NO}_2$ . В любой точке световой кривой выявились преимущества синего света. Интересно напомнить в связи с этим, что подобное можно наблюдать также в случае поглощения кислорода и восстановления  $\text{NO}_3$ . В то же время восстановление  $\text{CO}_2$  (фотосинтез) имеет обратную зависимость. Следовательно, эти результаты указывают на противоположное действие качества света в отношении фиксации  $\text{CO}_2$  и восстановления других окисленных соединений.

Второй особенностью процесса оказалась его значительная активация по сравнению с темнотой даже очень слабыми интенсивностями света, лежащими в пределах компенсационного пункта фотосинтеза, и световое насыщение процесса при малых освещенностях. Для табака и бобов конских это наблюдалось при освещении порядка  $25-30 \cdot 10^3$  эрг/ $\text{см}^2 \cdot \text{сек}$ . Дальнейшее повышение интенсивности света практически не меняло скорости реакции. Вероятно, в зависимости от типа растения и его физиологического состояния абсолютные величины интенсивностей света, насыщающих процесс будут несколько меняться. Однако общее положение — световое насыщение реакции при небольших интенсивностях света и резкое отличие хода световой кривой восстановления нитрита от световой кривой восстановления  $\text{CO}_2$  и  $\text{NO}_3$  — сохранится. Последнее подтверждает сведения относительно раннего наступления светового плато для восстановления нитритов, обнаруженного у хлореллы (Kessler, 1959) и синезеленой водоросли *Anabaena* (Hattori, 1962).

Поскольку наши опыты проводились в атмосфере, содержащей  $\text{CO}_2$  и  $\text{O}_2$ , нельзя считать, что недостаток последних явился причиной, ограничивающей скорость фотохимической реакции. Что касается продукта восстановления  $\text{NO}_2$  гидроксиамина, то, по-видимому, это вещество не накапливалось в клетке, а перерабатывалось, сразу же вступая в обмен (Кретович и др., 1958). Поэтому вряд ли можно думать, что происходило отравление листа этим соединением. Остается предположить, что низкое плато определяется свойствами энзиматических реакций или систем, которые участвуют в восстановлении нитрита. Судя по действию спектрального состава света, эти системы, кроме того, поглощают свет в синей области.

Таким образом, скорость восстановления  $\text{NO}_2$  меняется в зависимости от условий освещения. Это указывает на близкую

связь процесса с фотохимической активностью зеленого листа. Однако можно было бы допустить, что эта связь не прямая, а опосредованная, т. е. что восстановление  $\text{NO}_2$  в листе высшего растения обязательно связано с превращением  $\text{CO}_2$  (как это имеет место для  $\text{NO}_3^-$ ) или с усилением окислительно-восстановительных процессов на свету, вызванных световым поглощением кислорода.

В связи с этими предположениями мы проверяли, необходим ли кислород и  $\text{CO}_2$  для восстановления  $\text{NO}_2$  на свету. В опытах менялась газовая фаза (воздух заменялся азотом или исключалась  $\text{CO}_2$ ). Рис. 37 указывает, что на свету изменение газовой фазы (почти полное исключение  $\text{CO}_2$  или кислорода)<sup>1</sup>, по существу, не меняет скорости восстановления  $\text{NO}_2$ . Найденные различия незначительны и незакономерны. Значит, в отличие от темноты, кислород на свету и для высших растений (обязательных аэробов) не является обязательным для восстановления нитритов; отсутствие  $\text{CO}_2$  также не лимитировало процесс.

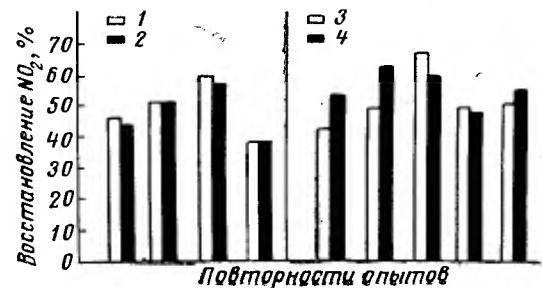


Рис. 37. Восстановление  $\text{NO}_2$  в атмосфере  $\text{N}_2$  и воздуха (с  $\text{CO}_2$  и без нее)  
1 — — $\text{CO}_2$ ; 2 — + $\text{CO}_2$ ; 3 — воздух; 4 —  $\text{N}_2$

В отношении действия  $\text{CO}_2$  наши результаты несколько отличаются от данных, полученных для *Ankistrodesmus braunii* (Kessler, 1959), для которой присутствие  $\text{CO}_2$  не оказывало влияния при  $4^\circ$  и удваивало скорость процесса при  $15^\circ$ . Вероятно, что различия между нашими результатами и данными Кесслера вызваны неодинаковыми сроками экспозиции. В наших опытах экспозиция не превышала 15—20 мин., а в случае *Ankistrodesmus braunii* — продолжалась до часу. Очевидно, чем выше концентрация  $\text{NO}_2$  и продолжительнее опыта, тем больше будет сказываться положительное действие  $\text{CO}_2$ , связанное с тем, что продукт восстановления  $\text{NO}_2$  может быть

<sup>1</sup> Работа проводилась с очищенным азотом, и загрязнение  $\text{N}_2$  кислородом не превышало 0,3—0,5%.

нейтрализован в виде органических соединений, т. е. будет выведен из сферы реакции. По крайней мере, к таким же выводам приходит, на основании своих экспериментов, Хеттори (Hattori, 1962).

Косвенно этот вывод подтверждают также результаты с водорослью *A. braunii*. При  $4^\circ$ , когда метаболические превращения  $\text{CO}_2$  были подавлены низкими температурами, скорость восстановления  $\text{NO}_2$  в среде с  $\text{CO}_2$  и без  $\text{CO}_2$  выравнивалась (Kessler, 1959).

Таким образом, ряд факторов — различные скорости восстановления нитрита на свету и в темноте, зависимость реакции от интенсивности и спектрального состава света, необходимость аэробных условий и независимость от наличия  $\text{CO}_2$  — указывает на отличие механизма восстановления  $\text{NO}_2$  на свету от обычного темнового; связанного с дыхательными превращениями, и свидетельствует о прямой связи процесса с фотохимическими реакциями хлоропласта.

И действительно, если восстановление нитритредуктазы происходит за счет фотохимической реакции, очевидно, отпадает надобность во всех окислительных превращениях дыхательного цикла как источника энергии для восстановления  $\text{NO}_2$  (Колесников, 1959). Тогда становится понятной нечувствительность реакции к присутствию кислорода на свету.

Показано, что в темноте для восстановления нитритов необходимы макроэрги фосфора (Nicholas, 1959). Однако для высших растений связь между восстановлением  $\text{NO}_2$  на свету и фотофосфорилированием не показана. Впрочем, и для низших эта связь выводится только из различной чувствительности реакции на свету и в темноте, к ДНФ (Kessler, 1953, 1955). Мы попытались проверить участие фотофосфорилирования в восстановлении  $\text{NO}_2$  с помощью  $\text{NaN}_3$ , ДНФ, а также введения в лист АТФ. Как известно, первый яд в больших концентрациях является ядом для ферментов, содержащих тяжелые металлы. В более слабых концентрациях он, как и ДНФ, разобщает реакции дыхания и окислительного фосфорилирования (Stenlid, 1949; Dicet, Rosenberg, 1962). Инфильтрация в лист азота натрия в различных концентрациях позволяет более или менее избирательно выключать компоненты цитохромной системы, металлы содержащие флавиновые системы и фотофосфорилирование. Последнее ингибировалось также с помощью ДНФ. Концентрации  $\text{NaN}_3$ , действующие на различные системы, определялись по интенсивности поглощения кислорода в темноте (дыхание). Как показала проверка интенсивности дыхания у контрольных и опытных листьев при действии  $\text{NaN}_3$ , концентрация азота натрия  $1 \cdot 10^{-3} M$  стимулирует дыхание.

Большие концентрации ( $5 \cdot 10^{-3}$  и  $1,5 \cdot 10^{-2} M$ ) подавляли дыхание. Степень подавления увеличивалась с увеличением кон-

центрации яда. По-видимому, полученные данные указывают на то, что малая концентрация ( $1 \cdot 10^{-3} M$ ) действует как разобщающий яд, т. е. подавляет окислительное фосфорилирование, а большая — ингибирует, кроме того, деятельность металлоодержащих ферментов.

Таблица 51

Действие  $\text{NaN}_3$  и ДНФ на восстановление  $\text{NO}_2$  на синем свету ( $47 \cdot 10^3 \text{ эрг}/\text{см}^2 \cdot \text{сек}$ ) (Воскресенская, Гришина, 1962а)

Условия опыта	Восстановление $\text{NO}_2$ , %		Подавление реакции по отношению к контролю, %
	за экспозицию	по отношению к контролю	
$\text{NO}_2$ (контроль) . . . . .	65	100	0
$\text{NO}_2 + \text{NaN}_3 7 \cdot 10^{-4}$ . . . . .	61	93	7
$\text{NO}_2$ (контроль) . . . . .	61	100	0
$\text{NO}_2 + \text{ДНФ } 1,5 \cdot 10^{-4}$ . . . . .	57	93	7
$\text{NO}_2 + \text{ДНФ } 2 \cdot 10^{-4}$ . . . . .	44	72	28

При исследовании действия ингибиторов на восстановление нитритов яды вводились в лист одновременно с нитритом (рН растворов во всех случаях доводился до 4,8). В темноте наименьшая концентрация  $\text{NaN}_3$  ( $7 \cdot 10^{-4} M$ ) подавляла восстановление на 40 %. Концентрация  $1,5 \cdot 10^{-4} M$  полностью подавляла процесс. ДНФ в концентрации  $1,5 \cdot 10^{-4} M$  ингибировал восстановление нитритов на 30 %, в концентрации  $2 \cdot 10^{-4} M$  на 50 %. Таким образом, в темноте в листьях зеленых растений процесс действительно совершается с участием макроэргических фосфатов, поскольку подавление окислительного фосфорилирования ингибирует реакцию. Эти результаты совпадают с данными, полученными для водорослей (Kessler, 1959; Hattori, 1962). Так как при подавлении дыхания с помощью отравления терминальных оксидаз (опыты с высокими концентрациями азиды натрия) восстановление нитритов в темноте уменьшалось, это указывает на тесную связь процесса с активностью дыхания (Воскресенская Гришина, 1962а).

На свету восстановление  $\text{NO}_2$  оказалось менее чувствительным к воздействию ядами. В этом случае те же концентрации яда подавляли реакцию в 4—5 раз меньше, чем в темноте (табл. 51).

Поскольку азид натрия разлагается при действии света, особенно синего, яд, так же как и в опытах с поглощением кислорода, инфильтрировался в листья заранее, и листья выдерживались в темноте для освобождения межклетников от воды. Таким образом измерялось «последействие»  $\text{NaN}_3$  на процесс. Конечно,

действие яда накладывало отпечаток на темновой процесс восстановления  $\text{NO}_2$ . Поэтому, чтобы оценить величину темновых превращений в присутствии яда и без него, каждый раз ставился специальный вариант опыта: определение  $\text{NO}_2$  (сразу после инфильтрации и после выдерживания в темноте для освобождения межклетников). При расчете активности реакции на свету контролем служил вариант после освобождения межклетников.

Известна устойчивость фотосинтетического фосфорилирования к действию ДНФ и  $\text{NaN}_3$  (Агноп, 1956; Арнон, 1962; Эйдельман, 1962). Поэтому малая чувствительность восстановления  $\text{NO}_2$  к этим ядам на свету не неожиданна и свидетельствует об участии в реакции макроэргических фосфатов, создаваемых в результате фотосинтетического фосфорилирования (Арнон, 1962). Окислительное же фосфорилирование на свету не влияет на восстановление  $\text{NO}_2$ . Это тем более вероятно, поскольку восстановление  $\text{NO}_2$  на свету не требует наличия кислорода. Подобные результаты о большей устойчивости восстановления  $\text{O}_2$  к ДНФ на свету по сравнению с темнотой были получены Хеттори для синезеленой водоросли (Hattori, 1962).

В дальнейших опытах мы избегали работы с ДНФ в связи с тем, что введение ДНФ на свету иногда не только не снижало восстановление  $\text{NO}_2$ , но, наоборот, усиливала его. При этом активация наблюдалась в тех случаях, когда употреблялась высокая концентрация ДНФ. Так, хотя в большинстве случаев концентрация  $2,5 \cdot 10^{-4} M$  и вызывала подавление реакции, однако меньше, и иногда значительно, чем  $1,5 \cdot 10^{-4} M$ . Такие результаты можно связать со свойством ДНФ быть переносчиком электронов в фотосинтетическом фосфорилировании (Весселс, 1962). В присутствии  $\text{NO}_2$  процесс осложняется еще тем, что продукт восстановления нитрита — гидроксиленмин может реагировать с ДНФ, давая оксим, т. е. ДНФ выступает не как ингибитор, а как метаболит процесса восстановления нитрита. В связи с указанным вместо ДНФ употреблялся  $\text{NaN}_3$  в различных концентрациях. В табл. 52 представлены результаты опыта, которые свидетельствуют о том, что подавленное азидом натрия восстановление  $\text{NO}_2$  (в концентрации, действующей только на фосфорилирование) можно снять введением АТФ. Более того, реакция после этого даже несколько усиливается по сравнению с контролем.

Введение АТФ без яда в темноте и на свету практически не меняло скорость восстановления нитрита (это показано во многих опытах), вероятно, в связи с тем, что в листе имелось достаточно количества собственной АТФ для нормального протекания реакции в контроле (Курсанов, Бровченко, 1961). При введении АТФ действие азиды снимается не только на свету, но и в темноте, однако в последнем случае — в меньшей мере.

Значит, действительно, в восстановлении нитрита листьями высших растений и в темноте и на свету участвуют макроэргичес-

Таблица 52

Значение АТФ для восстановления нитрита на свету у бобов конских  
(Воскресенская, Гришина, 1962а)

Опыт	Условия опыта	NO <sub>2</sub> восстановленный		
		за экспозицию, %	% от контрольных вариантов (опыты 1 и 3)	% от контроля (опыт 1)
1	NO <sub>2</sub> (контроль к опыту 2) . . . . .	56	100	100
2	NO <sub>2</sub> + NaN <sub>3</sub> . . . . .	43	76	76
3	NO <sub>2</sub> + АТФ (контроль к опыту 4) . . . . .	51	100	92
4	NO <sub>2</sub> + АТФ + NaN <sub>3</sub> . . . . .	66	130	117

Примечание. NaNO<sub>2</sub>— $1 \cdot 10^{-2}$  M; NaN<sub>3</sub>— $1 \cdot 10^{-3}$  M; АТФ (75% активности)— $4,5 \cdot 10^{-3}$  M, pH—4,8; свет—синий,  $47 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup>.сек; экспозиция—30 мин.

кие фосфорные соединения, в нашем случае—АТФ. На свету, по ряду признаков, АТФ образуется в результате фотосинтетического фосфорилирования. Удивительно сходство между восстановлением нитритов и фотосинтетическим образованием АТФ в целом листе: оба имеют низкое плато светового насыщения в целой клетке, независимы (или мало зависимы) от кислорода, малочувствительны к ядам и низким температурам (Kessler, 1959; Воскресенская, Гришина, 1962; Agpon, 1961; Hattori, 1962). Возможно поэтому, что основной причиной низкого уровня светового плато восстановления NO<sub>2</sub> является низкое световое насыщение фотофосфорилирования в целой клетке (Jagendorf, 1962).

Следует обратить внимание на то, что концентрация азидом  $2,5 \cdot 10^{-3}$  M на синем свету вызывает торможение реакции, часть которого не снимается добавлением АТФ (остается 16% ингибирования). Еще более глубокое отравление (при концентрации яда в  $5 \cdot 10^{-3}$  M) подавляет на свету реакцию до 50%. В этом случае введение АТФ снимает лишь половину (45%) торможения. Очевидно, это обстоятельство указывает на то, что, кроме образования АТФ, были затронуты иные системы, участвующие в восстановлении NO<sub>2</sub>. Как известно, в последнее время допускается участие цитохромов в восстановлении NO<sub>2</sub> (Taniguchi, Катеп, 1963). Предполагали, что активность восстановления NO<sub>2</sub> на красном и синем свету будет различна, если азидом подавляются системы, поглощающие коротковолновые лучи и участвующие в восстановлении NO<sub>2</sub>. Поэтому активность восстановления NO<sub>2</sub> в разных условиях освещения сравнивали при введении в лист NaN<sub>3</sub> в четырех различных концентрациях:  $7 \cdot 10^{-4}$ ,  $1 \cdot 10^{-3}$ ,  $5 \cdot 10^{-3}$  и  $1,5 \cdot 10^{-2}$  M. Действительно, оказалось, что степень подавления восстановления NO<sub>2</sub> на красном свету мало зависела от концентрации яда. При увеличении концентра-

ции яда почти в 50 раз подавление возрастало от 20 до 30%. На синем же свету при наивысшей концентрации яда подавление доходило до 70%, тогда как при малых концентрациях яда оно было слабее, чем на красном свету (рис. 38).

Возможно, что с участием в восстановлении нитритов редуктаз флавопротеиновой (или цитохромной) природы, поглощающих свет в коротковолновой области, связана большая устойчивость восстановления нитрита к слабым концентрациям яда на синем свету (рис. 38, первая концентрация— $7 \cdot 10^{-4}$  M). Увеличение концентрации яда сглаживало различия (см. концентрация  $1 \cdot 10^{-3}$  M). Большее, чем на красном свету, отравление восстановления NO<sub>2</sub> азидом натрия высоких концентраций можно объяснить тем, что синий свет активирует фотохимическое поглощение кислорода, нечувствительное к воздействию азидом натрия (см. гл. III). Если в таких особых условиях возникает конкуренция между NO<sub>2</sub> и O<sub>2</sub> за фотохимический восстановитель (что в обычных условиях выражено слабо), тогда эта конкуренция и может быть причиной подавления восстановления NO<sub>2</sub>.

Основная цель, которую мы преследовали при рассмотрении результатов восстановления NO<sub>2</sub> зеленой клеткой на свету,— это показать, что процесс отличен от темнового, и проанализировать, какие новые возможности вносит использование света в восстановление NO<sub>2</sub>. Нам представляется, что ряд отличительных особенностей процесса (осуществление реакции в условиях анаэробиоза, в отсутствие CO<sub>2</sub>, отношение к воздействию ядов и световая зависимость процесса) бесспорно указывает на то, что восстановление NO<sub>2</sub> на свету—фотохимический процесс, т. е. для реакции используются электрон и протон, полученные в результате поглощения света хлорофиллом. Иными словами, свет является условием для возбуждения всех последующих ферментативных реакций восстановления NO<sub>2</sub>. Активация процесса синим светом указывает на участие ферментных систем, возбуждаемых синим светом, в переносе электрона (водорода) к восстанавливаемому субстрату (NO<sub>2</sub>).

Когда мы говорим, что восстановление NO<sub>2</sub> в целой зеленой клетке на свету происходит с участием ТПН·Н, восстановленного за счет световой энергии, нитритредуктазы и фотосинтети-

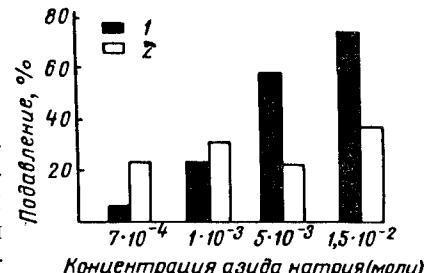


Рис. 38. Подавление восстановления нитритов азидом натрия (в % к контролю) (Воскресенская, Гришина, 1962а)

1 — синий свет; 2 — красный свет

ческого фосфорилирования, то в этом случае речь идет лишь об изменении источника энергии для восстановления кофакторов — замене дыхательной энергии на фотосинтетическую. Такой же механизм предложен и для хлоропластов (Hageman, Fleisher, 1960). Исследователи получили энзиматическую систему листьев тыквы и кукурузы, которая быстро и количественно превращала  $\text{NO}_2$  до  $\text{NH}_3$  в присутствии или частично восстановленного бензилвиологеном субстрата, или восстановленного ТПН и катализитических количеств бензилвиологена.

Таблица 53

Активность восстановления нитритов хлоропластами  
(Rapéque et al., 1963)

Условия опыта	$\text{NO}_2$ восстановленный, мкл	$\text{O}_2$ выделившийся, мкл
Полная смесь . . . . .	1,2	1,7
Удален ферредоксин . . .	0,3	0,2
Удален экстракт . . . . .	0,7	0,7
Экстракт прокипячен . . .	0,3	0,4

Однако в последнее время показаны возможности еще более прямой связи реакции восстановления нитрита с фотохимическими реакциями хлоропласта. Недавно найдено, что  $\text{NO}_2$  может восстанавливаться до  $\text{NH}_3$  на свету гранами шпината в присутствии экстракта хлоропластов и ферредоксина (Rapéque, Del Campo, Losada, 1963) — электронтранспортной системы хлоропластов<sup>1</sup>. Работа проводилась в атмосфере аргона. Ток электронов от воды в эксперименте подавлялся. В качестве переносчиков электронов от ферредоксина к  $\text{NO}_2$  прибавлялись аскорбат натрия и 2-6-дихлорфенолидофеонол;  $\text{NO}_2$  являлся конечным акцептором тока электронов в своего рода нециклическом фотофосфорилировании. Опыты показывают, что значительное восстановление  $\text{NO}_2$  происходило даже без прибавления экстракта хлоропластов, только в присутствии ферредоксина.

Когда работа была повторена без прибавления дихлорфенолидофеона (и без подавления тока ё от воды) с очищенным от ферредоксина экстрактом хлоропластов, были получены еще более яркие данные, свидетельствующие о том, что добавленный ферредоксин может восстанавливать нитрит до  $\text{NH}_3$  без участия ТПН·Н (табл. 53).

Из данных табл. 53 ясно видно, что один ферредоксин без экстракта хлоропластов восстанавливает более 50% нитрита (по сравнению с полной смесью). Весьма вероятно, что и в неповреж-

денной клетке механизм восстановления нитритов на свету происходит частично, помимо образования ТПН·Н. Возможно, различия в восстановлении  $\text{NO}_2$  и  $\text{NO}_3$  в зеленой клетке связаны именно с этим обстоятельством — необходимостью ТПН·Н для восстановления  $\text{NO}_3$  и отсутствием этой необходимости для  $\text{NO}_2$ .

### Восстановление на свету гидроксиламина

Восстановление другого промежуточного продукта обмена нитратов в листе — гидроксиламина — и включение его в аминокислоты исследовано для темнового метаболизма. Превращения гидроксиламина связаны с активностью дыхательного процесса и осуществляются с участием редуктаз и пиридиннуклеотида. Возможные участники восстановления  $\text{NH}_2\text{OH}$  в темноте показаны на вышеприведенной схеме (табл. 48).

Весьма существенные данные по метаболизму гидроксиламина в высших растениях получены Кретовичем и его учениками (Кретович, 1962). Доказано, что этот промежуточный продукт восстановления нитратов, так же как и остальные формы минерального азота, является источником для синтеза аминокислот. На основании полученных результатов постулированы возможные пути превращения гидроксиламина в аминокислоты — через оксимы или через предварительное восстановление гидроксиламина в аммиак.

Изучение действия света на восстановление гидроксиламина осложняется тем, что соединение является ядом для ряда фотосинтетических реакций, ингибирует реакцию Хилла и выделение  $\text{O}_2$  (Gaffron, 1960; Хурдук, Незговорова, 1961). Поэтому в первую очередь исследовано действие его как ингибитора отдельных звеньев механизма фотосинтеза, а не как метаболита азотного обмена на свету. Тем не менее весьма вероятно предположить восстановление гидроксиламина за счет световой энергии, так же как и других окисленных форм азота, в случае если гидроксиламин берется в физиологических концентрациях, не ингибирующих реакции получения фотовосстановителя. Для синезеленой водоросли *Anabaena cylindrica* показано, наряду с восстановлением на свету  $\text{NO}_3$  и  $\text{NO}_2$ , также восстановление гидроксиламина (Hattori, 1962). Восстановление всех окисленных форм азота происходило до  $\text{NH}_3$  в среде без  $\text{CO}_2$ . При этом гидроксиламин оказался наиболее быстро восстанавливающимся веществом. Активность процесса восстановления трех окисленных азотистых соединений была такова:  $\text{NO}_3 < \text{NO}_2 < \text{NH}_2\text{OH}$ . Восстановление не зависело от дыхательного, темнового метаболизма (судя по отношению к действию ДНФ, присутствию  $\text{O}_2$ ). Яд, подавляющий реакцию Хилла, тормозил в одинаковой мере восстановление  $\text{NO}_2$  и  $\text{NH}_2\text{OH}$ .

<sup>1</sup> Подробно свойства ферредоксина см. в гл. III.

### 3. ДЕЙСТВИЕ СВЕТА НА УСВОЕНИЕ ЗЕЛЕНОЙ КЛЕТКОЙ ДРУГИХ МИНЕРАЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Как показывает приведенный выше материал, основой фотобиохимических процессов, связанных с восстановлением нитратов, является использование световой энергии. Данные о действии спектрального состава света ограничиваются результатами по восстановлению нитратов. Однако возможность использования энергии света на усвоение минеральных соединений и различные биосинтезы — вопрос настолько существенный для жизнедеятельности растений, что мы остановимся еще на нескольких примерах, иллюстрирующих эту возможность.

Сейчас все больше и больше такая возможность становится реальной. Однако 3—5 лет назад осуществление реакций, о которых идет речь, безоговорочно относились за счет дыхательного метаболизма и положительное действие света рассматривалось, как результат активации общего метаболизма (связанного с усилением дыхания в условиях широкого притока перерабатываемого материала — сахаров).

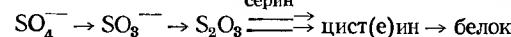
#### Поступление в клетку на свету сульфатов и хлоридов и включение серы в органические соединения

Поступление сульфатов в клетку и их превращение, связанное с синтезом серусодержащих веществ в темноте, происходит аналогично усвоению нитратов за счет реакций дыхания (Сабинин, 1955; Lundegardh, 1960 и др.). Механизм процессов при этом, очевидно, сходен как для зеленых, так и для незеленых растений.

Образование полностью восстановленных соединений серы из неорганического сульфата — уникальное свойство зеленых растений и некоторых микроорганизмов. Восстановление сульфатов до сульфидрильного уровня и внедрение в аминокислоты, пептиды и белки связано с образованием аминокислот — цистина, цистеина, метионина. Все животные и некоторые микроорганизмы зависят от растительных и микробиологических источников цистеина и метионина. Благодаря своей высокой реакционной способности сульфидрильные группы играют существенную роль в митозах и активности значительного количества ферментов и кофакторов, а также выполняют структурирующую функцию в белке. В некотором отношении восстановление сульфатов сравнимо с восстановлением нитратов. Однако, так же как и для нитратов, процесс хорошо изучен только на микроорганизмах.

Особенности усвоения сульфатов высшими зелеными растениями, особенно на свету, изучены еще меньше, чем восстановление нитратов.

Предполагаемый путь внедрения серы (для *Escherichia coli*)



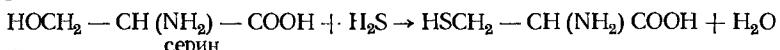
показан с применением  $\text{S}^{35}\text{O}_4$  (Wilson, 1962).

Доказательства того, что сульфит — промежуточный продукт восстановления сульфата и для высших растений, получены в опытах с бобами. При инфильтрации в отрезанные листья бобов  $\text{S}^{35}\text{O}_4$  было обнаружено образование сульфита. Введение немеченного сульфита тормозило образование меченого из  $\text{SO}_4$ . Обнаружен также меченный цистеин. На бесклеточных экстрактах дрожжей была показана необходимость АТФ и ТПН·Н для восстановления  $\text{SO}_4$  до  $\text{SO}_3$ . Механизм восстановления сульфата связан с действием ферментов сульфатаденилтрансферазы, аденилсульфат-3-фосфотрансферазы и фракцией C-SS (дисульфид-белок, который восстанавливается в присутствии ТПН·Н коэнзимом A). Последовательность восстановления сульфата следующая:

- 1)  $\text{SO}_4^{2-} + \text{ATF} \rightleftharpoons \text{аденозин-5-фосфосульфат} + \text{диfosfat};$
- 2)  $\text{аденозин-5-фосфосульфат} + \text{ATF} \rightleftharpoons \text{3-фосфоаденозин-5-фосфосульфат} + \text{АДФ}$
- 3) фракция C-SS + ТПН·Н  $\rightleftharpoons$  фракция C( $\text{SH}_2$ ) + ТПН $^+$ ;
- 4) фракция C( $\text{SH}_2$ ) + 3-фосфоаденозин-5-фосфосульфат  $\rightleftharpoons$  фракция C-SS + 3 фосфоаденозин-5-фосфат +  $\text{CO}_3^{2-}$ .

Восстановление сульфата до сульфита, очевидно, включает также флавиновый компонент (Asahi, Bandurski, Wilson, 1961).

Восстановление сульфита изучено мало даже у микроорганизмов. Оно происходит, по-видимому, с участием ТПН·Н и флавинадениндинуклеотида. Образование цистеина происходит по реакции



и катализируется ферментом серинсульфогидразой. В реакции необходимо участие перидоксальфосфата.

Поскольку сульфат вступает в превращения в виде «активированного сульфата» в соединении с АТФ (аденозин-5-фосфосульфат и фосфоаденозин-5-фосфосульфат) (Wilson, 1962), т. е. в виде смеси ангидридов сульфо- и фосфорной кислоты, он обладает высоким энергетическим потенциалом. Эта система совершенно не изучена у высших растений, но выделена из экстракта хлореллы,росшей на  $\text{S}^{35}$  сульфате (Schiff, 1959).

Хотя уже *a priori* можно предполагать, что на свету усвоение сульфатов идет аналогично усвоению других окисленных соединений, однако прямые доказательства этой аналогии начали появляться только в последнее время. Для большого числа водных и наземных высших растений (*Thidium tamaricinum* — водный

мох, *Vallisneria gigantea*, пшеница и ячмень — зеленая и альбиносная формы), предварительно голодавших по сере, проверялось действие света и темноты на поступление радиоактивной серы и включение ее в органические серусодержащие вещества. Было показано, что у зеленых растений на свету темновой механизм поглощения серы подавляется и заменяется световым. Реакция обратима. Доказательством замены являлось различное отношение к действию ядов на дыхание и фосфорилирование (нечувствительность к действию азидом натрия и динитрофенолом). В зависимости от условий освещения и активности фотохимического механизма световое поглощение сульфата было и выше, и ниже, чем в темноте. Предполагают, что изменение механизма усвоения  $\text{SO}_4$  на свету у зеленых растений обусловлено работой хлоропластов, возможно с участием цитохрома  $f$ , и может быть связано с фотосинтетическим фосфорилированием (Kylin, 1960, 1961).

Действие такого яда, как азид натрия, на восстановление сульфата существенно отличается на свету от воздействия в темноте. Как и в случае восстановления нитритов (см. выше), азид лишь незначительно тормозит поступление и превращение сульфатов на свету, а в некоторых случаях не оказывает влияния вовсе или даже активирует его. То же относится к действию ДНФ. Хлормеркурибензоат — яд на SH-группы, и фотофосфорилирование одинаково действует на свету и в темноте.

Данные опытов с альбиносными листьями ячменя свидетельствуют о том, что изменение чувствительности некоторых ферментных систем к ядам под влиянием света не является результатом увеличения активности ферментов дыхательного цикла, а обусловлено фотохимическими реакциями хлоропласта. У альбиносов поступление серы в клетку на свету происходит по дыхательному типу, т. е. потребляются электрон и водород, полученные в результате окислительного дегидрирования метаболитов (Kylin, 1960). Подобные результаты сходны с полученными нами для светового поглощения кислорода зелеными и незелеными листьями (см. гл. III).

Фромажо обнаружил, что свет стимулирует восстановление сульфатов у листьев табака (Fromageot, цит. по Wilson, 1962).

Для хлореллы также найдена стимуляция поглощения сульфатов светом (Wilson, 1962).

В опытах с морской водорослью *Fucus vesiculosus* показано очень быстрое (за секунды) и активное поглощение  $\text{S}^{35}$  сульфата. Поглощение на свету около 10 000 лк происходило быстрее, чем в темноте. Поглощенная сера весьма активно включалась в серусодержащие органические вещества, главным образом фукоидин (Bidwell, Ghosh, 1963).

Доман (1957) сравнивал восстановление сульфатов на свету и в темноте зелеными листьями (после того как сульфат заранее насасывался в лист в темноте). Вхождение радиоактивной соли

сульфата в органические соединения серы листа проходило активнее на свету. Восстановление сульфатов связывается с использованием фотохимического восстановителя. Положительной корреляции между количеством органической серы и сахарами не найдено. Присутствие  $\text{CO}_2$  также не оказывало существенного влияния на восстановление серы. Из этих опытов можно сделать вывод, что увеличение радиоактивности восстановленной белковой серы у освещенных листьев по сравнению с затененными зависит в первую очередь от поглощения света хлорофиллом, а не от фотосинтетической ассимиляции  $\text{CO}_2$  (Доман, 1957). Однако поглощение сульфатов уценедесмус усиливалось на свету в присутствии  $\text{CO}_2$  (Kylin, 1964). Кроме того, есть ряд работ, в которых констатировано активирующее действие света на поступление и усвоение сульфатов.

Однако отличительной особенностью усвоения сульфатов на свету является в первую очередь не стимуляция поглощения, а появление индуцированного светом механизма поглощения и усвоения сульфатов. На основании результатов работы Кейлина можно считать, что на свету возникает такой механизм и что поступление в зеленую клетку сульфатов связано с двумя механизмами — «темновым» и «световым». Кейлин указывает, что в зависимости от условий освещения эти механизмы могут в неповрежденной клетке в какой-то мере конкурировать между собой (Kylin, 1960). Следует подчеркнуть, что в данном случае свет действует на такой, казалось бы, отдаленный территориально от фотохимического аппарата фотосинтеза процесс, как поступление ионов солей в зеленую клетку. Тем не менее даже и поступление может осуществляться за счет использования энергии, поглощенной хлорофиллом.

Световая зависимость процесса накопления органической серы может быть легко обоснована тем, что содержащие серу белки широко распространены и являются высокоактивными компонентами метаболизма растительной клетки и связаны с любыми ее органеллами, в том числе и с хлоропластами.

Пока трудно говорить о локализации синтеза сульфосоединений в целой клетке. Однако предполагают, что в фотосинтетических структурах могут происходить интенсивные превращения сульфатов. Уже давно известно, что ион бисульфита тормозит фотосинтетическую фиксацию  $\text{CO}_2$ . Опыты, проведенные с применением  $\text{C}^{14}\text{O}_2$ , показали, что акцепторы  $\text{HCO}_3$  и  $\text{HSO}_3$  в некотором отношении идентичны (Benson, 1961).

SH-группы небелковой серы являются компонентами катализитических систем хлоропласта: дегидрогеназы фосфоглицеринового альдегида (Turner et al., 1958), липоевой кислоты (Benson, 1961), ферредоксина. Имеются экспериментальные попытки отождествить гипотетический фотовосстановитель с сульфолипидами хлоропластов (Miyachi et al., 1962). Вопрос о значении восстановленной серы для механизма фотосинтетической фиксации

$\text{CO}_2$  как кофактора различных ферментных систем и как возможных, наряду с фосфорсодержащими соединениями, аккумуляторов энергии, в последнее время особенно интенсивно изучается Бенсоном с сотр. (Nissen, Benson, 1961). Показано, что меченая сера сульфата на свету очень быстро входит в состав вещества хлореллы, обладающего свойствами липидов. При фотосинтезе сульфолипид метится через 30 сек. Путь образования его de novo из  $\text{CO}_2$  и  $\text{SO}_3$  предполагают аналогичным синтезу триозофосфата (Benson, 1961; Бенсон, 1962). Интенсивность включения метки зависит от снабжения водорослей фосфором. Структура этого сульфолипида сходна с  $\beta$ -галактозил-диглицеридом (Бенсон, 1962). В молекуле сульфолипида содержится сульфоновая группа  $\text{SO}_4\text{H}$ , которая играет важную роль в метаболизме растений и животных. Анионная природа сульфолипида хлоропласта, по мнению Бенсона, может являться основой для ориентации на поверхностях частей молекул, имеющих ионные связи. Таким образом, Бенсон приписывает большую роль биосинтезу сульфосоединений в хлоропласте, полагая, что они выполняют очень широкие функции как структурирующие вещества, возможно, аккумуляторы энергии и регуляторы метаболизма хлоропласта (Benson, 1961; Бенсон 1962).

Асахи (Asahi, 1964) исследовал механизм восстановления сульфатов в суспензии фрагментов хлоропластов из листьев шпината. Восстановление сопровождалось образованием аденоzin-5-фосфосульфата из АТФ и сульфата и стимулировалось добавкой фракции C—SS. Таким образом, механизм был подобен найденному для дрожжей, однако восстановление требовало света, из чего Асахи заключает, что восстановление происходило с участием фотовосстановителя (ТПН·Н).

Упомянутыми работами, пожалуй, ограничиваются исследования действия света на поступление и превращение серы в зеленых растениях. Тем не менее ряд общих отличительных моментов в усвоении окисленной серы и азота на свету, очевидно, указывает на близкий для этих элементов механизм усвоения. В то же время остается недостаточно выясненной роль фотофосфорилирования в восстановлении сульфатов, не изучена световая зависимость процесса. Впрочем, можно ожидать, что спектр действия света на поступление и метаболизм серы, как это установлено для фотосинтетического восстановления других веществ, будет подобен спектру поглощения хлорофилла, так как изменение самого характера поглощения серы на свету связано с появлением в растении этого пигмента и развитием фотосинтетической функции (Kylin, 1960, 1961).

Спектральный состав света, вероятно, может изменять эффективность данного процесса так же, как это показано и для других окисленных соединений. По крайней мере, присутствие в листе сульфата снижает фотосинтетическую фиксацию  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  в коротковолновых лучах, в то время как в длинноволновых

такого эффекта не обнаруживается или же он значительно менее существен (Воскресенская, Гришина, 1962).

Хотя хлориды, в отличие от нитратов и сульфатов, не требуют восстановления и не включаются в состав органических соединений, они, как известно, являются существенными регуляторами метаболизма, в частности фотосинтетического (как кофактор ферментативных реакций). Поэтому мы несколько остановимся на особенностях поступления хлоридов в зеленую клетку на свету и в темноте. Действие света на поступление хлоридов в клетки зеленого листа обстоятельно исследовано для водного растения валлиснерии (Van Lookerent, Sampragne, 1957). Зависимость процесса от интенсивности света близко совпадает с найденной для нитритов. Спектр действия реакции подобен спектру действия хлорофилла. Поглощение хлора на свету не зависит от наличия  $\text{CO}_2$ . Различная чувствительность к действию ядов на терминалные оксидазы дыхания на свету и в темноте ( $\text{CO}$ ,  $\text{KCN}$ ,  $\text{NaN}_3$  и др.) позволяет расчленить, также как для сульфатов, два вида поглощения хлора — темновое и световое. «Темновой» тип поглощения на свету, как и в опытах Кейлина (Kylin, 1960) с  $\text{SO}_4$ , ингибируется светом.

Следовательно, при поступлении хлоридов в зеленую клетку на свету также возникают особенности, вызванные наличием фотосинтетического аппарата. Опять-таки, как в случае сульфатов, действие световой энергии распространяется на всю клетку, т. е. приходится предполагать миграцию электрона, полученного в световой реакции, по катализитическим системам не только хлоропласта, но и целой клетки.

Мы не касаемся вопроса поступления фосфора в клетку и его участия в метаболизме. Световая зависимость образования органического фосфора и его участие в фотосинтетическом метаболизме хлоропласта сами по себе не вызывают сомнения, также как не вызывает сомнения, благодаря блестящим работам Арнона и его школы (Arnon, 1961; Арнон, 1962), наличие у фотосинтезирующих организмов нециклического и циклического фотофосфорилирования. Вопрос о специфике образования АТФ на свету в фотосинтезирующих организмах, роли АТФ в фотосинтезе давно перерос рамки частного вопроса — действие света на фосфорный обмен.

Не имея собственного экспериментального материала по этому вопросу и считая его настолько тщательно разработанным в ряде сводок и монографий (Simonis, 1960; Эйдельман, 1962; Jagendorf, 1962; Сисакян, Бекина, 1964 и др.), что беглое перечисление сделанного не внесет дополнительной ясности в существование вопроса, мы не остановились на его обсуждении.

\* \* \*

Данные о поступлении и восстановлении некоторых минеральных веществ на свету в зеленые клетки указывают на то, что помимо возможного косвенного влияния (изменения проницаемости протоплазмы и дыхания) свет оказывает прямое влияние на эти процессы — не через усиление дыхания, а благодаря образованию фотохимического восстановителя. Использование фотохимического восстановителя взамен субстратного на различные реакции метаболизма, очевидно, может происходить не только внутри хлоропласта, но с участием особых переносчиков — и за его пределами, в клетке в целом (Курсанов, 1962). Хлоропласт при этом должен играть роль генератора, запасающего энергию (подобно митохондриям в дыхательном цикле), которая потребляется в реакциях всей клетки, связанных с тратой запасенной энергии. Тогда поступление и восстановление ионов происходит на свету и в темноте для зеленого листа за счет энергии, возникающей из различных источников: в темноте — только за счет дыхания, на свету — главным образом (в зависимости от условий освещения) за счет фотохимического механизма фотосинтеза.

Наиболее ярким доказательством в пользу существования фотохимического механизма реакций служат отличия в метabolизме на свету только у зеленых растений и совпадение спектра действия реакции со спектром поглощения хлорофилла.

Использование световой энергии для поступления и усвоения минеральных элементов весьма существенно учитывать при внекорневых подкормках растений (Мацков, 1957; Бородулина, 1962). Однако при внесении удобрений в почву, эффективность их использования растением и на свету должна быть также тесно связана с активностью работы фотосинтетического аппарата растения.

#### 4. ПРОЯВЛЕНИЕ ПРИНЦИПА КОНКУРЕНЦИИ ПРИ ВОССТАНОВЛЕНИИ ОКИСЛЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Восстановление минеральных окисленных соединений на свету может, как указывалось, происходить и в отсутствие  $\text{CO}_2$ . В присутствии  $\text{CO}_2$  возможно появление конкуренции между  $\text{CO}_2$  и этими веществами за фотохимический восстановитель ( $R$ ). Возникновение конкуренций, очевидно, должно изменить (снизить) уровень фотосинтеза (восстановления  $\text{CO}_2$ ). В предыдущей главе мы приводили примеры конкуренции между восстановлением  $\text{O}_2$  и  $\text{CO}_2$ . На возможность конкуренции между  $\text{CO}_2$  и  $\text{NO}_3$  указывают результаты, когда ассимиляция  $\text{CO}_2$  у хлореллы снижалась при малых интенсивностях света (400 лк) на среде с  $\text{NO}_3$  (Myers, 1949). Показано, что подкормка растений перед опытом через корни нитратом также уменьшает фиксацию  $\text{CO}_2$  (Моиз,

1959). Уменьшение более выражено для синего света, чем для красного (см. табл. 20). Однако уровень конкуренции между  $\text{NO}_3$  и  $\text{CO}_2$  и даже само ее наличие в длительных опытах, по-видимому, могут определяться предварительной обеспеченностью клетки азотом, условиями для активного включения азота в продукты фотосинтеза и физиологическим состоянием растений. У голодающих по азоту растений введение нитрата резко стимулирует фотосинтез, очевидно за счет положительного действия азота на образование фотохимического аппарата, в частности накопление хлорофилла (Гюббенет, 1951; Осипова, 1953; Воскресенская, Гришина, 1958). В этом случае благоприятное влияние азота на создание аппарата фотосинтеза во много раз превышает возможное отрицательное действие  $\text{NO}_3$  как конкурента за энергию света с восстановлением  $\text{CO}_2$ .

При стационарных условиях азотного питания целого растения, когда фотосинтетический метаболизм в значительной мере определяется состоянием целого растения (Курсанов, 1959; Чайлахян, 1955), величина, а также само возникновение конкуренции между  $\text{NO}_3$  и  $\text{CO}_2$  обусловлены, очевидно, не только возможностями использования фотохимического восстановителя на восстановление  $\text{NO}_3$ , но и тем, дойдет ли до листа  $\text{NO}_3$  в неизменном виде. В этом случае особенно трудно искать подчинения процессов ассимиляции  $\text{CO}_2$  и  $\text{NO}_3$  принципу «обратной связи» (Энгельгардт, 1960; сб. «Регуляция клеточного обмена», 1962). Но даже и при исключении вторичных влияний вопрос о причинах возникновения конкуренции и ее границах, вероятно, решается не так просто, как это кажется с первого взгляда, если исходить из неспецифичности фотохимического восстановителя. При разборе опытов японских исследователей в отношении использования  $R$  для восстановления  $\text{CO}_2$  и  $\text{O}_2$  уже указывались случаи, когда некоторые яды меняли путь использования  $R$  за счет того, что во взаимодействии  $R$  с  $\text{CO}_2$  и  $\text{O}_2$  участвуют различные ферментные системы (Miyachi, 1959).

Ниже, на примере совместного восстановления  $\text{CO}_2$  и  $\text{NO}_3$ ,  $\text{CO}_2$  и  $\text{SO}_4$  или  $\text{NO}_2$  и  $\text{O}_2$ , мы попробуем проиллюстрировать возникновение и границы конкуренции, вызываемые изменением спектрального состава света и некоторых других факторов (Воскресенская, Гришина, 1961, 1962).

Объектами исследования были табак (в возрасте четырех недель после пикровки) и бобы конские, выращенные в оранжереи осенью и зимой при естественном освещении, а также свекла столовая, выращенная в контролируемых условиях в камерах на свету красных или синих люминесцентных ламп. При работе с отделенными от растения листьями (табак) фотосинтез определялся с помощью радиоизотопа  $\text{C}^{14}$ . Условия освещения показаны на рис. 9. Концентрация  $\text{CO}_2$  во всех опытах с радиоизотопом — насыщающая для фотосинтеза. Продолжительность

Таблица 55

Влияние некоторых окислителей на фиксацию  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  листьями табака \*  
на красном и синем свету (Воскресенская, Гришина, 1962)

Опыт	Инфильтрировано	Фиксация $\text{C}^{14}\text{O}_2$			
		имп./мин. на $10 \text{ см}^2$	%	имп./мин. на $10 \text{ см}^2$	%
1	$\text{KNO}_3 0,01 M$	Красный свет		Синий свет	
	Вода	5 450	72	7 250	61
2	$\text{KNO}_3 0,01 M$	3 900	86	5 200	68
	Вода	4 540	100	7 680	100
3	$\text{Na}_2\text{SO}_4 0,01 M$	3 550	81	3 520	75
	Вода	4 370	100	4 720	100
4	$\text{Na}_2\text{SO}_4 0,01 M$	14 100	100	10 000	88
	Вода	14 030	100	11 300	100
5	$\text{NaNO}_2 0,005 M$	10 000	79	7 430	66
	Вода	12 720	100	11 300	100

Примечание. Активность общей фиксации  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  (фотосинтеза) различна, так как опыты проводились в разные месяцы.

