

97 50
МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
им. М. В. ЛОМОНОСОВА

ФИЗИОЛОГИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Том I

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ.
ФОТОСИНТЕЗ. ДЫХАНИЕ

Ответственный редактор тома
А. И. ОПАРИН

ИЗДАТЕЛЬСТВО
МОСКОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА
1967

ПРЕДИСЛОВИЕ

Издание многотомного труда «Физиология сельскохозяйственных растений» предпринимается впервые.

Необходимость такого рода издания непосредственно вытекает из исторических задач, поставленных перед сельским хозяйством Программой КПСС, утвержденной XXII съездом партии.

Главный путь повышения продуктивности сельскохозяйственного производства, указывается в Программе, состоит в его механизации и последовательной интенсификации.

Успешное продвижение по этому пути во многом зависит от дальнейшего развития сельскохозяйственной науки, которая тесно связана с развитием всего комплекса биологических наук, и в первую очередь физиологии растений. Это с особой силой подчеркнуто в постановлении ЦК КПСС и Совета Министров СССР «О мерах по дальнейшему развитию биологической науки и укреплению ее связи с практикой», опубликованном в январе 1963 г. Отмечая недостаточное развитие целого ряда разделов биологической науки, в том числе и физиологии растений, постановление указывает, что при ликвидации этого отставания должно быть обращено внимание на развитие работ и создание частной физиологии растений — физиологии отдельных сельскохозяйственных культур.

Недостаточное развитие исследований и обобщений по частной физиологии служит, несомненно, одной из причин, тормозящих широкое использование данных по физиологии в растениеводстве. Известно, что за последние годы физиология растений обогатилась большим экспериментальным матери-

алом. Широкое использование достижений физики и химии в экспериментальной работе по фитофизиологии дало возможность более глубоко проникнуть в сущность важнейших физиологических функций, раскрыть их внутреннюю природу, продвинуться по пути понимания их роли в общей системе процессов жизнедеятельности растительного организма в целом и его отдельных органов. Занимаясь еще недавно лишь описанием явлений, физиология растений получила теперь возможность детально изучить лежащие в основе этих явлений молекулярные процессы, выявить взаимосвязь этих процессов и зависимость их от условий жизни организмов.

Гораздо менее ощутимыми являются успехи физиологии растений на пути приложения экспериментальных данных и теоретических выводов к практике сельскохозяйственного производства. Этот разрыв объясняется в первую очередь отставанием частной физиологии, т. е. физиологии отдельных культур.

Известно, сколь специфичны индивидуальные физиологические особенности, которые свойственны отдельным видам сельскохозяйственных растений. В связи с этими особенностями закономерности, установленные на одном каком-либо растении, оказываются нередко совершенно неприменимыми к другому растению.

Возникает совершенно отчетливая необходимость проверки целого ряда положений на конкретных растениях и прежде всего на культурах, призванных сыграть основную роль в повышении продуктивности сельскохозяйственного производства. Лишь располагая полными знаниями о всех физиологических особенностях конкретного растения, физиология растений в состоянии давать вполне обоснованные и конкретные рекомендации растениеводству.

Исследования частной физиологии растений имеют еще одну важную сторону. Речь идет о создании сравнительной физиологии, которая может оказать неоценимую услугу в решении ряда теоретических вопросов, принципиально важных для селекционно-генетических и других проблем биологии и сельскохозяйственной науки и практики.

Руководствуясь этими соображениями, коллектив кафедры физиологии растений Московского государственного университета взял на себя труд подготовить и осуществить издание ряда

монографий по частной физиологии растений, широко используемых в сельскохозяйственном производстве. Активное участие в осуществлении этого труда принимают многие ученые нашей страны.

Основная задача предпринимаемого издания заключается в систематическом и возможно более полном изложении отечественных и зарубежных материалов, касающихся важнейших физиологических процессов, их сочетания в организме и изменений под влиянием условий культуры (климат, почва, удобрения, обеспечение водой и др.). Необходимость возможно более полного изучения всех физиологических функций отдельных сельскохозяйственных растений вытекает из того, что продуктивность растительного организма зависит от сочетания отдельных функций растения в тех или иных условиях его возделывания (почвенно-географические условия, система земледелия, агротехника).

Необходимо отметить, что уже первые шаги по подготовке настоящего издания были сопряжены с очень серьезными трудностями. Они вытекают из отмеченных выше особенностей развития физиологии растений.

В то время как некоторые растения служили постоянными объектами фитофизиологических исследований и вследствие этого изучены достаточно всесторонне и глубоко, по многим другим растениям, столь же давно используемым в земледелии, материалов по физиологии почти нет или они очень фрагментарны. Поэтому оказалось пока невозможным подготовить монографии по всем культурам; по ряду культур мы вынуждены довольствоваться материалами неполными, зачастую отрывочными.

Осуществляя настоящее издание, редакционная коллегия рассчитывает на требовательное и, вместе с тем, доброжелательное внимание широких научных кругов, а также многочисленной армии практиков сельского хозяйства, которые, ознакомившись с настоящим трудом, помогут нам своими критическими замечаниями и предложениями и тем самым будут содействовать делу дальнейшего его совершенствования. Только при этом непременном условии могут быть преодолены препятствия, стоящие на пути создания полноценной частной физиологии растений, до конца оправдывающей роль научной базы земледелия.

Всего будет издано 12 томов. В первых трех томах будут изложены материалы по физиологии отдельных функций растения, а остальные тома будут содержать монографическое описание физиологических особенностей важнейших сельскохозяйственных растений.

Издание будет осуществлено в 1966—1969 гг. Оно рассчитано на широкие круги работников сельскохозяйственной науки, агрономов колхозов и совхозов, руководящих работников в области сельского хозяйства, преподавателей ботаники.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТКИ

В настоящей главе рассматриваются современные воззрения на физико-химическую организацию и физико-химические свойства клетки. Однако специфика живой клетки такова, что она не исчерпывается только описанием происходящих в ней химических и физических процессов и структурных перестроек. Основой этой специфики и ее характерной чертой является тесная взаимосвязь и взаимообусловленность физических, физико-химических и биохимических процессов с процессами физиологическими, отражающими свойства и реакции клетки как целого. Поэтому современный этап в развитии физиологии клетки характеризуется тесным взаимодействием изучения физико-химических процессов в живой материи в «молекулярном масштабе» и тех процессов, которые являются клеточными реакциями, т. е. реакциями, складывающимися из многообразного переплетения функций и свойств биологических структур клетки.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПРОТОПЛАЗМЫ¹

Основой клеточной организации, выражением ее сущности, как живого, является протоплазма — основное содержимое любой живой клетки. Протоплазма характеризуется гомогенностью, нерастворимостью в воде, эластичностью, сократимостью, способностью к обратимым изменениям своего состава и вязкости. Эти свойства протоплазмы сохраняются лишь до тех пор, пока это вещество находится в живой интактной клетке.

С физико-химической точки зрения протоплазму можно рассматривать как сложную коллоидную систему, обладающую

¹ С физико-химической организацией протоплазмы подробнее можно познакомиться в книге А. Г. Пасынского «Коллоидная химия» (изд. 2, 1963).

шую всеми свойствами и признаками макромолекул в растворе.

Определение коллоидного состояния вещества можно дать, основываясь на следующих признаках: 1) коллоиды не проходят через поры естественных мембран; 2) коллоидные частицы отделены от непрерывной среды активными поверхностями; 3) коллоидные растворы обладают сильным светорассеиванием (эффект Тиндэля); 4) коллоиды отличаются очень малой скоростью диффузии.

Эти общие свойства коллоидов относятся к весьма обширной группе коллоидных систем; в сложной гетерогенной среде (какой, в частности, является протоплазма) может присутствовать одновременно несколько коллоидных систем.

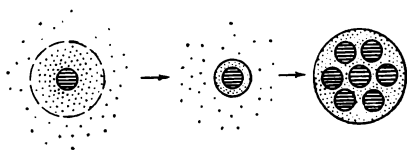


Рис. 1. Образование коацерватов (Bungenberg de Jong, 1956)

Важной коллоидной системой являются эмульсии. Характерным свойством эмульсий является то, что дисперсная фаза и дисперсионная среда в них — жидкие, однако они не смешиваются между собой. Примером могут служить капельки жира и масла (микроскопического и субмикроскопического размеров), находящиеся в водной фазе протоплазмы.

Другой важной коллоидной системой являются эмульсоиды. Их отличительная черта — взаимное соединение между дисперсионной средой и дисперсной фазой. Стабильность таких коллоидных систем объясняется двумя свойствами: наличием электрического заряда и наличием сил сцепления с дисперсионной средой (образование так называемого сольватационного слоя).

В сольватационном слое молекулы растворителя (например, воды) ориентируются и поляризуются под влиянием электрического заряда. К эмульсоидам относятся растворы белков и некоторых углеводов в воде.

Еще более сложной системой коллоидов являются коацерваты (рис. 1.). Коацерваты представляют собой такую коллоидную систему, в которой произошло отщепление (разделение) однородного коллоидного раствора на два слоя — обедненный и обогащенный коллоидными частицами (Евреинова, 1954). В результате действия поливалентных ионов или взаимодействия двух гидрофильных коллоидов противоположных зарядов возникают так называемые сложные коацерваты (рис. 2). Поддержанию стабильности сложных коацерватов способствует то, что при их образовании происходит увеличение сил притяжения между положительно и отрицательно заряженными частицами коллоида.

По современным воззрениям, протоплазма построена по типу сложных коацерватов. Белки протоплазмы представляют собой большей частью конъюгированные белки, т. е. соединения простых белков с другими веществами (нуклеиновыми кислотами, углеводами, высшими жирными кислотами и т. д.). При соединении с белком эти вещества образуют сложные коацерваты.

Особый тип коацерватов, изучение которых имеет большое значение для понимания физико-химического состояния

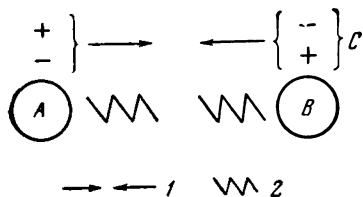


Рис. 2. Строение коллоидной частицы при образовании внутрикомплексного коацервата (Евреинова, 1954).