табака проводился по описанной ранее схеме, но без предварительного освобождения межклетников от воды, непосредственно после введения в лист окислителя. Таким образом, время воздействия  $\text{NaNO}_2$  на клетку перед опытом было сокращено до 3—4 мин. Из табл. 56 следует, что введение  $\text{NO}_2$  в этих опытах практически не изменило активности фиксации на красном свете. На синем, даже за такой короткий срок воздействия в присутствии нитрита, фиксация  $\text{CO}_2$  заметно снизилась.

Таблица 56

Фиксация  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  (в имп./мин. на  $10 \text{ см}^2$ ) листьями табака на красном и синем свете в присутствии нитритов (Воскресенская, Гришина, 1962)

Опыт	Фиксация $\text{C}^{14}\text{O}_2$						
	$\text{NaNO}_2$ , $0,005 M$	вода	$\text{NO}_2/\text{вода}$ , %	$\text{NaNO}_2$ , $0,005 M$	вода	$\text{NO}_2/\text{вода}$ , %	
Красный свет				Синий свет			
1	14 360	12 300	116	9 500	14 430	66	
2	20 960	20 960	100	11 380	19 000	59	
3	18 260	17 360	105	10 530	13 400	79	

Примечание. Экспозиция — 5 мин. без предварительного освобождения межклетников от воды.

экспозиции в отдельных опытах — 3 или 5 мин. Окислители вводились в листья или высечки из листьев методом вакуум-инфилтрации. Контроль — инфильтрация воды. Фотосинтез определялся как после полного освобождения межклетников от воды в темноте, так и без их освобождения.

Результаты методических опытов с подбором концентраций вводимых в лист растворов солей, показали, что снижение фиксации  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  в присутствии окислителей в границах определенных концентраций не связано с концентрационным эффектом. Для  $\text{NO}_2$  это концентрации 0,0075 M и меньше; для  $\text{SO}_4$  и  $\text{NO}_3$  — от 0,01 M и меньше. Концентрации менее 0,0025 M не испытывались. В указанных границах концентраций подавление фиксации  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  в различных опытах практически не зависело от концентрации введенной соли. В то же время концентрация  $\text{NO}_2$  0,01 M снизила фиксацию  $\text{CO}_2$  настолько, что она составила не более 1/7 от контроля (табл. 54). Как будет видно далее, эти различия намного превышали типичный эффект конкурентного подавления.

В дальнейших опытах 0,01 M  $\text{NaNO}_2$  не испытывался, поскольку очевидно, что здесь проявилась не только конкуренция, но и ингибирующее (подобно яду) действие  $\text{NaNO}_2$  на фотосинтез.

Отсутствие различий в фиксации  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  для определенной зоны концентрации сульфатов, нитратов и нитритов указывает, что для действия этих солей было достигнуто концентрационное плато и что причиной снижения фотосинтеза являлась конкуренция между  $\text{CO}_2$  и окислителями за восстановитель. Данные по влиянию окислителей на фиксацию  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  приведены в табл. 55.

Введение в лист окислителей почти во всех опытах привело к снижению фиксации  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  по сравнению с контролем. Исключение составил лишь опыт 4, где на красном свете уменьшения фотосинтеза в присутствии  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  не было, а на синем наблюдалось лишь небольшое подавление. Таким образом, при ненасыщающих для фотосинтеза интенсивностях света введение окислителей может снижать его. Коротковолновая радиация вызывает большее снижение, чем длинноволновая.

В случае нитрита были сделаны дополнительные опыты с различно подготовленными растениями. Первый опыт с листьями

Следовательно, конкурентные отношения между  $\text{CO}_2$  и  $\text{NO}_2$  в данном опыте проявились только для синего света. Можно думать, что фиксация на красном свете не уменьшалась потому, что за короткий срок воздействия на красном свете нитриты не достигли хлоропластов, в отличие от синего света, увеличивающего, как известно, проницаемость клеток (Virgin, 1951; Камия, 1962). Однако вряд ли это может являться основной причиной, поскольку подобный эффект для красного света можно получить и в других условиях. Так, у свеклы столовой, выращенной на свете красных или синих люминесцентных ламп при одинаковом количестве поглощенных квантов, потом в тех же световых условиях определялось действие  $\text{NO}_2$  на фотосинтез (в токе обычной  $\text{CO}_2$  при концентрации около 0,030 об. %, т. е. при ненасыщающей фотосинтез) <sup>1</sup>. В этом случае нитрит ( $\text{NaNO}_2$  — 0,007 M) инфильтрировался в неотделенный от растения лист. Межклетники освобождались от воды около 1,5 час. в темноте (табл. 57).

Таблица 57

Фотосинтез свеклы в разных участках спектра в присутствии  $\text{NO}_2$  и без него  
(Воскресенская, Гришина, 1962)

Условия опыта	Фотосинтез			
	$\mu\text{g CO}_2/\text{dm}^2\cdot\text{час}$	% к контролю	$\mu\text{g CO}_2/\text{dm}^2\cdot\text{час}$	% к контролю
Контроль . . . . .	Красный свет	24,3	100	22,8
Инфильтрация воды . .		18,4	86	21,6
$\text{NaNO}_2$ 0,0075 M . .		20,6	96	14,4
	Синий свет			
				100
				94
				63

Инфильтрация воды несколько снижала фотосинтез. Однако в случае нитрита на синем свете снижение было гораздо выше; на красном же — нитрит подавляющего эффекта не оказывал. Если сравнить фотосинтез для листа, инфильтрированного нитритом и водой, то на красном свете ясно заметна даже некоторая активация фотосинтеза при введении  $\text{NO}_2$ .

В этом опыте отсутствие влияния  $\text{NaNO}_2$  на фотосинтез на красном свете уже нельзя объяснить малым сроком воздействия  $\text{NO}_2$ . Отсутствие подавления фотосинтеза на красном свете сохранялось в течение всей световой экспозиции (40 мин.). На синем свете, наоборот, в течение всех 40 мин. сохранилось угнетение фотосинтеза (табл. 58).

<sup>1</sup> Материал для опытов был любезно предоставлен Н. Н. Протасовой, которая участвовала в проведении опыта. Автор пользуется случаем выразить Н. Н. Протасовой сердечную признательность.

Таблица 58

Действие нитрита на фотосинтез за 40 мин. освещения  
(Воскресенская, Гришина, 1962)

Свет в опыте	Инфильтрировано	Фотосинтез, %		
		через 15 мин.	через 25 мин.	через 40 мин.
Красный	Вода	100	—	100
	$\text{NO}_2$	112	—	128
Синий	Вода	100	100	100
	$\text{NO}_2$	82	63	59

Итак, в данных опытах на красном свете конкуренция не проявилась даже при ненасыщающих для фотосинтеза концентрациях  $\text{CO}_2$  (0,03%). На синем свете — конкуренция наблюдалась все время.

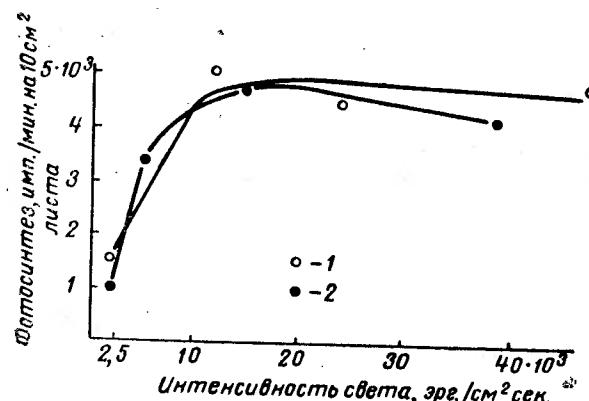


Рис. 39. Световые кривые фотосинтеза (табак выращен на слабом свете)  
1 — синий свет; 2 — красный свет

Благодаря низкому уровню светового плато восстановления  $\text{NO}_2$  в целом листе (см. рис. 36), отвлечение  $R$  на восстановление  $\text{NO}_2$  при насыщающих фотосинтез интенсивностях света не должно быть заметным. В качестве примера приведем следующий опыт с табаком, выращенным осенью, в пасмурную погоду в оранжерее на естественном свете. При интенсивности света в опыте  $47 \cdot 10^3$  (синий) и  $37 \cdot 10^3$  (красный)  $\text{эрг}/\text{см}^2 \cdot \text{сек}$ , который был в этом случае насыщающим для фотосинтеза (рис. 39), не удалось наблюдать подавления фотосинтеза в присутствии  $\text{NO}_2$  и  $\text{NO}_3$ .

Ранее было показано, что фотосинтетическое поглощение кислорода может снижать ассимиляцию  $\text{CO}_2$ . Естественно предполагать, что присутствие нитритов в свою очередь может влиять на световое поглощение кислорода.

Таблица 59  
Влияние  $\text{NaNO}_2$  на световое поглощение (восстановление)  $\text{O}_2$ .  
Синий свет  $37 \cdot 10^8 \text{ эрг/см}^2 \cdot \text{сек}$

Растение	Условия опыта (инфильтрировано)	Темновое поглощение $\text{O}_2$ , мкл		Световое поглощение $\text{O}_2$ , мкл	
		на 5 $\text{см}^2$ листа за 60 мин.	% от контроля (вода)	на 5 $\text{см}^2$ за 60 мин.	% от контроля (вода)
Табак	0,0075 M $\text{NaNO}_2$	42,1	114	17,6	95
	Вода	36,9		18,4	
Бобы конские	0,010 M $\text{NaNO}_2$	59,1	123	31,0	92
	Вода	48,0		33,6	
Табак	0,015 M $\text{NaNO}_2$	43,4	169	26,6	86
	Вода	25,6		30,7	

Примечание. Нитрит инфильтрирован в выскечки из листьев. Межклетники освобождались в темноте. Опыты проведены в различные дни.

Как видно из табл. 59, в темноте введение нитрита существенно активировало поглощение кислорода, так как возникало «нитритное дыхание». На свету активация отсутствовала и нитрит практически не влиял (при концентрациях 0,0075 и 0,01 M) на поглощение кислорода. Увеличение концентрации  $\text{NO}_2$  до 0,015 M лишь незначительно уменьшило поглощение кислорода. В то же время фиксация  $\text{CO}_2$  при этой концентрации нитрита уменьшалась в 7 раз (см. табл. 54).

Таким образом, в отличие от ассимиляции  $\text{CO}_2$ , световое поглощение кислорода — процесс практически нечувствительный к присутствию в клетке  $\text{NO}_2$ , как и восстановление  $\text{NO}_2$  на свету нечувствительно к  $\text{O}_2$ .

В то же время в хлоропластах восстановление как  $\text{NO}_2$ , так и  $\text{NO}_3$  наблюдается только в отсутствие кислорода (Del Campo et al., 1963). Такие различия можно объяснить тем, что в целой клетке, с неповрежденными структурами, использование электрона на восстановление кислорода и восстановление  $\text{NO}_2$  связано с различными ферментными системами и в какой-то мере происходит независимо. В изолированных хлоропластах при нарушении целостности клетки и потери части кофакторов реакций путь к  $\text{NO}_2$  и кислороду становится альтернативным и в присут-

ствии кислорода электрон в первую очередь реагирует с последним.

Таким образом, все вышеизложенное указывает на сложный и относительный характер конкуренции, возникающей в живом листе за фотовосстановитель. Взаимодействие  $R$  с такими окислителями, как  $\text{O}_2$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{SO}_4$ , происходит с участием различных катализических систем и кофакторов хлоропласта, а возможно и клетки. Единым свойством этих систем является их способность поглощать лучи коротковолнового участка и таким образом, по-видимому, активировать восстановление.

### 5. ПРЕВРАЩЕНИЯ НА СВЕТУ НЕКОТОРЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Ряд исследований свидетельствует о том, что за счет световой энергии в целой зеленой клетке высшего растения и водоросли могут восстанавливаться такие органические соединения, как бензальдегид, ацетальдегид, нитромочевина (вещества, содержащие карбонильную группу), с одновременным выделением  $\text{O}_2$  (Рабинович, 1951). Интересные результаты, например, получены для о-динитробензола (Гуревич, 1948, 1953). Последний восстанавливается на свету зелеными листьями пшеницы и элодеи до о-нитрофенилгидроксилямина. В темноте и в бесхлорофильных листьях на свету реакция не наблюдалась. Подобные результаты получены на изолированных хлоропластах и растворах кристаллического хлорофилла (при прибавлении соответствующих кофакторов реакции). Это дает возможность предполагать, что восстановление о-динитробензола обусловлено его реакцией с фотохимически полученным восстановителем  $\text{H}(R)$ , т. е. реакция обусловлена фотохимическим механизмом фотосинтеза.

#### Включение в метаболизм монокарбоновых летучих веществ

Возможность усвоения на свету зелеными растениями помимо  $\text{CO}_2$  других летучих органических монокарбоновых соединений — формальдегида, муравьиной кислоты, метилового спирта, а также окиси углерода — установлена достаточно достоверно с применением меченых по углероду соединений. Скорость включения этих соединений в метаболизм растения (исследованная главным образом на листьях высших растений — ячменя, фасоли, настурции) значительно ниже, чем  $\text{CO}_2$ . Наиболее активно используется муравьиная кислота (Tolbert, 1955; Krall, Tolbert, 1957). Формальдегид ассимилируется в меньшей мере, чем  $\text{HCOOH}$ , очевидно, в связи с его ядовитостью для клетки (Krall, Tolbert, 1957). По скорости фиксации соединения можно распо-

ложить следующим образом:  $\text{CO}_2 > \text{HCOOH} > \text{H}_2\text{CO} > \text{CO}$  (Krall, Tolbert, 1957) или  $\text{CO}_2 > \text{HCOOH} > \text{H}_2\text{CO} > \text{CH}_3\text{OH}$  (Доман и др., 1961).

В темноте активность включения во много раз ниже, чем на свету, и образуемые продукты отличаются от световых (Доман и др., 1961). Наиболее изучены превращения муравьиной кислоты. При освещении 20 000 лк и экспозициях порядка десятков минут (Krall, Tolbert, 1957) для листьев ячменя  $\text{C}^{14}$  муравьиной кислоты обнаружен главным образом в сахарозе, глицериновой кислоте, серине и холине. При 2000 лк и коротких экспозициях (1—5 мин.) (Доман и др., 1961) активность сосредоточивалась в фосфорных эфирах сахаров, глюкозе,  $\alpha$ -аланине, сахарозе, фруктозе, аспарагиновой кислоте (опыты проведены в атмосфере, не содержащей  $\text{CO}_2$ ). Таким образом, в отсутствие двуокиси углерода усвоение муравьиной кислоты происходит подобно усвоению  $\text{CO}_2$  — с преимущественным накоплением метки муравьиной кислоты в фосфорных эфирах сахаров. Доман, Романова и Терентьев (1961) объясняют данный путь усвоения тем, что муравьиная кислота предварительно окисляется до  $\text{CO}_2$  и затем усваивается обычным путем фиксации  $\text{CO}_2$ .

Представляют существенный интерес результаты фиксации  $\text{HCOOH}$  в присутствии 5%  $\text{CO}_2$ . В этом случае одновременно с резким падением скорости фиксации  $\text{HCOOH}$  метка в фосфорных эфирах сахаров практически исчезала и начинали преобладать гликоловая кислота, серин и некоторые другие аминокислоты.

Изменения продуктов фиксации окисей углерода в зависимости от интенсивности света найдены для листьев ячменя (Krall, Tolbert, 1957). Увеличение освещенности от 6000 до 20 000 лк изменяло процент радиоактивности в сахарозе от 17 до 38, для серина — от 47 до 10. Таким образом, как и в случае фиксации  $\text{CO}_2$ , усиление интенсивности света способствовало накоплению сахарозы (Ничипорович и др., 1963).

По-видимому, путь ассимиляции монокарбоновых летучих соединений близок к пути фиксации  $\text{CO}_2$  (по крайней мере, близок к одному из альтернативных путей фиксации последней в зеленой фотосинтезирующей клетке): действие интенсивности света изменяет состав продуктов в том же направлении, что и для  $\text{CO}_2$ .

Что касается предварительного окисления муравьиной кислоты до  $\text{CO}_2$ , то оно возможно, но не доказано, поскольку в листьях зеленых растений до сих пор не найдена формикодегидраза. Кроме того, против этого свидетельствует тот факт, что в присутствии высоких концентраций  $\text{CO}_2$  фиксация  $\text{HCOOH}$  резко снижается (Доман и др., 1961). Поэтому можно думать, что конкуренция возникала непосредственно между  $\text{CO}_2$  и  $\text{HCOOH}$  уже при использовании фотохимического восстановителя.

Этому предположению соответствует точка зрения о прямом включении указанных метаболитов в обмен. Исследования «гликолатного пути» фиксации  $\text{CO}_2$ , который при определенных условиях может иметь существенный удельный вес в растении, показали, что накопление активности в таких условиях происходит помимо гликоловой и глиоксилевой кислот также в глицериновой кислоте, глицине, серине и сахарозе (см. гл. II, III). При этом уменьшается активность фосфорных эфиров сахаров. Подобная картина наблюдалась при совместной фиксации  $\text{HCOOH}$  и  $\text{CO}_2$  (Доман и др., 1961). Поэтому можно представить, что  $\text{HCOOH}$  в присутствии  $\text{CO}_2$  без предварительного окисления до  $\text{CO}_2$  включается в гликолатный путь. Конденсация двух молекул муравьиной кислоты в глиоксилевую теоретически возможна (Чичибабин, 1953):



Кислота за счет световой энергии может восстановиться до уровня альдегида. Наличие в хлоропластах оксидазы гликоловой кислоты и редуктазы глиоксилевой делает возможным взаимные превращения этих кислот, а дальнейший путь образования через эти соединения глицина, серина, глицериновой кислоты и сахарозы в зеленой клетке доказан (Keegne, Tolbert, 1962). Что касается образования фосфорных эфиров из  $\text{HCOOH}$  в отсутствие  $\text{CO}_2$ , можно предположить, что, если  $\text{CO}_2$  отсутствует, тогда  $\text{HCOOH}$  может без предварительного окисления фиксироваться по этому основному пути синтеза органического вещества в растении (Calvin, Bassham, 1962).

Для листьев настурции найден путь усвоения  $\text{CO}$  при освещении в свободной от  $\text{CO}_2$  атмосфере в крахмал (Bottomley, Jackson, 1903). Тем не менее первичное окисление соединений до  $\text{CO}_2$  на свету и повторная реутилизация последней, очевидно, не могут быть исключены окончательно даже для хлоропласта (Делаван, Бенсон, 1962), и вопрос требует дальнейшего уточнения. Однако не без основания можно предполагать, что с помощью световой энергии простейшие окисленные монокарбоновые соединения (помимо  $\text{CO}_2$ ) вступают также непосредственно в метаболизм хлоропласта и клетки, увеличивая уровень восстановленности и усложняя свою химическую организацию. Поэтому не исключено конкурентное использование фотохимического восстановителя  $\text{CO}_2$  и другими веществами. Такая возможность, в частности, показана для сценедесмус в случае использования для биосинтеза на свету метанола (Lefrancois, Ouellet, 1958).

Для фотосинтезирующей бактерии *Chromatium* показана возможность биосинтеза белков, жиров и полисахаридов из ацетата без предварительного его распада до  $\text{CO}_2$  (Arnon, Das, Anderson, 1963). У зеленой водоросли *Chlamydomonas*, растущей

только на свету, ацетат являлся единственным источником углерода для биосинтезов, поскольку  $\text{CO}_2$  для этой цели не употреблялась растением (Pringsheim, Wiessner, 1961).

### Действие света на поступление и превращения сахаров

Поступление сахаров в клетки растений на свету имеет ряд особенностей. Так, при поглощении глюкозы из среды голодающими клетками хлореллы (Kandler, 1954, 1955) наблюдается стимуляция этого процесса светом в аэробных условиях. Световая зависимость обнаруживается также и в атмосфере азота. Основные яды фосфатного метаболизма и реакции Хилла — арсенат и о-фенантролин ингибируют процесс. Поэтому предполагают, что вызванное светом и не зависящее от дыхательного метаболизма поглощение глюкозы у хлореллы (происходящее в азоте) обусловлено активностью фотосинтетического фосфорилирования.

Ускоряющее действие света на поступление глюкозы в диски листьев некоторых высших растений наблюдали Чесноков и др. (1959). Механизм процесса авторами не исследован.

Переработка поглощенных сахаров зеленой клеткой на свету, очевидно, связана также с использованием энергии света (как и во всех приведенных ранее примерах). Превращения глюкозы на свету в зеленой клетке действительно имеют ряд специфических особенностей. Так, на свету в дисках листьев табака наблюдается синтез крахмала или сахарозы из введенной в лист глюкозы. Световой синтез не требует наличия  $\text{CO}_2$ . Он отмечен в вакууме (как предполагается, при полном отсутствии  $\text{O}_2$ ) (MacLachlan, Porter, 1959). Можно было бы думать, что свет вызывает фотосинтез, т. е. выделение  $\text{O}_2$ , необходимое для аэробных дыхательных превращений сахарозы на свету, за счет усвоения дыхательной  $\text{CO}_2$ . Однако Кандлер (Kandler, 1954) показал, что давление  $\text{CO}_2$ , выделяемой во время световой ассимиляции глюкозы, очень мало и не может обеспечить сколько-нибудь существенный фотосинтез. Концентрация  $\text{CO}_2$  на свету при внесении глюкозы также очень низка. Кроме того, меченный атом  $\text{C}^{14}$  глюкозы в крахмале обнаруживался в том же положении, что и в свободной глюкозе; это также свидетельствует против вторичного синтеза крахмала из продуктов распада глюкозы. Метabolизм глюкозы в крахмал без  $\text{CO}_2$ , в вакууме, связывают с циклическим фотофосфорилированием. Полагают, что для превращения одной молекулы глюкозы в крахмал необходимы по крайней мере три макроэргические связи фосфора, если крахмал образуется через уридинифосфатный путь (MacLachlan, Porter, 1959). Кролл и Басс повторили работу названных авторов в атмосфере  $\text{N}_2$ , произведя тщательную очистку азота от кислорода. Оказалось, что диски табака, выдержанные на 5%-ном растворе

ре глюкозы или сахарозы на свету, активно метаболизировали эти соединения в крахмал на воздухе и в атмосфере азота с 0,5% кислорода. В атмосфере чистого азота накопления крахмала почти не происходило. Яд на выделение кислорода ДХФДМ полностью останавливал образование крахмала на воздухе. В темноте этот процесс осуществлялся незначительно. На основании того факта, что следы кислорода в атмосфере положительно действуют на синтез крахмала, авторы заключают, что восстановление сахаров происходит с использованием световой энергии (фотофосфорилирование). При этом фотофосфорилирование квазициклическое, с участием ФМН, для которого необходимо присутствие небольших количеств кислорода (Krall, Bass, 1962). Чесноков и др. (1959) наблюдали, что диски некоторых растений на свету, в отличие от темноты, не теряют в весе даже при пятничасовых экспозициях без  $\text{CO}_2$ . Подобные результаты соответствуют мнению о том, что на свету выделение  $\text{CO}_2$  или ничтожно, или не происходит вовсе (Заленский, 1957; Zalensky et al., 1958; Brown, Weiss, 1959).

Интересны с точки зрения метаболизма глюкозы на свету результаты опытов, в которых показано, что на свету синтез белка в листьях с использованием минерального азота —  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  может происходить не только за счет ассимилированной  $\text{CO}_2$ , но и помимо нее, за счет глюкозы; при этом часто почти с той же скоростью (Чесноков и др., 1959).

В темноте метаболизм глюкозы и образование белка, хотя и наблюдались, но были значительно слабее, чем на свету.

Четкие данные по метаболизму меченой глюкозы на свету и влиянию этого процесса на фоторедукцию  $\text{CO}_2$  (в атмосфере  $\text{H}_2$ ) водорослью *Ankistrodesmus braunii* получены Бишопом (Bishop, 1961). Длительная адаптация к фоторедукции при высокой освещенности создавалась с помощью отравления систем, ответственных за выделение кислорода гербицидом З — (3,4-дихлорфенил)-1,1-диметилтмочевина — (ДХФДМ). Условия анаэробиоза исключили возможность работы терминальных оксидаз дыхания. Оказалось, что фоторедукция *Ankistrodesmus braunii* ингибируется глюкозой. Предполагают, что это результат конкуренции за фотохимически образованную АТФ между глюкозой (при синтезе ее в крахмал) и ассимиляцией  $\text{CO}_2$ . Ингибирование фиксации  $\text{CO}_2$  не было постоянным, но исчезало после периода времени, соответствующего полному усвоению глюкозы. Кроме того, возможности ингибирования определялись, как количеством сахара, так и концентрацией  $\text{CO}_2$ . Таким образом, в определенных рамках проявился конкурентный характер процессов. Прибавление глюкозы не вызывало выделения  $\text{CO}_2$ . На свету глюкоза  $\text{C}^{14}$  не метаболизировалась через анаэробный гликолиз, но откладывалась в крахмал. Метка в крахмале соответствовала (после гидролиза) только одному меченному соединению — глю-

козе. Большая часть метаболизированной глюкозы оказалась в крахмале и только очень небольшая — в спирто растворимых веществах — фосфорилированной глюкозе, ФГК и алантоне, т. е. метаболитах фотосинтетического цикла. При этом  $\text{CO}_2$  или давала очень слабую метку, или же радиоактивность в ней не обнаружена вовсе. В темноте образовались значительные количества нормальных продуктов анаэробного метаболизма зеленой водоросли: молочной кислоты, аланина, глутаминовой кислоты. По-видимому, на свету возможности для распада части молекул глюкозы были очень ограничены. Напротив того, за счет использования световой энергии происходило усложнение и изменение уровня восстановленности вещества. Бишоп предполагает, что крахмал образуется с участием макроэргического фосфора, полученного в результате фотофосфорилирования, и что фиксация  $\text{CO}_2$  находится в конкуренции с усвоением глюкозы в отношении АТФ.

Однако активность и тип (циклическое или нециклическое) фотофосфорилирования не исследовались. Поэтому определено утверждать, что использование АТФ на восстановление  $\text{CO}_2$  или синтез крахмала из глюкозы явилось фактором, вызывающим конкуренцию между этими веществами, пока преждевременно. Также преждевременно говорить о том, какой тип фотофосфорилирования необходим для биосинтезов на свету. Судя по некоторым данным, в которых для хлоропластов обнаружено только нециклическое фотофосфорилирование и установлена необходимость следов кислорода для синтеза крахмала (Krall, Bass, 1962), для зеленых высших растений более специфично нециклическое фотофосфорилирование. Тогда по крайней мере часть фотосинтетического восстановления кислорода может быть связана с этим процессом. Однако окончательно не доказано отсутствие циклического фотофосфорилирования. Так, утверждается, что в целых листьях АТФ на свету может образоваться именно этим путем (Forti, Parisi, 1963; Urbach, Simonis, 1964).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе разобранного материала можно предположить, что поступление некоторых ионов, восстановление окисленных минеральных соединений, а также метаболизм органических веществ не только в хлоропласте, но, возможно, и во всей клетке в целом, отличаются на свету от темнового. Эти различия возникают за счет того, что для процессов используется подводимая извне энергия света. Миграция энергии из хлоропласта в клетку (е и протона) должна способствовать внутренняя организация клеточных мембран, наличие в них липоидных слоев и большого количества липоидов в хлоропласте (Бенсон, 1962; Смирнов, Родионова, 1964; Debuch, Stumpf, James, 1962; Бойченко, Удельнова,

1962; и др.), а также приспособлений, облегчающих взаимодействие хлоропласта с цитоплазмой. Так, известно, что хлоропласт в клетке окружен коронами жирных капелек и пронизан нитями цитоплазмы (Scott, 1955). Наличие липоидов в других органеллах клетки (митохондриях) делает в принципе возможным возбуждение электронтранспортной цепи не только в хлоропласте, но и целой клетке за счет поглощенной хлорофиллом световой энергии (Zill, Chemiae, 1962; Brierley, Meroby, Fleisher, 1962; Грин, 1961, 1964; Santarius et al., 1964). Кроме того, сейчас показаны возможности быстрого обмена хлоропластов и цитоплазмы АТФ, образованного в результате фотосинтеза. Сама идея о возможности многообразных путей использования световой энергии (в виде фотовосстановителя и АТФ, образованного в результате фотофосфорилирования) и замены ею на свету дыхательного метаболизма для целого зеленого растения является новой. Она стала широко обсуждаться только в последнее время (Арнон, 1962), однако еще не завоевала общего признания (Чесноков и др., 1959). Впрочем, еще несколько лет тому назад некоторые исследователи в СССР уже придерживались такой точки зрения (Колесников, 1959; Заленский, 1957). В 1957 г. Заленский писал, что «фотосинтез и дыхание ассимилирующих клеток растений едва ли можно рассматривать как два резко различных процесса, одновременно идущих на свету. Оба они, в зависимости от условий функциональной деятельности фотоавтотрофных клеток или органов (на свету или в темноте), по-видимому, обеспечивают непрерывное течение биосинтеза».

Имеющиеся материалы пока далеко не достаточны, чтобы создать целостную картину использования энергии света на различные процессы и определить ее границы и координацию с ассимиляцией  $\text{CO}_2$  в зависимости от световых условий, концентрации  $\text{CO}_2$ , физиологического состояния растений. Можно только утверждать, что «неизбежное зло» — поглощение избыточной энергии растением (Тимирязев, 1948) — связано не только с явлением транспирации, но распространяется на многие функции зеленого растения. На свету даже в гетеротрофных частях клетки обмен может быть не связан с обязательной деструкцией вещества (окислением до  $\text{CO}_2$ ) при осуществлении органического синтеза. Наоборот, усложнение последнего без потери энергии системой за счет притока электрона извне может происходить везде, где существует возможность использования внешней энергии (света). Наряду с синтезом органического вещества из  $\text{CO}_2$  в процессе фотосинтеза могут происходить за счет световой энергии метаболические превращения органических веществ, связанные с повышением энергетического уровня (Maggé et al., 1963). В определенных условиях, эти два процесса (первичный синтез вещества из  $\text{CO}_2$  и вторичные превращения за счет световой энергии), вероятно, протекают одновременно. Если они вступают в

конкурентные отношения друг с другом, это может приводить к падению активности одного процесса по мере усиления другого. При насыщающих фотосинтез интенсивностях света «избыток» световой энергии, по-видимому, может быть в значительной мере использован на сложные синтезы и изменения уровня восстановленности соединений (Ничипорович, Слободская, Карпушкин, 1963; Санадзе, 1961) без снижения ассимиляции  $\text{CO}_2$ . При достаточном количестве метаболитов такое явление может, очевидно, происходить и в отсутствие  $\text{CO}_2$ .

Что касается проявления конкуренции в использовании энергии света, то, по-видимому, это явление тесно связано с принципом саморегуляции жизнедеятельности растения и, хотя знания о принципах саморегуляции физиологических процессов в растении начинают в последнее время усиленно пополняться (Гунар, 1953; Беликов и др., 1962; сб. «Регуляция клеточного обмена», 1962), однако, в частности для хлоропласта (Packer, 1963), они еще далеко не достаточны, чтобы в каждом случае правильно оценить возможности, определяющие альтернативный выбор путей сложных химических и фотохимических реакций растительного организма.

Во всяком случае, заманчиво думать, что регуляция растением использования энергии в фотосинтезе может начинаться уже с самого первичного фотоакта. Иными словами, наличие в хлоропласте тех или иных условий (функциональное состояние хлоропласта), может быть, определяет количество «отпускаемого» восстановителя. Подобные мысли развивает, в частности, Франк (см. гл. III).

Если допустить, что обратимое окисление и восстановление хлорофилла, убедительно показанное (Евстигнеев, Савкина, Гаврилова, 1962; Евстигнеев, Савкина, 1963; Евстигнеев, 1963) недавно на модельных опытах в гетерогенных системах, в какой-то мере может иметь место в живом, нативном листе, тогда восстановление окислителей будет определяться преимущественной отдачей электрона хлорофиллом в среду, а это в свою очередь будет зависеть от окислительно-восстановительного потенциала среды, т. е. присутствия самих окислителей. Таким образом, возникает возможность саморегуляции цикличности процесса — восприятия и отдачи электрона в среду, продемонстрированная на модельном опыте. Однако существование такой возможности пока не доказано. Поэтому мы исходим из общепринятых и в какой-то мере экспериментально обоснованных положений об использовании «восстановительной силы» на различные процессы помимо ассимиляции  $\text{CO}_2$ . По терминологии Арнона (Арнон, 1962), это АТФ и ТПН·Н или, скорее, АТФ и ферредоксин (Tagawa, Arnon, 1962). Участвуют ли во всех восстановительных реакциях непременно эти два компонента — утверждать пока еще трудно.

Подчеркивая универсальную роль восстановительной силы и АТФ, необходимо указать, что в этом вопросе существует еще много неясных моментов. Условия образования АТФ в целой клетке исследованы недостаточно. Световая зависимость биосинтезов и фотофосфорилирование в целой клетке, насколько нам известно, не сравнивались одновременно ни одним исследователем. Кроме того, неясно, насколько фотофосфорилирование в клетке и образование АТФ являются универсальным процессом для накопления энергии. Существуют, вероятно, и другие возможности. Непонятно также, всегда ли «восстановительной силой» является ТПН·Н и синоним ли это  $R$ ? Некоторые исследователи, не без основания, отрицают эту возможность (Oh-Nama, Miyachi, 1959; Miyachi, Oh-Nama, Tamija, 1960). Бенсон (1962), например, считает, что скорость превращений диглицерофосфата в клетках хлореллы на свету в его ацилированную форму — фосфатидилглицерин соответствует величинам, установленным для накопления и расходования восстановительной силы ( $R$ ). Сейчас это предположение Бенсона как будто находит подтверждение в работе Ми ячи и др. (Miyachi, et al., 1962).

Участие ТПН·Н в фиксации  $\text{CO}_2$  отрицает Бойченко (Бойченко, 1954; Бойченко, Захарова, 1959; Бойченко, Саенко, 1959; Бойченко, Удельнова, 1962). Этот автор связывает фиксацию  $\text{CO}_2$  с окислительно-восстановительной ферментной системой, содержащей марганец и железо. Предполагается, что железо и марганец в этом биметаллическом ферменте обратимо меняют свою валентность при восстановлении  $\text{CO}_2$  и выделении  $\text{O}_2$ . Каталитическая система, участвующая в ферментативном восстановлении  $\text{CO}_2$ , открытая Бойченко, по некоторым своим свойствам похожа на ферредоксин (Tagawa, Arnon, 1962). Свойства ферредоксина могут удовлетворительно объяснить не только возможность различных путей фиксации  $\text{CO}_2$  (Bassham, 1963), но и отвлечение электрона на другие метаболические процессы (см. гл. III).

Высказанная выше 10 лет назад идея о том, что на свету могут создаваться разнообразные продукты (Ничипорович, 1953) без включения типичных реакций дыхания в таком виде, как это происходит в темноте, базировалась на возможности использования световой энергии на разнообразные метаболические превращения ассимилированной  $\text{CO}_2$ . Справедливость этой точки зрения сейчас не вызывает сомнений. Кроме того, изменение соотношения продуктов фотосинтеза и создание в листе веществ, требующих большой затраты энергии при увеличении интенсивности света, указывают на возрастающие возможности для биосинтезов на свету в зеленом листе (Nishida, 1962, Ничипорович, Слободская, Карпушкин, 1963).

Очевидно, что возникновение конкуренции между тратой  $R$  на восстановление  $\text{CO}_2$  и другие процессы связано с важнейшим вопросом механизма фотосинтеза — выяснением специфиности

использования световой энергии в любых условиях на ассимиляцию  $\text{CO}_2$ . Сумма имеющихся по этому вопросу данных, в частности изложенный выше материал, как будто указывает на отсутствие такой специфичности. Однако неясно, в каких границах, при каких условиях имеет место использование света на другие процессы (например, восстановление окислителей) при одновременном протекании собственно фотосинтеза (т. е. ассимиляции  $\text{CO}_2$ ) в растении. Дело в том, что сама конкуренция может быть выявлена путем изменения стационарного течения фотосинтеза, да и то только в границах освещения, ненасыщающего ассимиляцию  $\text{CO}_2$ .

На изолированных хлоропластах при произвольном изменении условий реакций самим экспериментатором, при добавлении искусственных кофакторов использование энергии на различные процессы, не регулируемые самой клеткой, может достигать высоких величин (Jagendorf, 1962). Поэтому работа с изолированными хлоропластами — это метод выявления потенциальной возможности использовать самим хлоропластом (но не организмом в целом) световую энергию на различные процессы. Получаемые при этом результаты могут далеко не соответствовать тому альтернативному пути использования энергии света, который существует в зеленой клетке и регулируется наиболее выгодным образом самим растением как открытой системой, находящейся в постоянном энергетическом обмене с окружающими условиями (Пасынский, 1957, 1963).

В связи с различными примерами изменений конкурентных отношений между  $\text{CO}_2$  и другими окислителями в зависимости от условий мы предполагаем, что взаимодействие окислителей с  $R$  определяется не только количеством последнего, но и другими факторами — природой окислителя, особенностями промежуточных ступеней его восстановления и активностью систем, с участием которых осуществляется взаимодействие окислителей с  $R$ . Исследования последних лет указывают на существование по крайней мере двух фотохимических реакций, определяющих эффективность фотосинтеза (см. гл. I). Кроме того, вероятно, в хлоропласте происходят еще и другие фотохимические реакции при поглощении света различных участков спектра. Значение всех этих фотопрекций для путей усвоения  $\text{CO}_2$ , процессов выделения и поглощения кислорода является предметом широкого обсуждения (Ничипорович, 1953; Воскресенская, Гришина, 1960; Френч, Форк, 1962; Clayton, 1964; Duysens, 1964 и др.).

Очевидно, наилучшая слаженность работы различных фотохимически активных систем хлоропластов, обеспечивающих максимальную эффективность фотосинтеза, будет у высших наземных растений на свету, соответствующему по спектру солнечной радиации. Если же лист такого растения поместить в резко

различные спектральные условия — коротковолновый или длинноволновый участки, это слаженность нарушается за счет активацiiи одних и инактивации других фотоактивных систем. Это может усилить или ослабить взаимодействие восстановителя с  $\text{CO}_2$  и другими окислителями: кислородом, азотистыми и другими окисленными соединениями. Усиление или ослабление конкуренции  $\text{CO}_2$  и окислителей может быть одной из причин изменения общей эффективности и состава продуктов фотосинтеза в разных участках спектра. Однако для сульфатов нитратов и, особенно, нитритов возникновение конкуренции будет, очевидно, ограничено сравнительно низкими интенсивностями света, не насыщающими фотосинтез. Конкуренция между восстановлением  $\text{CO}_2$  и кислорода на свету может проявляться при любой интенсивности света. Границы и размеры конкуренции между восстановлением  $\text{CO}_2$ , метаболизмом сахаров и других органических веществ, в зависимости от спектрального состава света, не исследованы.

На основании изложенного нам представляется, что определение фотосинтеза как синтеза органического вещества из неорганического с одновременным запасанием энергии системой не включает всех возможностей использования энергии света. Правильнее говорить, что фотосинтез — это запасание энергии света в энергию химических связей. Подобное определение Арnon дает, имея в виду образование АТФ как единий способ запасания энергии при фотосинтезе. Нам кажется, согласно приведенным доводам, такое ограничение понятия «энергия химических связей» неверным. Очевидно, энергия химических связей должна включать представления об изменении уровня восстановленности и усложнения строения различных метаболитов, а также о создании определенных структур клетки, происходящих за счет энергии света (фотохимического восстановителя и АТФ). Конечно, при этом наибольший удельный вес должна занимать фиксация  $\text{CO}_2$ , усвоение которой в органические вещества как наиболее окисленного неорганического соединения будет сопровождаться наибольшим запасанием энергии в системе. Но возможно также образование из более простых органических соединений сложных, таких, как белки, полисахариды, липиды. Если эти процессы происходят с участием ферментных систем, восстановленных за счет света, эти биосинтезы также будут приводить к увеличению энергии в системе. По крайней мере, разрешение этого вопроса, с нашей точки зрения, является существенным для механизма фотосинтеза (энергетики и биохимии). Он интересен также для физиологов с точки зрения разгадки причин различной направленности биосинтезов растений в зависимости от световых условий и возможности осуществления фотосинтеза.

## Г л а в а V

# РОЛЬ ФОТОСИНТЕЗА И РЕАКЦИЙ ФОТОМОРФОГЕНЕЗА В АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ К СПЕКТРАЛЬНОМУ СОСТАВУ СВЕТА

### 1. ПРЕДПОСЫЛКИ К ИССЛЕДОВАНИЮ ВОПРОСА

В предыдущих главах рассматривалось сравнительное действие коротковолновой и длинноволновой радиации на количественную и качественную стороны фотосинтеза. Растения для таких опытов всегда выращивались в условиях естественного или искусственного (белого) смешанного света и только во время экспозиции освещались красным или синим светом. В таком случае не исключено, что часть или даже все найденные различия носили характер переходных эффектов, которые могут продолжаться от секунд до часов (Беликов, 1960; Беликов и др., 1962; Семененко, 1962).

Замена смешанного, белого света на красный или синий вызывала ряд существенных изменений в осуществлении фотосинтеза. Основой для этих изменений, как и при действии различных экстремальных факторов в переходный период (Беликов и др., 1964, 1965; Тарчевский, 1964), по-видимому, являлось нарушение соотношения отдельных реакций фотосинтеза. В данном случае оно вызывалось изменением условий поглощения света отдельными фоторецепторными системами клетки и хлоропласта (пигментами и фотоактивными катализаторами).

На примере фотосинтетического восстановления кислорода, а также восстановления окисленных минеральных соединений можно считать, что при кратковременном воздействии синий свет вызывает реакции, снижающие активность восстановления  $\text{CO}_2$ .

При этом на синем свету доминирующими становятся иной путь превращений  $\text{CO}_2$  в органические вещества, чем на красном. Меченный углерод на синем свету за секундные и минутные экспозиции преимущественно попадает в такие метаболиты, которые указывают на возможность уменьшения энергетического потенциала клетки (органические кислоты, аминокислоты, нефосфорилированные сахара). В то же время при часовых экспозициях четко проявляется положительное действие синего света на белковый синтез.

Все эти изменения могут быть весьма существенны для жизнедеятельности растений. Поэтому правомочен вопрос о том, какие из обнаруженных эффектов сохранятся в случае выращивания растений в синих и красных лучах, т. е. тогда, когда длительным воздействием света определенного состава будет достигнуто новое стационарное состояние фотосинтеза, и в каких приспособительных реакциях выразится адаптация растений к качеству света. Оценка возможного возникновения адаптации растений к качеству света важна не только для искусственно создаваемых условий освещения. Она важна и для естественных условий местобитания, если в этом случае может изменяться спектральный состав падающей на растение солнечной радиации.

Адаптация растений к интенсивности света бесспорна. В общей форме она была установлена еще в 1881 г. Тимирязевым (Тимирязев, 1948) и затем подробно изучалась Любименко (1910), Ивановым (Ivanoff, Kossowitch, 1929), Люндегордом (Lundegårdh, 1921), Рихтером (Richter, 1912), Бойсен-Иенсеном (Boysen-Jensen, 1919, 1925), Хардером (Harder, 1923), Зейбльдом (Seybold, 1936; Tranquillini, 1960). Любименко предложил деление растений на группы светолюбов, тенелюбов и теневыносливых растений. Различия в фотосинтезе этих групп растений Любименко объяснял анатомическим строением листьев, размером хлоропластов и концентрацией хлорофилла, т. е. Любименко впервые попытался сопоставить функцию фотосинтеза с состоянием фотосинтетического аппарата. Он показал, что признаком адаптации фотосинтетического аппарата растений к слабым интенсивностям света являются: увеличение содержания хлорофилла на единицу веса, увеличение размера хлоропласта, слабая выраженность палисадной паренхимы. Эти признаки коррелированы с большей скоростью фотосинтеза при слабых освещенностих, с низким световым насыщением фотосинтеза и высокой чувствительностью фотосинтетического аппарата к перегреву (Любименко, 1910, 1923; Lubimenko, 1923, 1923a; Любименко, 1935). В дальнейшем признаки адаптации фотосинтетического аппарата к высоким и низким интенсивностям света были показаны и для ультраструктуры хлоропластов. Они проявляются, в частности, в слабой выраженности гранулярной структуры хлоропластов у растений, выращенных при недостатке света (Ашур, 1964). Для появления признаков адаптации структуры и функции фотосинтетического аппарата растений к интенсивности света в естественных условиях местобитания имеются все основания, поскольку в естественных многоярусных ценозах, а также в искусственных ценозах-посевах с глубиной происходит резкое ослабление интенсивности светопотока (Любименко, 1935; Tranquillini, 1960; Нийлиск, 1964).

Однако Любименко предположил (Любименко, 1924а), что у высших наземных растений адаптация происходит не только к интенсивности, но и к спектральному составу света. Основанием для такого предположения послужили эксперименты автора по определению фотосинтеза у листьев тене- и светолюбивых растений под синими (400—480 мк) и красными (600—750 мк) светофильтрами. Источником освещения в этих опытах являлся пропущенный через светофильтры свет безоблачного и облачного неба. Интенсивность синего света составляла около 85% от интенсивности красного. Поэтому более интенсивный фотосинтез был обнаружен под красным фильтром. Однако светолюбы использовали для фотосинтеза относительно эффективнее красные, а тенелюбы — синие лучи (табл. 60). Из этого

Таблица 60

Интенсивность фотосинтеза (в см<sup>3</sup> CO<sub>2</sub> на 1 г листьев в час) у некоторых растений на красном и синем свету (Любименко, 1924а)

Растение	Красный свет	Синий свет	Интенсивность фотосинтеза в синих лучах, % к интенсивности в красных	Интенсивность фотосинтеза в синих лучах, % к интенсивности в красных
	Безоблачное небо			Облачное небо
<i>Robinia</i> . . . . .	6,35	3,51	55	68
<i>Catalpa</i> . . . . .	4,14	2,30	42	45
<i>Phaseolus</i> . . . . .	3,33	2,37	71	52
<i>Ampelopsis</i> . . . . .	4,04	2,30	56	63
<i>Tilia</i> . . . . .	4,65	3,12	67	65
<i>Fagus</i> . . . . .	4,37	2,87	65	64
<i>Hedera</i> . . . . .	2,70	2,36	87	92
<i>Aspidistra</i> . . . . .	1,97	1,20	61	100

автор заключает, что «относительное использование синих и фиолетовых лучей у различных видов растений различно и что типичные теневые растения в большей мере используют эти лучи, чем растения световые. Таким образом, можно считать эмпирически прочно установленным, что в процессе усвоения угольной кислоты качество света играет существенную роль» (Любименко, 1924а).

Анализ приведенных в таблице данных затруднен из-за отсутствия точной характеристики световых условий для каждого варианта опыта. Но факты, полученные Любименко, и сама постановка вопроса о неодинаковом отношении различных растений к спектральному составу света заслуживают самого пристального внимания.

Вероятно, что в естественных условиях местообитания качество падающего света, так же как и его количество, в отличие от продолжительности освещения, может быть фактором достаточно лабильным в течение дня даже для открытой поверхности. Однако изменение спектрального состава суммарной солнечной радиации и ее компонентов (прямой и рассеянной радиации) в течение суток и по сезону изучено недостаточно (Калитин, 1947; Кондратьев, 1954). Основным результатом исследований спектрального состава суммарной радиации является вывод о приближенном постоянстве в течение дня спектрального распределения суммарной (прямая+рассеянная) радиации в области спектра 350—900 мк при безоблачном или частично облачном небе. При смене высоты солнца над горизонтом спектральный состав суммарной радиации не претерпевает сколько-нибудь существенных изменений. Последнее объясняется тем, что «с уменьшением высоты солнца происходит постепенное обеднение солнечной радиации сине-фиолетовыми лучами, в результате чего наблюдается покраснение солнечной радиации. Однако вместе с тем, при уменьшении высоты солнца, возрастает относительная доля в суммарной радиации рассеянного света, более богатого сине-фиолетовыми лучами. Это возрастание доли коротковолновой рассеянной радиации практически компенсирует ослабление радиации сине-фиолетового участка спектра» (Кондратьев, 1954). Все результаты о спектральном постоянстве состава светопотока суммарной радиации получены, однако, для идеальной атмосферы. В условиях реальной атмосферы могут быть получены более значительные отклонения (Кондратьев, 1954).

При сокращении стояния растений, в ценозах (естественных и искусственных) бесспорно изменение интенсивности светопотока от верхних ярусов к нижним. Имеются данные о том, что растения нижних ярусов получают не только менее интенсивный свет, но и обедненный красными лучами за счет избирательного поглощения последних верхними листьями (Любименко, 1924а; Seybold, 1936; Tranquillini, 1960). Последним обстоятельством Любименко объясняет более благоприятное действие синих лучей на фотосинтез тенелюбов (табл. 60). Однако почти полное отсутствие опытов, где бы тщательно и одновременно регистрировались спектральный состав падающей на растение суммарной радиации, а также поглощение ее листьями различных ярусов посева, оставляло до недавнего времени вопрос о спектральных изменениях солнечной радиации внутри посева открытым. Такие исследования начали появляться только в последние годы (Алексеев, 1963; Нийлик, 1962, 1964; Дадыкин и др., 1964; Шахов и др., 1965; Акулова и др., 1964). Они указывают на то, что изменения спектрального состава светопотока в ценозе с глубиной (как для древесных, так и для травянистых растений)

следуют, в основном, за спектром пропускания света листом. Падение общей интенсивности светопотока с глубиной сопровождается его относительным обеднением красными и синими лучами, более поглощаемыми листом, и обогащением зелеными,— менее поглощаемыми. Степень таких изменений обуславливается структурой растительного сообщества. Однако существенные изменения в спектральном составе ФАР найдены лишь для нижних ярусов ценозов.

Особо следует отметить (Нийлиск, 1964) относительное обогащение светопотока внутри посева дальними красными и ближними инфракрасными лучами (700—900 мк). Последнее приводит вместе с падением общего количества ФАР к резкому сдвигу в соотношении ФАР к области спектра в 700—900 мк. В свою очередь, увеличение доли дальней красной радиации в общем светопотоке, наряду с уменьшением интенсивности света, может неблагоприятно сказываться как на фотосинтезе (см. гл. I), так и на общей жизнедеятельности и морфогенезе зеленого растения. Доказательства в пользу последнего предположения будут представлены ниже в настоящей главе, в связи с рассмотрением так называемой низкоэнергетической реакции «красный—дальний красный», вызываемой обратимыми превращениями пигмента фитохрома, ответственного за некоторые стороны фотоморфогенеза растений. Итак, из сказанного очевидно, что адаптация растений к изменению спектрального состава света может иметь место по крайней мере в некоторых случаях. По-видимому для окончательного выяснения ведущей роли интенсивности и качества света для фотосинтеза и вообще для жизнедеятельности растения в каждом отдельном случае необходимо моделирование световых условий, где бы изучалось не только действие отдельных участков спектра на растение, но и определенное их сочетание. Конечно, эта работа очень трудоемка. Однако такие опыты позволяют выявить потенциальную способность растения реагировать на меняющиеся интенсивность и спектральный состав света. В конечном счете регуляция условий освещения должна привести к управлению биологической и хозяйственной продуктивностью растений. Этот прием может быть с успехом применен вначале в контролируемых условиях, для закрытого грунта, а затем и в естественных условиях.

Возможности для проведения таких работ создаются с появлением станций искусственного климата. В частности, в Советском Союзе такие станции оборудованы в Институте физиологии растений АН СССР, Сельскохозяйственной Академии им. Тимирязева, МГУ, Агрофизическом Институте ВАСХНИЛ и др. На этих станциях ведется изучение действия света на структуру и функцию фотосинтетического аппарата, метаболизм, процессы роста и развития. Существенный вклад в изучение фактора спектрального состава света в жизни растений сделан в старейшем

фитotronе мира, в Пасадене (Калифорния) Вентом (Went, 1957). Активно изучаются некоторые вопросы действия света на растение также во Франции и Бельгии. Однако следует признать, что вопросам адаптивных эффектов фотосинтеза высших растений к качеству света мировой наукой пока уделяется очень небольшое внимание.

Изучение длительного воздействия качества света на фотосинтез и фотосинтетический аппарат высших растений, к сожалению, до настоящего времени ограничивается техническими условиями и малой мощностью искусственных источников света. Последнее не позволяет иметь узкие участки спектра, интенсивность радиации которых обеспечивала бы фотосинтез, соответствующий верхней части линейного участка световой кривой фотосинтеза. Особенно это касается высших наземных растений, имеющих высокий световой порог насыщения фотосинтеза. Только применение ксеноновой лампы, обладающей мощным сплошным спектром в видимой области, увеличивает возможности изучения спектра действия и эффективности фотосинтеза по длине всей световой кривой, вплоть до насыщающих интенсивностей.

Изучение адаптивных эффектов фотосинтеза в связи с качеством света осложняется еще одним обстоятельством. Уже давно замечено, что при длительном выращивании в различных участках спектра растения становятся морфологически неодинаковыми (Popp, 1926; Клешнин, 1954). Неоднократно наблюдалось (Клешнин, 1954) различные морфологические эффекты у растений, выращенных целиком или частично (как дополнительное освещение к основному) на свету различного спектрального состава. Хорошо известны, например работы Разумова (1933), Катунского (1937). Эти исследователи впервые пытались регулировать фотоперiodическую реакцию растений воздействием дополнительным красным или синим светом. Подобные работы, сорок лет назад начаты также в Голландии (Wassink, Stolwijk, 1952; Ван-дер Вин, Мейерс, 1962 и др.). Развличные морфофизиологические эффекты, вызываемые длительным выращиванием растений на свету различного спектрального состава, исследованы Клешниным (1954), Протасовой (1958), Мошковым (1961), Куперман (1961), Леманом (1961). Вначале все морфологические эффекты, обнаруживаемые у зеленых растений, приписывались изменению условий освещения в видимом участке спектра (например, действию в отдельности синим, зеленым и красным светом) и эффективность ответов сопоставлялась со спектром поглощения хлорофилла и фотосинтезом (Катунский, 1937; Клешнин, 1954).

Однако затем оказалось, что часто эффект, приписываемый действию красных лучей, на самом деле относится не ко всей красной области спектра, а только к ее части. Так, наиболее активный и противоположный по знаку ответ растения в отноше-

нии фотопериода, роста, общего метаболизма, проявляется при воздействии на растение красным (660 мкм) или дальним красным (730 мкм) светом. Позднее была открыта пигментная система, поглощающая свет в красной области спектра, которая обратимо изменяется при освещении красными и дальними красными лучами. Поэтому в дальнейшем центр тяжести исследований был перенесен на изучение различных ответов, возникающих в растении под влиянием воздействия красным и дальним красным светом. Однако в самое последнее время вновь большое внимание сосредоточено на значении синей области спектра для морфогенеза и обмена веществ. Таким образом, в настоящее время предполагают, что действие света на растения (помимо фотосинтеза) осуществляется с участием нескольких фоторецепторных систем: одна из них осуществляет регуляцию многообразных сторон жизнедеятельности растения (фотоморфогенез растения) путем взаимодействия красного и дальнего красного света (*red-far-red effect*), так называемая низкоэнергетическая система «фитохрома». Для второй («высокоэнергетической») характерен максимум поглощения света в синей области спектра. В растении, по-видимому, имеются и другие системы, например система, ответственная за фототропизм растений. Фотоморфогенез определяют как контроль, осуществляющий светом над ростом, развитием и органогенезом независимо от фотосинтеза. В то же время необходимо отметить, что далеко не всегда ответ растения на воздействие светом определенного качества бывает четким. Время появления ответа и даже его знак зависят от предварительной подготовки растения. Особенно это касается явления фотопериодизма (Константинова, 1964). Последнее указывает, что между взаимодействием фоторецептора со светом, его изменениями под влиянием света и ответной реакцией растения на воздействие светом имеется сложная цепь реакций, активность которых и само осуществление зависят от физиологического состояния растения. В связи со сказанным очевидно, что условия освещения могут влиять не только на работу пигментов фотосинтеза, но и на деятельность систем фотоморфогенеза. Можно предположить взаимодействие систем фотосинтеза и фотоморфогенеза в зеленом растении. Поэтому мы считаем необходимым остановиться на характеристике основных систем фотоморфогенеза растений.

## 2. НИЗКОЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ ФОТОМОРФОГЕНЕЗА «КРАСНЫЙ — ДАЛЬНИЙ КРАСНЫЙ СВЕТ», ВОЗБУЖДАЕМАЯ ФИТОХРОМОМ (НЭР)

Сейчас в достаточной мере выяснено наличие в растении пигментной системы, названной «фитохромом». Хромопротеид «фитохром» — фотоактивная каталитическая система растений,

обратимо изменяющаяся при воздействии красных и дальних красных лучей, широко распространена в тканях высших растений. Обратимые изменения этого фотофермента, по всей вероятности, являются ключевым пунктом для регуляции светом многих сторон жизнедеятельности растений.

Открытию и изучению фитохрома в растениях способствовали три методических подхода: 1) определение спектров действия некоторых ответов растения (фотопериодическая реакция, скорость прорастания светочувствительных семян и др.) *in vivo*; 2) изучение свойств пигмента, вызывающего эти ответы, путем регистрации дифференциальных спектров растений и частично очищенных препаратов при последовательном освещении красным и дальним красным светом (с помощью двухлучевых спектрофотометров); 3) выделение, последовательная очистка фитохрома и изучение его химического строения. Сопоставление результатов, полученных всеми методами, как будет видно из дальнейшего изложения, позволило с уверенностью говорить о существовании такой системы и регуляции с ее помощью многих физиологико-биохимических ответных реакций у зеленых или потенциально зеленых растений (этиолированные растения, альбиносы, семена).

### Обнаружение в растениях эффекта красной — дальней красной радиации

Первая информация о неравноценности различных участков длинноволновой области спектра (красных лучей) для растений получена в 1935—1936 г. (Flint, Mc Alister, 1935; Mc Alister, Flint, 1936, цит. по Borthwick et al., 1952). Было показано, что ускорение прорастания семян салата светом (*Lactuca sativa L.*) наблюдается в области 525—700 мкм (с максимумом в 660 мкм) и ингибируется освещением 700—820 мкм (максимум для ингибирования — 710—750 мкм).

Однако систематическое исследование реакции красный — дальний красный свет, а также обнаружение и идентификация фоторецептора, возбуждающего реакцию, начато лишь в 1946 г. группой физиологов, биохимиков и физиков в Белтсвилле (США). Толчком к этим исследованиям послужило определение спектров действия зацветания растений.

Известно, что фотопериодический импульс локализован в листе (Мошков, 1936; Чайлахян, 1936). Передача его к точке роста вызывает изменения в дифференциации тканей, которые в конечном итоге приводят к цветению растения. Поэтому естественно искать связь между условиями освещения листа и осуществлением фотопериодической реакции.

В Белтсвилле в 1946 г. на основе мощного источника освещения (дуговая лампа) был сконструирован призматический спек-

тограф. С его помощью, освещая лист в середине ночи монохроматическим светом, исследователи пытались выяснить значение различных участков спектра для зацветания. Иными словами, определялось значение для зацветания прерывания светом темноты (Parker et al., 1946). Растения выращивались на неблагоприятном для цветения дне, затем за несколько дней перед опытом получали индукцию благоприятным днем. После этого у растений обрывались все листья. Оставался лишь один «модельный» лист. Такие растения помещались на короткий день. Середина длинной ночи прерывалась у них действием монохроматического света различных участков спектра. После нескольких циклов такой обработки растения вновь возвращались на благоприятный день. Спектр действия получали, учитывая количество света (минуты освещения, помноженные на интенсивность света), необходимое для одинакового физиологического ответа. В случае короткодневных растений это была задержка цветения за счет прерывания светом длинной ночи, для длиннодневных — ускорение зацветания. Наиболее эффективным для фотопериодической реакции оказался свет в области 660—680 мк. Существенная активация (или подавление) реакции цветения наблюдалась уже при количестве этого света порядка  $2-3 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup>. Синяя область была в десятки раз менее эффективна, чем красная. Дальний красный свет (более 700 мк) практически вовсе не влиял на ход развития. Реакция растений на качество света четко проявлялась только в том случае, если прерывание ночи происходило в средине темнового периода. Сдвиг во времени действия на 2—3 часа резко уменьшал или вовсе снимал подобную реакцию. Это явление объясняют изменением в течение ночи соотношения двух форм фитохрома (Borthwick et al., 1961; Borthwick, Cathey, 1962). Однако природа этого явления далеко не выяснена. По всей вероятности, она связана с механизмом «биологических часов» (Бюннинг, 1961).

Весьма существенно, что для двух фотопериодических групп растений (коротко- и длиннодневных) противоположные ответы — ускорение и торможение зацветания имели один и тот же спектр действия. Этот факт указывает на идентичность фотопрепараторной системы, регулирующей фотопериодическую реакцию у обоих групп растений (Borthwick et al., 1952; Hendricks, 1960). В дальнейшем было найдено совпадение спектра действия фотопериодической реакции со спектром действия вытягивания стеблей и изменения величины пластиинки листа этиолированных растений гороха (Parker et al., 1949), изгиба колеоптиля (Klein et al., 1956), прорастания семян салата (Borthwick et al., 1952) и тем самым была установлена универсальность этой системы.

Уже на основании первых работ было предположено несоот-

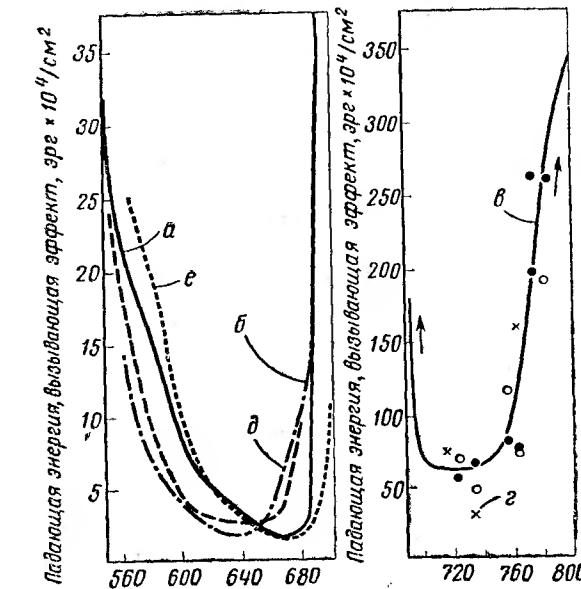


Рис. 40. Спектр действия возбуждения прорастания семян салата и зацветания дуришиника светом в области 560—800 мк и спектры действия увеличения на 50% длины этиолированных листьев гороха (e), на 17% зацветания ячменя (d) в области 560—700 мк. Кружки на правом рисунке показывают торможение прорастания семян (Hendricks, 1960)

a — семена салата, ускорение прорастания на 50%; б — дуришиник, задержка цветения до 50%; в — семена салата, подавление прорастания на 50%; г — дуришиник, ускорение цветения до 50%

ветствие пигментной системы, идентифицированной по спектру действия различных реакций, морфогенеза с хлорофиллом. В случае фотопериодического ответа эта система, естественно, была локализована в листе. Однако обнаружение подобного действия качества света на ростовые эффекты у незеленых растений показывает, что система специфична не только для зеленых листьев. Кроме того, возможность участия хлорофилла легко исключается несоответствием спектра поглощения хлорофилла спектру действия реакции в синих лучах.

Итак, ряд морфологических ответов имел один и тот же спектр действия, в котором самым примечательным являлось то, что красная и дальняя красная области вызывали самые разнообразные, но всегда противоположные ответы. На рис. 40 представлены некоторые из этих ответов. Сразу заметна высокая эффективность красной (около 660 мк) области спектра. Реакция растения проявляется при очень малой энергии этого света

(особенно, если принять во внимание, что это энергия света, падающего не в единицу времени, а за весь период освещения). Для противоположного ответа в дальней красной области нужно несколько большее количество энергии.

### Обратимость действия эффекта красного — дальнего красного света на растения

Для прорастания семян была исследована возможность обратимости действия красного (К) и дальнего красного (ДК) света. Цифры, приведенные в табл. 61, четко указывают на противоположный эффект действия К и ДК света и на то, что обратимость имеет количественный характер, если смена условий освещения следует непосредственно одна за другой.

Таблица 61

Действие красного и дальнего красного света на прорастание семян салата (Butler, 1964)

Красный свет 580—700 мкм $6 \cdot 10^8$ эрг/см <sup>2</sup> ·сек		Дальний красный свет, 700—800 мкм $7,5 \cdot 10^8$ эрг/см <sup>2</sup> · сек (после предварительного освещения 10 мин. красным светом)			Обратимость эффекта красный— дальний красный	
освещение, мин.	прорастание, %	освещение, мин.	прорастание, %	световые условия	прора- стание, %	
0	4	0	89	Темнота	3	
1	7	1	94	К	94	
2	46	2	89	ДК	7	
4	61	4	76	К—ДК—К	92	
8	92	8	49	ДК—К—ДК	8	
16	97	16	11	К—ДК—К—ДК—К	93	
				К—ДК—К—ДК— —К—ДК	7	

Вывод о том, что обратимость физиологического ответа связана с взаимопревращениями одной пигментной системы, а не двух, был сделан еще в 1952 г. (Borthwick et al., 1952). Доказательства этого были получены в следующем опыте. Если семена перед опытом набухали в темноте не как обычно 16 час., а свыше, то количество красной радиации, необходимое для полного прорастания, должно было быть увеличено по сравнению с тем, которое указано в табл. 61. После 31 часа набухания в темноте время, необходимое для прорастания семян, увеличивалось почти втрое. В то же время количество энергии ДК радиации, необходимое для ингибиции этого прорастания, уменьшалось. Таким образом увеличение темнового периода способствует более быстрому проявлению ингибирующего действия ДК

света. Предполагают поэтому (Borthwick et al., 1952), что в темноте происходит та же реакция, что и при действии ДК света — превращение одной формы пигмента в другую. Прорастание в темноте не наблюдается благодаря тому, что форма, образующаяся в темноте и под влиянием света 730 мкм, каким-то образом тормозит дыхание набухших светочувствительных семян. И действительно, показано, что при освещении красным светом 660 мкм дыхание семян активируется (Hagen et al., 1954; Evenari et al., 1955). Предполагают, что при освещении красным светом 660 мкм пигмент переходит в активную форму 730 мкм (Ф 730). При освещении светом 730 мкм, наоборот, форма 730 переходит в неактивную форму 660 (Ф 660). Темнота вызывает тот же эффект, что и свет 730 мкм. Следовательно, Ф 730 нестабильна и в темноте переходит в стабильную форму Ф 660. Тогда взаимопревращения пигмента можно изобразить следующим образом:



Активной формой пигмента считается форма Ф 730, поскольку она образуется при освещении красным светом, а этот последний активирует прорастание семян (Hendricks, 1964).

На семенах салата было показано отсутствие температурной зависимости реакции (Borthwick et al., 1952). В пределах изменения температуры от 0 до 30° величина реакции не менялась, т. е. температурный коэффициент был равен 1. Последнее свидетельствует в пользу фотохимической природы этой реакции и указывает на то, что фотопреакция вызывает молекулярную перестройку пигмента по простому уравнению:  $\Phi 660 \rightarrow \Phi 730$ . Таким образом, реакция  $\Phi 660 \rightarrow \Phi 730$  является реакцией первого порядка (Hendricks, 1964).

Как видно, исходя из данных физиологических опытов были предсказаны свойства пигмента, которые затем полностью подтвердились при работе с выделенным пигментом (см. ниже). Итак, на основании регистрации спектров действия различных физиологических ответов зеленых растений, этиолированных проростков и светочувствительных семян (фотопериодическая реакция, изгиб гипокотиля, рост стеблей и листьев, прорастание семян) было высказано предположение о существовании в растении пигментной системы, ответственной за регуляцию некоторых его физиологических функций. Доказано, что система активируется малыми интенсивностями света («низкоэнергетическая реакция»). Величина действия света варьирует от степени возбуждения пигмента и условий подготовки, но для зацветания (Parker et al., 1946), прорастания семян (Borthwick et al., 1952,

1952a) и изгиба колеоптиля (Klein et al., 1957) количество энергии красного света, вызывающего реакцию, всегда очень невелико. Для противоположного действия дальнего красного света интенсивность должна быть несколько выше (рис. 40). Показана обратимость К—ДК радиацией ряда физиологических ответов: зацветания (Borthwick et al., 1952), прорастания семян (Borthwick et al., 1952a), ингибирования этиоляции (Price et al., 1964) и др. Наконец, установлено отсутствие температурной зависимости для прорастания семян и молекулярное значение обратимости.

На основе множественности физиологических ответов было высказано предположение о том, что поглощение красного или дальнего красного света пигментом вызывает какие-то его изменения, которые в свою очередь влияют на центральные звенья общего метаболизма растений.

Кроме того, было установлено чрезвычайно важное явление. Различный морфогенетический эффект вызывает не только освещение растений красным или дальним красным светом. Уже простое изменение соотношения К—ДК лучей в источнике освещения существенно меняло течение морфогенетических реакций растения. Например, у фасоли, выращенной в камере под светом люминесцентных ламп, сближены междуузлия, и все растение имеет компактный вид. Достаточно таким растениям в конце каждого дня давать в течение 5 мин. свет от лампы накаливания (богатой, в отличие от люминесцентной, дальней и ближней инфракрасной радиацией), как междуузлия начнут резко вытягиваться. Эффект обратим, т. е. действие света ламп накаливания не проявляется, если после освещения лампой накаливания вновь дать пятиминутный свет люминесцентных ламп.

Тот же эффект обратимой этиоляции можно получить также и на незеленых проростках фасоли. В этом случае 1 мин. красного света, данная ежедневно в течение нескольких дней, приводит к увеличению и развертыванию листьев, уменьшению типокотиля и увеличению эпикотиля. Эффект опять-таки может быть снят следующей за красным светом обработкой дальним красным светом (в течение 1 мин.) (Butler, 1964).

Таким образом, даже простое изменение соотношения красных и дальних красных лучей в светопотоке может влиять на морфологию растений.

### Идентификация фитохрома физическими методами

Прямые доказательства существования в растениях пигмента К—ДК (фитохрома) начали появляться с 1959 г. (Butler et al., 1959). Один из способов доказательства — физический — основывается на определении различий в оптической плотности тканей в области максимума спектра действия различных физиологиче-

ских ответов при освещении К или ДК светом. Такие измерения были сделаны с помощью чувствительных одно- и двулучевых спектрофотометров, специально приспособленных (Владимиров, Литвин, 1964) к работе с сильно рассеивающими свет тканями. Поскольку хлорофилл маскирует то незначительное поглощение света, которое вызвано фитохромом, исследования проводятся на незеленых объектах (главным образом этиолированных проростках).

В первых опытах употреблялись проростки турнепса, выращенные в темноте и обработанные хлорамфениколом. Ткани помещали в кювету, которая освещалась 1 мин. сильным красным светом с максимумом  $\sim 660 \text{ мкм}$ . При этом пигмент превращался в Ф 730. После этого измерялась оптическая плотность (ОП) между 570 и  $850 \text{ мкм}$ . Затем ткань освещалась 1 мин. светом в области  $700 \text{ мкм}$  (для образования Ф 660) и вновь измерялась оптическая плотность образца. Различия  $\Delta$  ( $\Delta\text{OP}$ ) для двух измерений составляли величину порядка 0,02. Позднее фитохром таким образом (по изменению оптической плотности) определяли во многих незеленых растениях: проростках кукурузы, ячменя, риса, овса, сорго, пшеницы, различных сортах бобов, цветной капусты.

В последнее время (Lane et al., 1963) в зеленых тканях растений, освобожденных от хлорофилла, также обнаружили фитохром. Последнее обстоятельство очень существенно, так как устанавливает единство системы, которая ответственна за спектр действия многих физиологических ответов у зеленых и незеленых растений. Однако количество фитохрома обратимо изменяющееся в зеленых тканях, во много раз меньше, чем в этиолированных проростках различных растений. На рис. 41 представлены изменения в поглощении света тканью кукурузы, выращенной в темноте и последовательно освещенной красным и дальним красным светом, а также дифференциальный спектр (красный — дальний красный) изменения оптической плотности. Наблюдаемые изменения в оптической плотности быстро обратимы, а максимумы двух форм пигмента ( $660$  и  $730 \text{ мкм}$ ) находятся в полном соответствии с физиологическими ответами (рис. 41). Быстрое количественное определение фотообратимой формы фитохрома можно сделать с помощью дифференциального спектрофотометра, который прямо измеряет разность оптической плотности образца между двумя любыми фиксированными длинами волн (Birth, 1960). Измерение включает освещение образца сильным (действующим) красным или дальним красным светом. Интенсивность измеряющего света  $660$  или  $730 \text{ мкм}$  при этом настолько мала, что не вызывает фотопререкции. Общая сумма обратимо изменяющегося фитохрома ( $\Phi_{общ}$ ) в образце пропорциональна изменениям в оптической плотности, обнаруженной за счет действующего света.  $\Phi_{общ} = K \Delta (\Delta \text{OP}) = K (\Delta \text{OP}$  дальний крас-

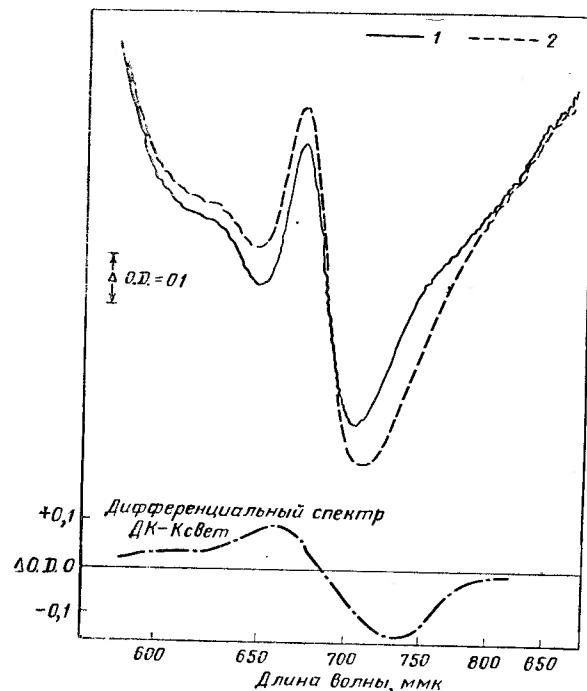


Рис. 41. Автоматическая запись кривой оптической плотности ткани кукурузы в области поглощения света фитохромом в форме 730 (1) и 660 (2). Внизу — дифференциальный спектр изменения оптической плотности (Butler et al., 1959)

ный —  $\Delta \text{ОП}$  красный). Относительная сумма первоначально присутствовавшего фитохрома в виде  $\Phi 730$  также определяется через  $\Delta \text{ОП}$ , зарегистрированную перед освещением действующим светом и после начального освещения дальним красным светом.  $\Phi 730 = K$  ( $\Delta \text{ОП}$  дальний красный —  $\Delta \text{ОП}$  перед освещением) (Butler, 1964a). Частично очищенный фитохром из проростков кукурузы дает те же обратимо изменяющиеся пики в дифференциальном спектре, как и ткани растений. Спектр действия фотохимических изменений пигмента определялся путем фотометрического измерения степени превращения фитохрома в результате освещения слабого раствора фитохрома монохроматическим светом известной интенсивности. Было найдено, что фотохимические изменения в обоих направлениях  $\Phi 660 \rightleftharpoons \Phi 730$  характерны для реакций первого порядка. На свету обратимость не зависела от температуры до  $-20^\circ$ . Затем она уменьшалась, и при  $-196^\circ$  реакция не происходила. При нагревании до высоких тем-

ператур обратимость исчезает. Отсутствие температурной зависимости в широком интервале указывает на фотохимический характер взаимопревращений обеих форм фитохрома. Квантовая эффективность ( $\phi$ ) перехода  $\Phi 660 \rightarrow \Phi 730 = \sim 1$  (моль/эйнштейн). Это указывает, что фитохром — простое вещество, а не смесь близких соединений. Эффективность обратного перехода  $\Phi 730 \rightarrow \Phi 660$  в 3—4 раза ниже (Butler et al., 1959). В темноте же превращение  $\Phi 730 \rightarrow \Phi 660$  имеет ферментативный характер. Оно резко снижается при изменении температуры от  $27$  до  $3^\circ$  и не происходит в атмосфере азота. Насыщение реакции и характер дифференциальных спектров указывают, что для физиологических ответов необходимо возбуждение лишь незначительного количества пигмента. Однако детальный механизм фото- и термо-превращений фитохрома не изучен.

Таким образом, для тканей и растворов идентифицирован обратимо изменяющийся в области  $660$ — $730$  мкм пигмент — фитохром. Физическими методами показана идентичность этого пигмента *in vivo* и *in vitro* и изучены некоторые его свойства.

### Препартивное выделение фитохрома

После того как физическими методами фитохром был идентифицирован в живых тканях, началось последовательное извлечение и очистка фитохрома с помощью методов белковой химии. Поскольку пигмент в тканях содержится в очень небольших количествах, выделение его является громоздкой и сложной процедурой. Обычный объект для выделения — этиолированные проростки различных растений, в которых фитохрома больше, чем в зеленых тканях, и где он не маскируется хлорофиллом.

Оказалось, что фитохром является компонентом растворимого белка. Он легко экстрагируется после растирания из растительного материала буферными растворами. Очевидно, это скорее белок цитоплазмы, чем белок органелл клетки (Siegelman, Hendricks, 1964). Однако существует также мнение, что фитохром ассоциирован с митохондриями (Gordon, 1961). Наибольшая его концентрация найдена для молодых этиолированных проростков злаков. Успех выделения фитохрома обязан проведению избирательной денатурации белка, которая постепенно приводит к понижению растворимости фитохрома.

Многократной очисткой растительного материала удавалось получить содержание фитохрома на белок порядка 0,1%. Проведенная недавно 60-кратная очистка фитохрома у выросших в темноте проростков овса дает уже 30%-ную чистоту фитохрома. Молекулярный вес такого хромопротеида (фитохрома), определенный по константе седиментации, составляет 90 000—150 000 (Siegelman, Hendricks, 1964).

По всем данным, фитохром — фермент, хромофорная группа которого прочно связана с белком. Этот белок не отделяется при обратимой трансформации фитохрома. Переход фитохрома Ф 730 в Ф 660 происходит с изменением формы, но без диссоциации от белка. Фотохимические изменения в обратном направлении Ф 660 → Ф 730 происходят от термодинамически стабильной формы к нестабильной, которая постепенно вновь обращается в стабильную. При извлечении и длительном стоянии при  $-17^{\circ}$  отношение Ф 730/Ф 660 уменьшается. Особенно теряется активность при выделении фитохрома в отсутствие SH-групп. Возможно, что при этом происходит денатурация белка. В последнее время удалось показать, что спектр поглощения обеих форм хромопroteида фитохрома  $\Phi 660 \rightleftharpoons \Phi 730$  определяется взаимодействием хромофорной группы с белком, к которому она присоединена. Денатурация фитохрома может быть специально исследована путем измерений спектра поглощения длинноволнового максимума двух форм фитохрома. ДК-форма пигмента более чувствительна к денатурации (с помощью мочевины,  $\pi$ -гидроксимеркурибензоата, трипсина и др.), чем К-форма. Это согласуется с большей активностью первой формы. Различная устойчивость форм к денатурации указывает, что фотопревращение фитохрома связано с изменениями конфигурации белковой молекулы, ведущей к изменению ее атакуемости. Возможно, форма ДК имеет более «открытую» структуру. По-видимому, сульфгидрильные группы участвуют в поддержании характерной для свойств пигмента конфигурации белка (Siegelman, 1964). Что касается идентификации хромофорных групп пигмента, то этот вопрос еще не решен. Малое поглощение света в синей области спектра обеими формами фитохрома является доказательством того, что хромофор имеет не циклическую структуру, подобно тетрапирролам типа хлорофилла или гемина, а открытую (Hendricks et al., 1962).

Показано, что спектр поглощения фитохрома подобен спектру аллофикацианина. Простетической группой аллофикацианина является биллидиен или биллитриен. Предполагают, что и для фитохрома биллидиен выполняет ту же функцию. Тетрапирролы с открытой целью могут дать несколько типов изомеров, очевидно различающихся по физиологической активности. Они могут образовать (рис. 42) *цик-цик-цик*-формы; *2 — цик-цик-транс*; *3 — транс-транс-транс-изомеров* (Hendricks, 1964).

Как видно, изучение системы фитохрома уже дало существенные результаты. Найдено в основном соответствие спектра действия реакций *in vivo* для различных физиологических процессов со свойствами фитохрома, изученными физическими методами *in vivo* и *in vitro*. Показана и сопоставлена с обратимостью форм пигмента обратимость многих реакций. Сделаны большие успехи

на пути выделения фитохрома. В то же время очевидно, что между физиологическим ответом и изменением свойств фоторецептора под влиянием света лежит сложная цепь реакций, включающих изменения каких-то биохимических превращений.

До настоящего времени не удалось найти основное звено этих изменений. Судя по разнообразию физиологического-биохимических

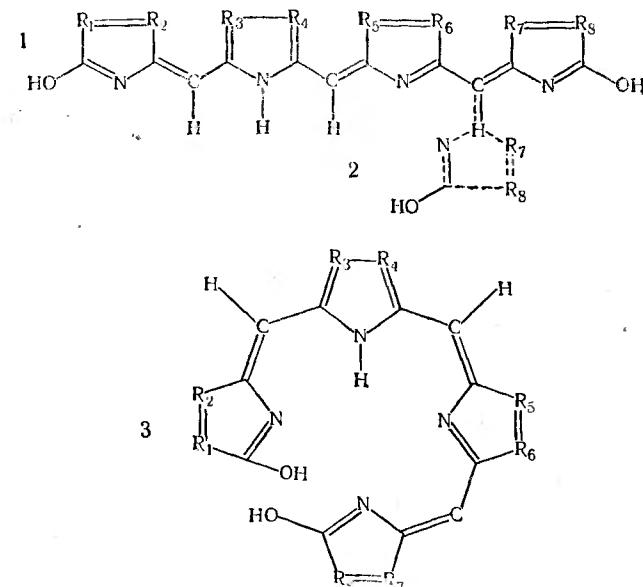


Рис. 42. Формула биллитриена в конфигурациях  
1 — *цик-цик-цик*; 2 — *цик-цик-транс*; 3 — *транс-транс-транс-изомеров*  
(Hendricks, 1964)

ответов растения на красный и дальний красный свет, фитохром влияет на активность универсального энзима, взаимодействующего с различными субстратами или с одним универсальным для многих биосинтезов субстратом. Так, предполагают, например, что фитохром (в одной из форм) может реагировать с ацетилкоэнзимом А (Siegelman, Hendricks, 1964), развязывая или, наоборот, ингибируя таким образом некоторые основные реакции общего метаболизма.

Однако сведения о механизме передачи сигнала от активированного светом фитохрома на общий обмен растений весьма невелики. Полученные до сих пор результаты, пожалуй, показывают, что все зарегистрированные изменения в обмене носят вторичный характер. Иными словами, центральное звено — изменение формы фитохрома → возбуждение первичного биохимического

ответа, регулирующего все последующие,— пока не найдено. Тем не менее информация даже в отношении непрямых ответов может быть полезна, для того чтобы при изучении действия света на физиологические функции растений можно было каждый раз оценить изменения, вызываемые различными фотоактивными системами растений.

### Некоторые реакции метаболизма, отвечающие на воздействие К—ДК светом

Физиолого-биохимические реакции, происходящие в растении в ответ на действие К—ДК света на растения, многообразны. Эта система влияет на ауксиновый обмен растений (включая механизм действия ингибиторов ИУК), некоторые реакции метаболизма, определяющие фотопериодизм растений и фототропизм (Гребинский, 1961; Кефели, Турецкая, 1964; Briggs, 1964). Большое внимание уделяется регуляции синтеза антоциана К—ДК светом. Некоторые исследователи (Siegelman, Hendricks, 1964) считают, что образование антоцианов может быть связано с центральным звеном регуляции обмена К—ДК светом. Каждый из перечисленных вопросов в отдельности представляет интерес для специалистов — физиологов и биохимиков различных профилей. Мы остановимся на тех изменениях в метаболизме, вызываемых К—ДК светом, которые могут иметь более непосредственное отношение к осуществлению фотосинтетической деятельности растений или же связаны с механизмом формирования фотосинтетического аппарата (см. гл. II, IV). Среди них — влияние на энергетический уровень растений (образование макроэргических фосфорорганических соединений), действие на нуклеиновый обмен, накопление углеводов, белков, синтез хлорофилла, образование пластид.

Поскольку система фитохрома обнаружена у водорослей, мхов, высших растений (Mohr, 1962) и считается универсальной для всех потенциально зеленых растений и в то же время независимой от фотосинтеза, эффект К—ДК света на метаболизм исследуется на «модельных» незеленых растениях, в основном на этиолированных проростках злаков. Этот объект по ряду признаков удобен для работы. При работе с зелеными растениями основным критерием отличия реакций морфогенеза от фотосинтеза является только низкий уровень светового насыщения реакции. Употребление этиолированных проростков позволяет строго разделить эффект системы морфогенеза от эффекта фотосинтеза. Молодые проростки имеют достаточно резервного материала, чтобы расти с постоянной скоростью в течение нескольких дней после прорастания без снабжения пищей извне.

Морфофизиологические ответы растений на воздействие К—ДК светом должны быть связаны с затратой энергии. Поэтому

исследовалась возможная связь реакции К—ДК с окислительным фосфорилированием, поступлением неорганического фосфора и образованием органических фосфатов. Оказалось, что для митохондрий, выделенных из этиолированных проростков овса, обработанных К или ДК светом, способность к окислительному фосфорилированию изменяется в зависимости от условий освещения. Наименьшая активность обнаружена в ДК свете, затем в темноте, наибольшая — в красном. Растения освещались в опытах 3 часа, затем 24 часа выдерживались в темноте, после чего активность окислительного фосфорилирования определялась на митохондриях (Gordon, Surrey, 1960). Длительное экспонирование проростков салата на красном свете приводит к ускорению поглощения и этерификации фосфата, которое подавляется ДК светом. Эффект строго коррелирован со скоростью прорастания семян салата. При 10-минутных попеременных экспозициях на К и ДК свету найдена обратимость реакции  $\Delta P_{\text{орт}}/P_{\text{неорт}}$  (Gordon, 1964). Обратимость, повторенная 4 раза, полностью совпадает с обратимостью, найденной для прорастания семян салата (Borthwick et al., 1952a). Для изолированных из растений митохондрий при их освещении К и ДК светом эффект света на фосфорный обмен не обнаружен (Gordon, 1964). Аксенова (1965) также полагает, что К—ДК свет может регулировать энергетический обмен *in vivo*. Однако для гипокотиля фасоли и этиолированных проростков овса, обработанных К или ДК светом и затем находившихся 1—6 час. в темноте, изменений в содержании АТФ, нуклеотидов и скорости включения  $P^{32}$  в нуклеотиды не обнаружено (Sisler, Klein, 1961). Очевидно следует признать поэтому, что вопрос о влиянии К—ДК света на энергетический обмен растений далек от окончательного разрешения.

В то же время весьма вероятно, что фосфорный обмен — это одно из наиболее близких звеньев в цепи реакции регулируемых К—ДК светом и ведущих к морфофизиологическим изменениям. Вероятно, кроме энергетического обмена К—ДК свет может регулировать нуклеиновый обмен. Можно также ожидать под влиянием этой реакции изменений в соотношении ауксинового и нуклеинового обменов. Вообще поиски регуляции фосфорного и нуклеинового обмена с помощью К—ДК света, возможно, будут небезуспешными. Имеются данные о том, что даже состояние хромосомного аппарата растений может изменяться под влиянием системы К—ДК. Так, освещение К или ДК светом может определять стойкость хромосомного аппарата облученных ультрафиолетом (УФ) кончиков корней фасоли. Если перед опытом облученные УФ корни освещались светом 715—940 мкм, 3000 мкв/см<sup>2</sup> (доза света давалась за 3 часа перед облучением), то количество хроматических аббераций, подсчитанных в метафазе, резко возрастало по сравнению с темновым контролем. Предварительное освещение красным светом (620—680 мкм,

300 мкв/см<sup>2</sup>) не вызывало подобного эффекта. Отрицательное действие ДК света снималось при освещении красным светом. При этом даже уменьшение отношения К к ДК в источнике света снижало обратимость, т. е., как и во всех случаях, в первую очередь для реакции было важно соотношение К к ДК форм фитохрома (Moh, Withrow, 1959). По данным некоторых авторов действие красного света по сравнению с ДК активирует образование пластид и благоприятно влияет на белковый синтез (Mego, Jagendorf, 1961; Price et al., 1964). Известно, что благоприятное действие на синтез белка оказывает кинетин (6-фурфуриламинопурин). Накопление белка в последнем случае сопровождается усилением нуклеинового обмена, увеличением содержания ДНК и РНК и восстановлением клеточных структур у стареющих листьев (Курсанов и др., 1964). При сравнительном исследовании действия кинетина и красного света на рост дисков фасоли оказалось, что и кинетин, и красный свет (12 мин.) способствуют росту дисков (измерения через 48 час. после воздействия). В то же время кинетин, в отличие от красного света, увеличивает клетки палисадной паренхимы. Наилучшие результаты для обоих показателей (рост дисков и увеличение клеток палисадной паренхимы) получены при одновременном действии обоих факторов. Это синергическое действие связывается с тем, что красный свет и кинетин действуют на различные процессы: кинетин — на растяжение клеток, красный свет — на клеточное деление. Оба воздействия вместе дают оптимальный эффект. При действии одного красного света величина клеток не меняется. Таким образом, синергический эффект красного света и кинетина указывает на возможность взаимосвязи между действием кинетина и красного света на регуляцию клеточного деления и растяжения (Powell, Griffith, 1960). У *Lemna minor* (Rombach, 1961), выращенной в темноте, освещение красным светом в 7000 эрг/см<sup>2</sup> · сек по 20 мин. каждые 3 часа увеличивало размер клеток и скорость роста растений. Прибавка кинетина оказывала синергическое действие. Эффект красного света частично снимался ДК. В присутствии кинетина ингибирующее действие ДК света уменьшалось; таким образом, и в этих опытах проявился синергизм в действии кинетина и красного света. Был сделан вывод о том, что фотохимическая реакция, вызываемая красным светом, способствует образованию какого-то вещества, которое вместе с кинетином создает наиболее благоприятные условия для роста. В последнее время проделана интересная работа по действию К и ДК света на нуклеиновый обмен этиолированных проростков риса (Holdgate, Goodwin, 1965). Проростки выращивались до пятидневного возраста в темноте, затем в течение трех дней ежедневно обрабатывались по 10 мин. красным или дальним красным светом или последовательно красным и дальним красным светом. Содержание ДНК в случае

обработки ДК светом было ниже, чем в контроле (темнота) и на красном свете. Различия увеличивались со временем, что указывает на превращения фитохрома в этом случае в неактивную форму. На красном свете содержание ДНК было выше, чем в контроле и на ДК свету. Такие же данные получены для РНК. Эффект красного света не проявлялся, если растения сразу освещались ДК светом. Авторы полагают, что изменения в содержании нуклеиновых кислот, специфично вносимые К и ДК светом, связаны с клеточным делением и развитием клеточных структур и что система фитохрома каким-то образом контролирует генетическую информацию. Вероятно, этот контроль совершается не прямо, а через образование веществ, которые могут изменить положение репрессора ДНК (например, гистона) и таким образом блокировать генетический код. В результате этого, благодаря изменению активности энзимов, произойдут изменения в метаболизме.