A и B — коллоидные мицеллы; C — двойной слой:

1 — силы притяжения, 2 — силы отталкивания

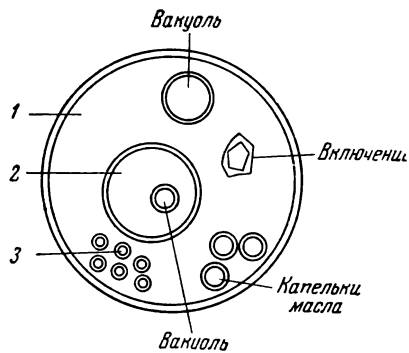


Рис. 3. Модель клетки по Бунгенберг де Ионгу (Евреинова, 1954): 1, 2, 3 — коацерваты

протоплазмы, представляют так называемые внутрикомплексные коацерваты (Опарин и Евреинова, 1954). Они образуются при адсорбции противоположно заряженных ионов на коллоидных мицеллах; последние как бы покрыты двойным слоем ионов. Многочисленные опыты показали, что коацерваты имеют ряд общих свойств с протоплазмой и что образование организованных структур в клетке также обусловлено процессом коацервации (рис. 3) (Boij, Bungenberg de Jong, 1956). В частности, соединение белковых растворов с нуклеиновыми кислотами дает внутрикомплексные коацерваты, в которых на белковых молекулах адсорбируются молекулы нуклеиновых кислот. Исследования коацерватных мицелл дают возможность предположить, что коацерваты протоплазмы представлены коацерватами сложного типа, а коацерваты ядра — внутрикомплексными.

Имеется еще одно существенное свойство коллоидных растворов, которое сближает их с физико-химическим состоянием протоплазмы. Это свойство связано со способностью коллоидных растворов находиться в двух состояниях — золя и геля. Золь — это жидкое состояние коллоида, в котором он обладает вязкостью (как и все жидкости); гель — это твердое

(или полутвердое) состояние коллоида, в котором он проявляет себя как твердое тело, т. е. обладает эластичностью, стремлением сохранить свою форму, растяжимостью и т. д. Отличительной особенностью коллоидов является способность переходить от состояния золя к гелю, и наоборот (так называемый «золь-гель переход»). Золь-гель переход в коллоидных системах можно вызвать различными способами: изменением температуры или концентрации водородных ионов, прибавлением электролитов, механическим воздействием. Превращение геля в золь при механическом воздействии называется *тиксотропией*. Это явление имеет большое значение для понимания физико-химического состояния протоплазмы. Например, многочисленные функционально-морфологические изменения протоплазмы можно рассматривать с точки зрения поведения тиксотропного геля.

Такими свойствами коллоидов, как аномальная вязкость (зависимость вязкости от давления), двойное лучепреломление, тиксотропные свойства, обладает и протоплазма живых клеток (Кедровский, 1946). Так, отчетливо было показано двойное лучепреломление митотического веретена, оболочки ядра, митохондрий, отмечено наличие аномальной вязкости у протоплазмы харовых водорослей. Тиксотропные свойства протоплазмы были обнаружены при исследовании разного рода течений протоплазмы, прямыми опытами с помощью микроманипуляции, определением вязкости (Гельбрунн, 1957).

Таким образом, протоплазму можно рассматривать как полифазную коллоидную систему, состоящую из высокомолекулярных соединений, диспергированных в водной среде.

Физико-химические представления о структурных свойствах протоплазмы должны быть тесно увязаны с рассмотрением надмолекулярных субклеточных структур. Электронно-микроскопические исследования показали наличие в протоплазме клетки различных нитевидных, пузырьковых, трубчатых, мембранных и другого рода структурных образований. Поэтому биологические процессы, протекающие в клетке, определяются не только ее коллоидно-физическими свойствами, но и физико-химическими явлениями, происходящими на многочисленных поверхностях раздела, образуемых надмолекулярными структурами (Эльпинер, 1953).

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРОТОПЛАЗМЫ

Наши знания жизнедеятельности клетки основаны на данных о физико-химических свойствах ее компонентов. Получаемые экспериментальные результаты характеризуют физико-химическое состояние живой протоплазмы и описывают изменение ее оптических, электрических, термических и механических

ких свойств в состоянии различной функциональной активности. Наибольшее внимание привлекают те физико-химические показатели, которые выражают структурные и электро-кинетиические свойства живой клетки: вязкость, окислительно-восстановительный потенциал, концентрация водородных ионов, положение изоэлектрической точки. Рассмотрению многочисленных данных по физико-химическим свойствам клетки посвящены обстоятельные монографии (Макаров, 1948; Гейльбрунн, 1957; Hewitt, 1950; Small, 1955 и др.). Здесь мы остановимся кратко лишь на некоторых из характеристик и на том новом освещении в понимании этих характеристик, которое появилось в научной литературе последних лет.

Вязкость коллоидов протоплазмы характеризует их структурное состояние и действующие между ними силы. Изучение вязкости протоплазмы показало, что этот показатель тесно связан с физиологической активностью клетки. Биоколлоиды протоплазмы клетки, находящейся в покое, соответствуют состоянию золя, переход ее в активное состояние вызывает повышение вязкости протоплазмы вплоть до образования геля. Такая глубокая перестройка биоколлоидов протоплазмы объясняется наличием различных сил сцепления между ними (электростатических, водородных, стерических), сильно и слабо действующих, действующих на близких и далеких расстояниях (Штокмайер, 1961). Необычное поведение протоплазмы в виде жидкости и в то же время полутвердого тела рассматривается как проявление структурной вязкости. Структурная вязкость протоплазмы связана со способностью протоплазменных мицелл образовывать нестойкие временные связи. Характерно, что указанное свойство принадлежит высокополимерным соединениям — биологическим макромолекулам (белкам, нуклеиновым кислотам). Многообразные изменения вязкости, наблюдаемые в живых клетках, связаны со специфической способностью макромолекул к локальному изменению их структуры и обратимым изменениям их биологических функций. При изучении вязкости протоплазмы в настоящее время учитывается и то, что составляющие протоплазму биологические макромолекулы представляют собой полиэлектролиты, способные менять свою конфигурацию, сокращаться, растягиваться при изменении концентрации водородных ионов в среде (Волькенштейн, 1958).

Изоэлектрическая точка (ИЭТ) биоколлоидов является основной электроколлоидно-химической характеристикой клеточных компонентов. С физико-химической точки зрения она определяет равновесное состояние противоположно заряженных групп амфолита.

При цитохимическом анализе ИЭТ определяется с помощью окрашивания клеток растворами основных и кислых красителей различного рН.

Изучение сложных взаимоотношений белков, нуклеиновых кислот и липидов в клетке позволило по-новому оценить значение ИЭТ. Изменения связывания красителей в зависимости от рН дают возможность отличать различные белки (Singer, 1957), в то же время ИЭТ может характеризовать нуклеопротеидный комплекс, поскольку связывание основных красителей пропорционально количеству и степени диссоциации фосфорнокислых групп (Шабадаш, 1956). Кроме того, исследования показали, что ИЭТ, характеризующая электроколлоидальные свойства цитоплазмы, обусловлена по крайней мере тремя факторами — наличием свободной рибонуклеиновой кислоты, относительным содержанием рибонуклеопротеидов и составом белкового комплекса, а также его структурным состоянием (Конарев, 1958).

Окислительно-восстановительный потенциал имеет большое значение для жизнедеятельности клетки, так как все основные обменные процессы связаны с различными реакциями окисления и восстановления. Окислительно-восстановительный потенциал зависит от парциального давления кислорода, концентрации энзимов и метаболитов в клетке. Последовательность окислительно-восстановительных реакций в клетке определяется теми потенциалами, которые устанавливаются в тех или иных ферментных системах или субстратах.

ЛИТЕРАТУРА

- Волькенштейн М. В. Изв. АН СССР, сер. биол., 1958, № 1, 3.
Гельбрунн Л. Динамика живой протоплазмы. М., ИЛ, 1957.
Евренинова Т. Н. Усп. совр. биол., 1954, 37, вып. 2.
Кедровский Б. В. Белковая структура клеточного тела. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1946.
Конарев В. Г. ДАН СССР, 1958, 118, № 2.
Макаров П. В. Физико-химические свойства клеток и методы их изучения. Изд-во ЛГУ, 1948.
Опарин А. И. и Евренинова Т. Н. Сб. «Новые данные по проблеме развития клеточных и неклеточных форм живого вещества». М., Медгиз, 1954.
Пасынский А. Г. Коллоидная химия, изд. 2. М., «Высшая школа», 1959.
Шабадаш А. Л. ДАН СССР, 1956, 114, № 3.
Штокмайер В. Х. Сб. «Совр. пробл. биофизики», т. I. М. ИЛ, 1961.
Эльпинер И. Е. Усп. совр. биол., 1953, 36, № 1(4).
Voij H. L. a. Bungenberg de Jong. Protoplasmatol., 1956, 1, № 2.
Hewitt L. F. Oxidation-reduction potential in bacteriology and biochemistry, 1950.
Singer M. Int. Rev. Cytol., 1957, 1. Small J. Protoplasmatol., 1955, 2.
-

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Исследования клетки и ее органоидов начаты с момента ее открытия. Из-за очень малых размеров субклеточных структур при исследовании их приходилось преодолевать огромные теоретические и методические трудности. Основным орудием исследования клетки был микроскоп, и успехи в микроскопической технике определяли прогресс науки о клетке. Когда была достигнута предельная разрешающая способность микроскопа, были сформулированы и основные представления о структурной организации клетки.

В меристематической клетке оказались хорошо видимыми клеточная оболочка, ядро и цитоплазма, а во взрослой клетке — вакуоль, занимающая значительную часть ее внутреннего объема.

В ядре, имеющем обычно шаровидную форму, хорошо видны одно или несколько ядрышек. При делении ядра легко обнаруживаются такие структурные образования, как хромосомы и веретено. В цитоплазме при соответствующем увеличении микроскопа можно видеть следующие субклеточные структуры: 1) пластиды; 2) митохондрии — сферические, палочковидные или нитевидные органоиды; 3) сферические секреторные гранулы, отличающиеся от митохондрий только различным отношением к прижизненным красителям; 4) капельки жира и зерна крахмала, которые легко отличить от органоидов клетки по их оптическим свойствам и реакциям на окрашивание; 5) аппарат Гольджи (в животных клетках), представляющий собой сеточку из переплетенных нитей, или же имеющий вид гранул, часто серповидной формы, расположенных в цитоплазме группой или отдельными гранулами.

Несмотря на огромное разнообразие клеток тела растений, все они оказались построенными по единому плану, всем им свойствен определенный набор органоидов. Кроме

того, на уровне субклеточных структур стираются различия между растительной и животной клеткой. В структуре и функции таких органоидов, как ядра, митохондрии и рибосомы, принципиальных отличий между животной и растительной клеткой пока не обнаружено.

В течение длительного времени, широко используя методы гистохимии, исследователи пытались выяснить химический состав видимых органоидов клетки и, главное, подойти к изучению их функции.