Роль низкоэнергетической реакции К — ДК изучается для формирования хлоропластов и синтеза хлорофилла. Первые наблюдения о том, что синтез хлорофилла контролируется реакцией фотоморфогенеза, сделаны Уисроу и др. Оказалось, что предварительная короткая экспозиция на свету для этиолированных листьев увеличивает потенциальную способность к синтезу хлорофилла при дальнейшем продолжительном освещении. Наибольшая величина ускоряющего эффекта наблюдалась для 660 мк. Положительный эффект света в 660 мк снимался светом в 730 мк (Withrow et al., 1956). Позднее эти результаты о действии красного и синего света были подтверждены другими исследователями (Virgin, 1958; Klein et al., 1957). Оказалось, что лагфаза в образовании хлорофилла уменьшается во много раз, если перед предварительным длительным освещением б/ым светом дается импульс красного света. Обработка вспышкой красного света ~ в 22 раза эффективнее для синтеза хлорофилла, чем синим (Virgin, 1958). Вспышка очень слабого красного света сокращает темновой период (лагфазу) образования хлорофилла в три раза по сравнению с темновым контролем. Для насыщения эффекта достаточно освещение красным светом ~7000 эрг/см<sup>2</sup> · сек в течение 4 мин. Дальнейший красный свет той же интенсивности снижает синтез хлорофилла только на 30%. Последнее соответствует более низкой эффективности перехода Ф 730 → Ф 660, чем Ф 660 → Ф 730 (см. выше). Обратимость этого эффекта при повторном воздействии К — ДК светом воспроизвелаась на 100% (Mitrakos, 1961). Обратимость действия системы К — ДК на синтез хлорофилла показана и другими исследователями (Margulis, 1962; Price, Klein, 1962). Ниже приводится эта обратимость для первых листьев этиолированных растений фасоли (табл. 62). Условия обработки следующие: красный свет — 40 мкв/см<sup>2</sup> в течение 3 мин. или ДК свет — 300 мкв/см<sup>2</sup> в

Таблица 62

Влияние красного (К) и дальнего красного (ДК) света на последующий синтез хлорофилла (в мкг/г свежего веса) (Price, Klein, 1962)

Предварительная обработка	Белый свет		
	5 мин.	3 часа	3 часа—5 мин.
Темнота . . . . .	13	84	71
ДК . . . . .	14	89	75
К . . . . .	15	191	176
К, ДК . . . . .	17	106	89
К, К . . . . .	18	186	168
К, ДК, К . . . . .	18	208	190
ДК, ДК . . . . .	14	97	83
К, ДК, К, ДК . . . . .	22	120	98
К, К, К . . . . .	22	209	187
К, ДК, К, ДК, К . . . . .	24	215	191
ДК, ДК, ДК . . . . .	15	104	89
К, ДК, К, ДК, К, ДК . . . . .	28	128	100

течение 5 мин. сменяется 18 час. темноты, затем включают белый свет интенсивностью в 1000 мкв/см<sup>2</sup> на 5 мин. или 3 часа.

Различие в количестве синтезированного хлорофилла между двумя вариантами (5 мин. и 3 часа обработки белым светом) соответствовало вновь синтезированному хлорофиллу и поэтому отражало любые изменения в скорости синтезаprotoхлорофилла, возникшие при обработке К—ДК светом (табл. 62).

Как видно из приведенных результатов, красный свет стимулировал синтез хлорофилла. Дальний красный — снимал этот эффект. Обратимость реакции констатирована для нескольких циклов последовательной обработки. Конечный эффект обработки определялся последними условиями освещения. Ингибирование эффекта красного света ДК наблюдается даже при прерывании обработки К—ДК темновым периодом (Price, Klein, 1962).

Обработка красным светом за час перед продолжительным освещением белым светом приводит к сокращению лагфазы в синтезе хлорофилла; 10-минутная обработка ДК снимает эффект. Как видно, обнаружена четкая регуляция синтеза хлорофилла К—ДК светом. В то же время прямого фотохимического превращения предшественника хлорофилла под влиянием К—ДК света, по-видимому, не происходит. По крайней мере, эта возможность остается нерешенной (Klein et al., 1957). Очевидно,

что действие системы фотоморфогенеза на синтез хлорофилла — один из многих морфологических ответов, вызываемых ею.

В последнее время эффект К—ДК света найден для биосинтеза не только хлорофилла, но и каротиноидов (Henshaw, Goodwin, 1964). Кратковременная обработка этиолированных проростков гороха красным светом вызывала стимуляцию роста, увеличение размера растения и сухого вещества, а также синтез каротиноидов в последующие 48 час. темноты (контроль-темнота). Эффект снимался ДК светом.

Имеются экспериментальные доказательства корреляции между скоростью образования пластид, их структурой и системой фитохрома (Hodge et al., 1956; Mego, Jagendorf, 1961; Price et al., 1964). Одновременно с образованием пластид под влиянием красного света наблюдается прирост белка и уменьшение содержания крахмала (Mego, Jagendorf, 1961; Landgraf, 1961).

С действием фитохрома связывают также образование некоторых ферментных систем. Так, показано, что ТПН-триозофосфатдегидрогеназа, синтез которой связывают с образованием хлорофилла и развитием фотосинтетической функции, может образоваться под влиянием системы К—ДК без одновременного синтеза хлорофилла. Достаточно 5 мин. освещения слабым красным светом в течение 4 дней для образования фермента как у зеленых, так и у незеленых растений. ДК свет, данный в течение 5 мин. вслед за красным светом, снимает эффект. После кратковременного воздействия слабым красным светом на этиолированные проростки кукурузы (Price et al., 1964) обнаруживается четкая корреляция между индуцированным светом увеличением пластид и уменьшением содержания крахмала. Определения проводились после 16 час. пребывания растений в темноте. К этому времени крахмал полностью исчезал из пластид после освещения красным светом и не разрушался при обработке ДК светом. Если вслед за красным светом следовал ДК, разрушения крахмала также не происходило. Смена К—ДК света особенно четко влияет на раскрытие листа. После 3 мин. красного света лист полностью раскрывается, ДК — целиком снимает эту реакцию. Анализ растворимых углеводов указывает, что одновременно с разрушением крахмала после освещения красным светом уменьшается также содержание растворимых сахаров. Эффект снимается ДК светом. Все эти реакции наблюдаются при очень малой интенсивности света (порядка 0,1—15 мдж на 1 см<sup>2</sup>). Максимальный ответ на изменение содержания углеводов отмечен через 12 час. темноты, однако видимые изменения наступают уже через 3 часа.

Таким образом, авторы показали вызываемое светом разрушение темнового крахмала в пропластиде и целом листе и соответствие этой реакции с ростовым ответом целого листа. Исчезновение крахмала строго коррелировало с морфологическими

изменениями листа и хлоропласта. Предполагается, что энзиматическая система углеводов включается в фотоморфогенез, поскольку известна необходимость углеводов для развертывания листвьев, синтеза целлюлозы, роста и развития растений. Уменьшение сахаров при росте тканей, органов, органелл клетки может быть связано с их тратой на дыхание или с потреблением на белковый синтез при развязывании морфофизиологических реакций в растении с помощью фитохрома. Доказательство этого можно видеть, например, в следующем эксперименте. Четкая реакция морфогенеза гаметофита папоротника *Onoclea sensibilis* на К свет (увеличение ширины гаметофита) проявляется только в том случае, если перед воздействием К или ДК светом растения выращивались при интенсивности света, достаточной для осуществления фотосинтеза. Однако и в присутствии сахарозы (без фотосинтеза) эффект К—ДК света проявлялся также четко. Делается вывод, что для реакций фотоморфогенеза необходим фотосинтез как источник энергии, который может быть заменен сахарозой (Miller I., Miller P., 1961).

Приведенные примеры указывают, что фитохром может быть регулятором многих биохимических реакций, в том числе синтеза белка, углеводов и, по-видимому, нуклеинового обмена. Эти ответы коррелированы с морфологическими изменениями. Однако все они получены в модельных опытах со специально подготовленным материалом, на молодых, преимущественно этиолированных проростках. Взаимодействие Ф 660 и Ф 730 исключалось тем, что обработка К и ДК светом проводилась попеременно.

Для зеленых растений особенно трудно выявить реакцию растения на К—ДК свет. В этом случае кратковременное воздействие светом накладывается на растение, имеющее световую предысторию, сложившуюся за счет определенных ритмов, интенсивности и спектрального состава освещения.

При длительном освещении, при многократном повторном превращении Ф 660  $\rightleftharpoons$  Ф 730 может наблюдаться лишь частичная обратимость эффекта или даже отсутствие обратимости. Приведем пример. Считают, что темновое превращение фитохрома и изменение соотношения Ф 660 к Ф 730 в течение ночи определяет временной ход реакции К—ДК для фотoperiodизма. Отсутствие эффекта К—ДК света в конце ночи связывают с тем, что к этому времени весь фитохром переходит в Ф 660. Однако последующие измерения показали, что часть фитохрома после освещения красным светом в темноте разрушается, не переходя в Ф 660. При этом потери достигают 70% (Hendricks et al., 1962). Степень разрушения оставшегося фитохрома в темноте зависит от того, какое количество Ф 730 имелось на свету. Последнее в свою очередь определяется условиями предварительного длительного освещения. Так, при продолжительном освещении этиолированных проростков источником света с равным соотношением крас-

ных и инфракрасных лучей соотношение обеих форм фитохрома складывается в пользу Ф 730 (2 : 1) (вследствие большей эффективности реакции перехода Ф 660  $\rightarrow$  Ф 730). В этом случае в темноте должны быть обнаружены наибольшие потери фитохрома. При снижении доли красных лучей начинает превалировать форма Ф 660 и потери уменьшаются. Интенсивность источника не существенна для фотостационарного содержания фитохрома, важно лишь соотношение лучей отдельных участков спектра. На красном свету в фотостационарном состоянии Ф 730 составляет около 80, а Ф 660 — 20%. При увеличении количества ДК радиации в источнике света, естественно, доля неактивной формы Ф 660 в растении будет увеличиваться (Butler, 1964a).

Итак, фитохром распространен у потенциально зеленых растений также широко, как хлорофилл. До последнего времени предполагалась полная независимость этой системы от фотосинтеза. Однако реакции фитохрома в какой-то мере определяют структурную организацию аппарата фотосинтеза. С этой точки зрения реакции фотосинтеза и фотоморфогенеза должны находиться в неразрывном единстве. Кроме того, фотосинтез может являться необходимым условием для осуществления реакций фотоморфогенеза как поставщик энергии и субстратов. Вероятно, что это обстоятельство может определять активность вызываемых фитохромом изменений в метаболизме.

Можно предположить, что в зеленой клетке фитохром находится не только в цитоплазме, но и в хлоропласте (подобно аппарату белкового синтеза — рибосомам и нуклеиновым кислотам). В пользу такого предположения указывает близкое совпадение области поглощения света фитохромом в дальних красных лучах с максимумом эффекта Эмерсона.

### 3. ВЫСОКОЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ ФОТОМОРФОГЕНЕЗА (ВЭР)

Длительное выращивание или выдерживание растений на свету красных или синих люминесцентных ламп определяет внешний вид растений, их урожай (Клешнин, 1954; Протасова, 1958; Протасова, 1963, цит. по Воскресенской, 1964; Van der Вин, Майерс, 1962), темп органогенеза (Куперман, 1961), некоторые реакции обмена (Воскресенская, 1952, 1953; Воскресенская, Гришина, 1958, 1959). В этом случае различный эффект красного и синего света трудно объяснить низкоэнергетическими реакциями К—ДК света, поскольку в спектре излучения люминесцентных ламп мало дальней и ближней инфракрасной радиации (Клешнин, 1954). Белые люминесцентные лампы могут даже служить, как указывалось, источником красных лучей в опытах с системой К—ДК, так как снимают эффект ДК света, полученный от света ламп накаливания (Butler, 1964). Поскольку си-

ний и красный свет все же вызывают различные морфологические эффекты, можно думать, что кроме НЭР, системы фитохрома К—ДК свет в растении имеется и другая регуляторная система, которая поглощает свет в синей области. Изменения в обмене, найденные при действии синего света, главным из которых является усиление синтеза азотистых веществ, объясняются возбуждением этим светом фотоактивных катализитических систем хлоропласта и целой клетки, скорее всего флавопротеинов (Воскресенская, 1952, 1953, 1956). На такую возможность указывалось в предыдущих главах в связи с описанием результатов опытов при секундном, минутном и часовом воздействии синих и красных лучей на фотосинтезирующй лист. При выращивании растений на красном или синем свету, также как и при кратковременной экспозиции, выявляется различный ответ растений на воздействие синим светом. В этом случае биохимические изменения (главным из которых является усиление синтеза белка под влиянием синего света), сопровождаются морфологическими эффектами.

#### Принцип разделения НЭР и ВЭР в растениях и спектр действия ВЭР

При исследовании некоторых физиологических ответов растений на К—ДК свет было найдено, что реакции, возбуждаемые в первой своей стадии этой системой, для окончательного завершения требуют более длительного и интенсивного освещения, чем это обычно бывает необходимо для реакций фитохрома.

Так, при исследовании синтеза антоциана оказалось, что этот светочувствительный синтез происходит в две стадии. Первая стадия регулируется низкоэнергетической системой К—ДК свет; для второй необходимо длительное освещение более интенсивным, чем в первом случае, светом. Предполагается, что окончательный синтез антоциана происходит с участием так называемой высокоэнергетической реакции (ВЭР) (Siegelman, Hendricks, 1957). Группа белтсвиллских ученых (Hendricks, Borthwick, 1959; Hendricks et al., 1959) связывает ВЭР с системой фитохрома, объясняя возникновение ВЭР тем, что при длительном освещении (когда обе формы фитохрома Ф 660 и Ф 730 находятся в фотостационарном состоянии) часть энергии активации Ф 660 или Ф 730 не употребляется для обратимого превращения, но передается другим фотохимическим реакционным системам, т. е. первоначально эффект действия света вызывается опять-таки поглощением света фитохромом. Следовательно, ВЭР возникает тогда, когда имеется избыток света по сравнению с необходимым для насыщения НЭР и когда взаимопревращения фитохрома достигают фотостационарного состояния.

Есть однако и другое объяснение для возникновения ВЭР. Предполагается, что она возбуждается светом независимо от

системы фитохрома (Mohr, 1961). В отношении идентификации пигмента, вызывающего эту реакцию, пока еще ничего не сделано. О природе его можно судить только по спектру действия физиологических ответов. В то же время собраны значительные физиологико-биохимические материалы, указывающие на присутствие этой системы в растениях.

Наиболее планомерно существование и значение ВЭР для морфогенеза растений исследуется в лаборатории Мора (ФРГ, Фрайбург).

На основе ксеноновой лампы с применением интерференционных светофильтров в лаборатории сконструирован монохроматор, позволяющий работать с узкими участками спектра (Mohr, Schoser, 1960). Кроме того, для исследований применяются различные источники света с системой светофильтров. Основные интенсивности монохроматического света, с которыми проводится работа, не превышают  $\sim 1000 \text{ эрг}/\text{см}^2 \cdot \text{сек}$ . Объекты исследования — этиолированные проростки высших растений, главным образом горчицы (*Sinapis alba*), салата (*Lactuca sativa*), гречихи (*Fagopyrum esculentum Moench*), а также заростки папоротников.

С помощью различных морфофизиологических ответов исследователи пытаются *in vivo* расчленить действие двух систем фотоморфогенеза. Тестами на реакцию у этиолированных растений служат вытягивание и изгиб гипокотиля, развертывание семядолей, рост листьев, изменение анатомии клеток, синтез антоциана, флавонолов. Основным показателем ответа у папоротников является изменение морфологического индекса гаметофита (отношение длины пластины к ширине), субклеточных структур и белкового синтеза. С помощью таких приемов для ряда ответов была исследована высокоэнергетическая реакция растений (ВЭР).

ВЭР можно демонстрировать следующим примером. В темноте семядоли горчицы практически не растут. При ежедневном освещении растений в течение 5 мин. красным светом семядоли начинают увеличиваться. Освещение ДК светом сразу вслед за красным снимает эффект красного света, т. е. проявляется четкое действие НЭР. Если семядоли освещать ДК светом более длительное время, эффект красного света уже не снимается. Очевидно, при длительном освещении возникает какая-то другая реакция. Оказалось, что эту реакцию вызывает не только ДК, но и синий свет. Приведем другой пример. У проростков салата изгиб гипокотиля возникает за короткий промежуток освещения красным светом (например, 5 мин.) и снимается ДК светом. Таким образом изгиб гипокотиля регулируется обратимыми превращениями фитохрома, т. е. НЭР. В то же время длительное освещение ДК или синим светом вызывает необратимое открытие изгиба.

Опять-таки и в этом примере проявляется иная реакция, чем НЭР. Однако для горчицы действие красного света в НЭР и при длительном действии ДК света — синергическое, т. е. обе реакции дают один и тот же физиологический ответ. Для салата

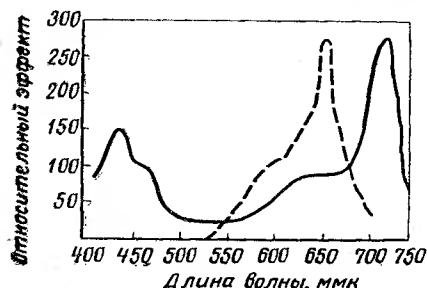


Рис. 43. Спектр действия ВЭР (сплошная линия), определенный по увеличению семядолей проростков горчицы, индуцированному светом. Пунктирная линия — спектр действия НЭР (Mohr, 1961)

в течение четырех дней приводят к раскрытию семядолей. Освещение ДК светом (16 мин.) вслед за красным снижает эффект.

При первом способе расчленения реакции проростки непрерывно освещали в течение 4 час. монохроматическим светом. За это время должны были функционировать обе системы — НЭР и ВЭР. Чтобы определить затем долю участия НЭР в общем ответе реакции, вместо 4 час. непрерывного света ежечасно давали пятиминутные световые экспозиции. Разница в ответе, полученная для 4 час. непрерывного света и для 5 мин. («световые удары»), приходилась на долю ВЭР.

Второй способ разделения реакции — насыщение системы фитохрома слабым красным светом. В таком состоянии фитохром будет находиться главным образом в активной форме Ф 730 (Butler, 1964). На этот фоновый свет далее можно накладывать воздействие более высокой интенсивностью света различных длин волн. Вычитая из общего ответа изменения, вызываемые за счет освещения слабым красным светом, можно оценить ответ, вызываемый ВЭР. Ниже приводится спектр действия этой второй реакции (рис. 43). Приведенный спектр действия указывает, что она имеет два максимума: в синей и ДК области. Вследствие этого реакцию можно было бы назвать реакцией синий — ДК света. Однако благодаря тому, что она проявляется только при длительном освещении и относительно большем количестве света (до 1000 эрг/см<sup>2</sup>), реакция была

названа высокоэнергетической — ВЭР (Siegelman, Hendricks, 1957; Mohr, 1961). Синергизм, найденный для раскрывания семядолей горчицы в действии НЭР и ВЭР, как оказалось, можно распространить также на другие реакции. Так, ВЭР, как и НЭР, участвует в синтезе антоцианов (Mohr, van Nes, 1963), флавонолов (Harrashain, Mohr, 1963). Значение двух систем для этих синтезов определялось двумя указанными выше способами. Приведем пример расчленения НЭР и ВЭР для синтеза антоцианов у гречихи. Проростки гречихи освещались в течение 12 час. одновременно красным светом (1100 эрг/см<sup>2</sup> · сек) и другим монохроматическим светом различных участков спектра (до 11 000 эрг/см<sup>2</sup> · сек). Таким образом снимался спектр действия ВЭР на фоне постоянного действия НЭР. Затем монохроматический свет выключался, а красный оставался еще в течение 20 мин. Благодаря этому фитохромная система находилась практически в одном активном состоянии (Ф 730). Этот «фоновый» эффект красного света относился на долю фитохрома. Вся дальнейшая индукция идет за счет ВЭР, максимум которой приходится на 440 и 718 мкм. Таким образом, образование антоциана у гречихи контролируется обоими системами фотоморфогенеза. Обе они работают раздельно, однако результат у них один. Формально можно сказать, что они работают в синергизме.

Пока без всяких экспериментальных оснований, только из совпадения спектра действия реакции с областью поглощения света флавопротеином, предполагают, что в ВЭР участвует металлфлавопротеин, например бутирилкоэнзим-А-дегидрогеназа. Возбуждение этого фермента светом должно иметь фундаментальное значение для общего метаболизма, поскольку эта система ВЭР, также как система фитохрома, имеет универсальное значение для многих морфофизиологических реакций растения. Эти реакции, вероятно, зависят от состояния и развития органов и тканей. По-видимому, обе системы (НЭР и ВЭР) должны рассматриваться как регуляторы скорости — ферменты, действующие на существенное звено биохимических реакций. Однако для ВЭР труднее идентифицировать систему, чем в случае фитохрома, так как реакция не имеет обратимости. В то же время в естественных условиях освещения при длительном воздействии света она, очевидно, может иметь более существенное значение для жизнедеятельности растений, чем НЭР (Mohr, 1964).

Несмотря на остроумное доказательство расчленения двух реакций в растении, вопрос о самостоятельности реакции ВЭР или ее зависимости от фитохрома все еще остается неясным. Как уже говорилось, не все исследователи придерживаются той точки зрения, что НЭР и ВЭР функционируют самостоятельно. Иногда действие синего света связывают с операциями НЭР фитохрома. В таком случае действие ДК света должно быть не аналогично, а противоположно эффекту синего света, поскольку для спектров действия фотопериодического ответа было установ-

лено, что синий свет, правда высоких интенсивностей, действует аналогично красному и противоположно дальнему красному (Parker et al., 1946).

В пользу связи обеих реакций с системой фитохрома можно привести еще следующие доказательства. Для этиолированных сегментов стеблей гороха обнаружено подавление роста синими лучами и уменьшение этого подавления под влиянием ДК света. Предполагают, что действие синего света вызвано тем, что синие лучи поглощаются фитохромом также, как и красные, и могут способствовать обратимому его изменению (Berlsch, 1963). Подобные результаты получены при наблюдениях за увеличением дисков этиолированных листьев фасоли на свету. Рост дисков стимулировался красным и синим светом в одинаковой степени. ДК свет снимал действие того и другого (Klein, Wanson, 1963). Шропшир и др. (Schropshire, Klein, Edwards, 1964) считают, что синий свет может быть активен в ростовых эффектах не через прямое действие на оксидазу индолилуксусной кислоты (ИУК) flavиновой природы (Galston, Backer, 1951), а за счет участия фитохромной системы. В опытах исследователей изгиб гипокотиля фасоли, выращенной в темноте, стимулировался синим светом в присутствии экзогенного flavинмонуклеотида. В то же время он снимался ДК светом. Присутствие экзогенной ИУК не меняло величины обратимости. Делается вывод о том, что изгиб гипокотиля регулируется системой фитохрома. Освещение синим светом ФМН вызывает его длинноволновую (красную) флуоресценцию, свет которой поглощается системой фитохрома. Возбуждение последнего поглощенным светом и вызывает ответ. Ответ может быть снят ДК светом.

В то же время, по другим данным, эффект синего света не снимается ДК, а действует аналогично ДК свету (как это вытекает из спектра действия ВЭР). Так, при выращивании фасоли в различных участках спектра (свет  $\sim 3000$  эрг/см<sup>2</sup>·сек) наибольшее вытягивание гипокотиля и эпикотиля наблюдалось на синем и ДК свету (Fletcher, Zalik, 1964). Для цветения ряски (*Lemna*) синий свет действовал также аналогично ДК. На синем и ДК свету растения зацветали независимо от длины дня. На красном — только на коротком дне. Очевидно, в этом случае зацветание регулировалось двумя фотохимически активными системами. Реакция зацветания на синий и ДК свет соответствует спектру действия ВЭР (Joshihara, 1962). У *Spirodela oligorrhiza* определялся спектр действия синтеза антоциана (Yuk Lin, Thimann, Gordon, 1964). Максимум найден для 300 и 705 мк. Синий свет был относительно неактивен. Исследователи считают, что система фитохрома не контролирует синтеза антоциана. Предполагают, что два пика в спектре действия связаны с поглощением света не фитохромом, а иным фоторецептором. Для тканей пыльцы *Ginkgo biloba* показано, что подавление роста культуры

ультрафиолетом (254 мк) снимается белым светом (максимальное положительное действие оказывает свет 420 мк). Красный свет наименее активен, а дальний красный (760 мк) — вовсе не активен. Делают вывод, что система фитохрома не участвует в реактивации (Klein, 1963). Все приведенные данные, очевидно, указывают на отсутствие единого мнения относительно связи НЭР и ВЭР. Нет также уверенности в том, что для всех ответов спектр действия ВЭР соответствует двум максимумам — в синей и дальней красной области, т. е. синий и дальний красный свет дают всегда одинаковый эффект.

### Исследование ВЭР на зеленых объектах

Мор и его сотрудники детально исследовали фотоморфогенез гаметофита (заростка) папоротников, главным образом *Dryopteris filix-mas* (Mohr, Ohlenroth, 1962; Mohr, Barth, 1962; Mohr, 1964). При этом был получен ряд морфофизиологических ответов, зависящих от качества и количества освещения. Наибольшее внимание уделено сравнению красного и синего света при длительном воздействии (ВЭР). Поскольку максимум в спектре действия физиологического ответа на свет уже в первых опытах был получен для синей области спектра (400—580 мк) с максимумом 440 мк и минимум для красной — 600—700 мк с максимумом 660 мк (см. рис. 42), далее проводилось сравнительное изучение действия этих участков спектра на растения. Освещение в опытах слабое — такое, которое лимитирует фотохимические реакции фотосинтеза. Максимальные интенсивности света — 1000 эрг/см<sup>2</sup>·сек, по-видимому, далеки от светового насыщения фотосинтеза папоротника, хотя это и тенелюбивое растение. Судя по медленному темпу накопления органической массы заростками, применяемые интенсивности света обеспечивали фотосинтез где-то немного выше компенсационного пункта (Ohlenroth, Mohr, 1964). Опять-таки из сказанного ясно, что название «высокоэнергетическая реакция» является условным. Оно справедливо только для случая сравнения с НЭР морфогенеза.

Гаметофит папоротника является удобным объектом для исследований. Его легко культивировать на минеральной среде с агаром. Реакция на световую обработку — быстрая и четкая, как в отношении морфогенеза, так и изменений на субклеточном уровне (размеров хлоропластов и ядра). Последнее легко наблюдать, работая с однородными клетками базальной части гаметофита, закончившими рост.

У молодых заростков папоротника, выращиваемых на красном свете, клеточные перегородки обычно закладываются перпендикулярно к оси одномерной структуры, так что образуются нити из вытянутых клеток, тогда как на синем свете деление происходит в различных плоскостях и образуется клеточная

пластиинка (Синнот, 1963). Поэтому мерой действия качества света на морфогенез служит индекс — отношение длины заростка к его ширине. Очевидно, что значение индекса наибольшее для красного света и наименьшее — для синего.

Изменение индекса при воздействии синего света констатировано уже при очень низких (до 9 эрг/см<sup>2</sup> · сек) освещенностях (освещение несколько дней), что указывает на высокую чувствительность фотоактивной системы, регулирующей морфогенез заростка. Выращивание заростка на синем (900 эрг/см<sup>2</sup> · сек) и красном (610—700 эрг/см<sup>2</sup> · сек) свету в условиях одинакового накопления сухого вещества резко меняет не только величину индекса, но и активность накопления белка. Одновременно с уменьшением значения индекса на синем свету наблюдается резкое увеличение (абсолютное и относительное) белка в заростках папоротника. Реакция проявляется на четвертый день экспозиции, когда на красном свету количество белка практически перестает увеличиваться, а на синем — нарастание продолжается. Введение в среду сахарозы не меняет величины индекса. Несмотря на то, что при замене фотосинтеза сахарозой накопление сухой массы ничтожно, положительная реакция синего света на белковый синтез остается. Предполагают, что изменение реакций морфогенеза под влиянием синего света связано с усилением синим светом белкового синтеза de novo, однако без участия реакций фотосинтеза, т. е. синий свет — это фактор развития, который нельзя заменить ни фотосинтезом, ни добавлением углеводов (Mohr, Ohlenroth, 1962; Ohlenroth, Mohr, 1963). Сравнение раздельного и совместного действия синего и красного света на морфогенетический индекс и содержание белкового азота в сухом веществе заростка папоротника показало, что синий свет является активным светом, вызывающим изменения в морфогенезе и белковом синтезе. Красный свет, наоборот, тормозит и то и другое (Ohlenroth, Mohr, 1964). Прибавка только 10% синего света к красному уже резко изменяет оба показателя. В то же время прибавка 10% красного к синему слабо изменяет эти показатели. Определение сухого веса заростков для синего и красного света (выравнивание света по падающим квантам) указывает, что на чистом синем свету сухой вес растений несколько меньше, чем на красном. Наилучшие результаты получены при добавке к красному свету 10% синего (рис. 44).

Итак, основной вывод, который можно сделать из приведенных работ, сводится к тому, что синий и красный свет по-разному регулируют общий метаболизм растения. Основой этих изменений, по-видимому, является возбуждение светом активного в синей области фоторецептора — универсального фермента. В результате происходят коренные изменения в основном метаболизме растений. Эти изменения в свою очередь через наследственный аппарат будут передавать соответствующую информацию

на изменение морфогенеза растений на уровне организма, клетки и субклеточном уровне (Mohr, 1964).

Во всех работах лаборатории Мора подчеркивается, что реакция растения на синий и красный свет независима от фотосинтеза. Действительно, влияние синего света на морфогенез и об-

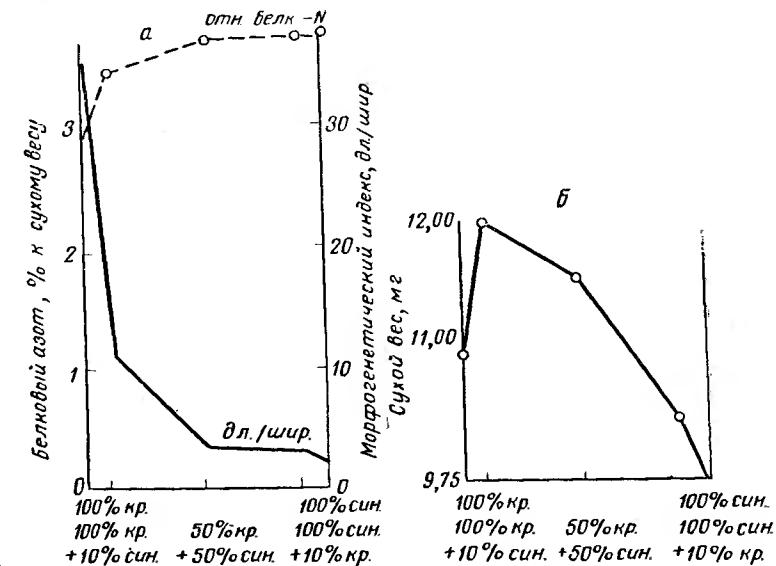


Рис. 44. Действие красного и синего света на морфогенез, содержание белка и сухой вес заростка мха (*Dryopteris filix-mas*)  
а — относительное содержание белкового азота (на сухой вес) и морфогенетический индекс (отношение длины пластинки заростка к ширине) после 12 дней выращивания на красном, синем или смешанном свете; б — сухой вес растений после 12 дней выращивания на красном, синем или смешанном свете (Ohlenroth, Mohr, 1964)

мен веществ как зеленых, так и незеленых растений, в том числе грибов (Mohr, 1962), бесспорно. По-видимому, фотоактивная катализическая система (фоторецептор), ответственная за эту реакцию, широко распространена в растительном мире. Вероятно, что это — фермент флавиновой природы, поскольку реакция на синий свет — наиболее универсальная реакция живых организмов, а флавиновые ферменты — наиболее распространенные в биологических объектах.

В то же время нельзя исключать того факта, что морфогенетические изменения заростка папоротника, происходящие под влиянием синего света, нуждаются в притоке энергии и метаболитов. Поэтому общие для зеленых и незеленых растений изменения в метаболизме под влиянием синего света должны сопро-

вождаться тратой энергии и органического вещества. Энергия может черпаться из различных источников — фотосинтеза и дыхания. Хотя бы в этом смысле роль фотосинтеза существенна для ВЭР также, как и для НЭР. Вопрос о локализации фоторецептора ВЭР не решен. Это могут быть флавиновые ферменты, широко распространенные в клетке и в том числе в хлоропласте. Смена спектрального состава света определяет путь фиксации  $\text{CO}_2$  с первых моментов этой фиксации. Возможно, что в фотосинтетических превращениях углерода принимают участие флавиновые ферменты хлоропласта (см. гл. II и III). Не исключено, что при фотосинтезе усиление белкового синтеза синим светом относится также и к синтезу белка *de novo* в хлоропласте. По крайней мере, об этом свидетельствуют следующие результаты. При анализе радиоактивности липоидов, белка и крахмала у хлоропластов высших растений, выращенных в разных условиях освещения, оказалось, что хлоропластины синего света включали наибольшее количество  $\text{C}^{14}$  именно в белок (Ашур, 1964). Для лапортника также найдено специфическое усиление синтеза белка хлоропластов под влиянием синего света (Bergfeld, 1964). В таком случае фотосинтез можно рассматривать не только как источник органического субстрата и энергии, но и как своего рода регуляторную систему, определяющую направление обмена веществ и через него морфогенез, по крайней мере фотосинтетического аппарата зеленого растения. Ниже мы подробнее остановимся на тех изменениях, которые вносит длительное выращивание растений на красном или синем свету в работу фотосинтетического аппарата.

#### 4. ДЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ КРАСНОГО И СИНЕГО СВЕТА НА ФОТОСИНТЕЗ ЗЕЛЕНЫХ РАСТЕНИЙ

История вопроса подробно изложена в обзоре Симонис (Simapis, 1960), а также частично в книге Клешнина (1954). Наиболее подробно мы остановимся на новых работах, в которых разбирается эффект выращивания растений на красном и синем свету на интенсивность фотосинтеза и метаболизм. Кроме того, кратко коснемся вопроса о влиянии качества света на содержание пигментов и структуру фотосинтетического аппарата.

##### Содержание хлорофилла, состояние фотосинтетического аппарата

Качество света оказывает на общее содержание хлорофилла значительно меньшее влияние, чем интенсивность света. Часто различия в пользу синего света наблюдаются при слабых освещенностях и расчете хлорофилла на вес и исчезают на ярком свете и при расчете концентрации хлорофилла на площадь листа

(Воскресенская, Гришина, 1956; Брандт и др., 1957, Каинович, 1961; Ашур, 1964).

Ермолаева (1953), Клешнин, Осипова и Тимофеева (1955) получили данные, которые свидетельствуют о том, что не все растения одинаково реагируют на качество света в отношении накопления хлорофилла. Так, для двух сортов периллы и махорки уменьшение содержания хлорофилла обнаружено на синем свете, для табака душистого (Ермолаева, 1953) — на красном. Салат (сорт Берлинский) содержит (независимо от интенсивности света) одинаковое количество хлорофилла и на красном и на синем свете; сорт Майский — меньше на синем свете (Клешнин и др., 1955). Другие авторы (Appleman, Pyfrom, 1955) нашли, что образование хлорофилла у проростков ячменя первые два дня после выставления на свет практически одинаково для красного и синего света. В последующие два дня накопление хлорофилла проходило значительно быстрее на синем свете. Рубин и Чернавина (Рубин, Чернавина, 1955; Чернавина, Рубин, 1956; Рубин, Чернавина, Михеева, 1955; Чернавина, 1959) для проростков двух форм пшеницы (озимой и яровой) показали, что через 5 дней выращивания на красном или синем свету (способ выравнивания светопотока не указывается) содержание хлорофилла было более высоким на синем свете для обоих форм. Через 10 дней для озимой пшеницы оно стало выше на красном свете, а для яровой по-прежнему оставалось выше на синем. Такое изменение реакции авторы объясняют различиями в метаболизме двух разных форм пшеницы. Устойчивость хлорофилла при выдерживании растений в темноте оказалась выше после выращивания на синем свете. Благоприятное влияние синего света на накопление хлорофилла авторы объясняют активацией этим светом некоторых ферментных систем, в частности цитохромоксидазы. Накопление хлорофилла растениями фасоли, находившейся в одной фазе развития на свете красных и синих люминесцентных ламп при разных условиях азотного питания, определяется уровнем снабжения растений азотом (Воскресенская, Гришина, 1956). Растения до 25-дневного возраста выращивались в условиях песчаной культуры на  $\frac{1}{4}$  нормы  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  и полной норме других минеральных элементов. За 26 час. до эксперимента часть растений подкармливалась азотом в форме  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  через корни. Ниже приведены результаты анализа (табл. 63). Оказалось, что синий свет особенно способствовал большему накоплению хлорофилла в листьях при азотном голодании.

Через 36 час. после подкормки азотом концентрация хлорофилла на синем и красном свете выравнивалась, поскольку для красного света содержание хлорофилла при подкормке увеличилось в 2, на синем только в 1,5 раза. Таким образом, подкормка азотом нивелировала действие света различного спектрального состава на содержание хлорофилла.

Таблица 63

Содержание хлорофилла в листьях фасоли, выращенной на красном и синем свете при различном снабжении азотом\* (Воскресенская, Гришина, 1956)

Свет в опыте	Условия снабжения азотом	Содержание хлорофилла			
		мг на 100 см <sup>2</sup> листовой поверхности	мг на 1 г свежего веса	% на 100 см <sup>2</sup> листовой поверхности	% на 1 г свежего веса
Красный	1/4 нормы азота . . . . .	1,76	1,40	100	100
	Через 36 час. после подкормки до двух норм . . .	3,23	2,33	183	211
Синий	1/4 нормы азота . . . . .	2,84	1,46	100	100
	Через 36 час. после подкормки до двух норм . . .	3,28	2,26	115	154

\* Освещение круглосуточное. Интенсивность света выравнена по падающим квантам.

Итак, опыты по действию света разного спектрального состава на содержание хлорофилла в растениях, проведенные с различными по ширине и чистоте спектральными участками света, с физиологически различными растениями дают такую гамму колебаний в содержании этого пигмента, что сделать какой-либо определенный вывод о действии качества света на накопление хлорофилла затруднительно. Можно утверждать только, что другие факторы помимо спектрального состава, например интенсивность света, различия в фазе развития, неодинаковое географическое происхождение растений, условия азотного питания, в значительно большей мере могут влиять на общее содержание хлорофилла, чем спектральный состав света. Симонис (Simonis, 1960) в обзоре адаптивных эффектов растений к спектральному составу света, ссылаясь на наши представления по этому вопросу, приходит к аналогичному выводу.

Изменение соотношения хлорофиллов *a* и *b* под влиянием качества света исследовано мало. Существенные сдвиги в пользу накопления хлорофилла *b* на синем свете наблюдаются не всегда (Ашур, 1964). Однако на синем свете увеличение содержания хлорофилла *b* у хлореллы показано Хесс и Толберт (Hess, Tolbert, 1964).

Каким же образом можно объяснить наблюдаемое иногда положительное действие коротковолновой радиации на накопление хлорофилла?

Как было показано, высокие дозы азота и коротковолновая радиация в какой-то мере одинаково действуют на накопление хлорофилла. Вероятно, это связано с тем, что оба эти фактора увеличивают возможности для синтеза белка. Последнее косвен-

но способствует увеличению концентрации хлорофилла (Осипова, 1957; Осипова, Николаева, 1964). По-видимому, усиление азотистого обмена — одна из возможных причин благоприятного действия коротковолновой радиации на синтез хлорофилла. Можно также ожидать, что благоприятное действие этих лучей связано с увеличением содержания или активности некоторых белков — ферментов (Рубин, Чернавина, Михеева, 1955; Appleton, Pyfrom, 1955; Воскресенская, Гришина, 1959), возможно участвующих в отдельных звеньях биосинтеза хлорофилла.

Однако вряд ли изменение общей концентрации хлорофилла можно считать устойчивым признаком хроматической адаптации. Даже для адаптации к интенсивности света высокое содержание хлорофилла характерно только при расчете на единицу веса листа; при расчете на площадь такая закономерность проявляется уже не всегда. Дело в том, что типичные тенелюбы могут обладать как очень тонкими (кислица), так и толстыми (копытень) листьями. Соответственно на площадь листа количество хлорофилла очень мало для первого и велико для второго растения; в то же время световые кривые фотосинтеза, положение компенсационных пунктов и дыхание этих растений очень сходны и в обоих случаях соответствуют световым кривым тенелюбов.

Если уж искать соответствия между действием спектрально-го состава света на эффективность фотосинтеза и пигментную систему, то, скорее, надо изучать изменения соотношения отдельных форм хлорофилла, различных по фотохимической активности (Красновский, Кособуцкая, 1952; Красновский и др., 1957; Красновский, 1962; Рабинович, 1962).

Очевидно также, что выраженность ламеллярной структуры хлоропластов скорее будет определять адаптивные признаки фотосинтетического аппарата, чем изменение общего содержания хлорофилла в листе, часто избыточного для фотосинтеза. Экспериментальные указания на такую возможность получены при определении фотоустойчивости хлорофилла у растений, выращенных на красном и синем свете и обладавших различной выраженностью ламеллярной структуры (Ашур, 1964). В связи с изложенным уместно процитировать слова Любименко: «Центр тяжести будущих исследований, очевидно, будет перенесен на физико-химическую структуру самой пластиды. Только тогда, когда будет точно выяснено состояние пигмента в пластидах и характер его связи с белковой структурой, можно будет надеяться на планомерное, систематическое изучение различных фаз фотосинтеза и отдельных слагающих его реакций» (Любименко, 1924б).

В одной из первых работ, посвященных вопросу о действии качества света на организацию хлоропласта, определялись размеры гран в хлоропластах для растений, выращенных на синем

или красном свету (Канделаки, 1950). Величина гран оказалась больше на синем, чем на красном свету (свет в опытах выравнивался по энергии).

То же констатировано для листьев фасоли. Хлоропласти на синем свету у этого растения были больше, чем на красном, особенно при недостатке азота в питательной среде (Воскресенская, Гришина, 1958) (см. табл. 64).

Таблица 64

**Анатомическая характеристика листьев (в мк) фасоли, выращенной на красном и синем свету (Воскресенская, Гришина, 1958)**

Свет в опыте	Толщина			Толщина			Размер хлоро- пласта	
	листа	палисадной паренхимы	губчатой паренхимы	листа	палисадной паренхимы	губчатой паренхимы		
	песчаная культура, 1/4 нормы азота			почвенная культура				
Красный	33	11,5	16,5	1,0	34,8	15,4	15,0	2,0
Синий . .	43	18,0	14,5	2,2	37,6	15,6	16,0	3,5

Другие исследователи (Fasse-Franzisket, 1955; Bergfeld, 1963; Steiner, 1963; Ашур, 1964) также констатировали увеличение размера хлоропластов и количества гранул в хлоропласте по сравнению с красным светом для растений, выросших на синем свету. Так, размер хлоропластов базальной части гаметофита папоротника *Dryopteris filix-mas* был значительно больше на синем, чем на красном свету, при одинаковой интенсивности фотосинтеза (интенсивность света слабая, не выше 1000 эрг/см<sup>2</sup>·сек). Максимальные различия в размере хлоропластов найдены на 20—21-й день выращивания. Размер хлоропластов обратимо изменяется под влиянием синего и красного света. При перенесении с красного света на синий и наоборот, хлоропласти уже через несколько дней достигают определенной для данного света величины. Положительное действие синего света на размер хлоропластов связывают с усиленным синтезом белка (Bergfeld, 1963а).

Аналогичная реакция на красный и синий свет найдена для гаметофита папоротника *Sphaerocarpus donnellii* Aust. Влияние красного и синего света на размер хлоропластов у этого папоротника начинало четко проявляться при интенсивности света около 700 эрг/см<sup>2</sup>·сек и продолжало увеличиваться вплоть до 2500 эрг/см<sup>2</sup>·сек. Последнее дало основание считать, что фотосинтез непременно включается в морфогенез субклеточных структур — хлоропласти, регулируемый красным и синим светом.

Хлоропласти с красного и синего света отличались по своим

размерам от выращенных на белом свету (Steiner, 1963). Не только размеры хлоропласта, но и его внутренняя организация различны для растений, выращенных на красном, синем и белом свету. На красном свету у клеток мезофилла преобладают гранулярные хлоропласти круглой формы. Гранулы расположены по периферии, центральное пространство хлоропласта занято стромой. На синем свету гранулярная структура выражена менее четко и расположена не по всему объему хлоропласта, а сдвинута к оболочке, образуя как бы чашу или большую вакуоль. Предполагают, что эта вакуоль заполнена белковой стroma (Ашур, 1964).

Как видно, исследования (пока еще малочисленные) организации фотосинтетического аппарата указывают на то, что аппарат, его размер и структура довольно быстро адаптируются к свету определенного спектрального состава.

### Интенсивность фотосинтеза

Возможная адаптация фотосинтеза зеленых (особенно высших) растений к качеству света исследована мало (Simonis, 1960).

Очевидно, наиболее правильный способ изучения вопроса — выращивание или длительное выдерживание растений на свету определенного участка спектра и затем сравнение эффективности данных и других лучей спектра для фотосинтеза. Небезынтересно также выяснить эффективность лучей разных участков спектра для фотосинтеза растений — представителей различных экотипов свето- и тенелюбов. Такие эксперименты позволяют выявить ведущий фактор в приспособлении растений к меняющимся интенсивностям и качеству света в природе.

Как указывалось, вопрос о возможности адаптации фотосинтеза зеленых растений (даже высших, наземных) к спектральному составу света впервые выдвинул Любименко. Позднее ученик Любименко, Данилов, защищая и развивая эту точку зрения, пытался экспериментально доказать существование такого явления. В опытах с зелеными и красными водорослями исследователь сравнивал фотосинтез на красном, синем и желто-зеленом свету сразу после белого света или же после предварительного выдерживания водорослей в течение 17 час. в одном из указанных участков спектра. Опыты проводились при трех температурах: 8, 18 и 28° (температура при выращивании 18°). Свет в опытах, по-видимому, был очень слабым. Результаты измерений фотосинтеза показали быструю адаптацию зеленои водоросли *Scenedesmus acuminatus* к тем световым условиям, которые предшествовали измерению фотосинтеза. Особенно благоприятно действовала подготовка при 8°. При 18° различия оставались только в пользу красного света. При 28° благоприятное действие адап-

тации не проявилось вовсе. После световой подготовки определялась также интенсивность дыхания в темноте. Констатировано изменение активности и этого процесса. Автор полагает, что причиной изменения эффективности фотосинтеза является изменение условий общего метаболизма клетки под влиянием цветного освещения и температуры и взаимодействия общего метаболизма с фотосинтезом (Данилов, 1936).

Можно согласиться с выводами Данилова, что изменения интенсивности фотосинтеза в различных лучах спектра связаны с изменением соотношения дыхания и фотосинтеза на свету. Данилов работал с очень низкими (в районе компенсационного пункта) интенсивностями света. Величина светового дыхания, различная в зависимости от качества света, должна была влиять на положение компенсационного пункта фотосинтеза, а следовательно и на газообмен кислорода. Интересно в связи с этим, что на желто-зеленом и сине-фиолетовом свету положительное действие адаптации обнаружено только при низкой температуре ( $8^{\circ}\text{C}$ ). При высокой температуре действие коротковолнового света было отрицательным. По-видимому, при  $8^{\circ}$  дыхание растений оставалось небольшим даже при активации его синим светом. При повышении температуры на  $20^{\circ}$  оно резко увеличивалось. Освещение коротковолновым светом активировало это возросшее при повышении температуры «темновое дыхание» (см. гл. III).

Данилов, пожалуй, первый указывает на связь общего метаболизма с фотосинтезом и на то, что спектральный состав света влияет не только на фотосинтез, но и на весь метаболизм зеленой растительной клетки. Эти представления, а также данные его опытов по регуляции фотосинтеза инфракрасной радиацией, заслуживают пристального внимания. К сожалению, работы Данилова из-за методических погрешностей, хотя и упоминаются, однако не обсуждаются сколько-нибудь серьезно в мировой литературе по фотосинтезу (Рабинович, 1951).

Мотес и Загромская (Motthes, Sagromsky, 1941) выращивали хлореллу на красном, зеленом и синем свету, «выравненном по количеству энергии» (500 лк). Было найдено уменьшение физиологической эффективности фотосинтеза на зеленом свету по сравнению с красным. Выделение кислорода во время опыта было наивысшим в тех областях спектра, в которых производилось выращивание. Больше всего фотосинтез на зеленом и синем свету снижался у водоросли, выращенной предварительно на красном свете. Растения, росшие на зеленом и синем свету и затем переставленные на красный, реагировали на перестановку одинаково (Sagromsky, 1943).

Бернс (цит. по Simonis, 1960) выращивал хвойные в различных участках спектра. При измерении фотосинтеза растений на красном и синем свету оказалось, что фотосинтез на красном све-

ту в сравнении с синим был несколько выше (на 10%). На основании этих данных автор считает, что, если применять одинаковый по энергии свет, можно заметить приспособление к качеству света и у высших растений — вывод, аналогичный сделанному ранее В. Н. Любименко (1924а). При выращивании элодеи на красном и синем свету, выравненном по энергии, для фотосинтеза более эффективным оказался тот свет, на котором выращивалось растение (Harder, Döring, Simonis, 1936; Simonis, 1938).

Боде (Bode, 1940) исследовал ход фотосинтеза после выращивания мяка *Fontinalis* на свету разного спектрального состава: синем — 400—580 мкм и красном — 580—900 мкм (выравнивание света по энергии). Автор полагает, что в обоих случаях происходила адаптация фотосинтеза к свету, на котором выращивалось растение. Однако фотосинтез растений, выращенных на красном свете, оставался одинаково устойчивым при длительных определениях как на красном, так и на синем свете. Мх, выращенный на синем, оказался более устойчивым к синему свету.

Таким образом, во всех приведенных исследованиях как будто бы проявляется хроматическая адаптация фотосинтеза: более эффективно использование для фотосинтеза тех лучей спектра, в которых было выращено растение. Однако в этих работах свет (в лучшем случае) выравнивался по энергии. В зависимости от ширины отдельных участков спектра количество падающих квантов в коротковолновой области могло быть в 1,5—2 раза меньше, чем в красной; поэтому, условия для фотосинтеза во время адаптации в красном свете были всегда наилучшими. В таком случае, при отсутствии выравненности светопотока по квантам, полученные эффекты трудно отнести только за счет хроматической адаптации фотосинтетического аппарата.

Для кукурузы и подсолнечника, выращенных при различной интенсивности света (с тем, чтобы имитировать теневыносливые и светолюбивые растения), исследовалось действие красного и синего света на фотосинтез (Воскресенская, 1955). Фотосинтез на красном и синем свете определялся для срезанных листьев манометрически (кукуруза) или радиометрически (подсолнечник) (табл. 65, 66).

Как видно из приведенных данных, для растений, выросших при затенении, синий и красный свет (выравненный по количеству падающих квантов) оказался практически одинаково эффективным. В то же время для растений, выращенных при полном солнечном освещении, как обычно красный свет давал более высокий фотосинтез. Таким образом не только филогенетическая, но даже онтогенетическая адаптация к низким освещенностям, улучшает использование коротковолновых лучей для фотосинтеза. Возможно поэтому, что как филогенез, так и влияние условий освещения в течение индивидуального развития должны оказывать влияние на эффективность использования светопотока рас-

Таблица 65

Интенсивность фотосинтеза на красном и синем свету у кукурузы  
(Воскресенская, 1955)

Выращивание кукурузы	Красный свет		Синий свет		Отношение интенсивности синего света к красному	Отношение фотосинтеза на синем свету к фотосинтезу на красном
	эр/см <sup>2</sup> ·сек	фотосинтез, мг СО <sub>2</sub> /дм <sup>2</sup> ·час	эр/см <sup>2</sup> ·сек	фотосинтез, мг СО <sub>2</sub> /дм <sup>2</sup> ·час		
На естественном свете	10 000	1,31	15 200	0,46	1,5	0,35
	10 000	2,44	20 000	1,48	2,0	0,52
	9 100	2,14	15 200	1,56	1,6	0,73
При затенении	9 600	2,58	15 700	2,52	1,6	1,0

Таблица 66

Радиоактивность (в имп/мин·мг сухого веса), усвоенная на красном и синем свету подсолнечником (Воскресенская, 1955)

Время экспозиции, мин.	Kрасный, 14 000 эрг/см <sup>2</sup> ·сек	Синий, 21 450 эрг/см <sup>2</sup> ·сек	Радиоактивность, синий красный	Kрасный, 7 200 эрг/см <sup>2</sup> ·сек	Синий, 21 450 эрг/см <sup>2</sup> ·сек	Радиоактивность, синий красный
	Красные растения	Незатененные растения		Красные растения	Незатененные растения	
0,5	77	79	1,0	83	47	0,56
2	145	319	2,2	172	83	0,48
3	1091	932	0,85	716	264	0,37
5	1809	1726	0,95	1650	639	0,39

тением (Любименко, 1910, 1924а, 1924б; Данилов, 1936, 1939, 1940; Дадыкин и др., 1957, 1960; Шахов, 1962), в частности, в фотосинтезе.

В последнее время Протасова (1963, цит. по Воскресенской, 1964 г.) определяла фотосинтез (по поглощению СО<sub>2</sub>, в токе воздуха) на неотрезанных листьях некоторых растений в различных участках спектра. Предварительно растения выращивались в тех же условиях освещения, т. е. определялось последействие длительной адаптации. При всех интенсивностях света, который при выращивании выравнивался по количеству поглощенных квантов, световые кривые фотосинтеза для растений с красного и синего света совпадали вплоть до насыщающих интенсивностей. Водоросли *Chlamydomonas* и *Chlorella*, адаптированные в течение 12 дней к синему свету, фиксировали С<sup>14</sup>О<sub>2</sub> с одинаковой интенсивностью на синем, красном и белом свету (Hess, Tolbert, 1964). В то же время на белом свету фотосинтез растений,

росших предварительно на синем свете, оказался ниже, чем у растений с красного света (особенно при насыщающих интенсивностях) (Ашур, 1964). Из всего изложенного очевидно, что вопрос об адаптации фотосинтеза к качеству света в онтогенезе нельзя считать решенным. Однако, имея в виду различия в структурной организации субъединиц хлоропласта у растений, выросших на красном или синем свете, можно ожидать этой адаптации. Возможно, что наиболее ярко она будет проявляться при высоких, насыщающих интенсивностях света, иными словами, при максимальном использовании работоспособности фотосинтетического аппарата.

Одним из подходов к выяснению возможной адаптации растений к свету является испытание фотоустойчивости фотосинтетического аппарата в зависимости от условий освещения. В. Н. Любименко, который первый поставил вопрос о существовании хроматической адаптации у высших растений,嘗めた выяснить фотоустойчивость фотосинтетического аппарата, определяя фотосинтез свето- и тенелюбов на красном и сине-фиолетовом свете. Результаты опытов показали, что с увеличением продолжительности опыта интенсивность фотосинтеза вообще ослабевает как для красного, так и сине-фиолетового света. Это ослабление у одних видов резче проявляется на красном, у других на сине-фиолетовом свете. Однако четкой связи между светолюбием растений и устойчивостью аппарата на красном и синем свету обнаружить не удалось (Любименко, 1924а).

Мы в принципе повторили опыты Любименко, определив устойчивость фотосинтеза на красном и синем свете у растений — представителей различных экотипов, а также у растений, специально выращенных в условиях слабого и обычного освещения. Фотосинтез замерялся в аппарате Варбурга на красном и синем свете (см. выше) при высоких интенсивностях — до  $90 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup>·сек красного света и  $240 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup>·сек — синего. Ниже показана группа кривых, характеризующая устойчивость фотосинтеза на красном и синем свету аспидистры, копытения, бегонии и кукурузы (рис. 45).

Как видно, в зависимости от степени светолюбия растения устойчивость фотосинтеза на красном и синем свету при длительных (2—3-часовых) измерениях оказалась неодинаковой. Так, фотосинтез аспидистры (типичный тенелюб) при насыщающих интенсивностях был устойчивее на синем свете. Плато фотосинтеза в этом случае сохранялось более полутора часов, и только потом фотосинтез понижался. На красном свете положение плато фотосинтеза было ниже, чем на синем, и устойчивый фотосинтез наблюдался только около 30 мин. Падение фотосинтеза у аспидистры при длительных экспозициях, по-видимому, было связано с явлениями фотоокисления и началом деструкции фотосинтетического аппарата (см. гл. III). Подобная картина большей

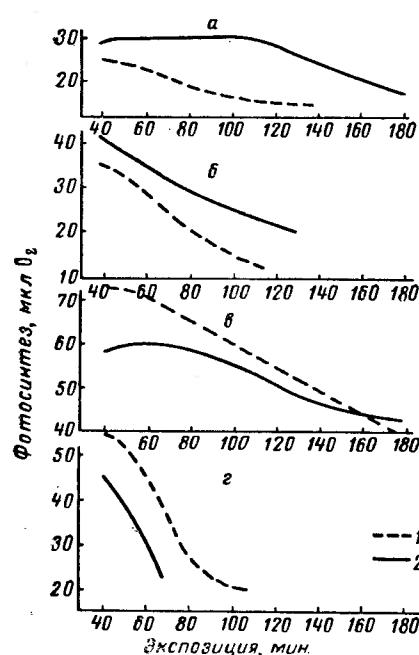


Рис. 45. Устойчивость фотосинтеза различных растений на красном и синем свете

а — аспидистра, б — копытень, в — бегония; г — кукуруза; 1 — красный свет; 2 — синий свет

устойчивости фотосинтеза на синем свету наблюдалась также для копытения. Бегония — менее тенелюбивое растение — давала вначале больший фотосинтез на красном свете, однако к концу второго часа различия сглаживались, и к третьему часу на синем свете фотосинтез стабилизовался, а на красном продолжалось падение. Для кукурузы (выращена при затенении) падение фотосинтеза начиналось после 40 мин. освещения. В отличие от названных выше растений, у кукурузы уровень фотосинтеза был все время выше на красном свете. Поскольку падение фотосинтеза на красном и синем свете для различных растений начиналось в разное время, можно, вероятно, считать, что фотосинтетический аппарат одних растений был более приспособлен к использованию для фотосинтеза коротковолновых лучей спектра, а других — длинноволновых.

Суммируя все изложенное относительно хроматической адаптации количественной стороны фотосинтеза (его интенсивности), можно сказать, что вопрос этот до сих пор не ясен. Для растений, выращенных на красном или синем свете при выравнивании светопотока по квантам, не всегда удается четко констатировать хроматическую адаптацию фотосинтеза при перенесении в другие условия освещения. В то же время у растений, адаптированных в филогенезе к разным условиям освещения (интенсивности и, по-видимому, качеству света), удается заметить эту адаптацию.

Особенностью фотосинтеза растений, выращенных на красном или синем свете, является то, что выравнивание света по квантам (падающим) обеспечивает в общем одинаковую интенсивность фотосинтеза или накопления органического вещества, по крайней мере при ненасыщающих интенсивностях света (Воскресенская, Гришина, 1958, 1959; Протасова, цит. по Воскресенской, 1964; Kowallik, 1962; Ohlenroth, Mohr, 1963 и др.).

Появление адаптации возможно допустить за счет перестройки пигментного аппарата хлоропласта: ультраструктурные, форм хлорофилла, каталитических систем, участвующих в транспорте электрона, или общего метаболизма клетки. Однако эти предположения требуют детального экспериментального обоснования. При изучении принципиальной возможности хроматической адаптации фотосинтеза высших растений деление света на широкие участки (красный, зеленый, синий), далеко не всегда чистые от примеси другого света, очевидно, должно быть заменено узкими спектральными линиями. Необходимо также применение дозированных сочетаний отдельных линий. Только такой подход сможет приблизить нас к пониманию роли разных лучей спектра в создании сложного понятия хроматической адаптации аппарата и функции фотосинтеза.

## 5. ДЛЯТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ КРАСНОГО И СИНЕГО СВЕТА НА НАКОПЛЕНИЕ АЗОТИСТЫХ ВЕЩЕСТВ, УГЛЕВОДОВ И НА НЕКОТОРЫЕ ДРУГИЕ СТОРОНЫ МЕТАБОЛИЗМА

### Опыты с высшими растениями

По представлениям, развиваемым Ничипоровичем (см. гл. II), состав и соотношение образованных при фотосинтетической фиксации  $\text{CO}_2$  органических соединений могут в значительной мере определить общее направление обмена веществ в растении и в конечном итоге влиять на качество по крайней мере биологического урожая.

До 1952 г. о влиянии синего и красного света на обмен веществ имелось несколько сообщений, в которых, к сожалению, не создавались условия, обеспечивающие одинаковый фотосинтез в разных участках спектра. Впрочем, даже в таком случае Митчеллу (Mitchell, 1937) удалось наблюдать благоприятное действие синего света на накопление белка у листьев томатов. Одновременно этот исследователь констатировал на синем свете уменьшение количества углеводов в листьях. Такие же данные в отношении углеводов получены Ермолаевой (1953). Другие исследователи не наблюдали подобного действия коротковолновых лучей на содержание углеводов (Ropp, 1926; Чернавина, 1959). При выращивании подсолнечника и бобов конских в течение 20 дней под светом синих и красных ламп, интенсивность которого обеспечивала практически одинаковое накопление сухого вещества, содержание белка в листьях оказалось выше для синего света. Соответственно общая сумма углеводов (табл. 67) была меньше (Воскресенская, 1952).

Клешнин, Осипова, Тимофеева (1955) определяли спектральную зависимость накопления белков и углеводов для листьев са-

Таблица 67

Накопление углеводов и белков (в %) при выращивании растений на красном и синем свету (Воскресенская, 1952)

Растение	Сумма углеводов после трехчасового гидролиза 2% HCl		Белок	
	красный свет	синий свет	красный свет	синий свет
Подсолнечник . . . .	6,22	2,89	34,31	36,06
Бобы коиские . . . .	8,03	4,11	38,18	43,12

лата (сорт Майский). Салат был выращен на свету красных и синих люминесцентных ламп различной интенсивности. С увеличением интенсивности света от 10 до  $30 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup>·сек содержание белков в листьях падало, а углеводов — возрастало на красном и синем свету. При одинаковой интенсивности красного и синего света замечены различия в содержании белка в листьях в пользу синего света и не найдено различий в углеводах.

Действие качества света на накопление углеводов и азотистых соединений исследовалось в листьях 20-дневных растений фасоли (Воскресенская, Гришина, 1958). При этом красный и синий свет в опытах выравнивался по падающим квантам. Растения выращивались при круглосуточном освещении на полной питательной смеси Гельригеля, но при содержании азота —  $\frac{1}{4}$  от полной нормы. За 36 час. перед экспериментом половина растений получала через корни азот в виде  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  до полной нормы. В анализ, таким образом, поступали растения, все время росшие на недостатке азота, или получившие азотную подкормку недавно перед опытом. Растения с красного света имели несколько больший сырой вес, чем при освещении синим светом. Сухой же вес с обоих вариантов разнился незначительно. Следовательно, при соотношении падающей энергии красного и синего света, выравненной по квантам, обеспечивалось практически одинаковое накопление сухой массы. Подобные результаты получались и ранее (Wassink, Stolwijk, 1956). В фиксированном материале определяли углеводы, общий и белковый азот, состав свободных аминокислот и состав аминокислот гидролизата белка хлоропластов. Хлоропласти выделяли после предварительного измельчения листьев в 0,5 M охлажденный раствор сахарозы. Выделенные, промытые хлоропласти подвергали гидролизу 20% HCl в течение 24 час. при 100° С, после чего определялся аминокислотный состав гидролизата белка. В табл. 68 приведены данные по содержанию азотистых соединений в листьях. На синем свету при

Таблица 68

Содержание азота в листьях фасоли, выращенной на красном и синем свету (Воскресенская, Гришина, 1958)

Свет в опыте	Условия азотного питания	Азот, мг на 100 мг абсолютно сухого веса			Отношение белкового азота к общему азоту, %	Увеличение азота при подкормке, %		Содержание азота на синем свете, % от содержания на красном	
		общий	белко-белковый	небелковый		общий	белко-белковый	общий	белко-белковый
Красный	1/4 нормы азота	1,81	1,25	0,56	69	100	100	100	100
	Подкормка до полной нормы	3,14	2,49	0,65	79	173	200	100	100
Синий	1/4 нормы азота	2,80	2,35	0,45	84	100	100	154	188
	Подкормка до полной нормы	3,92	2,89	1,03	74	140	123	124	116

азотном голодании содержание как белкового, так и общего азота в листьях оказалось значительно выше, чем на красном.

Особенно благоприятным было действие синего света для накопления белкового азота. Разница в небелковом азоте была значительно меньше, что совершенно четко указывает на активацию синим светом именно белкового синтеза. Содержание свободных аминокислот при азотном голодании было весьма невелико. Основная их масса была представлена аспарагиновой, глицином и серином на синем и на красном свете. Интенсивность окраски пятен была больше для красного света. Подкормка азотом увеличила содержание общего и белкового азота в листьях для обоих источников освещения. При этом преимущества синего света для накопления белка остались. Однако они стали значительно меньше. Набор аминокислот при подкормке оставался одинаковым для обоих источников света. Интенсивность же окраски пятен аминокислот (за исключением триптофана, которого и при недостатке азота было больше на красном свете) оказалась выше на синем свете.

Различий в аминокислотном составе гидролизата белка хлоропластов не обнаружено. Набор аминокислот, также как и интенсивность окраски пятен (насколько можно судить по визуальной оценке), был близким для красного и синего света (Воскресенская, Гришина, 1958). Однако этот результат не снимает вопроса о специфическом влиянии качества света на свойства белков хлоропласта, поскольку изменения скорее могли возникнуть не за счет набора аминокислот, а физико-химических свойств белка.

Содержание свободных углеводов в листьях фасоли в значительной мере определяется возможностями листа в отношении синтеза азотистых соединений. При недостатке азота содержание углеводов было высоким и на красном и на синем свету. Обнаружены лишь небольшие различия в пользу красного света. При подкормке азотом — содержание углеводов резко уменьшилось, что можно объяснить их усиленным потреблением на синтез белка (табл. 69).

Таблица 69

Содержание углеводов (в мг глюкозы на 100 г сухого вещества) в листьях фасоли, выращенной в разных условиях освещения (Воскресенская, Гришина, 1958)

Свет в опыте	Условия опыта	Монозы	Сахароза	Крахмал	Общая сумма сахаров
Красный	1/4 нормы азота . . . . .	3,67	2,92	18,71	25,30
	Подкормка до нормы . . . . .	2,08	1,41	6,43	9,92
Синий	1/4 нормы азота . . . . .	3,10	2,35	16,85	22,30
	Подкормка до нормы . . . . .	1,10	2,71	8,11	11,92

Таким образом, у растений, адаптированных путем длительного выращивания к определенным световым условиям, коротковолновая радиация как и в кратковременных опытах усиливает синтез азотистых соединений, в данном случае белка. Эта реакция особенно ярко проявлялась при недостатке азота. Подкормка азотом, действуя в том же направлении, что и коротковолновая радиация в какой-то мере нивелировала эффект, если определения азотистых веществ производились вскоре после подкормки. Создается впечатление о возможной аналогии в действии повышенных доз азота и действии коротковолновых лучей. Однако эта аналогия чисто внешняя. В одном случае (подкормка) увеличивались возможности синтеза азотсодержащих органических соединений за счет увеличения количества азота в растении. В другом случае (действие света) происходило, по-видимому, возбуждение фотопререкций в клетке и хлоропласте, непосредственно или опосредованно участвующих в синтезе азотистых соединений. Кроме участия редуктаз флавиновой природы, поглощение которыми синего света хорошо известно (см. гл. IV), в восстановлении нитратов, можно предполагать также активацию синим светом аминирования, поскольку ферменты, участвующие в этом процессе, имеют флавиновую природу. Недавно в листьях шпината найдена тиотамикодегидрогеназа флавиновой природы (Tsukamoto, 1962). Против аналогии в действии высоких доз азота и качества света на белковый синтез свидетельствуют также

результаты, в которых показано, что синий свет активирует белковый синтез даже при высоком фоне азотного питания (Воскресенская, Гришина, 1959; Ohlenroth, Mohr, 1964).

Так, например, спектральная зависимость накопления азотистых продуктов листьями фасоли исследовалась для разной интенсивности красного и синего света при высокой дозе азота в питательной смеси (Воскресенская, Гришина, 1959). Растения выращивались в термостатированных камерах. Освещение — красные (Л-27) и синие (Л-30) люминесцентные лампы. Интенсивность освещения для красных ламп в камерах была: в первой —  $23 \cdot 10^3$ , во второй —  $40 \cdot 10^3$ , в третьей —  $55 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup> · сек; для синих соответственно  $30 \cdot 10^3$ ,  $48 \cdot 10^3$ ,  $73 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup> · сек. По замыслу опыта предполагалось выращивать растения все время на непрерывном освещении. Однако через 20—25 дней после появления всходов началось скручивание, побурение и опадение нижних листьев растений и пожелтение самых верхних, молодых, особенно на красных лампах при высоких интенсивностях. Такое явление, по-видимому, было вызвано непрерывным освещением, «сбивавшим» филогенетически усвоенные ритмы сменных условий освещения (эндогенные ритмы) (Беликов, Моторина, 1958; Бюннинг, 1961). Возможно, что непрерывное освещение нарушило слаженность работы «низкоэнергетической» системы фотоморфогенеза «красный — дальний красный», что и было причиной нарушения «эндогенных» ритмов (см. выше). Ежесуточное выключение света на 6 час. прекратило развитие указанных явлений.

Всходы растений появились одновременно на красном и синем свете. Свет синих ламп по сравнению с красным резко тормозил вытягивание растений при всех интенсивностях, т. е. проявлялся типичный морфогенетический эффект синего света на растения. В то же время уменьшение интенсивности света как красных, так и синих ламп способствовало вытягиванию растений, сопровождавшемуся уменьшением их веса (явление этиология) (рис. 46). Данные приведены для 18-дневных растений. Сухой вес надземной массы растений,росших на красном свете, был наивысшим при освещении  $45 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup> · сек и далее почти не менялся. Для синих — предел не был обнаружен и при  $70 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup> · сек. Возможно, что различный уровень плато для накопления сухого веса на красном и синем свету связан с нарушением условий прохождения ростовых реакций. Подобный эффект красного и синего света на накопление сухого вещества при насыщающих рост томатов интенсивностях света (которые на разном качестве света не совпадают с насыщающими фотосинтез, а лежат ниже) наблюдался в лаборатории Вента (Went, 1957).

Срок и длительность цветения различались главным образом в связи с интенсивностью света. Однако проявилось также дей-

ствие спектрального состава света. Цветение на синем свету всех интенсивностей было гораздо более обильным, чем на красном. Для урожая бобов свет синих ламп оказался также более благоприятным.

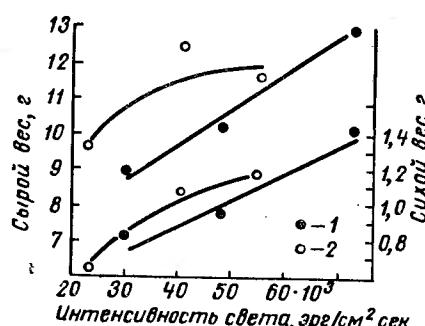


Рис. 46. Сухой и сырой вес растений фасоли, выращенных на красном и синем свету различной интенсивности  
1 — красный свет; 2 — синий свет

ставалась зеленой и на красном и на синем свету. Как видно из данных табл. 70, к моменту снятия опыта урожай семян при всех интенсивностях света был выше на синем свету (несформированные и опавшие бобы, количество которых было больше на красном свете, не учтены).

Таблица 70

Урожай семян фасоли, выращенной на красном и синем свету, в г на одно растение (Воскресенская, Гришина, 1959)

Камера	Сухой вес, г	Число семян	Средний вес 1 семени, г	Сухой вес, г	Число семян	Средний вес 1 семени, г
Красный свет						
1	0,70	6	0,11	2,58	4	0,64
2	0,88	6	0,14	2,43	5	0,48
3	2,16	7	0,30	2,87	7	0,41
Синий свет						

На слабом синем свете (камера 1) урожай семян оказался почти в четыре раза больше, чем на красном, в то время, как на сильном свете различия составляли около 30%. Таким образом, степень положительного действия коротковолновой радиации зависела от интенсивности света. Особенно ярко она проявлялась при малых освещенностях.

Этот результат важен, т. к. он указывает на возможное участие ВЭР фотоморфогенеза в активации белкового синтеза. Итак, особенно большие различия в пользу синего света найдены

для белкового азота (табл. 71). Если учесть, что накопление органического вещества на красном и синем свету было одинаково, то можно считать, что синий свет способствует абсолютному увеличению белка в листьях.

Таблица 71

Содержание (в %) общего органического и белкового азота в листьях фасоли, выращенной на красном и синем свете (Воскресенская, Гришина, 1959)

Камера	Азот			
	общий	белковый	общий	белковый
Красный свет				
1	5,95	4,71	6,58	5,98
2	5,89	4,70	6,20	5,36
3	5,75	4,67	5,79	5,05
Синий свет				

Количество общего азота несколько уменьшалось по мере увеличения интенсивности радиации и на красных и на синих лампах. Содержание белка на красном свете было практически одинаково при всех интенсивностях освещения и меньше, чем на синем; на синем свете, относительное количество белкового азота уменьшалось с увеличением интенсивности света, оставаясь тем не менее всегда выше, чем на красном.

Представляло интерес проверить, повлияло ли усиленное накопление белка в листьях на белковость семян. Для этой цели хорошо выполненные, созревшие и высушенные семена фасоли анализировали на содержание в них белкового азота (в мг на 100 мг сухого вещества) (Воскресенская, Гришина, 1959). Результаты анализа были следующими:

На красном свете	На синем свете
4,01 (1)	3,67 (1)
3,90 (2)	3,65 (2)
3,91 (3)	3,40 (3)

Цифры в скобках — номер камеры.

Вопреки ожиданию, белковость семян для синих ламп оказалась даже несколько ниже, чем для красных.

Таким образом, повышенная способность листьев на синем свете к накоплению белков привела к ускорению формирования бобов и увеличению общей массы урожая, однако не оказала положительного действия на белковость семян. Отсутствие положительного действия коротковолновой радиации на белковость семян растений еще раз подтверждает многократно наблюдав-

шийся факт, что химический состав семян в гораздо меньшей степени подвержен колебаниям при различных воздействиях, чем общая величина урожая (Прокофьев, 1955, Петинов, 1959). Однако другие исследователи при выращивании растений сои на свету красных или синих ламп наблюдали в коротковолновых лучах не только увеличение белков и уменьшение углеводов в листьях, но и увеличение белковости семян (Howell et al., 1957). По-видимому, эффект спектрального состава света на качество семян заслуживает внимания и требует дальнейшего изучения, поскольку имеющиеся экспериментальные данные пока весьма ограничены.

Суммируя приведенные материалы, можно сказать, что при длительном воздействии синий свет активирует накопление белка в листьях. Эта активация проявляется для всех испытанных интенсивностей света. В то же время относительное уменьшение содержания белкового азота в образованном сухом веществе при увеличении интенсивности синего света указывает на низкое световое плато активации. Отсутствие световой зависимости накопления белкового азота в листьях на красном свету связано, очевидно, с тем, что эти лучи не оказывают специфического влияния на белковый синтез (табл. 71). Итак, можно думать, что фотопреакция, вызванная синим светом, активирует путь фотосинтетической фиксации  $\text{CO}_2$  в азотистые соединения, а это при длительных опытах увеличивает накопление белка в клетке.

Другие стороны метаболизма высших растений, выращенных на свету разного спектрального состава, изучены еще меньше. Так, например, систематических определений активности ферментов при длительном воздействии светом разного спектрального состава не проводилось. Имеются лишь отдельные работы, посвященные этим вопросам. Найдено при этом, что активность ферментных систем изменяется под влиянием условий освещения. Так, у этиолированных проростков ячменя и других злаков при освещении синим светом активность каталазы резко снижалась по сравнению с красным. То же обнаружено для молодых растений томатов и табака, которые росли на обычном, белом свету и затем экспонировались (от 3 до 6 дней) на красном или синем. Каталазная активность бобовых (бобы, горох, клевер), наоборот, стимулировалась синим и инактивировалась красным светом. Снижением активности каталазы на синем свету объясняется более активный синтез хлорофилла у этиолированных растений в этих случаях. Сумма аскорбиновой и дегидроаскорбиновой кислот у 10-дневных проростков ячменя существенно увеличивалась на синем свету по сравнению с красным и темнотой. Активность реакции Хилла, определенная с феррицианидом, также оказалась выше для растений (ячмень, кукуруза, табак), адаптированных к синему свету (Appleton, Ryffm, 1955). В проростках пшеницы под влиянием синего света увеличивается реакция

Хилла, возрастает количество аскорбиновой кислоты, активируется пероксидаза, дегидраза и каталаза, уменьшается количество органических кислот и увеличивается отношение сахарозы к монозам. По-видимому, изменения связаны с действием коротковолновой радиации на окислительно - восстановительные процессы в клетке (Ермолаева, 1953; Рубин, Чернавина, 1955; Чернавина, Рубин, 1956).

Кроме того, для 6-дневных проростков пшеницы, выращенной в темноте и освещавшейся затем красным или синим светом в течение первых 6 час. освещения, наблюдалась активация синим светом цитохромоксидазы. Затем различия между вариантами сглаживались. В случае озимой пшеницы цитохромоксидаза становилась активнее на красном свете (Рубин и др., 1956). Для листьев фасоли, выращенной на красном или синем свету, получено четкое различие в уровне активности цитохромоксидазы (рис. 47), определяемой в темноте. У растений с синего света активность всегда была выше, чем у растений с красного. Активность цитохромоксидазы при этом мало зависела от интенсивности света в пределах от  $30$  до  $60 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup>·сек. Очевидно, это указывает, что насыщение реакции уже достигалось около  $30 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup>·сек и для повышенной активности цитохромоксидазы решающую роль играл спектральный состав, а не интенсивность света. На красном свете при увеличении интенсивности радиации активность цитохромоксидазы также несколько возрастала, хотя и оставалась все время ниже, чем на синем (Воскресенская, Гришина, 1959).

Последнее явление можно объяснить тем, что красные лампы содержали некоторое (небольшое, 5—10%) количество коротковолновых лучей. Можно также допустить для зеленых листьев некоторое возбуждение цитохромоксидазы за счет лучей, поглощающих хлорофиллом (Сисакян и др., 1959).

По-видимому, длительное действие синего света активировала цитохромоксидазу, локализованную в цитоплазме, поскольку отсутствие цитохромоксидазы в хлоропластах доказано, а фотоксидаза — в темноте неактивна (см. гл. III). Можно предположить, что активация цитохромоксидазы способствует (через усиление реакций окислительного фосфорилирования) стимуляции синтеза аминокислот и белков, так как под влиянием синего света наблюдается параллелизм в изменении этих показателей.

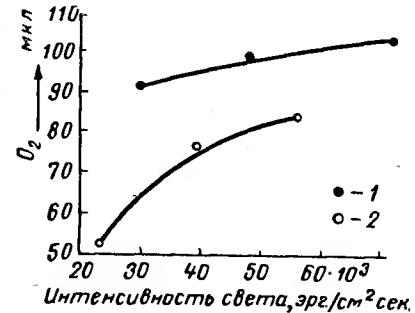


Рис. 47. Активность цитохромоксидазы в темноте у растений, выращенных на красном или синем свету  
1 — синий свет; 2 — красный свет

## ✓ Опыты с зелеными водорослями и мхами

Исследование длительного действия синего и красного света на азотный метаболизм зеленых водорослей и мхов начато позднее, чем для высших растений. Основные результаты, так же как и в случае высших растений, касаются действия синего света на синтез белков (Pirson, Kowallik, 1960; Kowallik, 1962; Ohlenroth, Möhr, 1963, 1964). В одних опытах с хлореллой употреблялись синхронная и равномерная культура. Производили длительное выращивание синхронной культуры (световой период в течение 16 час. и темновой — 12) на красном или синем свету (соотношение интенсивностей света обеспечивало одинаковое накопление сухого вещества). При этом было обнаружено резкое положительное действие синего света на накопление белка, особенно в первый период освещения (до 10 час.). Красный свет способствовал накоплению углеводов. В темноте различия между углеводами для вариантов «красный и синий свет» сглаживались за счет превращения углеводов в органические соединения (большей частью белки) (Pirson, Kowallik, 1960).

В других опытах хлорелла предварительно выращивалась и синхронизировалась на белом свету и только затем помещалась на красный или синий свет. Метаболизм определялся во второй световой период после помещения водоросли на цветной свет. В этом случае вновь наблюдалась та же картина в отношении белков и углеводов, т. е. синий свет активировал белковый синтез. Таким образом, оказалось достаточно двух ротаций, чтобы хлорелла дала ответ на воздействие качеством света, подобный длительному выращиванию (Kowallik, 1962). Однако размер и количество клеток на красном и синем свету в этом случае были различными: на синем они были больше, но количество их меньше за счет задержки в появлении дочерних клеток; на красном, наоборот, размер был меньше, но обнаружено большее количество дочерних клеток. Это явление анализируется автором и связывается с изменением в соотношении РНК и ДНК в зависимости от условий освещения. Синий свет в опытах способствовал увеличению абсолютного количества РНК и уменьшал по сравнению с красным светом количество ДНК. Наиболее ярко действие синего света на синтез белка проявлялось (также как и на увеличение РНК) к середине светового периода. Длительное выращивание (7 дней) при непрерывном освещении равномерной культуры водоросли показало, что усиление белкового синтеза синим светом — реакция устойчивая и проявляется как для синхронной культуры, выращиваемой при смене условий освещения, так и для равномерной при непрерывном освещении.

Особо интересными моментами в работе автора следует считать сравнение действия качества света на углеводный и белковый обмен для двух форм азота — окисленной и восстановлен-

ной, а также попытку связать белковый синтез, рост и деление клеток хлореллы с нуклеиновым обменом. Результаты исследования первого вопроса показали, что благоприятное действие синего света на синтез белка связано не только с первой стадией — восстановлением нитрата. При употреблении аммиачного азота получены аналогичные результаты усиления белкового синтеза синим светом (Kowallik, 1962). Причины такого явления подробнее не анализируются. Однако, как мы указывали выше, синий свет может способствовать синтезу аминокислот и белка во многих звеньях этих сложных процессов: за счет увеличения количества углеродных предшественников этих соединений, активации реакций аминирования, активации аминокислот и т. п. Автор заключает, что синий свет специфически влияет на метаболизм растения, поскольку это усиление, в отличие от действия интенсивности света, не сопровождается уменьшением накопления органического вещества. Квантовое соотношение синего и красного света всегда обеспечивало одинаковое накопление органической массы. Как видно, данные эксперименты, так же как и выводы, целиком совпадают с нашими, сделанными ранее для высших растений (Воскресенская, Гришина, 1958, 1959).

Вначале предполагалось (Kowallik, 1962), что синий свет действует только на конечную стадию превращений азота — на белковый синтез, при этом опосредованно, через усиление синтеза РНК. Однако на основании всех имеющихся в настоящее время данных, очевидно, не приходится сомневаться в том, что действие синего света четко оказывается и на синтезе аминокислот (см. гл. II и настоящая). Весьма примечательно, что изменения в пути усвоения  $C^{14}O_2$  под влиянием синего света при коротких экспозициях, выраженные, скорее, как тенденция (изменения соотношения метаболитов фотосинтеза), при длительном воздействии существенно усиливаются (см. гл. II). Так, равномерная культура хлореллы, выращенная в течение 9—12 дней на красном или синем свету, фиксировала  $C^{14}O_2$  преимущественно в гликолат. На красном — метка в гликолате отсутствовала. При перенесении водорослей с синего на красный или белый свет метка в гликолате обнаруживалась, т. е. проявились признаки адаптации к синему свету фотосинтетического метаболизма. Усиление гликолатного пути на синем свету можно объяснить увеличением у этих водорослей концентрации пигмента с максимумом поглощения в области 355 мкм (Hess, Tolbert, 1964). Однако вопрос этот изучен мало и требует существенной дополнительной информации.

В цитируемой ранее работе (Kowallik, 1962) показано, что с помощью фотопрерываний, вызываемой синим светом, происходит не только изменение существенных сторон метаболизма водоросли — белкового и нуклеинового обмена, но и темпа роста и развития водоросли (меняются размер и число дочерних клеток).

Значение фотопререкций, возбуждаемых синим светом, по сравнению с красным для роста тканей исследовалось в Институте физиологии растений АН СССР (Бутенко, Ничипорович, Протасова, 1961). Тест-объектом в этой работе являлась культура ткани моркови (каллюсы). Каллюсы выращивались на питательной среде Нича с добавкой вытяжки из растений фасоли, выращенных при разном качестве света.

На красном свету и в контроле получен практически одинаковый рост, в то время как синий резко увеличил его (учет активности роста по сухому весу каллюсов).

Интересно, что достаточно было уже трехчасового воздействия на растение фасоли красным или синим светом, чтобы получить подобный эффект. Однако присутствие  $\text{CO}_2$  (наличие фотосинтеза) является необходимым условием для осуществления подобной реакции, т. е. усиления роста каллюса растительной вытяжкой с синего света. Без  $\text{CO}_2$  реакция принимает обратный знак: красный свет начинает в большей мере способствовать увеличению сухой массы каллюсов, чем синий. Авторы полагают, что причиной такого результата являются изменения, вносимые светом разного спектрального состава в обмен пуриновых и пиримидиновых оснований. В связи с результатами Коваллика о действии качества света на нуклеиновый обмен и клеточное деление хлореллы было бы чрезвычайно интересно определить, за счет какого компонента в первую очередь изменяется сухой вес каллюсов — за счет роста клеток или увеличения их количества. Вопрос этот пока не ясен, так как не исключена возможность влияния синего света и на ауксиновый обмен (Briggs, 1964). Однако остается несомненным, что фотопререкции, вызываемые различными лучами спектра, могут приводить (очевидно, через действие на какие-то центральные звенья фотосинтетического и общего обмена клетки) к существенным изменениям в росте и развитии растений. Эти реакции затрагивают не только метаболизм, общий и фотосинтетический, но также и организацию субклеточных единиц. Выше подробно описывались опыты, в которых показано, что биосинтез белка усиливается синим светом у заростков папоротника (Ohlenroth und Mohr, 1963, 1964). Эти изменения коррелированы с изменением морфогенеза заростка (Mohr, Ohlenroth, 1962), а также изменением величины хлоропласта (Bergfeld, 1963). Сейчас появились исследования, которые указывают, что под влиянием качества света обратимо изменяется не только величина хлоропласта, но и величина ядра. Подобно хлоропласту размер ядра увеличивается на синем свету по сравнению с красным. Перенесение с синего света на красный уменьшает его размер, с красного на синий — наоборот, увеличивает (Bergfeld, 1963a). Подобное увеличение ядра на синем свету одновременно с увеличением размера самой клетки обнаружено для хлореллы. Предполагают, что увеличение хлоропласта свя-

зано со специфическим увеличением синтеза белка в хлоропласте действием синего света (Bergfeld, 1964).

При перенесении хлореллы с белого света на синий во вторую ротацию наблюдается уменьшение количества дочерних клеток наряду с увеличением размеров клетки на синем свету. В то же время они больше по размеру, чем на красном. Последнее объяснялось сдвигами в соотношении ДНК и РНК — увеличением количества РНК на синем свете (Kowallik, 1962). Дальнейший анализ показал, что это явление временное. Оно наблюдается только в течение нескольких ротаций хлореллы на синем свете. При увеличении времени выращивания (до 250 периодов в течение 10 месяцев) размеры клетки и ядра, а также скорость деления на синем свете становятся одинаковыми с красным (рис. 48). В то же время вновь выведенный на синем свете штамм хлореллы устойчив. В течение четырех месяцев последующего выращивания на белом, красном и синем свете он не меняет своих признаков в отношении величины и числа клеток. Поэтому автор полагает, что в данном случае имеет место, скорее, не модификационная, а мутационная изменчивость хлореллы под влиянием синего света. Красный свет не изменяет ни размер, ни деление клеток, ни их величину по сравнению с белым светом. Причиной указанных изменений исследователь считает не непосредственное действие возбуждаемой синим светом реакции на наследственный аппарат растений, а ее влияние на этот аппарат через цитохромную систему (Kowallik, 1963). Возможности активного белкового синтеза таким штаммом пока не изучены. Таким образом, адаптивные явления, вызываемые синим светом, могут не ограничиваться онтогенезом растения. Очевидно, правомочно ставить вопрос о том, можно ли с помощью фотопререкции, вызываемой синим светом, производить селекцию растений по определенным признакам. При этом, по-

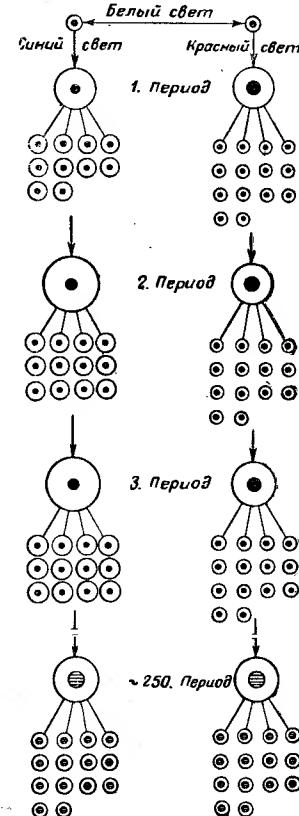


Рис. 48. Действие синего и красного света на величину клеток, число дочерних клеток и величину ядра у хлореллы (*Chlorella pyrenoidosa*), схематическое изображение (большие круги — материнские клетки, малые — дочерние. Ядро — штрихованные или полностью зачерненные кружки) (Kowallik, 1963)

видимому, нельзя пренебречь теми данными, которые указывают, что эта фотопреакция небезразлична и для работы фотосинтетического аппарата. По-видимому вопрос о соотношении фотопреакции морфогенеза и фотосинтеза требует тщательного и систематического изучения.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, на основании приведенного материала можно, по-видимому, говорить, что у зеленых растений существует адаптация к свету различного спектрального состава (хроматическая адаптация). По крайней мере, об этом можно говорить в отношении синего и красного света. Адаптация количественной стороны фотосинтеза (интенсивности) проявляется в том, что, в отличие от кратковременных опытов, для получения одинаковой сухой массы растений достаточно выравнивание красного и синего светопотоков по падающим квантам (Воскресенская, 1958, 1964; Воскресенская, Гришина, 1958, 1959; Pirson, Kowallik, 1960; Kowallik, 1962; Mohr, 1962), если растения находятся в одинаковом физиологическом состоянии. Таким образом, при длительном выращивании синий свет становится более эффективным, чём при кратковременном воздействии. В этом случае (на стационарном восходящем участке световой кривой фотосинтеза) преимущества для красной области спектра по эффективности уже не имеется. Равенство фотосинтеза наступает при равном количестве падающих синих и красных квантов. Правда, вопрос о влиянии качества света на физиологическую эффективность фотосинтеза следует считать открытым до тех пор, пока эффект не будет проверен на растениях, выращенных при высоких (насыщающих фотосинтез) интенсивностях цветного света, где исключена одновременная адаптация растений к низким интенсивностям.

Неодинаковая устойчивость фотосинтеза на красном и синем свету для различных экотипов растений — свето- и тенелюбов свидетельствует, что одновременно с адаптивными эффектами для функций (фотосинтез) существует также адаптация структуры фотосинтетического аппарата к качеству света. Однако, как показывает анализ данных об изменении общего содержания пигментов, морфологии и анатомии растений со светом разного качества, изменения структуры фотосинтетического аппарата прежде всего следует искать и изучать на молекулярном уровне — исследовать состояние пигментов, комплексы пигментов с активными белками — участниками электронтранспортной цепи, ультраструктуру хлоропласта.

Приведенные материалы, также указывают, что спектральный состав света может являться мощным регулятором обмена веществ и продуктивности как высших, так и в особенности низших (зеленые водоросли) растений в искусственных условиях

освещения. Однако, очевидно, этим дело не ограничивается. Поскольку качество света изменяет условия синтеза азотистых веществ, в том числе белка, и по некоторым данным существенно влияет на нуклеиновый обмен хлореллы, развитие и качественный состав клеток, то вероятна также роль спектрального состава света для отбора и селекции водорослей.

По-видимому, качество света, возбуждая или инактивируя фотопреакции, регулирующие отдельные звенья обмена растений, и создавая преимущественные условия для образования каких-то метаболитов, влияет в конечном итоге на морфогенез растений.

Если принять во внимание, что предполагаемые фотопрепторы, вызывающие изменения в продуктах фотосинтеза при кратковременном и длительном действии света разного качества, очевидно, идентичны и могут быть локализованы в различных субъединицах клеток, то, вероятно, надо согласиться с возможным взаимодействием фотопрепторных систем фотосинтеза и фотоморфогенеза. По-видимому, изучение соотношения этих реакций может помочь выявить природу адаптивных явлений зеленого растения к качеству света. В заключение необходимо подчеркнуть, что вопросы регуляции жизнедеятельности растительного организма светом различного спектрального состава, идентификация фотопрепторов, ответственных за эту регуляцию и поиски центрального звена регуляции, находятся в настоящее время в центре внимания фотобиологов. Поток литературы, посвященной этим вопросам, приносит с каждым днем все новые экспериментальные результаты, некоторые из которых представляют принципиальный научный интерес. Естественно поэтому, что предлагаемая вниманию читателя глава дает скорее представление об основных приемах и направлениях исследования этого вопроса, но отнюдь не претендует на освещение всех его сторон.

## ЛИТЕРАТУРА

Аксенова Н. П. 1962. Дыхание растений в связи с фотопериодизмом. Дисс. на соискание уч. степени канд. биол. наук. М.

Аксенова Н. П. 1965. Действие 2,4-динитрофенола на поглощение кислорода на свету и в темноте листьями дурнишика и рудбекии.—Докл. АН СССР, 162, № 5, 1194.

Акулова Е. А., Хазанов В. С., Цельникер Ю. Л., Шишов Д. М. 1964. Пропускание света пологом леса в зависимости от падающей радиации в сомкнутости крон деревьев.—Физiol.раст., 11, вып. 5, 818.

Алексеев В. А. 1963. Некоторые вопросы оптических свойств леса.—В сб.: Проблемы экологии и физиологии лесных растений, 47. Ленинград.