Совершенствование микроскопической техники (интерференционная микроскопия, ультрамикроскопия, поляризационно-оптические исследования, рентгеноскопия) не принесло решающих сдвигов в расшифровке структуры цитоплазмы, в познании формы и функции видимых органоидов клетки.

Обнадеживающие результаты по изучению химического состава клетки и ее органоидов были получены при применении флуоресцентной и ультрафиолетовой микроскопии, позволивших несколько шире интерпретировать функцию отдельных органоидов клетки.

Новый, исключительно продуктивный этап в исследовании структурной организации клетки начался с момента изобретения электронного микроскопа и разработки способа выделения органоидов клетки в количествах, достаточных для проведения почти всех обычных биохимических исследований.

Метод фракционного, или дифференциального, центрифугирования, использование изотопов в сочетании с электронным микроскопом позволили обнаружить в цитоплазме новые структурные образования и развернуть широким фронтом изучение функции отдельных органоидов. Если в недалеком прошлом изучением органоидов клетки занимались главным образом цитологи, то новые методы позволили включиться в эти исследования физиологам, биохимикам и биофизикам. В последнее десятилетие в познании клетки было сделано значительно больше, чем за предыдущие сто лет.

Для общей характеристики современного представления о структуре растительной клетки, основанного на данных электронной микроскопии, мы приведем ее схематическое изображение (рис. 4), взятое нами из доклада Ж. Дюсе на V Международном биохимическом конгрессе. В целях более целенаправленного рассмотрения значимости отдельных структурированных субклеточных систем в обмене веществ в клетке Д. Е. Грин (1961) разделил их на три большие функциональные группы: 1) преобразующие машины (например, митохондрии и хлоропласты), катализирующие трансформацию энергии; 2) реплицирующие машины (например, рибосомы), катализирующие репликацию белков и других биополиме-

ров; 3) интегрированные метаболические системы (например, клеточные гранулы), участвующие в синтезе жирных кислот и холестерина и катализирующие мультиэнзимные синтетические процессы. Несомненно, что такая группировка позволила дать Грину развернутую картину структуры и организации митохондрий как преобразующих энергию машин.

Однако при такой группировке неизвестно, куда же поместить основной органоид клетки — ядро. При этом как будто бы полностью исключается возможность трансформации энергии в других органоидах клетки, кроме митохондрий и хлоропластов. Обнаружение рибосом в митохондриях и ядре также нарушает принцип группировки, предложенный Грином.

Следовательно, она в какой-то степени помогает более целеустремленно рассмотреть ведущую, определяющую функцию отдельных органоидов клетки, но далеко не достаточно для понимания взаимодействия органоидов клетки и их роли в ее метаболизме.

ПРОТОПЛАЗМА

Основную роль среди всех компонентов протоплазмы играют белки. Эта главенствующая роль белков определяется теми исключительными свойствами, которыми они обладают: необычайной химической реактивностью, разнообразием форм, способностью к структурообразованию и специфической активностью. Высокая химическая реактивность белковых молекул находит свое отражение в том, что в протоплазме они всегда соединены в сложную комплексную систему с другими важными соединениями: нуклеиновыми кислотами, углеводами, липидами и т. д.

Эти комплексные системы под влиянием различных внешних воздействий способны к обратимым изменениям формы, соединению и разрушению, к изменению активности, выражающейся в усилении или уменьшении жизнедеятельности клетки в целом.

Представление о протоплазме как о сложной гетерогенной коллоидальной системе требовало четкого представления об основных компонентах этой системы: дисперсной фазе и дисперсионной среде. Прямые и косвенные методы исследования (микрургия, фазово-контрастная микроскопия, изучение двойного лучепреломления, структурной вязкости, рефракции и т. д.) подтверждали, с одной стороны, наличие в протоплазме субмикроскопических единиц нитевидной (фибрилярной) формы, а с другой стороны, показывали существование гранулярных (глобулярных) частиц. Вместе с тем, при электронномикроскопических исследованиях было обнаруже-

но, что протоплазма может иметь разное строение: сетчатое, пластинчатое, фибриллярное, гранулярное. Ряд авторов считает, что такие различные проявления субмикроскопического строения протоплазмы — глобулярных и фибриллярных белков и их взаимных превращений. Наиболее полное выражение этот взгляд получил в предложенной Фрей-Висслингом теории соединения (Frey-Wyssling, 1957). Согласно этой теории, основной элементарной единицей субмикроскопической структуры протоплазмы являются глобулярные макромолекулы, состоящие из сильно извитых линейных полипептидных цепей. Такие глобулярные макромолекулы, соединенные в виде нитки бус, образуют фибриллы или пластины. Эти линейные образования способны к различным поперечным соединениям, в результате чего образуется более или менее твердая сеть («остов» протоплазмы) (Frey-Wyssling, 1953). Образование ансамбля таких упорядоченных соединений имеет не случайный характер, а следует опреде-

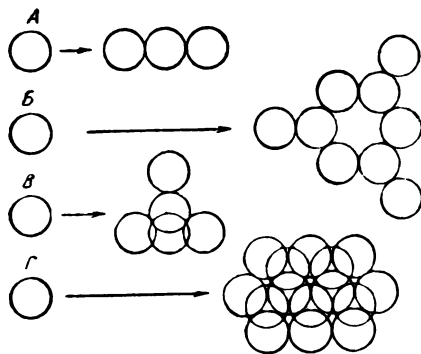


Рис. 5. Агрегация глобулярных макромолекул путем соединения (Frey-Wyssling, 1957).

На схеме показаны типы соединения глобулярных макромолекул:
 А — цепочка; Б — пористая пленка; В — кристаллическая решетка; Г — сплошной слой

ленным полям притяжения на поверхности сложных глобулярных единиц. По мнению Фрей-Висслинга, эти поля притяжения играют ту же роль, что и координационные числа в кристаллообразовании¹. Если макромолекулы являются сильными диполями, то такие поля притяжения находятся на их противоположных сторонах и в этом случае возможно образование цепей (и, следовательно, фибриллярных структур) из глобулярных единиц. Соединения из трех таких элементов образуют пористую пленку (рис. 5). Между соседними полипептидными цепями возможны 4 различных типа связи: 1) гетерополярные силы межмолекулярного воздействия, вызываемые диполями. вследствие гидратации коллоидной системы; 2) гетерополярные валентные связи, чувствительные к изменению рН (эфирные, или солевые, связи); 3) гомеополярные валентные связи, зависящие от окислительно-восстановительного потенциала (дисульфидная связь); 4) термолабильные гомеополярные

¹ Координационное число показывает, сколько молекул притягивается центральной сферой при постепенном выпаривании растворителя.

силы межмолекулярного взаимодействия (например, связь белковых молекул через метильные группы) (Фрей-Вислинг, 1950).

В связи с установлением того факта, что протоплазма состоит не из открытых полипептидных цепей, а из сильно спирализованных закрученных макромолекул, сейчас большое внимание уделяется не только внутримолекулярным силам, но и силам межмолекулярного взаимодействия (так называемым длиннодействующим силам (Вооф, 1961).

ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СТРУКТУРЫ ЦИТОПЛАЗМЫ

Электронная микроскопия открыла необычайно сложный и разнообразный мир субмикроскопических структур протоплазмы. Детальные исследования этих субмикроскопических структур начались сравнительно недавно, однако уже сейчас электронно-микроскопические картины фиксированных клеток имеют большое постоянство своих основных черт и показывают четкие изменения субструктур при изменении функциональной активности клеток.

Приготовление биологического материала для исследования в электронном микроскопе требует особой обработки (фиксация, контрастирование, обезвоживание, заделывание в пластмассы или резины, просмотр среза в вакууме и т. д.). Естественно, что такая обработка вызывает различные изменения в исследуемом объекте и в основных веществах, составляющих его структуры, — белках, липоидах, нуклеиновых кислотах. Эти изменения должны строго контролироваться, поскольку при электронномикроскопическом исследовании объекта имеют дело с молекулярными масштабами, где определение размера той или иной структуры приобретает особое значение.

Как известно, протопласт растительной клетки включает в себя цитоплазму¹, ядро, вакуоль. Цитоплазма состоит из мезоплазмы, плазмалеммы и тонопласта.

Мезоплазма представляет собой центральную часть цитоплазмы, состоящую из основной цитоплазмы и цитоплазматических включений (пластиды, митохондрии, диктиосомы и т. д.).

Плазмалемма (эктопласт) и тонопласт представляют собой мембраны толщиной около 100 Å, находящиеся соответственно на внешней и внутренней поверхностях мезоплазмы.

Основная цитоплазма (гиалоплазма) — это сложная гетерогенная система с целой серией субмикроскопических струк-

¹ Цитоплазму можно кратко определить как протоплазму, находящуюся вне ядра.

тур, доступных наблюдению только в электронном микроскопе. Все субмикроскопические структуры, находящиеся в основной цитоплазме, окружены непрерывной фазой, называемой цитоплазматической матрицей (или гиалоплазменной матрицей). В своем большинстве матрица состоит из макромолекулярной смеси, основой которой являются глобулярные белки, способные к обратимым глобулярно-фибрилярным изменениям. На электронномикроскопических фотографиях цитоплазматическая матрица видна в виде гомогенного или очень тонко зернистого вещества, имеющего низкую электронную плотность. Эта зернистость вследствие очень малого размера плохо поддается разрешению в электронном микроскопе. Зернистые образования могут наблюдаться в виде скоплений типа хлопьевидных агрегатов, но в этом случае они представляют собой артефакты, возникшие вследствие всей подготовительной обработки (Strugger, 1957).

В этой гомогенной матрице можно наблюдать различные четкие образования большой электронной плотности. Эти образования соединены в весьма сложную структурную организацию, пронизывающую всю мезоплазму. Одной из основных ультраструктур цитоплазмы является эндоплазматическая сеть (эндоплазматический ретикулум). Она представляет собой систему ограниченных мембранами пузырьков, трубочек, цистерн различного размера и формы, находящихся во всей основной цитоплазме (см. рис. 4). Было показано, что в растительных клетках эндоплазматическая вакуолярная сеть может быть связана с плазмалеммой и в то же время с ядерной оболочкой (Buvat, 1959). Это приводит исследователей к мысли о едином происхождении плазменной и ядерной оболочек и тесной связи всех структурных образований в функциональной деятельности клетки. На основе подобных исследований цитоплазма клетки рассматривается состоящей из двух структурных фаз, разделенных непрерывной системой мембран. Одна из этих фаз содержит цитоплазматическую матрицу и связана с ядром, а вторая, более или менее пустая, связана с внешним окружением (Mercer, 1960).