Андреева Т. Ф. 1951. Значение фотосинтеза для восстановления интратов и синтеза белка в листе.—Докл. АН СССР, 78, № 5, 1033.

Андреева Т. Ф., Плышевская Е. Г. 1952. Исследование образования белка в процессе фотосинтеза с применением  $N^{15}$ .—Докл. АН СССР, 87, № 2, 391.

Андреева Т. Ф. 1956. К вопросу о синтезе белка в зеленом листе.—Физiol.раст., 3, в. 2, 157.

Андреева Т. Ф., Нальборчик Э. Я. 1957. К вопросу о влиянии физиологического состояния растения и некоторых внешних воздействий на состав продуктов фотосинтеза.—Докл. АН СССР, 114, № 3, 662.

Андреева Т. Ф., Нальборчик Э. Я., Тихомиров М. В. 1959. Образование белка в процессе фотосинтеза.—В сб.: Проблемы фотосинтеза. М., Изд-во АН СССР, стр. 272.

Андреева Т. Ф., Коржева Г. Ф. 1964. Влияние спектрального состава света и его интенсивности на образование аминокислот листа.—Физiol.раст., 11, вып. 6, 951.

Арнон Д. И. 1962. Фотосинтетическое фосфорилирование и единая схема фотосинтеза.—В сб.: Труды V МБК. Механизм фотосинтеза. Симпозиум VI. М., Изд-во АН СССР, стр. 208.

Арнон Д. 1962а. Роль микроэлементов в питании растений, в частности в фотосинтезе и усвоении азота.—В сб.: Микроэлементы. М., ИЛ, стр. 9.

Ашур Н. И. 1964. Влияние интенсивности и спектрального состава света на фотосинтетический аппарат растений. Канд. дисс. М.

Бассем А., Кальви М. 1962. Путь  $CO_2$  в фотосинтезирующем растении.—В сб.: Труды V МБК. Симпозиум VI. Механизм фотосинтеза. М., Изд-во АН СССР, стр. 300.

Беликов П. С., Моторина М. В. 1958. О суточных ритмах фотосинтеза.—Докл. АН СССР, 123, № 1, 185.

Беликов П. С. 1960. Регуляция скорости фотосинтеза растительным организмом.—Докл. ТСХА, вып. 57, стр. 5.

Беликов П. С., Моторина М. В., Куркова К. Б. 1962. Кратковремен-

- ная активация фотосинтеза как проявление раздражимости у растений.—Изв. ТСХА, серия биол., № 1 (44), 47.
- Беликов П. С., Моторина М. В., Невская Р. И. 1964. О природе кратковременной активации фотосинтеза. Изв. ТСХА, 6, 28.
- Беликов П. С., Авакимова Л. Г. 1965. Фотосинтез, содержание воды и движение устьиц у отрезанных листьев фасоли. Изв. ТСХА, 1, 1.
- Белл Л. Н. 1952. О квантовом выходе фотосинтеза.—Природа, № 3, 117.
- Белл Л. Н. 1955. Фотоэлектрический прибор для измерения фотосинтетически активной радиации (фотоэлектрический фитоактинометр).—Труды Ин-та физиол. раст. АН СССР, 10, 257.
- Белл Л. Н., Меринова Г. Л. 1961. Новый подход к изучению энергетического выхода фотосинтеза.—Физiol.раст., 8, вып. 2, 161.
- Белл Л. Н., Меринова Г. Л. 1961а. Влияние дозы и длины волны ультрафиолетовых лучей на фотосинтез хлореллы.—Биофизика, 6, № 2, 159.
- Белл Л. Н. 1962. О «длинноволновом падении» фотосинтеза и так называемом «втором эффекте Эмерсона».—Биофизика, 7, № 2, 252.
- Белл Л. Н. 1964. Фотоэнергетика растений и некоторые вопросы фитоактинометрии.—Изв. АН Эст. ССР. Серия биол., 13, № 3, 184.
- Белл Л. Н. 1965. Особенности спектрофотометрии биологических объектов. В печати.
- Белл Л. Н., Меринова Г. Л. 1964а. Фотоэнергетика хлореллы около компенсационных интенсивностей света.—Докл. АН СССР, 157, № 5, 1224.
- Белозрский А. Н., Проскуриков Н. И. 1961. Практическое руководство по биохимии растений. М., Изд. Советская наука.
- Бенсон А. А. 1962. Обмен липидов в хлоропластах.—В сб.: Труды V МБК. Симпозиум VI. Механизм фотосинтеза. М., Изд-во АН СССР, 346.
- Бойченко Е. А. 1949. Восстановление углекислоты гидрогеназой хлоропластов. Дисс. на соискание уч. степени д-ра биол. наук. М.
- Бойченко Е. А. 1950. Дальнейшее изучение продукта восстановления углекислоты хлоропластами.—Докл. АН СССР, 70, № 6, 1037.
- Бойченко Е. А. 1954. Значение железа в энзиматических реакциях процесса фотосинтеза.—Физiol.раст., 1, № 1, 57.
- Бойченко Е. А., Захарова Н. И. 1955. Применение  $C^{14}$  в изучении первичных продуктов фотосинтеза. Сессия АН СССР по мирному использованию атомной энергии, 1—5 июля. М., стр. 184.
- Бойченко Е. А., Захарова Н. И. 1956. Оксокислоты в первичных продуктах фотосинтеза.—Биохимия, 21, вып. 5, 623.
- Бойченко Е. А., Захарова Н. И. 1959. Железо и марганец в реакциях фотосинтеза.—Физiol.раст., 6, вып. 1, 88.
- Бойченко Е. А., Саенко Г. Н. 1959. Ферментативное восстановление углекислоты.—Физiol.раст., 6, вып. 6, 719.
- Бойченко Е. А., Удельнова Т. М. 1962. Образование перекиси и фосфатидилэтаноламина при ферментативном восстановлении углекислоты.—Докл. АН СССР, 147, № 6, 1484.
- Бородулина А. А. 1962. Физиологические основы внекорневых фосфорных подкормок хлопчатника. Докт. дисс. Ташкент.
- Бояринин А. Н. 1956. Разноцветное проявление аминокислот на бумажных хроматограммах.—Физiol.раст., 3, вып. 4, 381.
- Брандт А. Б., Деревянко В. Г., Павлова И. Л. и Тагеева С. В. 1957. Значение различной интенсивности и спектрального состава света для пигментообразования растениями.—Биофизика, 2, вып. 6, 649.
- Бриллиант В. А. 1949. Фотосинтез как процесс жизнедеятельности растений. М., Изд-во АН СССР.
- Бутенко Р. Г., Ничипорович А. А., Протасова Н. Н. 1961. Физиологическая активность продуктов фотосинтеза растений, экспонируемых на свету разного спектрального состава.—Физiol.раст., 8, вып. 2, 153.
- Бутенко Р. Г. 1964. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. М., Изд-во АН СССР.

- Бюнинг Э. 1961. Ритмы физиологических процессов («Физиологические часы»). М., ИЛ.
- Ваклинова С. Г. 1958. Изучение действия форм азота на содержание пигментов и на характер продуктов фотосинтеза в проростках кукурузы и фасоли. Автореферат канд. дисс. М.
- Ваклинова С., Штарбанская Е., Помова Н. 1962. Использование нитратного и аммиачного азота при образовании некоторых аминокислот в процессе фотосинтеза.—Докл. Болгарск. АН, 15, № 3, 293. Цит. по РЖБiol. физиол. раст., 1963.
- Ван дер Вин Р., Мейерс Г. 1962. Свет и рост растений. М., Сельхозиздат.
- Верховская И. Н. и др. 1955. Метод меченых атомов в биологии. Под ред. Кузина А. М. Изд. Моск. ун-та.
- Весселс И. С. К. 1962. Нитрозосоединения как переносячики электрона при фотосинтетическом фосфорилировании.—В сб.: Труды V МБК. Симпозиум VI. Механизм фотосинтеза. М., Изд-во АН СССР, стр. 273.
- Виноградов А. П., Тейс Р. В. 1947. Новое определение изотопного состава кислорода фотосинтеза.—Докл. АН СССР, 56, № 1, 57.
- Виноградов А. П., Кутюрин В. М., Улубекова М. В., Задорожный И. К. 1959. Изотопный состав кислорода фотосинтеза.—Докл. АН СССР, 25, № 5, 1151.
- Виноградов А. П., Кутюрин В. М., Улубекова М. В., Задорожный И. К. 1960. Изотопный состав кислорода фотосинтеза и дыхания.—Докл. АН СССР, 134, № 6, 1486.
- Виноградов А. П. 1962. Изотопы кислорода и фотосинтез. 22 Тимирязевское чтение. М., Изд-во АН СССР.
- Виноградов А. П., Кутюрин В. М. 1962. К вопросу о механизме дегидрирования воды в процессе фотосинтеза.—В сб.: Труды V МБК. Симпозиум VI. Механизм фотосинтеза. М., Изд-во АН СССР, стр. 264.
- Владимиров Ю. А., Литвяк Ф. Ф. 1964. Практикум по общей биофизике № 8. Фотобиология и спектральные методы исследования. М., Изд-во «Высшая школа».
- Вознесенский В. А. 1964. Исследование углекислотных кривых газообмена растений в области низких концентраций  $\text{CO}_2$ .—Физиол. раст., 11, вып. 6.
- Воскресенская Н. П. 1947. Действие калия, кальция и натрия на интенсивность фотосинтеза. Канд. дисс. М.
- Воскресенская Н. П. 1949. Влияние азотного питания и освещения на накопление органического вещества и количество хлорофилла *a* и *b* у салата.—Докл. АН СССР, 67, № 1, 161.
- Воскресенская Н. П. 1950. О влиянии длины волны света на образование углеводов и белков в листе.—Докл. АН СССР, 72, № 1, 173.
- Воскресенская Н. П. 1951. О восстановлении нитратов в листьях при различных условиях освещения.—Докл. АН СССР, 79, № 1, 165.
- Воскресенская Н. П. 1952. О влиянии спектрального состава света на соотношение веществ, образующихся при фотосинтезе.—Докл. АН СССР, 86, № 2, 429.
- Воскресенская Н. П. 1953. Значение спектрального состава света для фотосинтетического образования веществ.—Докл. АН СССР, 93, № 5, 911.
- Воскресенская Н. П. 1953а. Влияние условий освещения на состав продуктов фотосинтеза.—Труды Ин-та физиол. раст. АН СССР, 8, вып. 1, 42—55.
- Воскресенская Н. П. 1955. О влиянии спектрального состава света на интенсивность фотосинтеза.—Труды Ин-та физиол. раст. АН СССР, 10, 129.
- Воскресенская Н. П. 1956. Об образовании органических кислот и аминокислот при фотосинтезе в разных условиях освещения.—Физиол. раст., 3, вып. 1, 49.
- Воскресенская Н. П., Гришина Г. С. 1956. К вопросу об использовании растениями  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  в разных условиях освещения.—Докл. АН СССР, 106, № 3, 565.
- Воскресенская Н. П., Зак Е. Г. 1957. О поглощении кислорода листьями растений в разных участках спектра.—Докл. АН СССР, 114, № 2, 375.
- Воскресенская Н. П., Гришина Г. С. 1958. К вопросу о длительном действии спектрального состава света на растения.—Физиол. раст., 5, вып. 2, 147.
- Воскресенская Н. П. 1959. Действие коротковолновой радиации на поглощение кислорода листьями растений.—В сб.: Проблемы фотосинтеза. М., Изд-во АН СССР, стр. 335.
- Воскресенская Н. П., Гришина Г. С. 1959. О действии интенсивности и спектрального состава радиации на обмен веществ и урожай.—Докл. АН СССР, 124, № 2, 469.
- Воскресенская Н. П. 1959а. О методах исследования продуктов фотосинтеза. Результаты работ методического совещания по физиологии и биохимии хлопчатника. Изд-во АН УзбССР.
- Воскресенская Н. П., Гришина Г. С. 1960. Поглощение кислорода зелеными листьями в зависимости от интенсивности и спектрального состава света.—Физиол. раст., 7, вып. 5, 497.
- Воскресенская Н. П. 1961. Зависимость поглощения кислорода зелеными и незелеными листьями от интенсивности и спектрального состава света.—В сб.: Физиология древесных растений (Юбилейный сборник, посвященный Л. А. Иванову). М., Изд-во АН СССР, 150.
- Воскресенская Н. П., Гришина Г. С. 1961. Некоторые особенности поглощения кислорода зелеными листьями на свету.—Физиол. раст., 8, вып. 6, 726.
- Воскресенская Н. П., Гришина Г. С. 1961а. Восстановление  $\text{CO}_2$  в различных участках спектра в присутствии окислителей.—В сб.: Труды V МБК. Рефераты секций. 22-е сообщение. Т. 2. М., Изд-во АН СССР, стр. 357.
- Воскресенская Н. П., Гришина Г. С. 1962. О конкурентных отношениях между  $\text{CO}_2$  и некоторыми другими окислителями при фотосинтезе в различных участках спектра.—Докл. АН СССР, 144, № 4, 922.
- Воскресенская Н. П., Гришина Г. С. 1962а. Значение света для восстановления нитритов в зеленом листе.—Физиол. раст., 9, вып. 1, 7.
- Воскресенская Н. П. 1963. Фотосинтетическая деятельность зеленого растения при различном спектральном составе света. Автореферат докт. дисс. М.
- Воскресенская Н. П. 1964. Значение спектрального состава света для фотосинтетической деятельности зеленого растения.—Изв. АН Эст. ССР, серия биол., 18, № 3, 193.
- Воскресенская Н. П. 1965. Поглощение кислорода фотосинтезирующими растениями на свету.—В сб.: Фотохимия и биохимия фотосинтеза. М., Изд-во «Наука» (в печати).
- Годнев Т. Н., Ефремов Р. В. 1958. О спектрах поглощения хлорофилла в живой ткани листа.—Инженерно-физич. журн., 1, № 1, 91.
- Гребинский С. О. 1961. Рост растений. Изд. Львовск. ун-та.
- Грин Д. Е. 1961. Структура и функция субклеточных частиц.—В сб.: Труды V МБК. Пленарная лекция. М., Изд-во АН СССР.
- Грин Д. Е. 1964. О биологических мембранных.—В сб.: Молекулярная биология. Проблемы и перспективы. М., Изд-во «Наука», стр. 260.
- Гришина Г. С., Воскресенская Н. П. 1963. Световая зависимость поглощения кислорода хлоропластами (реакция Мелера).—Докл. АН СССР, 151, № 2, 452.
- Гунар И. И. 1953. Проблема раздражимости растений и ее значение для дальнейшего развития физиологии растений. Доклад на научной конференции ТСХА 9 декабря 1952 г. М.

- Гуревич А. А. 1948. О фотосенсибилизирующем действии хлорофилла на окислительно-восстановительные реакции.—Докл. АН СССР, 59, № 5, 937.
- Гуревич А. А. 1953. Хлорофилл как фотосенсибилизатор в процессе фотосинтеза.—Труды ИФР АН СССР, 8, вып. 1, 87.
- Гурский А. В., Остапович Л. Ф., Соколов Ю. Л. 1961. Влияние ультрафиолетовой радиации на высшие растения. Памирский бот. сад АН Тадж. ССР, М.
- Гюбенет Е. Р. 1951. Растение и хлорофилл. Л., Изд-во АН СССР.
- Дадыкин В. П., Станко С. А. 1957. Внешние условия и усвоение света растениями.—Изв. Вост. филиала АН СССР, № 1, 109.
- Дадыкин В. П., Беденко В. П., Алексеева Т. А. 1960. К вопросу об энергетике растений, произрастающих на холодных почвах. Материалы к основам учения о мерзлых зонах земной коры. М., Изд-во АН СССР.
- Дадыкин В. П., Грушевский Б. Н., Иванова Р. П., Потаевич Е. В. 1964. Внешние условия и энергетика растений.—сб.: Вопросы физиологии и экологии растений в условиях Севера, т. 4. М.—Л. Изд-во «Наука».
- Данилов А. Н. 1934. К вопросу о роли пигментов в приспособлении растений к свету и теплу.—Сов. ботаника, 2, 3.
- Данилов А. Н. 1935. Качество света как фактор, определяющий пути использования лучистой энергии в процессе фотосинтеза.—Сов. бот., 4, 3.
- Данилов А. Н. 1936а. Хроматическая адаптация как частный случай приспособления растений к свету и температуре.—Сов. ботаника, 6, 18.
- Данилов А. Н. 1936б. Механизм использования лучистой энергии в процессе фотосинтеза. Эксперим. ботаника, 2, 5.
- Данилов А. Н. 1939. Влияние света на дыхание растений и связь последнего с фотосинтезом (Юбилейный сборник В. Л. Комарова). М., Изд-во АН СССР, стр. 258.
- Данилов А. Н. 1940. Изменение внутренних факторов фотосинтеза под влиянием света.—Эксперим. ботаника, 4, 42.
- Делаван Л., Бенсон А. 1962. Окисление гликоловой кислоты в хлоропластах, стимулированное светом.—В сб.: Структура и функция фотосинтетического аппарата. М., ИЛ, стр. 261.
- Джеймс В. 1956. Дыхание растений. М., ИЛ.
- Диксон М., Уэбб Э. 1961. Ферменты. М., ИЛ.
- Доман Н. Г., Кузин А. М., Мамуль Я. В., Худякова Р. И. 1952. К вопросу о разнообразии первичных продуктов фотосинтеза у разных видов растений.—Докл. АН СССР, 86, № 2, 369.
- Доман Н. Г. 1957. Участие фотохимических реакций в процессе восстановления сульфатов зелеными листьями растений.—Биохимия, 22, 4, 716.
- Доман Н. Г., Ваклинова С. Г. 1958. Влияние разных форм азота на состав мечевых продуктов фотосинтеза у кукурузы и фасоли.—Докл. АН СССР, 122, № 4, 653.
- Доман Н. Г., Хаджи-Мурат А. Н., Демина С. Е. 1958. Единство и особенности путей ассимиляции углерода различными видами растений.—Докл. АН СССР, 122, № 1, 111.
- Доман Н. Г., Романова А. К., Терентьева З. А. 1961. Превращение некоторых летучих органических веществ, поглощенных листьями из атмосферы.—Докл. АН СССР, 138, № 3, 702.
- Дубров А. П. 1963. Действие ультрафиолетовой радиации на растения. М., Изд-во АН СССР.
- Евстигнеев В. Б., Гаврилова В. А. 1955. Об окислительно-восстановительных свойствах хлорофиллов *a* и *b*.—Докл. АН СССР, 100, № 1, 131.
- Евстигнеев В. Б. 1958. Механизм фотовосстановления хлорофилла и его сенсибилизирующего действия.—Журн. физ. химии, 32, вып. 5, 969.
- Евстигнеев В. Б., Савкина И. Г., Гаврилова В. А. 1962. О фотоэлектрохимических свойствах пленок на поляризованных электродах.—Биофизика, 7, вып. 3, 298.
- Евстигнеев В. Б. 1963. О механизме фотосенсибилизирующего действия хлорофилла *in vitro*.—Биофизика, 8, вып. 6, 664.
- Евстигнеев В. Б., Савкина И. Г. 1963. О механизме сенсибилизирующего действия хлорофилла и фталоцианина в гетерогенных условиях.—Биофизика, 8, вып. 2, 181.
- Ермолаева Е. Я. 1953. Влияние света различного спектрального состава на некоторые физиологические процессы растений.—Эксперим. ботаника, вып. 9, 100.
- Зак Е. Г. 1964. Образование аланина, глицина и серина в процессе фотосинтеза хлореллы.—Канд. дисс. М.
- Заленский О. В. 1955. О распределении углерода среди органических веществ, образующихся при участии фотосинтеза. Сессия АН СССР по мирному использованию атомной энергии. Отд. биол. наук. М., Изд-во АН СССР, стр. 198.
- Заленский О. В., Семихатова О. А., Вознесенский В. Л. 1955. Методы применения радиоактивного углерода  $C^{14}$  для изучения фотосинтеза. М., Изд-во АН СССР.
- Заленский О. В., Вознесенский В. Л., Пономарева М. М., Штанько Т. П. 1955. Влияние температуры на метаболизм углерода ( $C^{14}$ ), поглощенного в процессе фотосинтеза.—Бот. журн., 40, № 2, 347.
- Заленский О. В. 1957. О взаимоотношениях между фотосинтезом и дыханием.—Бот. журн., 42, № II, 1674.
- Иванов А. П. 1938. Электрические источники света. Ч. 1. М., Госэнергоиздат.
- Иванов А. П. 1948. Электрические источники света. Ч. 2. М., Госэнергоиздат.
- Калитин Н. Н. 1947. Лучи солнца. М., Изд-во АН СССР.
- Камен М. 1948. Радиоактивные индикаторы в биологии. М., ИЛ.
- Камен М. 1962. Гемопротеиды фотосинтезирующих тканей.—В сб.: Труды V МБК. Симпозиум VI. Механизм фотосинтеза. М., стр. 253.
- Камия Н. 1962. Движение протоплазмы. М., ИЛ.
- Канделаки Г. В. 1950. Изменение структуры пластид под влиянием цветного освещения.—Докл. АН СССР, 74, № 4, 833.
- Кандлер О., Лизенкетер И. 1962. Влияние моноядроксусной кислоты, арсената и динитрофенола на путь углерода при фотосинтезе.—В сб.: Труды V МБК. Симпозиум VI. Механизм фотосинтеза. М., Изд-во АН СССР, стр. 332.
- Карапетян Н. В. 1963. Исследование световых превращений хлорофилла в фотосинтезирующих организмах методом дифференциальной спектрофотометрии. Автореферат канд. дисс. М.
- Карапетян Н. В., Литвин Ф. Ф., Красновский А. А. 1963. Изменения люминесценции при исследовании дифференциальных спектров фотосинтезирующих организмов.—Докл. АН СССР, 149, № 6, 1428.
- Катунский В. М. 1957. О зависимости фотoperиодической реакции растений от спектрального состава света.—Докл. АН СССР, 15, № 8, 501.
- Кахнович Л. 1961. Формирование фотосинтезирующего аппарата в листьях растений в условиях искусственного освещения. Автореферат дисс. на соискание уч. степени канд. биол. наук. Минск.
- Кефели В. И., Турецкая Р. Х. 1964. О механизме действия природных ингибиторов роста растений.—Успехи соврем. биол., 57, вып. 1, 7.
- Клещин А. Ф. 1954. Растение и свет. М., Изд-во АН СССР.
- Клещин А. Ф., Осипова О. П., Тимофеева И. В. 1955. О содержании пигментов, белков и углеводов у растений салата в условиях искусственного освещения.—Труды Ин-та физиол., 10, 60.
- Клещин А. Ф., Шульгин И. А. 1959. Об оптических свойствах листьев растений.—Докл. АН СССР, 125, № 5, 1158.
- Клещин А. Ф. 1960. Физиологические основы светокультуры растений. Докт. дисс. М.
- Кок Б. 1962. Значение  $P_{700}$  как промежуточного продукта фотосинтеза.—

- В сб.: Труды V МБК. Симпозиум VI. Механизм фотосинтеза. М., Изд-во АН СССР, стр. 84.
- Колесников П. А. 1949. О путях превращений углеводных соединений в зеленой клетке.—Изв. АН СССР, серия биол., 3, 281.
- Колесников П. А. 1950. Об участии глиоксилевой кислоты в восстановлении нитратного азота зеленою клеткой.—Докл. АН СССР, 71, № 5, 911.
- Колесников П. А. 1954. Биохимия дыхания зеленых клеток. Докт. дисс. М.
- Колесников П. А. 1954а. Оксидаза гликоловой кислоты в зеленых растениях.—Усп. соврем. биол., 38, 62 (5), 133.
- Колесников П. А. 1959. Дыхание и фотосинтез в биохимическом аспекте.—В сб.: Проблемы фотосинтеза. М., Изд-во АН СССР.
- Колесников П. А., Ейнор Л. О. 1961. Дослідження металльміщуючих оксидаз у хлореллах.—Український ботан. журнал, 18, № 4, 46.
- Колесников П. А. 1962. Биологическая роль глиоксилевой кислоты.—Изв. АН СССР, серия биол., № 4, 523.
- Кондратьев К. Я. 1954. Лучистая энергия солнца. Л.
- Константинова Т. Н. 1963. Фотопериодизм растений и условия аэрации.—Канд. дисс. М.
- Красновский А. А. 1948. Исследование фотохимических реакций при фотосинтезе. Докт. дисс. М.
- Красновский А. А., Кособуцкая Л. М. 1952. Спектральное исследование состояния хлорофилла при его образовании в растении и в коллоидных растворах веществ этиолированных листьев.—Докл. АН СССР, 85, № 1, 177.
- Красновский А. А. 1955. О фотохимическом взаимодействии хлорофилла с цитохромами.—Докл. АН СССР, 103, № 2, 283.
- Красновский А. А., Войновская К. К. 1956. Действие света на окислительно-восстановительные превращения цитохрома и сенсибилизация этих реакций хлорофиллом и бактериохлорофиллом.—Биофизика, 1, № 2, 120.
- Красновский А. А. 1957. О развитии способа действия фотокаталитической системы организмов. Симпозиум «Возникновение жизни на земле», М., стр. 355.
- Красновский А. А., Воробьева Л. М., Пакшина Е. В. 1957. Исследование фотохимически активной формы хлорофилла у растений различных систематических групп.—Физиол. раст., 4, № 2, 124.
- Красновский А. А. 1962. Фотохимия хлорофилла, состояние и превращения пигментов фотосинтезирующих организмов.—В сб.: Труды V МБК. Симпозиум VI. Механизм фотосинтеза. М., Изд-во АН СССР, стр. 196.
- Красновский А. А. 1964. Преобразование энергии света в цепи фотосинтетического переноса электрона.—В об.: «Фотохимия и биохимия фотосинтеза». В печати.
- Кребс Г., Корнберг Г. 1959. Превращения энергии в живых системах. М., ИЛ.
- Кретович В. Л., Бундель А. А., Фрашери М. Р., Боровикова Н. В. 1958. Об участии гидроксиламина в синтезе аминокислот в растениях.—Докл. АН СССР, 122, № 6, 1065.
- Кретович В. Л. 1961. Биохимия автотрофной ассимиляции азота. XVI Баховское чтение. М., Изд-во АН СССР.
- Кретович В. Л. 1962. Биохимия автотрофной ассимиляции азота у растений.—Изв. АН СССР, серия биол., № 5, 668.
- Кретович В. Л., Гейко Н. С. 1964. О содержании кетокислот в растениях.—Докл. АН СССР, 158, № 2, 471.
- Кузин А. М., Школьник Р. Я. 1950. Об участии альдуроновых кислот в процессе фотосинтеза.—Докл. АН СССР, 73, № 2, 355.
- Кузин А. М., Школьник Р. Я. 1951. О природе воздействия фенилуретамина на фотосинтез.—Докл. АН СССР, 78, № 5, 942.
- Кузин А. М., Саенко Г. Н. 1959. О природе веществ, фиксирующих CO<sub>2</sub> в процессе фотосинтеза.—В сб.: Проблемы фотосинтеза. М., стр. 302.
- Куперман Ф. М. 1961. Теория индивидуального развития и пути управления природой организма. Изд-во МГУ.
- Курсанов А. Л., Туркина М. В. 1954. К вопросу о формах подвижных сахаров в проводящей системе сахарной свеклы.—Докл. АН СССР, 95, № 4, 885.
- Курсанов А. Л., Кулакова О. Н. 1957. Обмен органических кислот в корнях тыквы.—Физиол. раст., 4, вып. 4, 322.
- Курсанов А. Л. 1959. Взаимосвязь физиологических процессов в растении. XX Тимирязевское чтение. М., Изд-во АН СССР.
- Курсанов А. Л., Бровченко М. И. 1961. Влияние АТФ на поступление ассимилятов в проводящую систему сахарной свеклы.—Физиол. раст., 8, вып. 3, 270.
- Курсанов А. Л. 1962. Метаболизм первичной ассимиляции ионов и теория клеточных переносчиков.—Изв. АН СССР, серия биол., № 5, 740.
- Курсанов А. Л., Кулакова О. Н., Свешникова И. Н., Попова Э. А., Болякина Ю. П., Клячко Н. Л., Воробьева И. П. 1964. Восстановление клеточных структур и обмена веществ в желтых листьях под действием 6-бензиламинопурина.—Физиол. раст., 11, вып. 5, 838.
- Кутюрик В. М., Воскресенская Н. П., Улубекова М. В., Гришина Г. С., Задорожный И. К. 1964. Влияние спектрального состава света на фракционирование изотопов кислорода при его поглощении водными растениями. Физиол. раст., т. 11, вып. 1, 7.
- Кушковский Дж. 1961. Доказательство наличия кратковременного выделения кислорода изолированными хлоропластами.—В сб.: Труды V МБК. Рефераты секц. сообщ., т. 11, стр. 366.
- Леман В. М. 1961. Курс светокультуры растений. М., Изд-во «Высшая школа».
- Любименко В. Н. 1910. Содержание хлорофилла в хлорофилловом зерне и энергия фотосинтеза.—Труды СПб. Об-ва естествоиспыт., 41.
- Любименко В. Н. 1921. О связи хлорофилла с белками пластид.—В сб.: Дневник 1-го Всероссийского съезда ботаников в Петрограде, стр. 45.
- Любименко В. Н., Форш Т. Б. 1923. К вопросу о физиологической характеристике световых и темевых листьев.—Изв. Научного ин-та им. Лесгафта, 6, 24—36.
- Любименко В. Н. 1924а. О специфическом действии монохроматического света в фотосинтезе.—Изв. Научн. ин-та им. Лесгафта, 8, 143.
- Любименко В. Н. 1924б. Материя и растение. Синтез органического вещества в растительном царстве. Л.
- Любименко В. Н. 1926. К вопросу о хроматической адаптации. Изв. Научн. ин-та им. Лесгафта, 1, 12.
- Любименко В. Н. 1935. Фотосинтез и хемосинтез в растительном мире. Л., Сельхозгиз.
- Мацков Ф. Ф. 1957. Внекорневое питание растений. Киев. Изд-во АН УССР.
- Мелик-Саркисян С. С., Сисакян Н. М., Светайло Э. Н. 1962. Белки цитоплазмы и хлоропластов растений.—Биохимия, 27, вып. 6, 1047.
- Микулская Е. М., Одидкова М. С., Сисакян Н. М. 1962. Выделение и характеристика рибосом хлоропластов.—Биохимия, 27, вып. 6, 1061.
- Михайлова Е. С. 1964. Сопряжение фотохимических и ферментативных реакций в элементарных процессах фотосинтеза. Автореферат канд. дисс. М.
- Михлин Д. М., Колесников П. А. 1937. О ферментативной природе восстановления нитратов зеленою клеткой.—Биохимия, 2, вып. 2, 402—411.
- Михлин Д. М. 1956. Биологическое окисление. М., Изд-во АН СССР.
- Михлин Д. М. 1960. Биохимия клеточного дыхания. М., Изд-во АН СССР.
- Моиз А. 1959. Некоторые аспекты фотосинтеза в связи с метаболизмом органических кислот и аминокислот.—Физиол. раст., 6, вып. 3, 274.

- Моиз А. 1962. Продукты фиксации  $\text{CO}_2$  растениями. Состоиние между фотосинтезом и дыханием.— В сб.: Труды V МБК. Симпозиум VI. Механизм фотосинтеза. М., Изд-во АН СССР, стр. 321.
- Морару К. 1962. Действие условий питания и освещения на озимую пшеницу. Кишинев.
- Мошков Б. С. 1936. Роль листьев в фотопериодической реакции растений.— Труды по прикл. ботанике, генетике и селекции, серия А. Соц. Растениеводство, № 17, 25.
- Мошков Б. С. 1961. Фотопериодизм растений. М. Сельхозгиз.
- Насон А. 1962. Роль ванадия и молибдена в обмене веществ у растений и животных.— В сб.: Микроэлементы. М., ИЛ, стр. 350.
- Незговорова Л. А. 1951. О темновой и световой фиксации углекислого газа разными растениями.— Докл. АН СССР, 79, № 3, 537.
- Незговорова Л. А. 1952. О возможной роли белков в процессе фотосинтеза.— Докл. АН СССР, 85, № 6, 1387.
- Незговорова Л. А. 1956. К вопросу о продуктах фотосинтеза.— Физиол. раст., 3, вып. 6, 497.
- Незговорова Л. А. 1957. Влияние водного режима растений на поступление и распределение углерода в процессе фотосинтеза.— Физиол. раст., 4, вып. 5, 440.
- Незговорова Л. А. 1962. Азотистые продукты фотосинтеза. Докт. дисс. М.
- Нийлик Х. И. 1962. Упрощенный спектрофотометр для измерения спектральных потоков рассеянной радиации. Исследования по физике атмосферы, 3, 150. Тарту.
- Нийлик Х. И. 1964. Спектральный радиационный режим некоторых посевов сельскохозяйственных культур в фотосинтетически активной области спектра. Автореферат дисс. Тарту.
- Ничипорович А. А. 1950. Основные проблемы фотосинтеза.— В сб.: Современные проблемы ботаники. М., Изд-во АН СССР.
- Ничипорович А. А. 1953. Продукты фотосинтеза и физиологическая роль фотосинтетического аппарата растений.— Труды Ин-та физиол. раст. АН СССР, 8, вып. 1, 3.
- Ничипорович А. А. 1955. Световое и углеродное питание растений. М.
- Ничипорович А. А. 1955а. Результаты изучения продуктов фотосинтеза в зависимости от условий его осуществления с применением меченых атомов.— В сб.: Доклады, представленные СССР на международной конференции по мирному использованию атомной энергии. М.
- Ничипорович А. А. 1962. Неуглеводные продукты фотосинтеза.— В сб.: Труды V МБК. Симпозиум VI. Механизм фотосинтеза. М., Изд-во АН СССР, стр. 370.
- Ничипорович А. А. 1963. О путях повышения продуктивности фотосинтеза растений в посевах.— В сб.: Фотосинтез и вопросы продуктивности растений. М., Изд-во АН СССР, стр. 5.
- Ничипорович А. А., Строгонова Л. Е., Чмора С. Н., Власова М. П. 1961. Фотосинтетическая деятельность растений в посевах. Изд-во АН СССР.
- Ничипорович А. А., Слободская Г. А., Карпушкин Л. Т. 1963. Об образовании углеводов в процессе фотосинтеза при разных интенсивностях света.— Физиол. раст., 10, вып. 4, 405.
- Новицкий Ю. И. 1962. Фотосинтез и распределение меченого углерода у периллы и салата на разных фотопериодах. Канд. дисс. М.
- Оканенко А. С. 1957. Особенности сахаронакопления у различных форм и сортов свеклы и перспективы дальнейшего повышения сахаристости сахарной свеклы.— В сб.: Вопр. физиологии, биохимии и анатомии сахарной свеклы. Киев, Госсельхозиздат, стр. 29.
- Осипова О. П. 1953. Влияние условий азотного питания и освещения на химический состав хлоропластов.— Изв. АН СССР, серия биол., № 1, 96.
- Осипова О. П. 1957. К вопросу о состоянии хлорофилла в хлоропластах.— Физиол. раст., 4, вып. 1, 28.
- Осипова О. П., Ашур Н. И. 1963. Фотоустойчивость и функция фотосинтетического аппарата растения. Сб. памяти Л. А. Иванова. Л.
- Осипова О. П., Николаева М. Н. 1964. Включение  $\text{C}^{14}$  в различные белки листа при фотосинтезе. Физиол. раст., т. 11, в. 2, 210.
- Островская Л. К. 1961. Физиологическая роль меди и основы применения медных удобрений. Изд. Укр. акад. с.-х. наук. Киев.
- Пасынский А. Г. 1957. Теория открытых систем и ее значение для биохимии.— Усп. соврем. биол., 63, вып. 3, 263.
- Пасынский А. Г. 1963. Биофизическая химия. М.
- Петинов Н. С. 1959. Физиология орошаемой пшеницы. М., Изд-во АН СССР.
- Печеницына А. М. 1951. К вопросу о роли углеводов в синтезе белков у высших растений.— Труды Ин-та физиол. раст. АН СССР, 7, вып. 2, 212.
- Покровский Н. С. 1938. Расчет электрического освещения для выращивания растений на искусственном свете.— Труды Лаб. светофизиологии Физико-агроном. ин-та ВАСХНИЛ, вып. 1, 75.
- Понтович В. Э. 1945. Влияние света на образование пигmenta у *Aspergillus flavus*.— Докл. АН СССР, 49, № 7, 545.
- Прокофьев А. А. 1955. О жирообразовании у растений.— Усп. соврем. биол., 39, вып. 2, 129.
- Протасова Н. Н. 1958. Применение искусственных источников света при выращивании рассады овощных культур. Сб. «Овощеводство защищенно-го грунта» стр. 64. Сельхозгиз.
- Рабинович Е. 1951. Фотосинтез. Т. I. М., ИЛ.
- Рабинович Е. 1953. Фотосинтез. Т. II. М., ИЛ.
- Рабинович Е. 1959. Фотосинтез. Т. III. М., ИЛ.
- Рабинович Е. 1962. Перенос и запасание световой энергии при фотосинтезе.— В сб.: Труды V МБК. Симпозиум VI. Механизм фотосинтеза. М., Изд-во АН СССР, стр. 21.
- Разумов В. И. 1933. Значение качественного состава света в фотопериодической реакции.— Труды по прикл. ботанике, генетике и селекции, серия III, № 3, 217.
- Ратнер Е. И., Акимочкина Т. А. 1962. Роль молибдена и вигаминов в усвоении растениями нитратного азота.— Физиол. раст., 9, вып. 6, 663.
- Регуляция клеточного обмена. 1962. М., ИЛ.
- Рубин Б. А., Чернавина И. А. 1955. Формирование фотосинтетического аппарата у различных групп растений в связи с условиями их существования. Сообщ. I. Синтез пигментов у озимой и яровой пшеницы в зависимости от условий освещения.— Вестн. Моск. ун-та, № 8, 101.
- Рубин Б. А., Чернавина И. А., Михеева А. В. 1955. Влияние света на активность цитохромоксидазы.— Докл. АН СССР, 105, № 5, 1039.
- Рубин Б. А. 1960. Дыхание и его роль в иммунитете растений. Тимир. чтение 19. М., Изд-во АН СССР.
- Саблинин Д. А. 1955. Физиологические основы питания растений. М.
- Савкина И. Г., Евстигнеев В. Б. 1963. Спектральные и фотохимические свойства водорастворимых аналогов хлорофилла.— Биофизика, 8, вып. 3, 335.
- Самнер Л. Б., Сомерс Г. Ф. 1948. Химия ферментов и методы их исследования. М., ИЛ.
- Санадзе Г. А. 1961. Выделение растениями летучих органических веществ. Тбилиси.
- Сан-Петро А. 1962. Фотохимическое восстановление трифосфориридинонуклеотида хлоропластами. Структура и функция фотосинтетического аппарата. М., ИЛ, стр. 264.
- Сапожников В. В. 1894. Белки и углеводы зеленых листьев как продукты ассимиляции. Томск.
- Сапожников Д. И., Красовская Т. А., Маевская Л. А. 1959. Изменение

- нение соотношения основных каротиноидов зеленого листа под действием света.— В сб.: Проблемы фотосинтеза. М., Изд-во АН СССР, стр. 169.
- Сапожников Д. И. 1961. Участие каротиноидов в процессе фотосинтеза.— В сб.: Труды V МБК. Рефераты секционных сообщений. М., Изд-во АН СССР, стр. 372.
- Семененко В. Е. 1962. Изучение механизма процессов переходных состояний фотосинтеза. Канд. дис. М.
- Синнот Э. 1963. Морфогенез растений. М., ИЛ.
- Сисакян Н. М. 1951. Ферментативная активность протоплазменных структур. Баховское чтение В. М., Изд-во АН СССР.
- Сисакян Н. М. 1959. Химические свойства и биохимические особенности хлоропластов.— В сб.: Проблемы фотосинтеза. М., Изд-во АН СССР, стр. 213.
- Сисакян Н. М., Красновский А. А., Михайлова Е. С., Брин Т. Н. 1959. Световая реактивация цитохромоксидазной активности тканей растений, содержащих и не содержащих хлорофилл.— Биохимия, 24, вып. 1, 3.
- Сисакян Н. М. 1964. Хлоропласти и синтез белка.— В сб.: Молекулярная биология. Проблемы и перспективы. М., Изд-во «Наука», стр. 85.
- Сисакян Н. М., Бекина Р. М. 1964. Химизм фотосинтетического фосфорилирования.— Изв. АН СССР, серия биол., № 2 и 3 (257 и 396).
- Скулачев В. П. 1962. Соотношение окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи.— Изд. АН СССР, М.
- Смирнов А. М., Ерыгин П. С. 1926. К вопросу о первых стадиях усвоения высшим растениями нитратов.— Научно-агроном. журн., № 11, 724.
- Смирнов Б. П., Родионова М. А. 1964. Воздействие света на включение аминокислот в белки, нуклеиновые кислоты и липиды хлоропластов в опытах *in vitro*.— Биохимия, 29, вып. 3, 386.
- Солдатенков С. В. 1962. Органические кислоты высших растений и превращения их в обмене веществ.— Тр. Петергофск. биол. ин-та, ЛГУ, № 19, 35.
- Станнер Р. 1962. Формирование и функция системы пигментов у пурпурных бактерий. Структура и функция фотосинтетического аппарата. М.—Л., стр. 61.
- Тарчевский И. А. 1958. Продукты фотосинтеза листьев пшеницы и влияние на их образование почвенной и атмосферной засухи. Автореферат канд. дисс. Казань.
- Тарчевский И. А. 1959. Продукты фотосинтеза листьев пшеницы и влияние на них засухи.— В сб.: Проблемы фотосинтеза. М., Изд-во АН СССР.
- Тарчевский И. А., Вдовина А. И., Гайнутдинова Н. А. 1961. Образование продуктов фотосинтеза у теневыносливых растений под пологом леса и на лесосеке.— Бот. журн. 46, № 9, 1925.
- Тарчевский И. А. 1962. О пути углерода в процессе темновой фиксации CO<sub>2</sub>.— Биохимия, 27, вып. 1, 38.
- Тарчевский И. А., Курмаева С. А., Вдовина А. И. 1962. Изменение направленности фотосинтеза у растений, пересаженных под полог леса.— Бот. журн., 47, № 9, 1366.
- Тарчевский И. А., Карпилов Ю. С. 1963. К вопросу о природе продуктов кратковременного фотосинтеза.— Физiol. раст., 10, вып. 2, 229.
- Тарчевский И. А. 1965. Фотосинтез и засуха. Изд. Казанск. Ун-та.
- Таусон В. О. 1947. О продуктах фото- и хемосинтеза.— Изв. АН СССР, серия биол., № 3, 423.
- Таусон В. О. 1950. Основные положения растительной биоэнергетики. М.—Л., Изд-во АН СССР.
- Теренин А. Н. 1947. Основные проблемы фотобиохимии.— Изв. АН СССР, серия биол., № 3, 369.
- Теренин А. Н. 1959. Физические основы первичной фотопреакции хлорофилла.— В сб.: Проблемы фотосинтеза. М., Изд-во АН СССР, стр. 9.
- Тимирязев К. А. 1903. Космическая роль зеленого растения. Цит. по изд. 1948 г. Избранное, т. 1. М.
- Толберт Н. 1962. Выделение гликоловой кислоты хлоропластами. Структура и функция фотосинтетического аппарата. М., ИЛ, стр. 274.
- Турецкая Р. Х. 1951. Влияние света на процесс корнеобразования у черенков некоторых растений.— Докл. АН СССР, 76, № 1, 137.
- Турецкая Р. Х. 1961. Физиология корнеобразования у черенков и стимуляторы роста. М., Изд-во АН СССР.
- Турчин Ф. В. 1961. Азотный обмен в растениях по данным с применением изотопа N<sup>15</sup>. Доклад на конференции «Корневое питание в обмене веществ и продуктивности растений». М., Изд-во АН СССР.
- Ферменты. 1964. Сб. под ред. Браунштейна. М., Изд-во АН СССР.
- Френч С. И., Форк Д. К. 1962. Две первичные фотохимические реакции фотосинтеза, осуществляемые разными пигментами.— В сб.: Труды V МБК. Симпозиум VI. Механизм фотосинтеза. М., Изд-во АН СССР, стр. 124.
- Халчер Ф., Вишняк В. 1962. Положение гема цитохрома f в хлоропластах шпината и некоторые его свойства. Структура и функция фотосинтетического аппарата. М., ИЛ, стр. 353.
- Хурдук Н. Н., Неговорова Л. А. 1961. Ингибирование фотосинтеза гидразидом изоцитокиновой кислоты, гидроксиламином и хлорамфениколом.— Физiol. раст., 8, вып. 6, 734.
- Чайлахян М. Х. 1936. О механизме фотопериодической реакции.— Докл. АН СССР, 1936, 1, № 2, 85—89.
- Чайлахян М. Х. 1955. Целостность организма в растительном мире. Ереван.
- Чернавина И. А., Рубин Б. А. 1956. Влияние условий предварительного освещения на устойчивость хлорофилла к разрушению в темноте.— Докл. АН СССР, 3, № 2, 486.
- Чернавина И. А., Рубин Б. А. 1956а. Формирование фотосинтетического аппарата у различных групп растений в связи с условиями их существования. Сообщ. 2. Влияние качества света на окислительно-восстановительный режим тканей растений.— Вестник Моск. ун-та № 2, 11.
- Чернавина И. А., Рубин Б. А., Николаева Л. Ф. 1957. К вопросу об участии цитохромоксидазы в процессе синтеза хлорофилла.— Докл. АН СССР, 1957, 114, № 5, 1080.
- Чернавина И. А. 1959. Сравнительная характеристика физиологического действия красного и синего света.— В сб.: Проблемы фотосинтеза. М., Изд-во АН СССР.
- Чесноков В., Базырина Е. 1932. Фактор «углекислота» при фотосинтезе.— Труды Петергофск. биол. ин-та, 9, 103.
- Чесноков В. А., Баскакова А. А., Белозерова Л. С., Мамущик Н. С. 1959. Роль фотосинтеза в построении белка у растений.— В сб.: Проблемы фотосинтеза. М., Изд-во АН СССР, стр. 28.
- Чичибабин. 1953. Основные начала органической химии. Т. 1. М., Госхимиздат.
- Шаин С. С. 1964. Свет и развитие растений. М. Сельхозгиз.
- Шахов А. А. 1962. Энергетика и взаимосвязь светового и корневого питания.— В сб.: Растение и среда. Т. 4. М., Изд-во АН СССР, стр. 5.
- Шахов А. А., Хазанов В. С., Станко С. А., Остапович А. Ф. 1962. Фотоадаптация и фотопреактивация у растений в горах.— Бот. журн. 47, № 1, 68.
- Шахов А. А., Хазанов В. С., Станко С. А. 1965. О спектральной светопоглощающей способности листьев и древесной коры. Физiol. раст., т. 12, вып. 1, 22.
- Школьник Р. Я., Доман Н. Г. 1959. Превращения глицериновой кислоты C<sup>14</sup> в листьях фасоли.— Биохимия, 24, вып. 5, 899.

Шлык А. А. 1963. Исследование метаболизма хлорофилла в зеленом растении радиоизотопным методом. Автореферат докт. дисс. М.

Шмук А. А. 1925. Этюды по нитратному питанию растений. Краснодар.

Шмук А. А. 1940. Химия табака и махорки, стр. 421. Пищепромиздат.

Шульгин И. А., Клешнин А. Ф. 1959. О корреляции между оптическими свойствами и содержанием хлорофилла в листьях растений.— Докл. АН СССР, 125, № 6, 1371.

Шульгин И. А. 1960. Оптические свойства листьев растений в различных географических зонах. Автореферат канд. дисс. Л.

Энгельгардт В. А., Саков Н. Е. 1943. О механизме пастеровского эффекта.— Биохимия, 8, вып. 1, 9.

Энгельгардт В. А. 1959. Некоторые проблемы современной биохимии. М., Изд-во АН СССР.

Энгельгардт В. А. 1960. Специфичность биологического обмена веществ.— Вопр. философии, 7, 113.

Эйдельман З. М. 1962. Фотосинтетическое фосфорилирование и связь его с другими реакциями фотосинтеза.— Усп. соврем. биол., 53, 1, 54.

Эйдельман З. М., Попова О. Ф. 1962а. К методике исследования фотосинтетического фосфорилирования. Физиология травянистых растений Труды, VI. Душанбе, Изд-во АН Тадж. ССР, стр. 194—231.

Эннор Л. О. 1962. Ферменты и реакции кислородного обмена хлореллы. Автореферат канд. дисс. Киев.

Allan F. L. 1955. Observation on photosynthesis and related systems. I. Influence of anaerobiosis on photosynthetic rates during continuous irradiation.— Arch. Biochem. and Biophys., v. 55, N 1, 38.

Amesz I., Duysens L. N. M. 1962. Action spectrum, kinetic and quantum requirement of phosphopyridine nucleotide reduction and cytochrome oxidation in the blue green algae *Anacystis Nidulans*.— Biochim. et biophys. acta, 64, N 2, 261.

Anderson J. C., Robertson D. S. 1960. Role of carotenoids in protecting chlorophyll from photodestruction.— Plant Physiol., 35, N 4, 531.

Appleton D., Pyfrom H. T. 1955. Changes in catalase, actilase and others responses induced in plants by red and blue light.— Plant Physiol., 30, N 6, 542.

Arnold D. I. 1956. Phosphorus metabolism and photosynthesis.— Annual Rev. Plant Physiol., 7, N 2, 325.

Arnold D. 1959. Conversion of light into chemical energy in photosynthesis.— Nature, 184, N 4679, 10.

Arnold D. I. 1961. Cell-free photosynthesis and the energy conversion process.— In: Light and Life, Ms. Elroy and R. Glass (Ed.), p. 489.

Arnold D. I., Allen M. B., Whatley F. R. 1954. Photosynthesis by isolated chloroplasts.— Nature, 174, N 4426, 394.

Arnold D. I., Das V. S. R., Anderson I. D. 1963. Metabolism of photosynthetic bacteria. I. Effect of CO<sub>2</sub> source and hydrogen gas on biosynthetic patterns in Chromatium.— In: Microalgae and Photosynthetic Bacteria, Univ. Tokyo Press, p. 529.

Aronoff S., Benson A. A., Hassid W. Z., Calvin M. 1947. Distribution of C<sup>14</sup> in photosynthesizing barley seedlings.— Science, 105, 644.

Asahi T., Bandurski R. S., Wilson L. G. 1961. Цит. по: Wilson L. G., 1962. Annual Rev. Plant. Physiol., 13, 222.

Asahi T. 1964. Sulfur metabolism in higher plants. IV. Mechanism of sulfate reduction in chloroplasts.— Biochim. and Biophys. Acta, 82, 1, 58.

Bandursky R. S., Greiner C. M. 1953. The enzymatic synthesis of oxalacetate from phosphorylenolpyruvate and carbon dioxide.— J. Biol. Chem., v. 204, N 2, 781.

Bandursky R. S. 1955. Further studies on the enzymatic synthesis of oxalacetate acid from phosphorylenolpyruvate and CO<sub>2</sub>.— J. Biol. Chem., 217, N 1, 137.

Bassham J. A., Calvin M. 1956. Photosynthesis. In: Currents in Biochemical research. N. Y., London, p. 29.

Bassham J. A., Shibata, Steenberg R., Bourdon I., Calvin M. 1956. The photosynthetic cycle and respiration. Light—dark transients.— J. Amer. Chem. Soc., 78, N 16, 4120.

Bassham J. A., Kirk M. 1960. Dynamics of the photosynthesis of carbon compounds. I. Carboxylation reactions.— Biochim. et biophys. acta, 43, N 3, 447.

Bassham J. A., Kirk M. 1962. The effect of oxygen on the reduction of CO<sub>2</sub> to glycolic acid and other products during photosynthesis by chlorella.— Biochem. and Biophys. Res. Commun., 9, 376.

Bassham J. A. 1963. Energy capture and conversion by photosynthesis.— J. Theoret. Biol., 4, 52.

Bassham J. A., Kirk M. 1964. Photosynthesis of amino acids.— Biochim. et biophys. acta, 90, N 3, 553.

Bassham J. A., Morawiecka B., Kirk M. 1964. Protein synthesis during photosynthesis.— Biochim. et biophys. acta, 90, N 3, 542.

Bassham J. A. 1964. Kinetic studies of the photosynthetic carbon reduction cycle.— Annual Rev. Plant Physiol., 15, 101.

Beck W. 1937. Development of carotinoid pigments without the aid of light.— Plant Physiol., 12, N 3, 885.

Benson A. A. 1961. Lipid function in the photosynthetic structure.— In: Light and Life, Ed. Mc. Elroy and B. Glass, p. 392.

Bergfeld R. 1963. Die Wirkung von hellroten und blauer Strahlung auf die Chloroplastenausbildung.— Z. Naturforsch., 186, 4, 328.

Bergfeld R. 1963a. Die Beeinflussung der Zellkerne in den Vorkeimen von Dryopteris filix-mas durch rote und blaue Strahlung.— Z. Naturforsch., 186, H. 6, 557.

Bergfeld R. 1964. Der Einfluß roter und blauer Strahlung auf die Ausbildung der Chloroplasten bei gehemmter Proteinsynthese.— Z. Naturforsch., 196, H. 11, 1066.

Bertsch W. F. 1963. The photoinhibition of growth in etiolated stem segments. III. Far-red reversibility of blue light effect in Pisum.— Amer. J. Bot., 50, N 8, 754.

Bidwell R. G. S., Ghosh N. R. 1963. Photosynthesis and metabolism in marine algae. VI. The uptake and incorporation of S<sup>35</sup>-sulphate in *Fucus vesiculosus*.— Canad. J. Bot., 41, N 2, 209.

Biggins J., Park R. B. 1964. Nucleic acid content of chloroplasts of spinach isolated by a non-aqueous technique.— Nature, 203, N 4043, 425.

Birth G. S. 1960. Agricultural applications of the dual-monochromator spectrophotometer.— Agric. Engng, 41, N 7, 432.

Bishop N. I. 1961. The photometabolism of glucose by an hydrogenadapted algae. Biochim. et biophys. acta, 51, N 2, 323.

Bishop N. I., Nakamura H., Blatt I., Vennerstrand B. 1959. Kinetics and properties of cytochrome C photooxidase of spinach.— Plant Physiol., 34, N 5, 551.

Blinks L. K. 1960. Chromatic transients in the photosynthesis of green, brown and red algae.— In: Comparative Biochemistry of Photoreactive Systems. M. B. Allen (Ed.). Acad. Press N. Y.—London.

Bloomstrom D. C., Knight E., Phillips W. D., Weiher I. F., Szillard L. 1964. The nature of iron in ferredoxin.— Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 51, N 6, 1085.

Bode O. 1940. Assimilation, Atmung und Plastidenfarbstoffe in verschiedenfarbigem Licht aufgezogener *Fontinalis*-Pflanzen.— Jahrb. wiss. Bot., 89, 2, 208.

Bongers L. H. I. 1956. Aspect of nitrogen assimilation by cultures of green algae. Thesis Wageningen.— Med. Lendb. Hogeschool, 56, 1.

- Bongers L. H. I. 1958. Kinetic aspects of nitrate reduction by green algae.—Nethel. J. Agr. Sci., **6**, N 2, 79.
- Borodin I. 1881. Untersuchungen über die Pflanzenatmung.—Mem. Acad. sci. St. Petersbourg, **7**, N 4, 28.
- Borthwick H. A., Hendricks S. B., Parker M. W. 1952. The reaction controlling floral initiation.—Proc. Nat. Acad. Sci. USA, **38**, N 9, 929.
- Borthwick H. A., Hendricks S. B., Parker M. W., Toole E. H., Tool V. K. 1952a. A reversible photoreaction controlling seed germination.—Proc. Nat. Acad. Sci. USA, **38**, N 8, 662.
- Borthwick H. A., Nakayama S., Hendricks S. B. 1961. Failure of reversibility of photoreaction. In: Progress in photobiology. Elsev. Publ. comp., 394.
- Borthwick H. A., Cathey H. M. 1962. Role of phytochrome in control of flowering of chrysanthemum.—Bot. Gaz., **123**, N 3, 155.
- Bottomley W. B., Jackson H. 1903. Some preliminary observations on the assimilation of carbon monoxide by green plants.—Proc. Roy. Soc., **72**, 130.
- Boysen-Jensen P. 1919. Studies on the production of matter in light and shadow plants.—Bot. tidsskr., **36**, N 4, 219.
- Boysen-Jensen P. 1925. Studies on the production of matter in light and shadow plants.—Bot. tidsskr., bd. 39, h. 2.
- Brawerman G. 1962. A specific species of ribosomes associated with chloroplasts of Euglena gracilis.—Biochim. et biophys. acta, **61**, N 2, 313.
- Brierley G. P., Merroby A. J., Fleischer. 1962. Studies of the electron-transfer system. Sites of phospholipid involvement in the electron-transfer chain.—Biochim. et biophys. acta, **64**, N 2, 218.
- Briggs C. E., Wittingham C. P. 1952. Factors affecting the rate of photosynthesis of Chlorella at low concentrations of CO<sub>2</sub> and in high illuminations.—New Phytologist, **51**, N 2, 236.
- Briggs W. R. 1964. Phototropism of plants. In: Photophysiology. Giese A. C. (Ed.).
- Brittain E. G. 1957. Oxygen effects in photosynthesis. Цит. по: Turner J. S., Brittain E. G. Biol. Rev., **37**, N 1, 130.
- Brown A. H. 1953. The effect of light on respiration using isotopically enriched oxygen.—Amer. J. Bot., **40**, N 9, 719.
- Brown A. H., Webster C. C. 1953. The influence of light on the rate of respiration of the blue-green alga Anabaena.—Amer. J. Bot., **40**, N 10, 753.
- Brown A. H., Good N. 1955. Photochemical reduction of oxygen in chloroplasts preparations and in green plant cells.—I. The study of oxygen exchanges in vitro and in vivo.—Arch. Biochem. and Biophys., **57**, N 2, 340.
- Brown A. H., Weiss D. 1959. Relation between respiration and photosynthesis in the green alga Ankistrodesmus braunii.—Plant Physiol., **34**, N 3, 224.
- Brown J. S., French C. S. 1959. Absorption spectra and relative photostability of the different forms of chlorophyll in Chlorella.—Plant Physiol., **34**, N 3, 305.
- Buchanan B. B., Bachoven R., Arnon D. 1964. Role of ferrodoxin in the rate reductive assimilation of CO<sub>2</sub> and acetate by extract of the photosynthetic bacterium chromatium.—Proc. Nat. Acad. Sci. USA, **52**, N 3, 839.
- Burma D. P., Mortimer D. C. 1957. The rate of assimilated Cl<sup>14</sup>O<sub>2</sub> in the sugar beet leaf studied by displacement with Cl<sup>12</sup>O<sub>2</sub>.—Canad. J. Biochem. and Physiol., **35**, N 10, 835.
- Burns G. R. 1933. Photosynthesis in various positions of the spectrum.—Plant Physiol., **8**, N 2, 247.
- Burns G. R. 1934. Long and short wave-length limits of photosynthesis.—Plant Physiol., **9**, N 3, 645.
- Burns G. R. 1937. Photosynthesis and the absorption spectra of plant pigments. I.—Amer. J. Bot., **24**, N 5, 257.
- Burns G. R. 1938. Photosynthesis and the absorption spectra of plant pigments. II.—Amer. J. Bot., **25**, N 3, 166.
- Burns G. R. 1942. Photosynthesis and absorption in blue radiation.—Amer. J. Bot., **29**, N 5, 381.
- Burström H. 1938. Über die Verarbeitung von Nitraten in Weizenpflanzen.—Lantbruks Högsklans annaler, **6**, 1.
- Burström H. 1942. Die Licht-abhängigkeit der Nitratassimilation des Blattes.—Naturwissenschaften, **30**, H. 41/42, 645.
- Burström H. 1943. Studies on the products of the photosynthesis.—Arkiv bot. B, **30**, N 8, 1.
- Butler W. L. 1962. Effects of red and far-red Light on the fluorescence yield of chlorophyll in vivo. Bioch. Biophys. Acta, v. 64, 309.
- Butler W. L., Norris K. H., Siegelman H. W., Hendricks S. B. 1959. Detection, assay and preliminary purification of the pigment controlling photoresponsive development of plants.—Proc. Nat. Acad. Sci. USA, **45**, N 12, 1703.
- Butler W. L. 1964. Symposium of photomorphogenesis in plants. Introduction.—Quart. Rev. Biol., **39**, N 1, 1.
- Butler W. L. 1964a. Dark transformation of phytochrome in vivo. Sympos. of photomorphogenesis in plants.—Quart. Rev. Biol., **39**, N 1, 6.
- Butler W. L., Norris K. H. 1960. The spectrophotometry of dense, light scattering material.—Arch. Biochim. and Biophys., **87**, 19, 31.
- Calvin M., Benson A. A. 1949. The path of C in photosynthesis. The identity and sequence of the intermediates in sucrose synthesis.—Science, **109**, N 2824, 140.
- Calvin M., Bassham J. A. 1962. The photosynthesis of carbon compounds. N. Y., Benjamin, Inc.
- Calvin M., Bassham J. A. and Benson A. A. 1950. Chemical transformations of carbon in photosynthesis.—Federat. Proc., **9**, N 1, 2.
- Cayle T. 1957. The effect of wavelength on the distribution of Cl<sup>14</sup> in the early products of photosynthesis. Diss. Abstrs, **17** (3), 486.
- Cayle T., Emerson R. 1957. Effect of wave length on the distribution of carbon-14 in the early products of photosynthesis.—Nature, **179**, N 4550, 89.
- Chamigny M. L. 1959. Sur l'influence de l'intensité des différentes radiations lumineuses dans la photosynthèse de Rhodosorus marinus Geitler.—Rev. cytol. et biol. végét., **21**, N 1, 3.
- Chance B., Sager R. 1957. Oxygen and light induced oxidations of cytochrome, flavoprotein and pyridine nucleotide in a Chlamydomonas mutant.—Plant Physiol., **32**, N 6, 548.
- Chance B., Nishimura M. 1960. On the mechanism of chlorophyll cytochrome interaction: the temperature insensitivity of light-induced cytochrome oxidation of Chromatium.—Proc. Nat. Acad. Sci. USA, **46**, 1, 19.
- Chassin M., Cohen L. I. 1962. Induction of chlorosis by U-v light in non-irradiated plant tissues. Photochemistry and photobiology, v. I. Pergamon Press. London, p. 131.
- Claes H. 1954. Analyse der biochemischen Synthesekette für Carotinoide mit Hilfe von Chlorella Mutanten.—Z. Naturforsch., **9b**, H. 7, 461.
- Clayton R. K. 1964. Light reaction in photosynthesis.—In Photophysiology, Cohen-Bazire G., Stanier R. Y. (Eds.).
- Cohen-Bazire G., Stanier R. Y. 1958. Specific inhibition of carotenoid synthesis in a photosynthetic bacterium and its physiological consequence.—Nature, **181**, N 4604, 250.
- Czygan F. Chr. 1963. Untersuchungen über die Nitratreduktion der Grünalge Ankistrodesmus braunii in vivo und in vitro.—Planta, **60**, 225.
- Damaschke K., Rothbühn K., Tödt F. 1955. Photosynthese unter anaeroben Bedingungen.—Z. Naturforsch., Bd. 10b, H. 10, 572.

- Damaschke K., Lübbe M. 1958. Über die Fähigkeit des Chlorella pyrenoidosa für anaeroben Nitritreduktion.—*Z. Naturforsch.*, **13b**, H. 2, 134.
- Dastur R. H., Kanitkar H. K., Rao M. S. 1938. The formation of proteins in leaves in light of different quality.—*Ann. bot.*, **2**, N 8, 943.
- Davenport H. E., Hill R., Whatley F. R. 1952. A natural factor catalyzing reduction of methemoglobin by isolated chloroplasts.—*Proc. Roy. Soc. London*, **B**, **139**, N 896, 346.
- Debuch H. 1962. Über die Fettsäuren aus Spinatchloroplasten.—*Experimentia*, **18**, fasc. 2, 61.
- Decker I. P. 1955. A rapid, post-illumination deceleration of respiration in green leaves.—*Plant Physiol.*, **30**, N 1, 82.
- Del Campo F. F., Páneque A., Ramírez J. M., Losada M. 1963. Nitrate reduction in the light by isolated chloroplasts.—*Biochim. et biophys. acta*, **66**, N 3, 450.
- Denison F. W., Phares E. T. 1952. A rapid method for chromatographic determination of organic acids.—*Analyt. Chem.*, **24**, N 10.
- Dittrich W. 1930. Zur Physiologie des Nitratumsatzes in höheren Pflanzen (Unter besonderer Berücksichtigung der Nitratspeicherung).—*Planta*, **12**, N 1, 69.
- Downs R. I. and Siegelman H. W. 1963. Photocontrol of anthocyanin synthesis in milo seedlings. *Plant physiol.* v. **38**, N 1, 25.
- Ducet G., Rosenberg A. I. 1957. Reduction des nitrates par les chloroplastes. VIII. Internat. Congr. bot. Paris, 1954. Цит. по: Ducet and Rosenberg, 1962.
- Ducet G., Rosenberg A. I. 1962. Leaf respiration.—*Annual. Rev. Plant. Physiol.*, **N 13**, 171.
- Duysens L. N. M. 1951. Transfer of light energy within the pigment systems present in photosynthesizing cells.—*Nature*, **168**, N 4274, 548.
- Duysens L. N. M. 1956. Energy transformation in photosynthesis.—*Annual Rev. Plant Physiol.*, **7**, N 1, 25.
- Duysens L. N. M. 1964. Photosynthesis.—In: *Progress in Biophysics*, v. **14**, Pergamon Press.
- Duysens L. N. M., I. Amesz. 1962. Function and identification of two photochemical systems in photosynthesis.—*Biochim. et biophys. acta*, **64**, N 2, 243.
- Eckerson S. 1932. Conditions affecting nitrate reduction by plants.—*Contrib. Boyce Thomson Inst.*, **4**, N 12, 119.
- Egle K. 1937. Zur Kenntnis des Lichtfeldes der Pflanze und der Blattfarbstoffe.—*Planta*, Bd. **26**, N 4, 546.
- Emerson R. 1958. The quantum yield of photosynthesis.—*Annual Rev. Plant Physiol.*, **9**, 1.
- Emerson R. 1958a. Yield of photosynthesis from simultaneous illumination with pairs of wavelengths.—*Science*, **127**, N 3305, 1059.
- Emerson R., Chalmers R., Cederstrand C. 1957. Some factors influencing the long-wave limit of photosynthesis.—*Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **43**, N 1, 133.
- Emerson R., Rabinowitch E. 1960. Red drop and role of auxiliary pigments in photosynthesis.—*Plant Physiol.*, **35**, N 4, 477.
- Emerson R., Lewis C. M. 1943. The dependence of the quantum yield of chlorella photosynthesis on wave length of light.—*Amer. J. Bot.*, **30**, N 3, 165.
- Engelmann Th. 1882. Ueber Sauerstoffauscheidung von Pflanzenzellen im Mikrospectrum.—*Bot. Ztg.*, **40**, N 26, 419.
- Engelmann Th. W. 1884. Untersuchungen über die quantitativen Beziehungen zwischen Absorption des Lichtes und Assimilation in Pflanzenzellen.—*Bot. Ztg.*, **42**, N 81, 97.
- Evenari M. G., Neumann, Klein S. 1955. The influence of red and infrared light on the respiration of photoblastic seeds.—*Physiol. plantarum*, **8**, N 12, 33.
- Everson R. G., Tregunna E. B., Nelson C. D., Krotkov G. 1964. The effect of light quality on the products of photosynthesis in detached tobacco leaves.—4-th Internat. Photobiol. Congr. Oxford, p. 1.
- Evans H. Y., Nason A. 1953. Pyridine nucleotide reductase from extracts of higher plants.—*Plant Physiol.*, **28**, N 2, 233.
- Fasse-Franzisket U. 1955. Die Teilung der Proplastiden und Chloroplasten bei Agapanthus umbellatus L'Herit.—*Protoplasma*, **45**, N 2, II94.
- Feldman D. E., Yost H. T., Benson B. B. 1959. Oxygen isotope fractionation in reactions catalyzed by enzymes.—*Science*, **129**, N 3341, 146.
- Ferrari R. A., Benson A. A. 1961. The path of carbon in photosynthesis of the lipids.—*Arch. Biochem. and Biophys.*, **13**, N 2, 185.
- Fewson C. A., Black C. C., Gibbs M., Gordon S. A., Elliwanger P. 1962. Action spectra and quantum requirements for ATP and TPNH formation and CO<sub>2</sub> fixation by spinach chloroplasts.—*J. Biol. Chem.*, **237**, N 2, 580.
- Fletcher, Zalik Z. 1964. Effect of light quality on growth and free indolic acid content in *Phaseolus vulgaris*.—*Plant Physiol.*, **39**, N 3, 328.
- Föckler H. 1938. Über den Einfluss des Lichtes auf die Atmung farbloser und assimilierender Gewebe und seine Rolle beim funktionalen Sonnenstich.—*Jahrb. wiss. Bot.*, **87**, N 1, 45.
- Fogg G. E. 1958. Aspects of photosynthesis. *Biology and human affairs*, **23**, N 2, 17.
- Fork D. C. 1961—1962. Annual report of the director of the department of plant biology.—Carnegie Inst. Washington Year book, p. 334.
- Fork D. C. 1963. Action spectra of O<sub>2</sub> evolution by chloroplasts with and without added substrate, for regeneration of O<sub>2</sub> evolution ability by far red and for O<sub>2</sub> uptake.—*Plant Physiol.*, **38**, N 3, 323.
- Forti G., Parisi B. 1963. Evidence for the occurrence of cyclic photophosphorylation in vivo.—*Biochim. et biophys. acta*, **71**, N 1, 1.
- Frank J., French C. S. 1941. Photooxidation processes in plants.—*J. Gen. Physiol.*, **25**, N 8, 309.
- Frank J. 1951. The physical background of photosynthesis.—*Sympos. Soc. Exptl. Biol.*, **5**, 163.
- Frank J. 1957. A theory of the photochemical part of photosynthesis. In: *Research in photosynthesis*. H. Gaffron (Ed.) N. Y., Intersci. publ., p. 142.
- Frank J. 1960. Fluorescens des Chlorophylls in Zellen und Chloroplasten und ihre Beziehungen zu den Primärakten der Photosynthese.—Handbuch der Pflanzenphysiologie, 5. Ruhland (Hrsg.) Springer-Verlag, 689.
- French C. S. 1958. The variability of chlorophyll in plants. *Photobiology*. Proc. 19 Ann. Biol. Colloq. Oregon State College, 52.
- French C. S. 1959. Action spectra and optical properties of cellular pigments. Photoperiodism and related phenomena in plants and animals. Withrow R. B. (Ed.) Washington, Amer. Assoc. Advanc. Sci.
- French C. S. 1961. Light, pigments and photosynthesis.—In: *Light and Life*, Mc Elroy and B. Glass (Ed.), p. 447.
- French C. S. 1959—1963. Annual report of the director of the department of plant biology.—Carnegie Inst. Washington.—In: *Year Book*, 1959—1960; 1960—1961; 1961—1962; 1962—1963.
- Gabrielsson E. K. 1940. Einfluß der Lichtfaktoren auf die Kohlensäureassimilation der Laubblätter. Diss. Copenhagen.—Dansk bot. Arkiv, **10**, h. 1, 1.
- Gabrielsson E. K. 1948. Influence of light of different wave-lengths on photosynthesis in foliage leaves.—*Physiol. plantarum*, **1**, N 1, 113.
- Gabrielsson E. K. 1948a. Effect of different chlorophyll concentration on photosynthesis of foliage leaves.—*Physiol. plantarum*, **1**, N 1, 5.
- Gabrielsson E. K. 1960. Lichtwellenlänge und Photosynthese.—Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 5, N 2. Ruhland (Hrsg.) Springer Verlag, 49.

- Gaffron H. 1937. Das Wesen der Induction bei der Kohlensäureassimilation grünen Algea.—*Naturwissenschaften*, **25**, H. 44, 715.
- Gaffron H. 1939. Über auffallende Unterschiede in der Physiologie verwandter Algenstämme, nebst Bemerkungen über Lichtatmung.—*Biol. Zbl.*, **59**, H 5/6, 302.
- Gaffron H. 1940. Studies on the induction period of photosynthesis and light respiration in green algae.—*Amer. J. Bot.*, **27**, N 4, 204.
- Gaffron H. 1946. Photosynthesis and the production of organic matter on earth.—In *Currents in Biochemical Research*. D. F. Green (Ed.). N. Y., Interscience, p. 25.
- Gaffron H. 1960. Energy storage, photosynthesis. *Plant physiology*, v. 1B, Steward (Ed.). N. Y. and London, Acad. Press, 4.
- Galmiche J. 1963. Influence de différentes longuers d'onde de la lumière sur la distribution du carbone C<sup>14</sup> dans les premiers produits de la photosynthèse, en utilisant des temps d'absorption très courts du <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> par des feuilles de tomate. Commiss. Energie Atomique Dept de Biol. B. P. N 2. Gif. s Yvette (SLO).
- Galston A. W., Baker R. S. 1951. Studies on the physiology of light action. III. Light activation of a flavoprotein enzyme by reversal of naturally occurring inhibition. *Am. J. Bot.*, v. 38, N 3, p. 190.
- Gessner F. 1938. Die Wirkung des Lichtes und der ultravioletten Strahlen auf die Pflanzenatmung.—*Planta*, **29**, N 1, 165.
- Gibbs M. 1951. The position of C<sup>14</sup> in sunflower leaf metabolites after exposure of leaves to short period photosynthesis and darkness in an atmosphere of C<sup>14</sup>O<sub>2</sub>.—*Plant Physiol.*, **26**, N 3, 549.
- Gibbs M. 1952. Triosephosphate dehydrogenase and glucose 6-phosphate dehydrogenase in the pea plant.—*Nature*, **170**, 164.
- Gibbs M. 1953. Effect of light intensity on the distribution of C<sup>14</sup> in sunflower leaf metabolites during photosynthesis.—*Arch. Biochem. and Biophys.*, **45**, N 1, 156.
- Gibbs M. 1954. The respiration of the pea plant. Oxidation of hexose phosphate and pentose phosphate by cell-free extracts of pea leaves.—*Plant Physiol.*, **29**, N 1, 34.
- Gibbs M., Kandler O. 1957. Asymmetric distribution of C<sup>14</sup> in sugars formed during photosynthesis.—*Proc. Nat. Acad. Sci.*, **43**, N 6, 446.
- Good N. E., Brown A. H. 1955. The contribution of endogenous oxygen to the respiration of photosynthesizing Chlorella cells.—*Biochim. et biophys. acta*, **50**, N 3, 544.
- Gordon S. A., Surrey K. 1960. Red and far-red action on oxidative phosphorylation.—*Radiation Res.*, **12**, 325.
- Gordon S. A. 1961. The intracellular distribution of phytochrome in corn seedlings.—In: *Progress in photobiology*, p. 441.
- Gordon S. A. 1964. Oxidative phosphorylation as a photomorphogenic control.—*Quart. Rev. Biol.*, **39**, N 1, 19.
- Govindjee, Rabinowitch E., Thomas T. 1960. Inhibition of photosynthesis in certain algae by extreme red light.—*Biophys. J.*, **1**, N 2, 91.
- Griffith M., Sistrom W. K., Cohen-Bazire G., Stanier R. Y. 1955. Function of carotenoids in photosynthesis.—*Nature*, **176**, N 4495, 1211.
- Hageman R. H., Fleisher D. 1960. Nitrate reductase activity in corn seedlings as affected by light and nitrate content of nutrient media.—*Plant Physiol.*, **35**, N 5, 700.
- Hagen C. E., Borthwick H. A., Hendricks S. 1954. Oxygen consumption of lettuce seed in relation to photocontrol of germination.—*Bot. Gaz.*, **115**, N 4, 360.
- Hall D. O., Arnon D. I. 1962. Photosynthetic phosphorylation above and below 0°C.—*Proc. Nat. Acad. Sci.*, **48**, N 5, 883.
- Harder R. 1923. Bemerkung über die Variationsbreite des Kompensationspunktes beim Gaswechsel der Pflanzen.—*Ber. dtsh. bot. Ges.*, 194—198.
- Harder R., Döring B., Simonis W. 1936. Über die Kohlensäureassimilation in verschiedenen Spektralbezirken durch grüne, in farbigen Licht kultivierte Pflanzen.—*Nachr. Ges. Wiss. Göttingen*, N. F. Nachr. Biol., **2**, 129—138.
- Harrasch H., Mohr H. 1963. Der Einfluss sichtbarer Strahlung auf die Flavonoidsynthese und Morphogenese der Buchweizenkeimlinge (*Fagopyrum esculentum* Moench).—*Z. Bot.*, **51**, H. 3, 277.
- Hartree E. F. 1957. Cytochrome in higher plants.—*Advances Enzymol.*, **28**, N 7, 1.
- Hattori A. 1962. Light-induced reduction of nitrate, nitrite and hydroxylamine in a blue—green alga *Anabaena cylindrica*.—*Plant and Cell Physiol.*, **3**, N 4, 355.
- Hauschild A. H. W., Nelson C. D., Krotkov G. 1961. The effect of light quality on the products of photosynthesis in *Chlorella vulgaris*.—*Plant Physiol.*, **36**, suppl. XXVI.
- Hauschild A. H. W., Nelson C. D., Krotkov G. 1962. The effect of light quality on the products of photosynthesis in *Chlorella vulgaris*.—*Canad. J. Bot.*, **40**, N 1, 179.
- Hauschild A. H. W., Nelson C. D., Krotkov G. 1962a. The effect of light quality on the products of photosynthesis in green and bluegreen algae, and in photosynthetic bacteria.—*Canad. J. Bot.*, **40**, N 12, 1619.
- Hauschild A. H. W., Nelson C. D., Krotkov G., 1964. Concurrent changes in the products and the rate of photosynthesis in *Chlorella vulg.* in the presence of blue light.—*Naturwissenschaften*, **51**, H. 11, 274.
- Haxo F. T., Blinks L. R. 1950. Photosynthetic action spectra of marine algae.—*J. Gen. Physiol.*, **33**, N 3, 389.
- Haxo F. T. 1960. The wavelength dependence of photosynthesis and the role of accessory pigments.—In: *Compar. Biochemistry of Photoreactive Systems*. M. B. Allen (Ed.), Acad. Press, N. Y.—London.
- Heath O. V. S., Vince D. 1962. Some non-photosynthetic effects of light on higher plants with special reference to wavelength.—*Sympos. Soc. Exptl Biol.*, N 16, p. 110.
- Heber U. 1963. Untersuchungen zur Physiologie und Biochemie der Chloroplasten im Zusammenhang mit der Proteinsynthese. Diss. Bonn.
- Heber U. 1963a. Ribonucleinsäuren in den Chloroplasten der Blattzelle.—*Planta*, **59**, N 6, 600.
- Heber U., Pon N. G., Heber M. 1963. Localization of carboxyldismutase and triosephosphate dehydrogenases in chloroplasts.—*Plant Physiol.*, **38**, N 3, 355.
- Heber H., Santarius K. A., Urbach W., Ulrich W. 1964. Photosynthese und Phosphathaushalt Intracellulärer Transport von C<sup>14</sup> und P<sup>32</sup> markierten Intermediärprodukten zwischen den Chloroplasten und dem Cytoplasma und seine Folgen für die Regulation des Stoffwechsels.—*Z. Naturforsch.*, **19 b**, H. 7, 576.
- Hendricks S. 1960. Rates of change of phytochrome as an essential factor determining photoperiodism in plants.—*Cold Spring Harbor Sympos. Quat. Biol.*, **25**, 245.
- Hendricks S. B. 1964. Photochemical aspects of plant photoperiodicity.—In: *Photophysiology*, Giese (Ed.).
- Hendricks S. B., Borthwick H. A. 1959. Photocontrol of plant development by the simultaneous excitations of two interconvertible pigments. II. Theory and control of anthocyanin synthesis.—*Bot. Gaz.*, **120**, N 4, 183.
- Hendricks S. B., Toole E. H., Toole V. K., Borthwick H. A. 1959. Photocontrol of plant development by the simultaneous excitations of two interconvertible pigments. III. Control of seed germination and axis elongation.—*Bot. Gaz.*, **120**, N 1, 187.
- Hendricks S. B., Butler W. L., Siegelman H. W. 1962. A reversible photoreaction regulating plant growth.—*J. Phys. Chem.*, **66**, 2550.

- Henshall I. D., Goodwin T. W. 1964. The effect of red and far-red light on carotenoid and chlorophyll formation in pea seedlings.—Photochem. and Photobiol., 3, N 3, 243.
- Hess J., Tolbert N. E. 1964. Pigment and products of  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  fixation by algae adapted in blue or red light.—4th Internat. Photobiol. Congr. Authors' abstr. Oxford, 1.
- Hill R., Bendall F. 1960. Function of the two cytochrome components in chloroplasts: a working hypothesis.—Nature, 186, N 4719, 136.
- Hill R., Bonner W. D. 1961. The nature and possible function of chloroplasts cytochromes. Light and Life. Mc. Elroy and B. Glass (Ed). J. Hopkins Press.
- Hirokawa T., Miyachi S., Tamija H. 1958. Effect of hydrogen peroxide on the light-induced capacity of carbon dioxide fixation in green algae.—J. Biochem. (Tokyo), 45, N 12, 1005.
- Hoch G., Owens O., Kok B. 1963. Photosynthesis and Respiration. Arch. Biochem. and Biophys., 101, N 1, 171.
- Hodgson A. I., McLean I. D., Mercer F. V. 1956. A possible mechanism for the morphogenesis of lamella systems in plant cells.—J. Biophys. and Biochem. Cytol., 2, N 5, 597.
- Holdgate D. P., Goodwin T. W. 1965. The effect red and far-red light on nucleic acid metabolism in rye seedling shoots.—Photochemistry and Photobiology, 4, N 1, 1.
- Holm-Hansen O., Nishida K., Moses V., Calvin M. 1959. Effects of mineral salts on short-term incorporation of carbon-dioxide in Chlorella.—J. Exptl Bot., 10, N 28, 109.
- Hommersand M., Haxo F. 1962. The enhancement spectrum of photosynthesis in Elodea.—Plant Physiol., 37, Suppl. 902.
- Hoover W. H. 1937. The dependence of carbon dioxide assimilation in a higher plant on wave length of radiation.—Smithsonian Misc. Collect., 95, N 21, 1.
- Howell R. W., Krober O. A., Collins F. I. 1957. The effect of light quality on growth and composition of soybean.—Plant Physiol., 32, Suppl. VIII.
- Hunter N. W., Hunter R., King I. W. and Pinkney Jr. 1956. Effect of light on the rate of respiration in the stem of *Pisum sativum* L.—Plant Physiol., 31, N 2, 167.
- Huzisige Hiroshi. 1954. Comparative studies on the sensitivity of photosynthesis, the Hill reaction and the catalase reaction towards various inhibitors.—J. Biochem., 41, N 5, 605.
- Ivanov L. A., Kosowitsch N. L. [Иванов Л. А., Косович Н. Л.]. 1929. Über die Arbeit des Assimilationsapparates verschiedener Baumarten. I. Die Kiefer (*Pinus silvestris*).—Planta, 8, H. 3.
- Iwamura T. 1962. Characterization of the turnover of chloroplast deoxyribonucleic acid in Chlorella.—Biochim. et biophys. acta, 61, N 3, 472.
- Jagendorf A. T. 1956. Oxidation and reduction of pyridine nucleotides by purified chloroplasts.—Arch. Biochem. and Biophys., 62, N 1, 141.
- Jagendorf A. 1962. Biochemistry of energy transformations during photosynthesis.—In: Survey of Biological progress 18; Glass (Ed.), N. Y.: Acad. Press.
- Jamanaka T., Ota A., Okunuki K. 1962. Oxidative phosphorylation coupled with nitrate respiration. I. Evidence for phosphorylation coupled with nitrate reduction in a cell-free extract of *Pseudomonas aeruginosa*.—J. Biochem., 51, N 4, 253.
- James W. O. 1953. The use of respiratory inhibitors.—Annual Rev. Plant Physiol., 4, 53.
- James W. O., Das V. S. R. 1957. The organization of respiration in chlorophyllous cells.—New Phytologist, 56, N 3, 325.
- James W. O., Leech R. M. 1964. The cytochromes of isolated chloroplasts.—Proc. Roy. Soc., B, 160, N 978, 13.
- Jimenez E., Baldwin R. L., Tolbert N. E., Wood W. A. 1962. Distribution of  $\text{C}^{14}$  in sucrose from glycolate— $\text{C}^{14}$  and serine—3— $\text{C}^{14}$  metabolism.—Arch. Biochem. and Biophys., 98, N 1, 172.
- Jones L. W., Myers I. 1963. A common link between photosynthesis and respiration in a blue-green alga.—Nature, 199, N 4894, 670.
- Joshihara Oda. 1962. Effect of light quality on flowering of *Lemna perpusilla*.—Plant and Cell Physiol., 3, N 4, 415.
- Kabobs W. I. 1936. Beitrag zur Kenntnis des N-Stoffwechsels von *Sinapis alba* insbesondere in Bezug auf das Licht.—Rec. trav. Bot. Neerl., 133, 446. Amsterdam, Mulder.
- Kamen M. D. 1960. Hematin compounds in photosynthesis. In: Comparative Biochem. of Photoreactive Systems. M. B. Allen (Ed.). N. Y., London, Acad. Press.
- Kamen M. D. 1961. Comments on the function of Haem proteins as related to primary photochemical processes in photosynthesis. Light and Life, 483, Mc Elroy and B. Glass (Eds.). John Hopkins press.
- Kandler O. 1954. Über die Beziehungen zwischen Phosphathaushalt und Photosynthese. II. Gestiegerte Glucoseembau in Licht als Indicator einer lichtabhängigen Phosphorylierung.—Z. Naturforsch., 9b, N 10, 625.
- Kandler O. 1955. Über die Beziehungen zwischen Phosphathaushalt und Photosynthese. III. Hemmungsanalyse der lichtabhängiger Phosphorylierung.—Z. Naturforsch., 10, N 1, 38.
- Kandler O., Sironval C. 1959. Photooxidation processes in normal green chlorella cells. II. Effect on metabolism.—Biochim. et biophys. acta, 33, N 1, 207.
- Katoh S., Hirokawa T., Miyachi S. 1958. Effect of pre-illumination upon the Hill reaction in chlorella cells.—J. Biochem., 45, N 11, 907.
- Kearney P. C., Tolbert N. E. 1962. Appearance of glycolate and related products of photosynthesis outside of chloroplasts.—Arch. Biochem. and Biophys., 98, N 1, 164.
- Kessler E. 1953. Über den Mechanismus der Nitratreduction von Grünalgen. I. Nitritbildung und Nitratreduction durch *Ankistrodesmus braunii* (Nägele) Brunthalter.—Flora, 140, N 1.
- Kessler E. 1955. Über die Wirkung von 2,4-Dinitrophenol auf Nitratreduktion Atmung von Grünalgen.—Planta, 45, N 1, 94.
- Kessler E. 1955a. Role of photochemical processes in the reduction of nitrate by Green algae.—Nature, 176, N 4492, 1069.
- Kessler E. 1956. Reduction of nitrit with molecular hydrogen in algae containing hydrogenase.—Arch. Biochem. and Biophys., 62, N 1, 243.
- Kessler E. 1957. Untersuchungen zum Problem der photochemischen Nitrat-reduction in Grünalgen.—Planta, 49, H. 5, 515.
- Kessler E. 1959. Reduction of nitrate by green algae. Utilization of N and its compounds by plants. Cambridge Univ. press, 87.
- Kessler E. 1964. Nitrate assimilation by plants.—Annual Rev. Plant. Physiol., 15, 57.
- Kirk I. T. O. 1964. Studies on RNA synthesis in chloroplasts preparation.—Res. Comm., 16, N 3, 123.
- Klein W. M. H., Withrow R. B., Elstad V. B. 1956. Response of the hypocotyl hook of bean seedlings to radiant energy and other factors.—Plant Physiol., 31, N 4, 289.
- Klein W. H., Withrow R. B., Elstad V., Price L. 1957. Photocontrol of growth and pigment synthesis in the bean seedling as related to irradiance and wavelength.—Amer. J. Bot., 44, N 1, 15.
- Klein M. 1963. Interaction of ultraviolet and visible radiations on the growth of cell aggregates of *Ginkgo* pollen tissue.—Physiol. plantarum, 16, N 1, 73.
- Klein M., Wanson I. 1963. Effect of non-ionizing radiation on expansion of disks from leaves of darkgrown bean plants.—Plant physiol., 38, N 1.
- Kohl F. G. 1902. Untersuchungen über das Carotin und seine physiologische Bedeutung in der Pflanze. Berlin. Borntraeger, S. 9.

- Kok B. 1948. The respiration during photosynthesis.—Enzymologia, Chap. V, 15, N 1, 34.
- Kok B. 1956. On the inhibition of photosynthesis by intense light.—Biochim. et biophys. acta, 21, N 2, 234.
- Kok B., Hoch G. 1961. Spectral changes in photosynthesis. Light and Life, 397. Mc Elroy (Ed.). J. Hopking Press.
- Kok B., Hoch G. 1962. Photoreactions of photosynthesis. Thes. Conf. Photosynthesis. Gif sur-Ivette.
- Kok B., Hoch G., Cooper B. 1963. Sensitization of chloroplast reaction. I. Sensitization of reduction and oxidation of cytochrome C by chloroplasts.—Plant Physiol., 38, N 3, 274.
- Kouchkovsky J. 1959. Sur la presence on l'absence de la cytochromeoxydase dans les chloroplastes isolés.—C. r. Acad. sci., 248, N 25, 3597.
- Kowallik W. 1962. Über die Wirkung des blauen und roten Spektralbereiche auf die Zusammensetzung und Zellteilung synchronisierter Chlorellen.—Planta, 58, N 4, 337—365.
- Kowallik W. 1963. Die Zellteilung von Chlorella in verkaufe einen farblicht-kultur. Planta v. 60, 100.
- Krall A. R. 1957. A light-reversible CO-inhibition of isotopic phosphate uptake by photosynthesizing Barley leaves.—In: Research in Photosynthesis. N. Y., p. 312.
- Krall A. R., Bass E. R. 1962. Oxygen dependency of in vivo photophosphorylation.—Nature, N 4856, 791.
- Krall A. R., Tolbert N. E. 1957. A comparison of the light dependant metabolism of CO by barley leaves with that of formaldehyde, formate and CO<sub>2</sub>.—Plant Physiol., 32, N 4, 321.
- Kramer P. I., Decker I. P. 1944. Relation between light intensity and rate of photosynthesis of loblolly pine and certain hardwoods.—Plant Physiol., 19, N 2, 350.
- Krasnovsky A. A. [Красновский А. А.] 1960. The primary processes of photosynthesis in plants.—Annual. Rev. Plant Physiol., 11, 363.
- Krogmann D. W. 1961. Oxidative photophosphorylation and the Mehler reaction. Sympos. Light and Life. Mc Elroy and B. Glass (Ed.), 615.
- Krotkov G. 1960. The nature of photosynthetic products.—Trans. Roy. Soc. Canada, Sec. V, 54.
- Kuszmarka M., Tolbert N. E. 1962. Glycolic acid oxidase formation in greening leaves.—Plant Physiol., 37, N 6, 729.
- Kylin A. 1960. Accumulation of sulfate in isolated leaves as affected by light and darkness.—Bot. notiser, 113, N 1, 49—81.
- Kylin A. 1961. Light effects on active uptake of sulphate by isolated leaf pieces. Progr. in photobiol. 3th Internat. Photobiol. Congr. Christensen (Ed.), 359.
- Kylin A. 1964. Sulphate uptake and metabolism in Scenedesmus as influenced by phosphate, carbon dioxide and light.—Physiol. plantarum, 17, 422.
- Landgraf Y. E. 1961. Über den Einfluß des Lichtes auf den Protein-Stoffwechsel bei Keimlingen von Sinapis Alba L.—Planta, 57, N 5, 543.
- Lane H. C., Butler W. L., Siegelman H. W. 1963. Detection of phytochrome in green plants.—Plant Physiol., 38, N 4, 414.
- Lease E. I., Tottingham W. E. 1935. Photochemical responses on the wheat plant to spectral regions.—J. Amer. Chem. Soc., 57, N 12, 2613.
- Lefrançois M., Ouellet C. 1958. Inhibition selective de la photosynthèse par le méthanol chez scenedesmus.—Canad. J. Bot., 36, N 4, 457.
- Lewin R. A., Mintz R. H. 1955. Inhibitors of photosynthesis in Chlamydomonas.—Arch. Biochem. and Biophys., 54, N 1, 246.
- Lowischin A. 1908. Zur Frage über den Einfluß des Lichtes auf die Atmung der niederen Pilze.—Ber. Bot. Gas., 23, 1, Abt., 54.
- Lubimenco V. N. [Лубименко В. Н.] 1923. Action spécifique des rayons lumineux de diverses couleurs dans la photosynthèse.—C. r. Acad. sci., 176, 15, N 1, 34.
- Lubimenco V. N. 1923a. Influence des blessures des feuilles sur la production des substances chez les plantes vertes.—C. r. Acad. sci., 177, 606.
- Lundegårdh H. 1921. Ecological studies in the assimilation of certain forest plants and shade plants.—Sr. bot. tidsskr., 15, 46.
- Lundegårdh H. 1960. Pflanzenphysiologie. Jena, Gustav Fisher.
- Lundegårdh H. 1961. Response of chloroplast cytochrome to light and substrates.—Nature, 192, N 4799, 243.
- Lundegårdh H. 1963. Spectral changes of chloroplasts pigments.—Physiol. plantarum, 16, fasc. 2, 442.
- Lundegårdh H. 1963a. Spectrophotometric determination of redox enzymes and Co-enzymes in chloroplasts.—Physiol. plantarum, 16, fasc. 2, 454.
- Lundegårdh H. 1964. Non-activity of cytochrome oxidase in the photosynthesis.—Physiol. plantarum, 17, fasc. 2, 379.
- Lundegårdh H. 1964a. Action spectra of the reducing and oxidizing systems in spinach chloroplasts.—Biochim. Biophys. acta, 88, N 1, 37.
- Lyttleton I. W. 1962. Isolation of ribosomes from spinach chloroplasts.—Exptl Cell Res., 26, N 2, 312.
- MacLachlan G. H., Porter H. K. 1959. Replacement of oxidation by light as the energy source for glucose metabolism in tobacco leaves.—Proc. Poy. Soc. London, B, 150, 460.
- Mapson L. W. 1964. The ascorbic acid system in leaves: further observations on photooxidation and photoreduction.—Phytochem., 3, 42.
- Margulis M. 1962. Effect of chloramphenicol on light dependent development of seedlings of Phaseolus vulgaris var. Plant. Physiol., 37, N 4, 473.
- Marcus A. 1960. Photocontrol of formation of red kidney-bean leaf triphosphopyridine nucleotide linked triosephosphate dehydrogenase. Plant physiol. v. 35, 1, 126.
- Marré E., Forti G., Biachetti R., Parisi B. 1963. Utilisation of photosynthetically chemical energy for metabolic processes different from CO<sub>2</sub> fixation.—In: La photosynthèse, 557. Centre Nat. de la Rech. Sci.
- Maximov N. A. [Максимов Н. А.] 1902. Über den Einfluß des Lichtes auf die Atmung der niederen Pilze.—Cbl. Bakteriol. Abt., 193, 1902, N 9.
- McAlister E. D., Myers I. 1940. The time course of photosynthesis and fluorescence observed simultaneously.—Smithsonian Misc. Collect., 99, 6.
- Mc Kee H. S. 1962. Nitrogen metabolism in plants. Oxford, Clarendon Press.
- McLeod G. 1961. Action spectra of light-saturated photosynthesis.—Plant Physiol., 36, N 1, 114.
- McLeod G. C., Kanwisher I. 1962. The quantum efficiency of photosynthesis in ultraviolet light.—Physiol. plantarum, 15, fasc. 3, 58.
- Mego I. L., Jagendorf A. T. 1961. Effect of light on growth of Black Valentine bean plastids.—Biochim. et biophys. acta, 53, N 2, 237.
- Mehler A. H. 1951. Studies of the reaction of illuminated chloroplasts. I. Mechanism of the reduction of oxygen and other Hill reagents.—Arch. Biochem. and Biophys., 38, N 1, 65.
- Merkel I. R., Nickerson W. I. 1954. Riboflavin as a photocatalyst and hydrogen carrier in photochemical reduction.—Biochim. et biophys. acta, 14, N 3, 303.
- Metzner H., Simon H., Metzner B., Calvin M. 1957. Evidence for an unstable CO<sub>2</sub> fixation product in algae cells.—Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 43, N 10, 892.
- Metzner H., Metzner B., Calvin M. 1958. Early unstable CO<sub>2</sub> fixation products in photosynthesis.—Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 44, N 2, 205.
- Metzner H., Metzner B., Calvin M. 1958a. Labile products of early CO<sub>2</sub> fixation in photosynthesis.—Arch. Biochem., 74, N 1, 1.
- Miller I. H., Miller P. M. 1961. The effect of different light conditions and sucrose on the growth and development of the gametophyte of the fern Onoclea sensibilis.—Amer. J. Bot., 48, N 2, 154.