Другим важным компонентом цитоплазмы являются рибонуклеопротеидные частицы, или рибосомы. Рибосомы представляют собой частицы высокой электронной плотности диаметром около 150 Å, которые либо находятся свободно в цитоплазме, либо связаны с внешней стороной мембран эндоплазматической сети. При дифференциальном ультрацентрифугировании рибосомы и мембраны эндоплазматической сети выделяются в виде особой фракции микросом, свойства которой подробно рассмотрены ниже (стр. 39). Функциональное значение рибосом окончательно еще не выяснено, но показана их тесная связь с синтезом белка в клетке и общими ростовыми процессами (Setterfeld, 1961).

В связи с рассматриваемыми субмикроскопическими структурами заслуживает внимания анализ электронномикроскопических изображений клеток меристемы кончика корня лукавницы (*Allium cepa*) по Штруггеру (Strugger, 1957). В гомогенной цитоплазматической матрице можно наблюдать глобулярные образования большой электронной плотности. Эти образования часто располагаются в виде одинарных или двойных рядов, соединенных поперечными связями, либо образующих небольшие нити, серповидные кружки и т. д. Анализируя электронномикроскопические фотографии, Штруггер приходит к заключению, что в цитоплазме существуют субмикроскопические

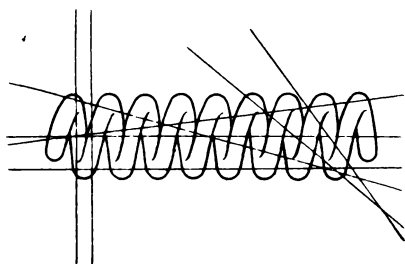


Рис. 6. Схематическое изображение спирально закрученной цитонемы (Strugger, 1957). Прямые линии показывают возможные плоскости срезов цитонемы

спирально закрученные нити (рис. 6). Подобные спирализованные нити образуют основную массу субмикроскопических структурных элементов цитоплазмы, так называемую «цитонему» (рис. 7). Диаметр этих нитей 150—180 Å, а диаметр образуемых ими спиралей в среднем 430 Å; о длине их трудно сейчас сказать поскольку исследовались ультратонкие срезы, но максимальная длина равняется 3135 Å. Таким

образом, все видимые на ультратонких срезах глобулярные элементы представляют собой срезы основных спирально закрученных нитей, сделанных в различных плоскостях (рис. 8). Эти заключения Штруггера совпадают со взглядами других исследователей, указывающих, что принцип спиральной структуры является самым характерным признаком субмикроскопической морфологии. Наглядным доказательством этого является обнаружение спиральной структуры α - и β -белков, нуклеиновых кислот и даже вирусных частиц (Frey-Wisling, 1957). Интересные подсчеты были сделаны при рассмотрении протоплазмы растительных клеток (Brown, 1960). Если принять среднее содержание белка в клетке равным 2×10^{-9} г, то площадь, которую займет это количество белка в виде монослоя, составит 400 000 $\mu\text{к}^2$. Если принять среднюю площадь клетки равной 20 000 $\mu\text{к}^2$, то, следовательно, в пределах клеточной стенки могут расположиться около 20 последовательных слоев белка. Даже если увеличить это число в 2,5 раза (50 слоев), то трудно представить, как они могут быть построены в сложный структурный комплекс эндоплазматической сети. Вместе с тем, хотя эндоплазматическая сеть хорошо наблюдается на ультратонких срезах и, как свидетельствуют элек-

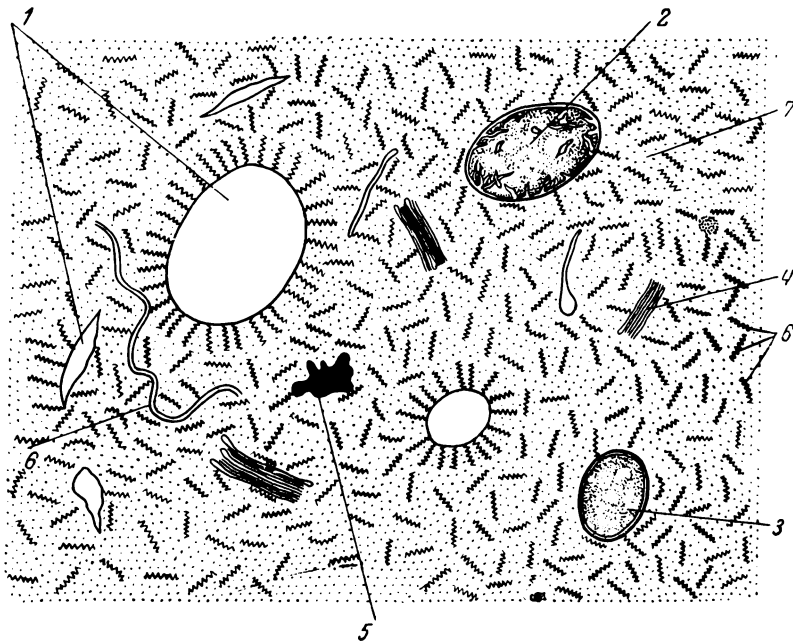


Рис. 7. Схематическое масштабное изображение субмикроскопического строения цитоплазмы меристематических клеток кончика корня лубковицы:

1 — вакуоли, 2 — митохондрия, 3 — сферозома, 4 — диктиосома, 5 — звездообразное тело, 6 — двойные ламеллы, 7 — цитонема

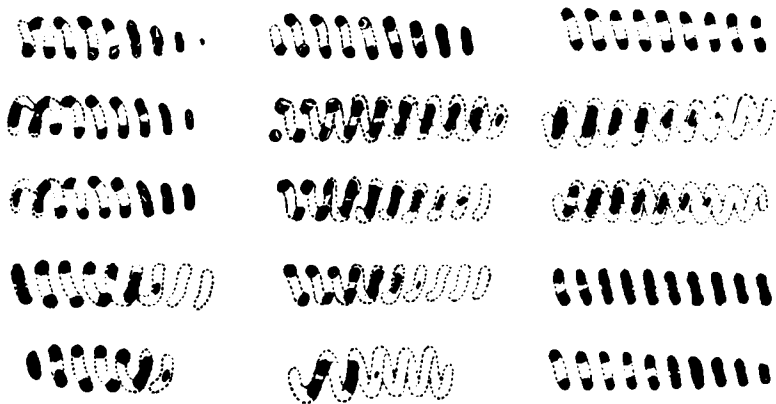


Рис. 8. Схематическое изображение некоторых возможных типов плоских срезов цитонемы различного наклона и положения (Strugger, 1957)

тронные микрофотографии, весьма чувствительна к деформации, изменению условий питания, температуры, нет доказательств ее высокой лабильности. Если считать эндоплазматическую сеть твердой структурой, то трудно объяснить изменение таких физических характеристик, как структурная вязкость, переход золя в гель и т. д. Все это указывает на большую сложность, с которой сталкиваются цитофизиологи при исследовании клетки на ультраструктурном уровне, и свидетельствует о той большой работе, которую предстоит провести, чтобы воссоздать правильную и полную картину ультраструктурной организации клетки, тесно увязанную с современными физико-химическими данными о живой протоплазме.

ОРГАНОИДЫ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Сохраняя историческую последовательность в изучении органоидов клетки, мы рассмотрим сначала структуру и функцию ядра, затем митохондрий, рибосом, аппарата Гольджи и некоторых других ее органоидов.

КЛЕТОЧНОЕ ЯДРО

Ядро является первым органоидом клетки, который привлек внимание исследователей. Во всех учебниках цитологии центральное место занимают вопросы морфологии, физиологии и биохимии ядра. О ядре написано много сводок, монографий, в которых широко освещаются история развития учения о ядре, его морфология и функция. Мы приведем работы лишь последних лет, в которых с достаточной полнотой освещается литература о ядре (Brachet, 1957; Allfrey, Mirsky, Stern, 1955; Caspersson, 1950; Claude, 1949; Davidson, 1953; Kuster, 1956; Milovidov, 1949; Макаров, 1960). Интерес к этому органоиду обусловлен тем, что за клеточным ядром признается ведущая роль в жизнедеятельности клетки, морфогенезе, передаче наследственных свойств. Здесь не будем касаться всех аспектов исследования ядра, а лишь коротко остановимся на некоторых новых данных о его структуре, химическом составе и роли в метаболизме клетки.

Химический состав ядра клетки

Успехи исследований химического состава ядер в сильной степени зависели от качества методов выделения ядер в чистом виде, совершенства и чувствительности цитохимических и гистохимических методов¹.

¹ Подробное описание методов гистохимии и цитохимии, их критическая оценка даны в монографиях Д. Глика (1950), А. Э. Пирса (1956), Г. И. Роскина (1957) и в сборнике статей «Методы цитологического анализа» (1957).

Наиболее ценные результаты о составе ядер были получены при анализе выделенных ядер, поэтому исследователи так много уделяли внимания методам получения чистых ядер, не загрязненных другими органоидами клетки или продуктами их распада.

В последние годы для выделения ядер в основном используется метод дифференцированного центрифугирования в водной или безводной среде. При этом довольно часто преимущество отдается последнему способу, так как при выделении ядер в водной среде возможно вымывание компонентов ядра и адсорбция на их поверхности мелких гранул или же растворенных соединений в гомогенате.

Метод выделения ядер в неводной среде также имеет свои недостатки. Прежде всего, это большая сложность метода, а затем возможность резкого изменения активности ферментов.

Даунс (1955) приводит следующие данные о составе клеточных ядер (в % на сухое вещество): белка — 74—90; РНК — 2—5; ДНК — 4—12; липидов — 3—11. Довольно близкие цифры приводятся для ядер клеток растительных тканей: белка — 50—80%; ДНК — 5—10%; РНК — от 3,3% до 0,5%; липидов — от 8 до 12% (Segra, 1955). Интересно отметить, что оба автора воздерживаются от приведения данных процентного содержания минеральных веществ, хотя в литературе неоднократно сообщалось о количестве в ядре минеральных веществ, полученных на основании микроозоления (Кизель, 1940).

Нужно сказать, что суммарное определение состава ядра на данном уровне развития наших знаний о функции органоидов клетки явно не удовлетворяет исследователей. Одним из наиболее надежных количественных показателей химического состава ядра являются липиды. Это объясняется главным образом тем, что большинство применяемых методов для выделения ядер позволяет сохранить в них липиды в неизмененном виде. Кратко остановившись на химическом составе целого изолированного ядра, посмотрим, каким образом обнаруженные в ядре вещества распределяются между структурными элементами.