- Mitchell I. W. 1937. Responses by tomato plant to artificial illumination.—*Bot. Gaz.*, **99**, N 2, 412.
- Mitrakos K. 1961. The participation of the red far-red reaction system in chlorophyll metabolism.—*Physiol. plantarum*, **14**, N 3, 497.
- Miyachi S., Isava S., Tamija H. 1955. Effect of oxygen on the capacity of CO<sub>2</sub> fixation by green algae.—*J. Biochem.*, **42**, N 3, 221.
- Miyachi S., Hirokawa T., Tamija H. 1955. Effect of quinone on the light induced capacity of carbon dioxide fixation in green algae.—*J. Biochem.*, **42**, N 6, 737.
- Miyachi S. 1959. Effect of poisons upon the mechanism of photosynthesis as studies by the pre-illumination experiments using C<sup>14</sup> as a tracer.—*Plant and Cell Physiol.*, **1**, N 1, 1.
- Miyachi S., Ci, Oh-Hama T., Tamija H. 1960. Effect of CO<sub>2</sub> on the level of DPNH and TPNH in preilluminated Chlorella cells.—*Plant and Cell Physiol.*, **1**, N 2, 151.
- Miyachi S., Miyachi S., Tamija H. 1962. Effect of preillumination on the incorporation of sulfur in the lipid fraction.—*Plant and Cell Physiol.*, **3**, N 2, 193.
- Mohr C. C., Withrow R. B. 1959. Nonionizing Radiant energy as an agent in altering the incidence of x-ray-induced chromatid aberrations. II. Reversal of the far-red potentiating effect in Vicia by red radiant energy.—*Radiation. Res.*, **10**, N 1, 13.
- Mohr H. 1959. Der Lichtenfluss auf das Wachstum der Keimblätter beim Sina-pis alba L.—*Planta*, **53**, H. 3, 219.
- Mohr H., Schoser G. 1960. Eine mit Xenonbögen ausgerüstete Interferenz-filter-Monochromatoranlage für kurzwellige sichtbare und langwellige ultraviolette Strahlung.—*Planta*, **55**, H. 2, 143.
- Mohr H. 1961. The effects of long visible and near infrared radiation on plants.—In: *Progress in Photobiology*. Elsev. publ. Co.
- Mohr H. 1962. Primary effect of light on growth.—*Annual Rev. Plant Physiol.*, **13**, 464.
- Mohr H., Ohlenroth K. 1962. Photosynthese und Photomorphogenese bei Farnvorkeimen von Dryopteris filix-mas.—*Planta*, **57**, H. 6, 656.
- Mohr H. 1963. Die Photomorphogenese der Diktypterenkeimlinge.—*Naturwiss. Rundschau*, **16**, H. 1, 1.
- Mohr H. 1964. The control of plant growth and development by light.—*Biol. Revs Cambridge, Philos. Soc.*, **39**, N 1, 87.
- Mohr H., C. Barth. 1962. Ein Vergleich der Photomorphogenese der Gametophyten von Alsophila Australis (BK) und Dryopteris filix-mas (L) Schot.—*Planta*, **58**, N 6, 580.
- Mohr H., van Nes E. 1963. Der Einfluß sichtbarer Strahlung auf die Flavonoid-Synthese und Morphogenese der Buchweizenkeimlinge (*Fagopyrum esculentum* Moench) I. Synthese von Anthocyan.—*Z. Bot.*, **51**, H. 1, 1.
- Monfort C., Rosenstock G. 1950. Die Lichtatmungs-Reaktion des Protoplasmas und ihre Beziehungen zur Qualität der Strahlung.—*Z. Naturforsch.*, **5**, N 3, 171.
- Morot F. S. 1894. Recherches sur la coloration des végétaux. Ann. sci. natur. 3, sér 13, 206. Цкн. no: Föckler, 1938.
- Mortimer D. C. 1960. Iodacetate inhibition of photosynthetic carbon dioxide assimilation in sugar beet and soybean leaves.—*Canad. J. Bot.*, **38**, N 4, 623.
- Mortimer D. C. 1961. Some observations on the formation of glyceric acid during photosynthesis experiments.—*Canad. J. Bot.*, **39**, N 1, 1.
- Mortimer D. C. 1958. Evidence for an alternate pathway in photosynthetic assimilation.—*Naturwissenschaften*, **45**, N 5, 116.
- Morton R. A. 1942. The application of absorption spectra to the study of vitamins, hormones and coenzymes. London.
- Moses V., Holm-Hansen O., Bassham J. A. and Calvin M. 1959. The relationship between the metabolic pools of photosynthetic and respiratory intermediates.—*J. Molecular Biol.*, **1**, N 1, 21—29.
- Mothes R., Sagromsky H. 1941. Über experimentelle chromatische Adaptation bei grünen und brauen Meerealgen.—*Naturwissenschaften*, **29**, 18, 271—272.
- Mouravieff J. 1963. Sur les propriétés optiques des feuilles de quelques plantes méditerranéennes au cours de la saison sèche.—*Bull. Soc. bot. France*, **110**, N 78, 274.
- Murchio I. C., Allen M. B. 1962. Measurement of absorption spectra of chlorophyll in algal cell suspensions. *Photochemistry and Photobiology*, **1**, 259.
- Myers J. 1949. The pattern of photosynthesis in Chlorella.—In: *Photosynthesis in plant*. Frank. J. and Loomis W. E. (Eds). Iowa.
- Myers J., Burr G. O. 1940. Studies on photosynthesis. Some effects of light of high intensity on Chlorella.—*J. Gen. Physiol.*, **24**, N 1, 45.
- Myers J., French S. 1960. Relationships between time course, chromatic transient, and enhancement phenomena of photosynthesis.—*Plant Physiol.*, **35**, N 6, 963.
- Nason A. 1956. Enzymatic steps in the assimilation of nitrate and nitrite in fungi and green plants.—*Sympos. on Inorg. Nitrogen Metabolism function of metalloflavoproteins*, 103, Baltimore, J. Hopkins Press.
- Nelson C. D., Krotkov G. 1956. Metabolism of C<sup>14</sup> amino acid and amides in detached leaves.—*Canad. J. Bot.*, **34**, N 4, 423.
- Newburgh R. W., Burris R. N. 1954. Effect of inhibitors on the photosynthetic fixation of carbon dioxide.—*Arch. Biochem. and Biophys.*, **49**, N 1, 98.
- Nichiporovich A. A. [Ничипорович А. А.]. 1955. Tracer atoms used to study products of photosynthesis depending on the conditions under which the process takes place.—*Proc. Internat. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy*, Geneva, **12**, 340—346.
- Nichiporovich A. A., Andreyeva T. F., Voskresenskaya N. P., Nezgovorova L. A., Novitzkiy Y. I. [Ничипорович и др.]. 1957. Various ways of transformation of carbon assimilated by plants in the process of photosynthesis.—*Proc. First Internat. Conf. Radio-Isotopes Scient. Res. Paris (UNESCO)*, **1957**, **4**, 411—431.
- Nichiporovich A. A., Voskresenskaya N. P., Butenko R. G. [Ничипорович А. А. и др.]. 1959. Effect of radiation of various wave length regions on plant composition.—*Proc. Internat. Bot. Congr. Montreal, August*, 19—29, 11.
- Nicholas D. I. 1959. Metallo-enzymes in nitrate assimilation of plants, with special reference to microorganisms.—*Sympos. Soc. Exptl Biol.*, N XIII. Utilisation of N and its compounds by plants, Cambridge, Univ. Press.
- Niemann R. H., Vennesland B. 1957. Cytochrome C photooxidase of spinach chloroplasts.—*Science*, **125**, N 3243, 353.
- Niemann R. H., Vennesland B. 1959. Photoreduction and photooxidation of cytochrome C by spinach chloroplast preparations.—*Plant Physiol.*, **34**, N 3, 255.
- Niemann R. H., Nakamura H., Vennesland B. 1959. Fractionation and purification of cytochrome C photooxidase of spinach.—*Plant Physiol.*, **34**, N 3, 262.
- Nishida K. 1962. Effect of internal and external factors on photosynthetic C<sup>14</sup>O<sub>2</sub> fixation in general and on formation of C<sup>14</sup> maltose in acer leaves in particular.—*Physiol. plantarum*, **15**, fasc. I, 47.
- Nishida K. 1962a. Studies on the re-assimilation of respiratory CO<sub>2</sub> in illuminated leaves.—*Plant and Cell Physiol.*, **3**, N 2, 111.
- Nissen P., Benson A. A. 1961. Choline sulfate in higher plants.—*Science*, **134**, N 3492, 1759.

- Norris L., Norris R. E., Calvin M. 1955. A survey of the rates and products of short-term photosynthesis in plants of ninephyla.—*J. Exptl Bot.*, **6**, N 16, 64.
- Oh-Hama T., Miyachi S. 1959. Effects of illumination and oxygen supply upon the levels of pyridine nucleotides in Chlorella cells.—*Biochim. et Biophys. acta*, **34**, N 1, 202.
- Oh-Hama T., Miyachi S. 1960. Changes in levels of pyridine nucleotides in Chlorella cells during the course of photosynthesis.—*Plant and Cell Physiol.*, **1**, N 3, 155.
- Ohlenroth K., Mohr H. 1963. Die Steigerung der Proteinsynthese und der Morphogenese bei Farnvorkeimen durch Licht.—*Planta*, **59**, N 4, 427.
- Ohlenroth K., Mohr H. 1964. Die Steigerung der Proteinsynthese durch blaulicht und hellrot in der Vorkeimen von Dryopteris filix-mas (L) Schott.—*Planta*, **62**, H. 2, 160.
- Orth M. P., Kearney P. C., Tolbert N. E. 1962. Phosphoglycolaldehyde dehydrogenase and phosphoglycolate-1-kinase in Spinach leaves.—*Plant Physiol.*, **37**, suppl. XLV.
- Pauw F. van der. 1932. The indirect action of external factors on photosynthesis.—*Rec. trav. bot. neerl.*, **29**, 497.
- Packer L. 1963. Structural changes correlated with photochemical phosphorylation in chloroplast membranes.—*Biochim. et biophys. acta*, **75**, N 1, 12.
- Packer L., Marchant P. H., Mukohata Y. 1963. Structural changes related to photosynthetic activity in cell and chloroplasts.—*Biochim. et biophys. acta*, **75**, N 1, 23.
- Palladin W. [Палладин В.]. 1894. Untersuchungen über die Atmung grünen und etiolierter Blätter. *Mitt. Univ. Charkow*.
- Palladine W. I. 1899. Influence de la lumière sur la formation des matières protéiques actives et sur l'énergie de la respiration des parties vertes des végétaux.—*Rev. Gén. bot.*, **11**, N 13, 241.
- Paneque A., Del Campo F. F., Losada M. 1963. Nitrite reduction by isolated chloroplasts in light.—*Nature*, **198**, N 4875, 90.
- Parker M. W., Hendricks S. B., Borthwick H. A., Scully N. I. 1946. Action spectrum for the photoperiodic control of floral initiation of short-day plants.—*Bot. Gaz.*, **108**, N 1, 1.
- Parker C. A. 1949. The reaction of nitrous acid with alcoholic alphanaphthylamine hydrochloride and its application to the absorptiometric determination of nitrites.—*Analyst*, **74**, 875, 112.
- Parker M. W., Hendricks S. B., Borthwick H. A., Went F. W. 1949. Spectral sensitivities for leaf and stem growth of etiolated pea seedlings and their similarity to action spectrum for photoperiodism.—*Amer. J. Bot.*, **36**, N 2, 194.
- Pennell G. A., Weatherly P. E. 1954. Effect of mercury vapour on the active uptake of sucrose by leaf tissues.—*Nature*, **173**, N 4414, 1096.
- Pirson A., Kowallik W. 1960. Wirkung des blauen und roten Spectral-Bereiches auf die Zusammensetzung von Chlorella bei Anzucht in Licht-Dunkel-Wechsel.—*Naturwissenschaften*, **47**, Jg. H. 20, 476.
- Pollard C. Y. 1964. The deoxyribonucleic acid content of purified spinach chloroplast.—*Arch. Biochem. and Biophys.*, **105**, 1, 114.
- Popp H. W. 1926. A physiological study of the effect of various ranges of wave length on the growth of plants.—*Amer. J. Bot.*, **63**, N 10, 706.
- Powell R. D., Griffith M. M. 1960. Some anatomic effects of kinetin and red light on disks of bean leaves.—*Plant Physiol.*, **35**, N 2, 273.
- Price L., Klein W. H. 1961. Red, far-red response and chlorophyll synthesis.—*Plant Physiol.*, **36**, N 6, 733.
- Price L., Klein W. H. 1962. Chlorophyll synthesis in x-irradiated etiolated bean leaf tissue.—In: *Radiation Bot.*, Pergamon Press, p. 269.
- Price L., Mitrakos K., Klein W. H. 1964. Photomorphogenesis and carbohydrate changes in etiolated leaf tissue.—*Quart. Rev. Biol.*, **39**, N 1, 11.
- Pringsh E. G., Wiessner W. 1961. Ernährung und Stoffwechsel von Chlamydomobryts (Volvocales).—*Arch. Microbiol.*, **40**, N 3, 231.
- Pritchard G. G., Griffin W. J., Whittingham C. P. 1962. The effect of CO<sub>2</sub> concentration, light intensity and isonicotinyl hydrazide on the photosynthetic production of glycolic acid by Chlorella.—*J. Exptl Bot.*, **13**, N 38, 176.
- Puriewitsch K. [Пуриевич К.]. 1890. Über die Wirkung des Lichtes auf die Atmungsprozesse bei den Pflanzen. *Schr. Ges. Naturforsch.* Kiew, B. 11, 211.
- Rabideau G. S., French C. S., Holt A. S. 1946. The absorption and reflection spectra of leaves, chloroplast suspensions, and chloroplast fragments as measured in an Ulbricht sphere.—*Amer. J. Bot.*, **33**, N 10, 769.
- Rabinowitch E., Govindjee. 1961. Different forms of Chlorophyll *a* in vivo and their photochemical function.—In: *Light and Life* 378. Mc Elroy and B. Glass (Sd.). J. Hopkins Press.
- Rabson R., Tolbert N. E. and Kearney P. C. 1962. Formation of serine and glyceric acid by the Glycolate pathway.—*Arch. Biochem. and Biophys.*, **98**, N 1, 154.
- Racusen D. W., Aronoff S. 1953. Metabolism of soybean leaves. V. The dark reactions following photosynthesis.—*Arch. Biochem. and Biophys.*, **42**, N 1, 25.
- Richter A. A. [Рихтер А. А.]. 1912. Farbe und Assimilation.—*Ber. Dtsch. bot. Ges.*, **30**, 280.
- Rither J. H. 1956. Interrelation between photosynthesis and respiration in the marine Flagellate Dunaliella euchlora.—*Nature*, **178**, N 4538, 861.
- Rombach J. 1961. Growth of Lemna minor as influenced by light and kinetin. Progress in photobiology, p. 379.
- Rosenberg L., Capindale J. B., Whately F. R. 1958. Formation of oxalacetate and aspartate from phospho-enol-pyruvate in Spinach leaf chloroplasts extracts.—*Nature*, **181**, N 4609, 632.
- Rosenstock G. 1951. Kohlendioxyd-Entbindung Nichtassimilierenden Gewebe in Licht. Kritische Studien zum Problem der Lichtatmung.—*Planta*, **40**, N 1, 70.
- Roux E., Duranton J., Galimiche J., Robin P. 1955. Pigments des chloroplastes et photosynthèse. *C. r. Acad. sci.*, **241**, N 22, 1618.
- Roux E., Galimiche J., Duranton I. 1960. Quelques exemples de l'utilisation des isotopes dans l'étude de la photosynthèse. Recherches du groupe de photobiologie.—*Bull. inform. scient. et techn. Commissar. énergie atoms*, N 46, 52.
- Ruben S., Hassid W. Z., Kamen M. D. 1939. Radioactive carbon in the study of photosynthesis.—*J. Amer. Chem. Soc.*, **61**, N 2, 661.
- Sagromsky H. 1943. Die Bedeutung des Lichtfaktors für den Gaswechsel planktonischer Diatomeen und Chlorophyceen.—*Planta*, **33**, N 29, 299.
- Sadana Y. S., Mc Elroy W. D. 1957. Nitrate reductase from Achromobacter fischeri. Purification and properties function of flavines and cytochroms.—*Arch. Biochem. and Biophys.*, **67**, N 1, 16.
- Saltman H. 1955. Comparative physiology of green and albino corn seedlings.—*Plant Physiol.*, **30**, N 3, 258.
- San Pietro A., Lang H. M. 1956. Accumulation of reduced pyridine nucleotides by illuminated grana.—*Science*, N 124, N 3212, 118.
- San Pietro A., Lang H. M. 1958. Photosynthetic pyridine nucleotide reductase. I. Partial purification and properties of the enzyme from spinach.—*J. Biol. Chem.*, **231**, 1, 211.
- Santarius K. A., Heber H., Ullrich W., Urbach W. 1964. Intracellular translocation of ATP, ADP and inorganic P in leaf cells of *Elodea densa* in relation to photosynthesis.—*Reas. Commun.*, **15**, N 2, 13a.
- Schiff J. A. 1959. Studies on sulfate utilization by chlorella pyrenoidosa

- using Sulfate-S<sup>35</sup>; the occurrence of S-adenosyl methionine.—Plant Physiol., 34, 1, 73.
- Schon L., Benson A. A., Bassham J. A., Calvin M. 1950. The path of carbon in photosynthesis. XX. The role of glycolic acid.—Physiol. plantarum, 3, N 3, 486.
- Schropshire W. I., Klein W. H., Edwards Y. L. 1964. Photomorphogenesis induced by flavin mononucleotide fluorescence.—Physiol. plantarum, 17, fasc. 3, 676.
- Schwartz M. 1963. Aerobic and anaerobic photophosphorylation in spinach chloroplast preparation under controlled light conditions.—Biochim. et biophys. acta, 66, N 3, 292.
- Scott F. M. 1955. The distribution and physical appearance of fats in living cells. Introductory survey.—Amer. J. Bot., 42, N 5, 475.
- Sen S. P., Basu D. K. 1961. Localisation of the primary CO<sub>2</sub>-fixation products in photosynthesis.—Trans. Bose Res. Inst., 24, N 2, 105.
- Senebier I. 1782. Mémoires physico-chimiques, sur l'influence de la lumière soleil pour inodifier les êtres des trois règnes de la nature et surtout ceux du règne végétal. Genève, 1782.
- Seybold A. 1933. Über die optischen Eigenschaften der Laubblätter. IV.—Planta, 21, N 2, 251.
- Seybold A. 1936. Über den Lichtfaktor photophysiological Prozesse.—Jahrb. Bot., 82, N 5, 741.
- Seybold A., Egle R. 1937. Lichtfeld und Blattfarbstoffe.—Planta, 26, H. 3, 491.
- Siegelman H. W. 1964. Denaturation of phytochrome. IV. Internat. Photobiol. Congr. Authors' abstr., 85, Oxford.
- Siegelman H. W., Hendricks S. B. 1957. Photocontrol of anthocyanin formation in turnip and red cabbage seedlings.—Plant Physiol., 32, N 5, 393.
- Siegelman H. W., Hendricks S. B. 1964. Phytochrome and its control of plant growth and development.—Advances Enzymol., 26, 1.
- Simonis W. 1938. Der Einfluss verschiedenfarbigen Anzuchtlichtes auf die CO<sub>2</sub>-Assimilation und den Farbstoffgehalt von Helodea canadensis.—Planta, 29, N 1, 129.
- Simonis W. 1960. Experimentell erzeugte Anpassungen. Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. V, T. II. Springer-Verlag, 268.
- Sironval C., Kandler O. 1958. Photooxidation processes in normal green Chlorella cells. I. The bleaching process.—Biochim. et Biophys. acta, 29, N 2, 359.
- Sisler E. C. and Klein W. H. 1961. Effect of red and far-red irradiation on nucleotide phosphate and ATP level in dark-grown bean and avena seedlings. Physiol. plantarum, v. 14, 115.
- Siu P. M. L. 1962. CO<sub>2</sub>-fixation by phosphoholpyruvic carboxylase from spinach.—Biochim. et biophys. acta, 63, N 3, 520.
- Smith L., Chance B. 1958. Cytochromes in plants.—Ann. Rev. of plant physiol., 9, 449.
- Spoehr H. A., McGee I. M. 1923. Studies in plant respiration and photosynthesis. Carnegie Inst. Washington, N 325, p. 98.
- Steeman Nielsen. 1955. The Interaction of photosynthesis and respiration and its importance for the determination of C<sup>14</sup> discrimination in photosynthesis.—Physiol. plantarum, 8, N 4, 945.
- Steiner A. M. 1963. Der Einfluss des Lichts auf Morphogenese und Chloroplastenentwicklung der Gametophyten von Sphaerocarpus donnellii. Aust.—Ztschr. Bot., 51, N 4, 399.
- Stenlid G. 1949. Some notes on the effect of sodium azide, 2, 4-dinitrophenol and ortho-phenanthroline upon oxygen consumption in green leaves.—Phys. Plantarum, 2, N 1, 61.
- Stepka W., Benson A. A., Calvin M. 1948. The path of carbon in photosynthesis II. Amino acids.—Science, 108, N 2803, 304.
- Stern B. K., Vennesland B. 1962. The effect of CO<sub>2</sub> on the Hill reaction.—J. of Biol. Chemistry, 237, N 2, 596.
- Steward F. C., Margolis D. 1962. The effect of molybdenum upon the free amino acids. Contribs. Boyce Thompson Inst., 21, N 6, 411. Цит. по: РЖБиол., 171.
- Stiller M. 1962. The path of C in photosynthesis.—Ann. Rev. of Plant Physiol., 13, 151.
- Stiller M., Vennesland B. 1962. Photophosphorylation accompanying reaction with ferricyanide.—Bioch. Biophys. acta, 60, N 3, 562.
- Stoy V. 1955. Action of different light qualities on simultaneous photosynthesis and nitrate assimilation in wheat leaves.—Physiol. Plant., 8, 14, 963.
- Stoy V. 1956. Riboflavin-catalyzed enzymic photoreduction of nitrate.—Bioch. Biophys. acta, 21, N 2, 395.
- Stumpf P. K., James A. T. 1962. Light-stimulated enzymic synthesis of oleic and palmitic acids by lettuce-chloroplast preparations.—Bioch. Biophys. acta, 57, N 2, 400.
- Stutz R. E., Burris R. H. 1951. Photosynthesis and metabolism of organic acid in higher plants.—Plant physiol., 26, N 2, 225.
- Sugiyama M. 1963. Effect of red and far red light on protein and phosphate metabolism in tobacco leaf disks.—Bot. Mag., 76, N 899, 174.
- Tagawa K., Arnon D. I. 1962. Ferredoxins as electron carriers in photosynthesis and in the biological production and consumption of nitrogen gas.—Nature, 195, 4841, 537.
- Tagawa K., Tsujimoto H. Y., Arnon D. I. 1963. Role of chloroplast ferredoxin in the energy conversion process of photosynthesis.—Proc. Nat. Acad. Sci., 49, N 4, 567.
- Tagawa K., Tsujimoto H. Y., Arnon D. I. 1963a. Separation by monochromatic light of photophosphorylation from oxygen evolution. Proc. Nat. Acad. Sci., 50, N 3, 544.
- Tageeva S. V., Brandt A. B., Derevjanko V. C. [Тагеева С. В. и др.]. 1961. Peculiarities of the optical properties of leaves during vegetation.—In: Progress in photobiology, Christensen and Buchmann (Eds.), Elsevier publ. comp., p. 158.
- Tamija H. 1949. Analysis of photosynthetic mechanism by the method of intermittent illumination. II. Theoretical part.—Studies Tokugawa Inst., 6, N 1, 43.
- Tamija H., Huzisige H. 1949. Effect of oxygen on the dark reaction of photosynthesis.—Studies Tokugawa Inst., 6, N 1, 83.
- Tamija H., Miyachi S., Hirokawa T. 1957. Some new pre-illumination experiments with C<sup>14</sup>.—In: Research in photosynthesis H. Gaffron et al. N. I. (Ed.). Interscience. Publ., p. 213.
- Tamija H., Miyachi S., Hirokawa T., Katoh T. 1957. Effect of some poisons upon the mechanism of photosynthesis as studied by the technique of «Pre-illumination» using C<sup>14</sup> as a tracer. Paper presented at the Internat. Conf. Radioisotopes in Scient. Res. Sept. Paris.
- Taniguchi S., Kamemoto M. D. 1963. On the nitrate metabolism of facultative photoheterotrophs. Microalgae and photosynthetic bacteria, Univ. Tokyo Press, 465.
- Teale F. W. I., Weber G. 1957. Role of carotenoids in energy migration and photo-oxidation chlorophyll systems.—Biochem. J., 66, N 1, 8.
- Thimann K. V., Wardlaw I. F. 1963. The effect of light on the uptake and transport of IAA in the green stem of the pea.—Physiol. plantarum, 16, fasc. 2, 368.
- Timiriazeff C. [Тимирязев К. А.]. 1869. Ueber die relative Bedeutung von Lichtstrahlen verschiedener Brechbarkeit bei der Kohlensäurezerersetzung in Pflanzen.—Bot. Ztg., 27.
- Tipnis, Hemchandra P., Pratt R. 1960. Protein and lipid content of Chlorella vulgaris in relation to light.—Nature, 188, N 4755, 1031.

- Tolbert N. E., Cohan M. S. 1953. Products formed from glycolic acid in plants.—*J. Biol. Chem.*, **204**, N 2, 649.
- Tolbert N. E. 1955. Formic acid metabolism in barley leaves.—*J. Biol. Chem.*, **215**, N 1, 27.
- Tolbert N. E., Gailey F. B. 1955. Carbon dioxide fixation by etiolated plants after exposure to white light.—*Plant Physiol.*, **30**, N 6, 491.
- Tolbert N. E. 1957. Photosynthesis by the etiolated plant after exposure to light. Research in Photosynthesis. Int. publ. N. Y.
- Toole V. K., Toole E. H., Hendricks S. B., Borthwick H. A. and Snow A. G. 1961. Responses of seeds of *Pinus virginiana* to light.—*Plant physiol.*, **36**, N 3, 285.
- Tottenham W. E., Lowman H. 1928. Effect of light upon nitrate assimilation in wheat.—*J. Amer. Chem. Soc.*, **50**, N 9, 2436.
- Tottenham W. E., Lease E. I. 1934. A photochemical aspect of nitrate assimilation in plants.—*Science*, **80**, N 2087, 615.
- Tottenham W. E., Stephens H. L., Lease E. I. 1934. Influence of shorter light rays upon absorption of nitrate by the young wheat plant.—*Plant Physiol.*, **9**, N 2, 127.
- Towers G. H. N., Mortimer D. C. 1956. The role of keto-acids in photosynthetic carbon dioxide assimilation.—*Canad. J. Biochem. and Physiol.*, **34**, N 3, 511.
- Tranquillini W. 1960. Das Lichtklima wichtiger Pflanzengesellschaften. Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. V, T. II, Springer-Verlag, p. 304.
- Tregunna E. B., Krotkov G., Nelson C. D. 1961. Evolution of carbon dioxide by tobacco leaves during the dark period following illumination with light of different intensities.—*Canad. J. Bot.*, **39**, N 5, 1045.
- Tregunna E. B., Krotkov G., Nelson C. D. 1962. Effect of white, red and blue light on the nature of the products of photosynthesis in tobacco leaves.—*Canad. J. Bot.*, **40**, N 2, 317.
- Tregunna E. B., Krotkov G., Nelson C. D. 1964. The effect of light on respiration in leaves. 4-th Internat. Photobiol. congr. Oxford.
- Tregunna E. B., Krotkov G. P., Nelson C. D. 1964. Further evidence on the effects of light on respiration during photosynthesis.—*Canad. J. Bot.*, **42**, 989.
- Tsukamoto A. 1962. Flavoprotein in the leaves of higher plants catalyzing the oxidation of l-glutamate.—*Plant and Cell Physiol.*, **3**, N 3, 293.
- Turner I. S., Todd M., Brittain E. G. 1956. The inhibition of photosynthesis by oxygen.—*Austral. J. Biol. Sci.*, **9**, N 4, 494.
- Turner I. S., Turner I. F., Shortman K. D., King I. E. 1958. The inhibition of photosynthesis by oxygen. II. The effect of oxygen on glyceraldehyde phosphate dehydrogenase from chloroplasts.—*Austral. J. Biol. Sci.*, v. 2, N 3, 336.
- Turner I. S., Brittain E. G. 1962. Oxygen as a factor in photosynthesis.—*Biol. Revs.*, **37**, N 1, 130.
- Urbach W., Simonis W. 1964. Inhibition studies on the photophosphorylation in vivo by unicellular algae (*Ankistrodesmus*) with antimycin A HOQNO Salicylaldoxime and DCMU.—*Bioch. and Biophys. Reas. Comm.*, **17**, N 1, 39.
- Ursprung A. 1917. Über die Stärkebildung im Spectrum.—*Ber. dtsch. bot. Ges.*, **35**, N 1, 44.
- Ursprung A. 1918. Über die Bedeutung der Wellenlänge für die Stärkebildung. *Ber. dtsch. bot. Ges.*, **36**, H. 2, 86—100.
- Uziak Z. 1960. Badania nad azotowym zywieniem soi i pomidorow.—*Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska*, E, 145.
- Vanecko A., Varner I. E. 1955. Studies on nitrate metabolism in higher plants.—*Plant Physiol.*, **30**, N 4, 388.
- Van Lookeren, Campagne R. N. 1957. The action spectrum of the influence of light on chloride absorption in *Vallisneria* leaves.—*Proc. ser. C*, v. LX, N 1, 70. Amsterdam.
- Van Niel C. B., Allen M. B., Wright B. E. 1953. On the photochemical reduction of nitrate by algae.—*Biochim. et biophys. acta*, **12**, N 1/2, 67.
- Vejilby K. 1961. The primary induction phenomenon in photosynthesis. Copenhagen.
- Vennesland B., Gattung H. W., Birkcht E. 1963. Fluorometric measurement of the photoreduction of flavin by illuminated chloroplasts.—*Biochim. et biophys. acta*, **66**, N 3, 285.
- Virgin H. I. 1951. The effect of light on the protoplasm viscosity *Physiol. plantarum*, **4**, N 2, 255.
- Virgin H. I. 1952. An action spectrum for the induced changes in the viscosity of plant protoplasm.—*Physiol. plantarum*, **5**, N 4, 575.
- Virgin H. I. 1958. Studies on the formation of protochlorophyll and chlorophyll *a* under varying light treatments.—*Physiol. plantarum*, **11**, fasc. 2, 347.
- Virtanen A. I., Miettinen I. K., Kunttu H. 1953.  $\alpha$ -keto acids in green plants.—*Acta chem. scand.*, **7**, I, 38.
- Virtanen A. I., Alftan M. 1954. New  $\alpha$ -keto acids in green plants.—*Acta chem. scand.*, **8**, N 9, 1720.
- Virtanen A. I., Saris N. L. 1956. Organic hydroxylamine compounds formed from nitrite in *Torulopsis*. II. Acetylhydroxamic acid.—*Acta chem. scand.*, **10**, N 3, 483.
- Vishniac W., Ochoa S. 1951. Photochemical reduction of pyridine nucleotides by spinach grana and coupled carbon dioxide fixation.—*Nature*, **167**, N 4279, 768.
- Vishniac W., Ochoa S. 1952. Fixation of carbon dioxide coupled to photochemical reduction of pyridine nucleotides by chloroplast preparations.—*J. Biol. Chem.*, **195**, I, 75.
- Voskresenskaya N. P. [Воскресенская Н. П.]. 1961. Effect of various rays of the visual region of the spectrum on the absorption of oxygen by green and non-green leaves.—In: Progress in photobiol. Elsev. publ. comp., 149.
- Wald G. 1959. Life and light, *Scient. Amer.*, 92.
- Warburg O. 1919. Über die Geschwindigkeit der photochemischen Kohlensäureersetzung in lebenden Zellen.—*Biochem. Z.*, **100**, 230.
- Warburg O. 1920. Über die Geschwindigkeit der photochemischen Kohlensäureersetzung in lebenden Zellen. II.—*Biochem. Z.*, **103**, 188.
- Warburg O. 1955. Photodissociation und induzierte Atmung, die Fundaments-Reaktionen der Photosynthese.—*Naturwissenschaften*, H. 16, 42, 449.
- Warburg O. 1962. Weiterentwicklung der Zellphysiologischen Methoden. Stuttgart, Thieme.
- Warburg O., Burk D., Schöcken V., Korzenovský M., Hendricks S. B. 1949. Does light inhibit the respiration of green cells?—*Arch. Biochem.*, **23**, 330.
- Warburg O., Krippahl G., Schröder W. 1954. Katalitische Wirkung des blaugrünen Lichts auf den Energieumsatz bei der Photosynthese.—*Z. Naturforsch.*, **9b**, H. 9, 667.
- Warburg O., Krippahl G., Schröder W. 1955. Wirkungsspektrum eines Photosynthese-Ferments.—*Z. Naturforsch.*, **10**, N 11, 631.
- Warburg O., Krippahl G., Gewitz H. S. und Völker W. 1958. Carotinoidoxygenase in Chlorella.—*Z. Naturforsch.*, **13b**, H. 7, 437.
- Warburg O., Krippahl G. 1958. Sauerstoff-Halbwertdrücke der Photosynthese und Atmung.—*Z. Naturforsch.*, **13b**, 66, 509.
- Warburg O., Krippahl G. 1958a. Hill-Reaction.—*Z. Naturforsch.*, **13b**, H. 8.
- Warburg O., Krippahl G. 1960. Glycolsäurebildungen in Chlorella.—*Z. Naturforsch.*, **15b**, H. 3, 197.

- Warburg O., Negelein C. 1920. Über die Reduction der Salpetersäure in grünen Zellen.—*Biochem. Z.*, **110**, H. 66, 118.
- Warburg O., Negelein E. 1922. Über den Energieumsatz bei der Kohlensäureassimilation.—*Z. phys. Chem.*, **102**, H. 3/4, 235.
- Warburg O., Negelein E. 1923. Über den Einfluss der Wellenlänge auf den Energieumsatz bei der Kohlensäureassimilation.—*Z. phys. Chem.*, **106**, H. 3/4, 191.
- Warburg O., Negelein E. 1929. Über das Absorptionsspektrum des Atmungsferments.—*Biochem. Z.*, **214**, H. 1, 64.
- Warburg O., Kripahal G., Gewitz H. S. und Völker W. 1959. Über den chemischen Mechanismus der Photosynthese.—*Z. Naturforsch.*, **14b**, H. 11, 713.
- Wassink E. C., Vermeuler D., Reman G. H., Ketz E. 1938. On the relation between fluorescence and assimilation in photosynthesizing cells.—*Enzymologia*, **5**, f. 2, 100.
- Wassink E. C., Stolwijk I. A. I. 1952. Effect of light of narrow spectral regions of growth and development of plants.—*Proc.*, **55**, N 4, ser. C., 470, Amsterdam.
- Wassink E. C., Stolwijk I. A. 1956. Effect of light quality on plant growth.—*Annual Rev. Plant Physiol.*, N 7, 373.
- Weigl I. W., Warrington P. M., Calvin M. 1951. The relation of photosynthesis to respiration.—*J. Amer. Chem. Soc.*, **73**, N 11, 5058.
- Weintraub R. L. 1944. Radiation and plant respiration.—*Bot. Rev.*, **10**, N 7, 383.
- Weiss D., Brown A. H. 1959. Kinetic relationships between photosynthesis and respiration in the algae Flagellate *Ochromonas malhamensis*.—*Plant Physiol.*, **34**, N 3, 235.
- Went F. W. 1957. The experimental control of plant growth.—*Chronica botanica*, **17**, Waltham Mass. USA.
- Wessels J. S. C., Van der Veen R. 1956. The action of some derivates of phenylurethane and of 3-phenyl-1-I dimethylurea on the Hill reaction.—*Biochim. et biophys. acta*, **19**, 4, 548.
- Whatley B., Tagawa K., Arnon D. I. 1963. Separation of the light and dark reactions in electron transfer during photosynthesis.—*Proc. Nat. Acad. Sci.*, **48**, N 2, 266.
- Wilson L. G. 1962. Metabolism of sulfate reduction.—*Annual Rev. Plant. Physiol.*, **13**, 201.
- Wintermans. 1954. On the formation of polyphosphates in Chlorella in relation to conditions for photosynthesis.—*Proc. Koninkl. Nederl. Acad. Wet.*, C, **57**, N 5, 574.
- Withrow R. B., Wolf I. B., Price L. 1956. Elimination of the lag phase of chlorophyll synthesis in darkgrown bean leaves by a pretreatment with low irradiances of monochromatic energies.—*Plant Physiol.*, **31**, suppl. XIII.
- Wolkhoff A., Mayer A. 1874. Beiträge zur Lehre über die Atmung der Pflanzen.—*Landwirtsch. Jahrb.*, **3**, 481.
- Yocom C. S., Blinks L. R. 1955. Photosynthesis efficiency in marine plant.—*J. Gen. Physiol.*, **38**, I, 1.
- Yocom C. S., Blinks L. R. 1958. Light-induced efficiency and pigment alterations in red algae.—*J. Gen. Physiol.*, **41**, 6, 1113.
- Yuk Lin N. G., Thimann K. V., Gordon S. A. 1964. The action spectrum for anthocyanin formation in *Spirodela oligorrhiza*.—*Arch. Biochem. and Biophys.*, **107**, N 3, 550.
- Zalensky O. V., Vosnesensky V. L., Semikhatova O. A. [Заленский О. В. и др.]. 1958. Photosynthesis studies by quantitative radiometric methods.—Second United Nations Internat. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy.
- Zbinovskiy V., Burris R. H. 1952. Metabolism of infiltrated organic acids by tobacco leaves.—*Plant Physiol.*, **27**, N 2, 240.
- Zelitch I. 1958. The role of glycolic acid oxidase in the respiration of leaves.—*J. Biol. Chem.*, **233**, N 6, 1299.
- Zelitch I. 1959. The relationship of glycolic acid to respiration in tobacco leaves.—*J. Biol. Chem.*, **234**, N 12, 3077.
- Zelitch I., Barber G. A. 1960. Oxidative enzymes of spinach chloroplasts.—*Plant physiol.*, **35**, N 5, 626.
- Zelitch I. 1964. Organic acids and respiration in photosynthetic tissues.—*Annual. Rev. Plant. Physiol.*, **15**, 121.
- Zill L. P., Chemiae G. M. 1962. Lipid metabolism.—*Annual. Rev. Plant Physiol.*, **13**, 155.
- Zscheile F. P., Drever H. R., Houston B. R. 1962. Light quality for plant growth excellent in new phytotron.—*Calif. Agric.*, **16**, N 1, 13.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<i>Предисловие.</i>	3	205
<i>Введение</i>	5	210
<i>Глава I. Спектральный состав света и интенсивность фотосинтеза</i>	8	216
1. К истории вопроса	8	216
2. Спектр действия фотосинтеза и спектральная эффективность фотосинтеза	10	222
3. Световые кривые фотосинтеза в разных участках спектра	23	241
4. «Второй эффект Эмерсона» и представление о двух фотохимических реакциях фотосинтеза	36	250
Заключение	43	
<i>Глава II. Спектральный состав света и продукты фотосинтеза</i>	45	261
1. Множественность путей фотосинтетического превращения углерода $\text{CO}_2$	45	274
2. Действие качества света на продукты фотосинтеза	50	274
Заключение	95	
<i>Глава III. Действие света на поглощение кислорода растениями</i>	101	276
1. Поглощение кислорода на свету незелеными растениями	109	
2. Приемы исследования действия света на поглощение кислорода фотосинтезирующими организмами	112	
3. Последействие качества и интенсивности света на поглощение кислорода зелеными растениями	117	
4. Особенности поглощения кислорода на свету зелеными растениями	144	
5. Значение фотосинтетического восстановления кислорода для ассимиляции $\text{CO}_2$	161	
Заключение	164	
<i>Глава IV. Восстановление на свету окисленных минеральных соединений и особенности некоторых биосинтезов</i>	164	
1. Постановка вопроса	164	
2. Восстановление нитратов	167	
3. Действие света на усвоение зеленою клеткой других минеральных соединений	192	
4. Проявление принципа конкуренции при восстановлении окисленных соединений	198	
<i>Глава V. Роль фотосинтеза и реакций фотоморфогенеза в адаптации растений к спектральному составу света</i>	216	
1. Предпосылки к исследованию вопроса	216	
2. Низкоэнергетическая реакция фотоморфогенеза — «красный — дальний красный свет», возбуждаемая фитохромом (НЭР)	222	
3. Высокоэнергетическая реакция фотоморфогенеза (ВЭР)	241	
4. Длительное действие красного и синего света на фотосинтез зеленых растений	250	
5. Длительное действие красного и синего света на накопление азотистых веществ, углеводов и на некоторые другие стороны метаболизма	261	
Заключение	274	
<i>Литература</i>	276	

**Наталья Павловна Воскресенская**  
**Фотосинтез и спектральный состав света**

**Утверждено к печати  
Институтом физиологии растений  
им. К. А. Тимирязева  
Академии наук СССР**

**Редактор Г. С. Гришина  
Технический редактор В. В. Тарасова**

**Сдано в набор 14/V 1965 г.**

**Подписано к печати 23/VIII 1965 г. Формат 60×90 $\frac{1}{16}$**

**Печ. л. 19,5. Уч.-изд. л. 20,8. Тираж 3000 экз.**

**Т-08993. Изд. 10/65. Тип. зак. № 5695**

**Темплан 1965 г. № 298**

**Цена 1 р. 66 к.**

**Издательство «Наука».  
Москва, К-62, Подсосенский пер., 21  
2-я типография издательства «Наука».  
Москва, Г-99, Шубинский пер., 10**

**ОПЕЧАТКИ И ИСПРАВЛЕНИЯ**

Строка страницы	Строка	Напечатано	Должно быть
21	9 св.	нитриты	нитраты
27	6 сн.	действия	поглощения
30	Габл. 3, заголовок	фотосинтез дыхание	фотосинтез и дыхание
54	Табл. 8, графа 6	32,43	25,57
66	Табл. 14, графы 4 и 9	диастазный	диастазный
150	9 св.	R	R
169	5 св.	восстановления	восстановленного
169	6 св.	ТПН-Н	ТПН
197	5 сн.	разработанным	разобранным
271	21 св.	гл. III	гл. II

**Н. Н. Воскресенская**

*10.08.65*