Белки клеточных ядер. Из приведенных выше данных следует, что основная масса клеточных ядер состоит из белков. Существовавшее длительное время представление, что ядра содержат только щелочные белки типа протаминов и гистонов, оказалось несостоятельным. По классификации И. Б. Збарского (1961), ядра содержат следующие белковые фракции: глобулиновую, дезоксинуклеопротеидную, кислый и остаточный белок. Необходимо отметить, что еще в 1936 г. А. Н. Белозерский показал, что ядра растительных клеток содержат большое количество кислого белка. Даунс (1955) в основном придерживается той же классификации ядерных

белков, что и Збарский, а именно: гистоны, глобулины, кислые и остаточные белки.

Соотношение отдельных фракций белков в ядрах различных тканей очень сильно меняется, однако в нормальной ткани, по И. Б. Збарскому (1961), всегда преобладает дезокси-нуклеопротеидная фракция. Необходимо отметить, что каждая из выделенных фракций не представляет собой гомогенного белка.

Несмотря на исключительную важность знания белков, необходимого для понимания функции ядра, наши сведения о них чрезвычайно ограничены, а следовательно, и классификация их далека от совершенства.

Нуклеиновые кислоты ядра. В связи с открытием огромной роли нуклеиновых кислот в метаболизме клетки, синтезе белков, росте, развитии, морфогенезе и явлениях наследственности в последнее десятилетие они оказались в центре внимания биологов всех специальностей.

Необходимо отметить, однако, что основная масса исследований по нуклеиновым кислотам относится к животной, а не к растительной клетке.

Уже давно забыто исходное представление о наличии двух нуклеиновых кислот — животной и растительной, или дрожжевой. Концепция об обязательном присутствии в каждой растительной и животной клетке обеих нуклеиновых кислот: рибонуклеиновой и дезоксирибонуклеиновой — развивалась как советскими, так и зарубежными исследователями (Белозерский, 1936; Feulgen, Behrens, Mahdihassan, 1937; Caspersen, 1941; Кедровский, 1942; Роскин, 1943; Brachet, 1944). Огромный размах работы и быстрое совершенствование методов исследования дали очень ценные результаты в ряде направлений. В частности, А. Н. Белозерским (1961) с сотрудниками было установлено принципиально очень важное положение: состав нуклеиновых кислот непостоянен, существует ясно выраженная видовая специфичность состава нуклеотидов в ДНК различных растений, животных и микроорганизмов. Нуклеотидный состав РНК изменяется в меньшей степени, но он также не остается стабильным.

Мы здесь не затрагиваем вопроса о структуре нуклеиновых кислот, их участии в метаболизме клетки, а хотим лишь подчеркнуть, что в органоидах клетки нуклеиновые кислоты, различного нуклеотидного состава и в разной степени полимеризованные, могут выполнять различную функцию.

В настоящее время можно считать твердо установленным, что дезоксирибонуклеиновая кислота клетки не локализована в ядре. Выше (стр. 23) мы приводили средний процент содержания ДНК в ядре. Однако в литературе опубликованы многочисленные данные значительных отклонений от средних величин. Ряд исследователей показал, что при голодании жи-

вотного процент ДНК в ядре сильно возрастает. Следовательно, содержание ДНК в ядрах чрезвычайно изменчиво не только в клетках различных организмов, но и в тканях одного органа. Многие исследователи утверждают, однако, что колебания содержания ДНК в ядре являются следствием изменения концентрации других компонентов, главным образом белка. Например, при голодании животного резко падает содержание белка в ядре; естественно процент ДНК сильно возрастет. В зависимости от физиологического состояния клетки возможны незначительные изменения абсолютного количества ДНК. Ряд исследователей (Boivin, R. Vendrely, C. Vendrely, 1948; C. Vendrely, R. Vendrely, 1948, 1949; C. Vendrely, 1952; Mirsky, Ris, 1947; Девидсон, 1952) рассчитали общее количество ДНК в органе или ткани, приходящееся на ядро, а точнее — на набор хромосом, и пришли к довольно важному заключению: среднее количество ДНК, приходящееся на одно клеточное ядро, в пределах данного вида, для нормальной покоящейся диплоидной соматической клетки является постоянной величиной, а в гаплоидных половых клетках содержится половина этого количества ДНК. Это положение является существенным доводом в обосновании генетической роли ДНК. Не все исследователи разделяют эту точку зрения; в частности, такой авторитетный ученый, как Ж. Браше (1960), утверждает, что хотя содержание ДНК в общем коррелирует с пloidностью клетки, однако нет оснований утверждать, что набору хромосом соответствует строго постоянное количество ДНК. Необходимо отметить, что в литературе имеются указания, что не вся ДНК клетки локализована в ядре; небольшие величины ДНК обнаружены в других органоидах клетки.

Вопросы о содержании РНК в ядре также являются предметом многочисленных исследований. Выше мы привели средние цифры содержания этого компонента в ядре. В действительности не только процентное, но и абсолютное содержание РНК в ядре очень сильно колеблется; оно зависит от питания, рода ткани, физиологического состояния клетки, видовой принадлежности организма.

Следовательно, мы признаем некоторое постоянство ДНК в ядре и большую вариабильность отношения РНК/ДНК.

Ферменты ядра. Вопрос о содержании ферментов в ядре издавна привлекает внимание исследователей. Ведь еще в прошлом веке Ферворн (Ferworn, 1892) высказал предположение, что ядро является центром синтетической деятельности клетки. Несколько позднее Ж. Леб развил представление о ядре как центре окислительных процессов в клетке. Э. Вильсон (1940) в своей монографии рассматривает ядро как место накопления (депо) ферментов и коферментов клетки.

Однако, когда были разработаны методики получения

большого количества ядерного материала и определения в нем ферментативной активности, довольно быстро была установлена несостоятельность представления Леба и Вильсона. Хоуджбум и его сотрудники (Hogeboom, 1953) показали, что изолированные ядра не обладают ни сукциндегидразной, ни цитохромоксидазной активностью. Обнаружение этих ферментов в ядрах является следствием их загрязнения другими органоидами клетки или продуктами их разрушения.

Таким образом, в последнее время большинство исследователей разделяет мнение, что окислительные ферменты в ядрах отсутствуют. Обнаружены и исключения из этого правила; так, например, ядра эритроцитов птиц содержат цитохромоксидазу и сукциндегидрогеназу (Rubinstein, Denstedt и др. 1956; Defendi, Pearson, 1955). Однако при этом подчеркивается, что эритроциты птиц лишены митохондрий. Есть отдельные указания на наличие в ядрах небольших количеств цитохромоксидазы. Тем не менее можно считать твердо установленным, что в ядрах отсутствуют основные ферменты цикла Кребса, этой важнейшей системы клетки, обуславливающей образование макроэргических фосфатов. В ядрах была обнаружена дегидраза яблочной кислоты, которая может осуществить лишь одну из ступеней цикла Кребса. Твердо установленные факты отсутствия в ядре окислительных ферментов развенчивали ядро как основной органоид клетки, регулирующий в ней весь обмен веществ.

Складывалось представление, что в энергетическом отношении ядро находится в прямой зависимости от других органоидов клетки, в частности от митохондрий, АТФ которых может поступать в ядра. Однако хорошо известно, что в живой клетке энергия может освобождаться и трансформироваться в АТФ в анаэробных условиях гликолитическим путем, поэтому в последние годы очень много уделялось внимания исследованию гликолитических ферментов в изолированных ядрах. В изолированных ядрах растений (Stern, Mirsky, 1952) и животных (Dounce, Beuer, 1948) было установлено довольно высокое содержание альдолазы, энлазы и дегидразы 3-фосфоглицеральдегида. Уже эти данные позволяли заключить, что гликолиз в ядрах является основным источником энергии, что в них преобладает анаэробный обмен. На V биохимическом конгрессе Г. Зильберт (1961) сообщил, что в ядрах обнаружены еще следующие гликолитические ферменты: гексокиназы, фосфофруктокиназы и приводящие к образованию АТФ на последних стадиях гликолиза фосфоглицераткиназа и пируваткиназа. Из этого следует, что в энергетическом отношении ядра являются совершенно независимыми органоидами клетки, их ферментный состав обеспечивает образование АТФ в процессе гликолиза. Наряду с этим в ядрах были обнаружены глутатион и аскорбиновая кислота.

Из гидролитических ферментов прежде всего необходимо отметить наличие в ядре щелочной фосфатазы. Хотя в последние годы и высказывались сомнения в присутствии щелочной фосфатазы в ядрах, однако очень четкая реакция Гомори на щелочную фосфатазу, полученная на срезах, а также на изолированных ядрах и хромосомах, является веским аргументом наличия в ядрах щелочной фосфатазы.

Общепризнанно, что ядра содержат ферменты, связанные с нуклеиновым обменом. Так, например, в них сконцентрированы аденозиндезаминаза и нуклеозидфосфорилаза. Хогбум и Шнейдер (Hogboom, Schneider, 1952) обнаружили в ядрах фермент, участвующий в синтезе кофермента дифосфопиридиннуклеотида (ДФН), образующийся за счет АТФ и никотинамидмононуклеотида. Из этого факта можно сделать общее заключение, что ядро является местом синтеза коферментов.

В последние годы (Herbert, Potter, Takaji, 1955 и др.) было установлено содержание в ядрах ферментов, принимающих непосредственное участие в обмене уридиннуклеотидов.

Чрезвычайно интересны данные о наличии в ядрах, изолированных в безводной среде, ферментов, активизирующих следующие аминокислоты: аланин, аспарагиновую кислоту, цистеин, глютаминовую кислоту, гистидин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, пролин, серин, треонин, триптофан, тирозин, валин, аргинин, глицин и фенилаланин. Ряд ферментов, активизирующих аминокислоты, был обнаружен и в ядрах, выделенных в сахарозе (Гвоздев и Хесин, 1960).

Таким образом, данные исследований, проведенных в последние годы, свидетельствуют о высокой метаболической активности ядер, наличии в них большого количества ферментов, обеспечивающих освобождение энергии, ее трансформацию и осуществление многообразных синтезов.

Минеральные элементы ядра. Несмотря на то, что в последние годы удается выделить большое количество ядерного материала и получить из него от 0,5 до 10 % золы, содержание минеральных веществ и их локализация в ядре чрезвычайно мало изучены (Поульсон и Боуэн, 1955; Naoga, Mirsky, Allfrey, 1961). Главным минеральным компонентом ядра является кальций, хотя в некоторых ядрах его не удается обнаружить. Довольно много в ядрах магния. Можно считать установленным, что ядра содержат Na, K, Fe, Cu, Mn, Zn, Co, Ca, Mg, Na и K могут быть обнаружены методами прямого химического анализа. О наличии других элементов свидетельствуют обнаруженные в ядрах ферменты в активном состоянии: каталаза, альдолаза, аргиназа, энолаза, щелочная фосфатаза, для которых названные выше элементы являются или составной частью, или же абсолютно необходимым активатором.

Ядерная оболочка

Данные электронномикроскопических исследований растительных и животных клеток показали, что ядерная оболочка состоит из двух слоев: внутреннего, сплошного слоя, в котором пока не удается обнаружить какой-либо структуры, и наружного, пронизанного порами диаметром 400 Å (Callan, 1952). Даусон с сотрудниками (Dawson, и др. 1955) подсчитали, что оболочка ядра нейрона содержит 10 000 пор. Необходимо отметить, что ряд ученых (Kautz, De-Marsh, 1955) не разделяет описанных выше представлений о структуре оболочки ядра.

Вопрос о наличии в ядерной оболочке пор имеет очень важное и принципиальное значение так, как пористость ядерной оболочки делает возможным беспрепятственный обмен веществ между ядром и цитоплазмой. Размеры пор допускают прохождение не только молекул белка и РНК, но и небольших агрегатов из них.

В состав оболочки ядра входят главным образом остаточные белки (Збарский, 1961).

Хромосомы

Вопрос о структуре интеркинезного ядра, долгое время дискутировавшийся в литературе, в настоящее время потерял свою остроту. Сущность спора сводилась к тому, сохраняются ли хромосомы в покоящемся ядре. В ядре во время интерфазы трудно было выявить наличие структурных образований, однако рядом исследователей центрифугированием были выделены из разрушенных ядер тонкие нити и доказано, что они являются истинными хромосомами. Использование электронного микроскопа позволило установить, что морфологической структурной единицей хромосомы является элементарная хроматиновая нить. Хромосома состоит из пучка таких нитей, расположенных параллельно ее длинной оси. Количество нитей различно в хромосомах разных организмов. Ряду исследователей (Mazia, 1954; Рис, 1960) удалось установить, что элементарная хроматиновая нить состоит из корпускул палочковидной формы длиной приблизительно 4000 Å и диаметром 200 Å. Эти корпускулы, соединяясь своими концами при помощи двухвалентных катионов — кальция и магния, образуют хроматиновую нить. Эта морфологическая элементарная единица хромосомы представляет собой нуклеопротеид, состоящий из ДНК, основного и негистонового белка. Если допустить, что элементарные единицы связаны между собой мостиками из двухвалентных катионов, т. е. связей с низкой энергией, то можно ожидать, что в определенных условиях будут получены искусственно вызванные разрывы и пере-

стройка хромосом. Действительно, если растения выращивать в среде с недостатком магния и кальция, то частота спонтанных разрывов хромосом сильно возрастет.

Химический состав элементарных хромосомных нитей, а также хромосом, выделенных из разрушенного интерфазного ядра, пока еще очень плохо изучен. Мирский и Рис (Mirsky, Ris, 1947, 1949) много внимания уделяют исследованию хромосом, полученных из разорванных ядер соматических неделящихся клеток. Правда, пока нет твердой уверенности в том, что при этом все нити, выделенные центрифугированием, являются истинными хромосомами. Эти авторы показали, что около 90% сухого вещества таких хромосом состоит из нуклеогистона. Если из них удалить ДНК и гистон, остов их сохраняется; он состоит из смеси белков (в частности, содержащих триптофан), РНК (приблизительно 7—14%) и щелочной фосфатазы. Относительно последней высказывается предположение, что она не является обязательным компонентом хромосом, а может находиться в них в результате загрязнения.

Структуре и химизму хромосом посвящена обширная литература. Однако динамика хромосомного аппарата неразрывно связана с процессом митоза, который рассматривается ниже. Нам для выяснения роли ядра в метаболизме клетки важно было установить, что хромосомы состоят главным образом из ДНК, гистонового и негистонового белка, небольшого количества РНК.

Ядрышки

Ядрышки, их форма, количество и их положение в ядре, хорошо видны в обычном оптическом микроскопе. В фазово-контрастном микроскопе уже заметна гетерогенная структура ядрышка. Оно состоит из плотного компактного содержимого, в котором включены вакуоли разнообразных размеров. В живых клетках *Acetabularia* можно видеть, что ядрышки находятся в непрерывном движении. Электронный микроскоп уже позволил более детально изучить структуру ядрышек. Оказалось, что основное вещество ядрышка состоит из сильно переплетенных нитей, названных нуклеомой и из аморфной части (Горощенко и Машанский, 1961; Kuff, Nogeboom, Dalton, 1956; Кикнадзе, 1961). Последняя отнюдь не является бесструктурным образованием; в ней можно видеть очень мелкие гранулы, похожие на гранулы Палада. Нуклеома также состоит из округлых очень плотных гранул (диаметром 100—150 Å).

Химический анализ изолированных ядрышек (Vincent, 1952; Baltus, 1954), показал, что они содержат всего от 3 до 5% РНК на сухое вещество. Интересно, что нуклеотидный

состав РНК ядрышка оказался отличным от РНК цитоплазмы. В изолированных ядрышках обнаружено значительное количество ДНК, а также тистонов (Mcnty, Litt, Kay, Dounce, 1956).

По данным Винсента (Vincent, 1952), большая часть белков ядрышек представляет собой фосфопотеиды; кроме того, в них обнаружены белки типа глобулинов. Отмечаются значительные различия в составе ядрышек разного происхождения.

По далеко не полным данным, ядрышки содержат следующие ферменты: кислую фосфатазу, нуклеозидфосфорилазу и фермент, синтезирующий дифосфопиридиннуклеозид (ДПН). Общеизвестным считается, что ядрышки образуются специализированными участками хромосом. Однако имеются указания (Rattenbury, Serra, 1952) о возможности образования ядрышек из ядерного сока, о его самостоятельном существовании. В общем нужно признать, что состав ядрышек и их функция еще очень плохо изучены.

Ядерный сок

Сведения о химическом составе ядерного сока чрезвычайно скудны и, главное, недостаточно надежны. Штих (Stich, 1951) в ядерном соке *Acetabularia* обнаружил РНК, белок и гликопротеиды.

В зародышевом пузырьке овоцитов лягушки были обнаружены следующие ферменты: дипептидаза, полипептидаза, рибонуклеаза, щелочная фосфатаза и в небольшом количестве эстераза; однако эти сведения нуждаются в тщательной проверке, так как вполне возможно, что ферменты попадают в ядерный сок из других компонентов ядра при фракционировании.

МИТОХОНДРИИ

Наряду с ядром в прошлом веке многие исследователи как в животных, так и в растительных клетках под разными названиями описывали структурные элементы цитоплазмы в форме зернышек, палочек и нитей. Однако их значение было неясно и, кроме того, не было оснований для заключения, что они являются обязательными элементами клетки. Бенда (Benda, 1898) предложил назвать определенные гранулы спермообразующих клеток митохондриями. Довольно быстро рядом исследователей было установлено, что митохондрии встречаются во всех видах животных клеток. Мевес уже в 1904 г. установил их наличие в растительных клетках и назвал хондриосомами. В огромной литературе об этих органах клеток термины «митохондрии» и «хондриосомы»

употребляются обычно как синонимы. Правда, нитевидную форму этого органоида называют хондриоконтом. В последние годы наибольшее распространение приобрел термин «митохондрии», которым мы и будем пользоваться.

После того как было доказано, что митохондрии представляют собой особую группу гранул, встречающуюся во всех клетках, интерес к ним очень сильно возрос. Без достаточных оснований им стали приписывать очень важную роль в гистогенезе и наследственности.

Интерес к митохондриям особенно возрос после появления работы цитолога Мевеса (Meves, 1904), который обнаружил, что митондрий в виде зерен и нитей очень много в молодых клетках, и утверждал, что из них возникают все форменные элементы цитоплазмы. Митохондриям он приписывал также секреторную функцию и важную роль в явлениях наследственности. Вслед за Мевесом Левитский (Lewitsky, 1910), Д. Н. Насонов (1918) утверждали, что и пластиды возникают из митондрий.

Обилие работ, посвященных исследованию функций митондрий и опубликованных в первой половине XX в., свидетельствовало лишь о большом интересе к этим органоидам клетки. Однако из-за несовершенства методов исследования функций органоидов клетки роль митондрий была неясной и непонятной. Правда, уже в 1910 г. Рего утверждал, что митондриии являются центром специфической химической активности клетки, где происходит фиксация и переработка составных частей протоплазмы. Из работ этого периода следует отметить исследования Жуайе-Лавернь (Joyet-Lavergne, 1929), который обнаружив в митондриях глутатион, предположил, что в них осуществляются процессы окисления и восстановления и что, следовательно, они играют важную роль в процессе дыхания.

Коренной перелом в исследовании функции митондрий произошел, когда Бенсло и Герр сообщили о выделении митондрий из лиофилизированного клеточного материала (Bensley, Hoerr, 1931). Разработанный затем Лазаревым и Клодом (Lasarow, 1943; Claude, 1944) метод фракционирования клеточной суспензии в сочетании с электронномикроскопическими исследованиями положил начало новому этапу в изучении морфологии и функции митондрий. В настоящее время мы располагаем огромным материалом по морфологии, химии и физиологии митондрий. Современными методами исследования полностью подтверждено прежнее представление об обязательном присутствии митондрий во всех живых клетках растений и животных.

Структура митондрий. Чаще всего митондриии имеют форму округлых зернышек, палочек или же вытянутых нитей диаметром от 0,5 до 1 мк, при крайних пределах 0,2—2 мк.

Максимальная длина их не превышает 7 мк. Форма митохондрий довольно сильно меняется в зависимости от внешних условий и физиологического состояния клетки.

Под влиянием фиксаторов, содержащих кислоту, митохондрии легко разрушаются. В живой клетке они могут быть окрашены янусом зеленым.

Данных по количественному подсчету митохондрий в клетке для установления определенных закономерностей пока еще очень мало. Бесспорно, что их количество изменяется с возрастом и функциональным состоянием клетки.

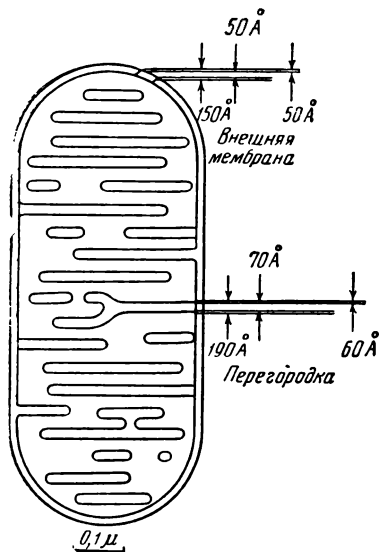


Рис. 9. Палочковидная митохондрия (схема)

перпендикулярны продольной оси митохондрий. Обнаружено большое разнообразие в протяженности внутренних мембран и плотности их упаковки. Иногда они непосредственно подходят к наружной мембране, но довольно часто занимают лишь часть поперечника митохондрий.

На электронномикроскопических фотографиях можно видеть, что мембраны состоят из двух темных слоев, разделенных светлым промежутком.

Есть указания, что толщина мембраны изменяется в зависимости от внешних воздействий, притом не однозначно, что свидетельствует о различиях, существующих между наружной и внутренней перегородками.

Пространство между мембранами в митохондриях заполнено основным веществом, по мнению ряда авторов (Palade, 1952; Sjostrand, 1953 и др.), имеющим мелкозернистое строе-

Благодаря электронномикроскопическим исследованиям (Palade, 1952; Sjostrand, 1953; Шестранд, 1957 и др.) мы располагаем данными о тонкой структуре митохондрий. На рис. 9 дано схематическое плоскостное изображение палочковидной митохондрии. Мы видим, что характерной особенностью структуры является наличие трехслойных мембран наружной оболочки и внутренних перегородок; при этом наружная оболочка несколько тоньше внутренних перегородок. Количество внутренних перегородок в различных митохондриях довольно сильно варьирует. Внутренние перегородки обычно расположены параллельно друг другу и пер-

ние. Однако даже электронный микроскоп не позволяет выявить структуру этих гранул.

В последние годы наши сведения о структуре митохондрий сильно пополнились благодаря широкому применению приема дезагрегации митохондрий и детальному исследованию полученных фрагментов. При воздействии на митохондрии ультразвуком они распадаются на составляющие их структурные единицы. Схематическое трехмерное изображение митохондрий, с характерной упаковкой структурных единиц (см. рис. 10), привел в своем докладе Д. Е. Грин. При этом он подчеркивает, что возможны другие варианты упаковки структурных элементов в митохондриях.

Химический состав митохондрий¹ изучен довольно подробно. Уже Клод (Claude, 1944) определил элементарный химический состав митохондрий. Согласно его данным, митохондрии содержат (в % на сухой вес): азота—10,0—12,0; фосфора—0,8—1,9; серы—0,7—1,2; углерода—50,4—54,5; водорода—7,8—8,1; железа—0,02—0,4; меди—0,02—0,04.

Митохондрии являются липопротеиновыми гранулами. Содержание липидов в них достигает 25—30%; белок составляет 65—70% сухого вещества.

Вопрос о содержании РНК в митохондриях до сих пор окончательно не решен. Большинство исследователей приходит к выводу, что небольшое количество РНК (от 0,5 до 1% сухого вещества) является обязательным компонентом митохондрий, хотя Новиков (Novikoff, 1956) утверждал, что ему удалось получить митохондрии, не содержащие РНК. Противоречивость получаемых результатов обусловлена тем, что фракция митохондрий всегда может оказаться загрязненной более мелкими цитоплазматическими гранулами, богатыми РНК. С другой стороны, при очистке митохондрий возможно вымывание веществ, являющихся необходимым компонентом нормально функционирующих митохондрий.

Ферменты митохондрий. В исследованиях химического состава митохондрий очень много внимания уделялось ферментным системам. В 1913 г. О. Варбург впервые показал, что дыхание ткани связано с деятельностью цитоплазматических гранул. Однако значимость этих работ стала ясной лишь после того, как Кейлин (Keilin, 1929) выделил в виде гранул комплексные ферментные системы (комплекс сукциноксидазы и цитохромоксидазы), а позднее Клод (Claude, 1940) установил, что этими гранулами являются митохондрии. Использование метода дифференциального центрифугирования дало возможность утверждать, что сукциноксидаза и цитохромоксидаза сосредоточены в основном в митохондриях клеток. Так как к этому времени было

¹ Подробный обзор химического состава митохондрий дают Шнайдер и Хогсбум (Schneider, Hogebom, 1951).

установлено, что в обмене веществ живой ткани центральное место занимает цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса), внимание исследователей было сосредоточено на изучении локализации многочисленных ферментов, катализирующих реакции этого цикла. Для выяснения этого вопроса решающее значение имели работы Грина (1961). Правда, в первых своих исследованиях Грин с сотрудниками (Green, и др. 1948) получили из гомогената тканей осадок, состоящий из ядер и митохондрий, содержащий систему ферментов и коферментов, полностью обеспечивающих превращения в цикле трикарбоновых кислот.

Однако в дальнейшем рядом исследователей было доказано, что ферменты, катализирующие превращения в цикле Кребса, связаны только с митохондриями. В настоящее время твердо установлено, что в митохондриях содержится полный комплекс ферментов, катализирующих все реакции цикла трикарбоновых кислот, а сукциндегидраза, обратимо окисляющая янтарную кислоту, оказалась локализованной только в митохондриях. Поэтому наличие сукциндегидразы в других фракциях гомогената тканей свидетельствует об их загрязнении митохондриями.

Многочисленными исследованиями было доказано, что вся сложная система ферментов окисления жирных кислот также находится в митохондриях. Кроме того, было показано, что изолированные митохондрии окисляют фосфолипиды¹.

Превращение в цикле Кребса возможно только при наличии системы акцепторов электронов и протонов. Такими акцепторами являются кодегидразы I и II (ДПН и ТПН), которые передают затем электроны и протоны через флавиновые ферменты системе цитохромов, последний из которых, цитохром *a*₃, передает электроны непосредственно на кислород. В последние годы уделяется очень много внимания изучению системы переноса электронов, в частности цитохромной системы и особенно конечного звена — цитохрома *a*, или цитохромоксидазы.

Накоплено достаточное количество фактов для утверждения, что в митохондриях содержится полностью система, переносящая на кислород водородные ионы и электроны от ферментов, окисляющих субстраты в цикле Кребса. Есть указания, что эта система может различаться в митохондриях различных органов организма.

Ряд авторов (Sun, 1960; Боннер, 1961) показал, что имеются определенные различия в цитохромной системе митохондрий растений и животных.

Одним из крупнейших достижений последнего времени является установление того факта, что энергия, освобождаемая

¹ Хорошая сводка по химии и физиологии митохондрий опубликована О. Линсберг и Л. Эрнстер (1957).

в цикле трикарбоновых кислот, используется в живой клетке для образования высокоэнергических фосфорных соединений и в первую очередь АТФ (аденозинтрифосфорной кислоты). При окислительном фосфорилировании, открытом В. А. Энгельгардтом и В. А. Белицером (1945), было установлено, что окисление субстратов в цикле Кребса происходит с присоединением неорганического фосфата к адениловой кислоте или другим акцепторам. Поэтому после того как было установлено, что митохондрии являются центром окислительных процессов в клетке, возник вопрос, происходит ли в них и трансформация энергии, окислительное фосфорилирование. Грин с сотрудниками (Green и др., 1948), используя меченый фосфор, доказали, что в митохондриях осуществляется сопряженное окисление всех основных субстратов цикла Кребса и фосфорилирование. Было выяснено, что на каждый атом кислорода эстерифицируется от 2 до 4 остатков фосфорной кислоты. Таким образом, школой Грина и рядом других исследователей было установлено, что не только дыхание в митохондриях сопряжено с фосфорилированием, но оно в известной степени зависит от последнего. Инкубация митохондрий позволила изучить те звенья дыхательной цепи, с которыми непосредственно сопряжены отдельные реакции фосфорилирования.

Функция митохондрий. Широкие исследования ферментативных процессов в митохондриях позволили понять функцию митохондрий.

Грин в своем докладе на V Международном биохимическом конгрессе назвал митохондрии «преобразующими машинами» и основной функцией их считает сопряжение синтеза АТФ и аэробного окисления некоторых метаболитов. Согласно его концепции, существуют три параметра основной функции митохондрий: 1) окисление в ЦТК (цикле трикарбоновых кислот), 2) перенос электронов и 3) окислительное фосфорилирование. При этом подчеркивается, что помимо компонентов ЦТК в митохондриях могут окисляться и другие соединения (аминокислоты, жирные кислоты и др.). Однако в большинстве случаев компоненты ЦТК являются главными, а иногда и единственными.

Таким образом, мы видим, что в метаболизме клетки митохондрии занимают центральное положение. В них в результате окислительного распада освобождается энергия, которая путем окислительного фосфорилирования переводится в форму макроэнергических связей, легко доступную для многочисленных эндотермических реакций, протекающих в клетке. Поэтому митохондрии рассматриваются как «основные силовые станции» клетки¹.

¹ Вторым органоидом растительной клетки, где также осуществляется трансформация энергии, являются хлоропласты; об их структуре и функции см. в разделе фотосинтеза.

В последние годы широкое использование приема дезагрегации митохондрий и восстановления свойств целого из свойств выделенных фрагментов позволило получить очень ценные сведения о структуре и функции митохондрий. Исходя из современных представлений, Грин в своем докладе привел схему трехмерного изображения митохондрии (рис. 10). На рисунке хорошо выражена основная идея строения митохондрий, «силовой станции», в работе которой принимают участие сотни ферментов. Она может продуктивно функционировать только при строгой упорядоченности структурных

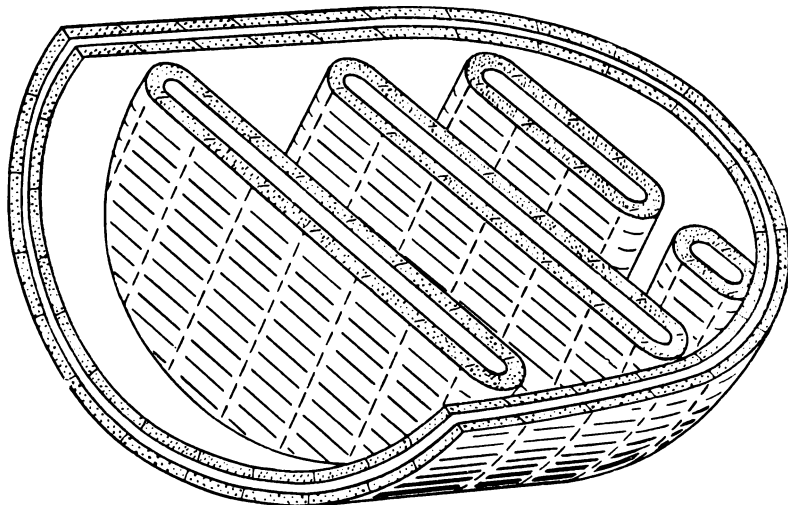


Рис. 10. Трехмерное изображение митохондрии (схема)

элементов. По мнению Грина, структурные единицы, упакованные штабелями, как во внешних, так и во внутренних мембранах представляют собой функциональные единицы. Грин не настаивает на том, что предложенная система упаковки структурных единиц является единственной. Вполне допустимы и другие возможности упорядочения структурных элементов митохондрии. Важно принципиальное положение, что каждая структурная и функциональная единица связана с определенным набором ферментов и коферментов.

Можно было предположить, что при дезагрегации митохондрий они будут распадаться на составляющие их структурные единицы. В действительности это и происходит при обработке митохондрий ультразвуком. Приведенная схема (рис. 11) иллюстрирует ступенчатую деградацию митохондрий и их функции.

При кратковременном воздействии на митохондрию ультразвуком она распадается на частицы, внутри которых

сохраняются трехслойные мембраны. Однако при этом митохондрия полностью утрачивает способность осуществлять окисление в ЦТК. Следовательно, первый параметр основной функции митохондрий — окисление в ЦТК — связан с наличием в них упорядоченного расположения мембран.

Вычлененные структурные элементы сохраняют способность осуществлять окислительное фосфорилирование и перенос электронов. Если же продолжить обработку полученных частиц ультразвуком, то в них исчезают трехслойные мембраны, внутреннее содержимое их кажется гомогенным. Полу-

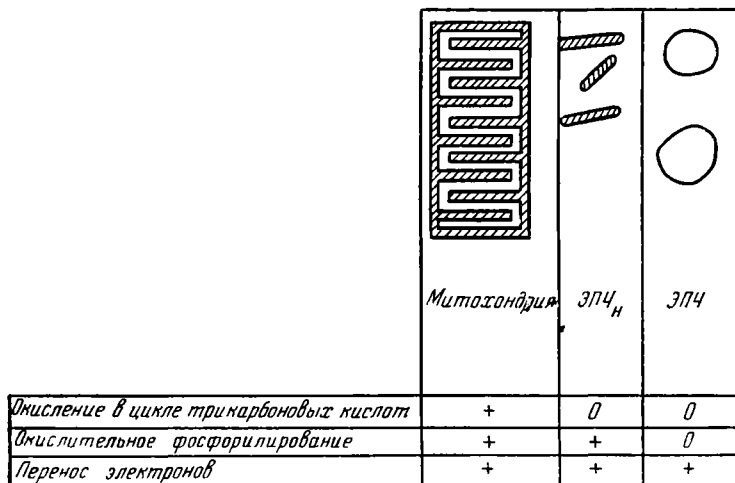


Рис. 11. Ступенчатая деградация митохондрий и их функции (схема)

ченные частицы при этом теряют способность к окислительному фосфорилированию и сохраняют лишь третий параметр основной функции митохондрий — перенос электронов.

Следовательно, окислительное фосфорилирование в митохондриях обусловлено наличием в них трехслойных мембран, или гребней.

Таким способом — путем ступенчатой деградации митохондрий ультразвуком — можно получить элементарную структурную частицу митохондрий, сохранившую только один параметр функции — перенос электронов.

Дальнейшей деградацией этой элементарной частицы, названной Грином ЭПЧ (электроны переносящей частицы), удалось установить, что она состоит только из пяти окислительно-восстановительных компонентов: флавина, тема, негеминного железа, меди и коэнзима Q. Выделены два различных флавина, четыре цитохрома, две формы негеминного железа, один купропротеин и одна форма коэнзима Q.

В перегородках и во внешней мембране митохондрий ЭПЧ складываются в пары, образуют палочковидные капсулы, внешняя мембрана которых состоит из полимерных единиц структурного белка, а внутренняя образована фосфолипидами. В этих капсулах возможно осуществление окислительного фосфорилирования. Липидный слой связывает не только частицы ЭПЧ, но и спаренные гранулы при укладке их в штабеля. Поэтому митохондрии содержат около 28% липидов (по весу).

Из сказанного ясно, что метод ступенчатой деградации митохондрий открыл возможность детального и всестороннего изучения всех параметров основных функций митохондрий, понимания их роли в метаболизме клетки. Хотя многое здесь еще гипотетично, недостаточно экспериментально обосновано, однако при этом совершенно ясны пути дальнейших исследований митохондрий. Являясь главными генераторами внутриклеточной энергии, которая накапливается в АТФ, митохондрии передают ее другим внутриклеточным органоидам. Высказывалось предположение, что и ядра для осуществления своих функций получают энергию от митохондрий, хотя в последнее время эта точка зрения подвергается сомнению. Энергия, преобразованная в митохондриях, по всей вероятности, передается только на близкие расстояния, поэтому, как правило, митохондрии довольно часто равномерно распределены по всей протоплазме. Правда, в полярных клетках митохондрии оказываются сконцентрированными в наиболее метаболически активных участках.

Происхождение митохондрий. . Вопрос о происхождении митохондрий, который длительное время дискутируется в литературе, в свете последних данных, а особенно недавней работы Грина (1961), приобрел большую определенность. По данным этого автора, полупериод жизни митохондрий составляет 5—10 дней. Следовательно, в любой клетке непрерывно происходит образование и разрушение митохондрий. Увеличение количества митохондрий в клетке свидетельствует о преобладании процесса новообразования над их распадом.

В первом приближении мы можем принять предложенную Грином схему ступенчатого построения митохондрий.

На первом этапе происходит полимеризация мономеров структурного белка в присутствии липидов и компонентов цепи переноса электронов и образование элементарных единиц системы переноса электронов.

На втором этапе возникают специфические комплексы из вспомогательных ферментов и коэнзимов и присоединение этих агрегатов к частицам, переносящим электроны. Затем элементарные единицы организуются в упорядоченные ряды и пласты, в которых соседние единицы отделены друг от

друга липидами. Из пластов возникают внешние мембраны и внутренние перегородки митохондрий; к ним присоединяются вспомогательные ферменты.

Схема Грина не умозрительная, она возникла как следствие анализа экспериментальных данных ступенчатой деградации структуры митохондрий, всестороннего исследования фрагментов, субмитохондриальных частиц и их реконструкции.

Несмотря на несомненные большие успехи в изучении структуры и функции митохондрий, многое здесь остается еще неясным и непонятым. Прежде всего далеко еще не расшифрован механизм фосфорилирования.

МИКРОСОМЫ

Термин «микросома» был предложен еще в 1880 г. Ганштейном для обозначения всех гранул, видимых в живой протоплазме. В дальнейшем им пользовались очень многие ученые, вкладывая в него самое различное содержание. Поэтому термин этот постепенно превратился в неопределенное понятие — небольшая гранула без какой-либо характеристики ее природы.

П. Данжар (1950) под микросомами подразумевал мелкие, сильно преломляющие свет блестящие зернышки. Уже в последние годы, с момента применения метода дифференциального центрифугирования, термин «микросома» как будто бы приобрел некоторую определенность. Ряд авторов (Claude, 1946; Hogeboom, Schneider, Palade, 1948) дифференциальным центрифугированием выделили следующие структурные элементы клетки: ядра, митохондрии и микросомы; при этом оставалась бесструктурная надосадочная жидкость. Микросомная фракция получалась после осаждения при 100 000 g. Эта фракция подвергалась всестороннему химическому исследованию. В ней оказалось 20% сухого вещества цитоплазмы и большое количество РНК и липидов. В микросомной фракции некоторых тканей было обнаружено до 50% РНК, а содержание липидов составляло 40—43% сухого вещества фракции. В этой же фракции были обнаружены многие ферменты. Однако довольно быстро была обнаружена большая структурная гетерогенность этой фракции. Прежде всего на основании электронномикроскопических фотографий цитоплазмы было установлено, что кроме строго очерченного ядра и митохондрий в ней обнаруживается большое разнообразие структурных элементов, которые при центрифугировании при 100 000 g попадают в микросомную фракцию. Слоттербак (Slautterback, 1953) последовательным центрифугированием выделил из этой фракции три препарата микросом и при исследовании их в электронном микроскопе обнаружил

большие различия в их размерах. Ряд авторов (Kuff и др., 1956; Novikoff, 1956) пришли к выводу, что микросомная фракция представляет собой смесь структурных элементов, сбрысков эргастоплазмы, тел Гольджи и мелких гранул Палада. Палад и Секевич (Palade, Siekevitz, 1956) провели детальные электронно-микроскопические исследования микросомной фракции и пришли к заключению, что микросомная фракция состоит из «пузырьков», «трубочек», обрывков эндоплазматической сети и маленьких плотных гранул (диаметром 100—150 Å) с гомогенным внутренним содержимым.

Из этих данных следует, что микросом как определенных, строго очерченных структурных элементов цитоплазмы не существует. Микросомная фракция, выделяемая дифференциальным центрифугированием, представляет собой смесь различных структурированных элементов цитоплазмы, быть может и с различной функцией. Таким образом, термин «микросомы», так же как и раньше, относится к конгломерату субмикроскопических частиц цитоплазмы.

Дальнейшая дифференциация форменных элементов, находящихся в микросомной фракции, и их всестороннее исследование показали, что в ней имеются мелкие плотные гранулы диаметром 100—150 Å. Дифференциальным центрифугированием с использованием дезоксихолата удалось получить плотные нуклеопротеидные частицы сферической формы диаметром 150—350 Å, состоящие из примерно равных количеств белка и РНК. Липидов в них либо вовсе не обнаруживают, либо находят ничтожные следы. Эти рибонуклеопротеидные частицы называли рибосомами.

Рибосомы были обнаружены в растительных тканях (Robinson, Brown, 1953; Tso, Bonner, Vinograd, 1956; Lyttleton, 1960), животных тканях (Petermann, Hamilton, 1957; Takata, Osawa, 1957; Littlefield, Keller, 1957; Rendi, 1959; Kirsch, Siekevitz, Palade, 1960), дрожжах (Chao, Schachman, 1956) и бактериях (Schachman, Pogdee, Staniez, 1952; Tissieres, Watson, 1958). Рибонуклеопротеидные частицы со свойствами рибосом были также получены из митохондрий и ядер (Frenster, Allfrey, Mirsky, 1960).

Прежде всего необходимо отметить, что рибосомы, выделенные из животных, растительных тканей и из бактерий, обладают очень большим сходством. Для наглядности мы приведем характеристику некоторых свойств рибосом различного происхождения (табл. 1).

Из данных таблицы видно, что рибосомы, полученные из различных источников, обладают очень близким молекулярным весом и почти одинаковой константой седиментации; это подтверждается очень сходными диаметрами частиц.

Структура рибосом изучалась методом дезагрегации. Оказалось, что дезагрегация рибосом происходит при изменении

Характеристика рибосом, выделенных из различных организмов
(Вебстер и Уитман, 1961)

Источник рибосом	Константа седиментация	Молекулярный вес	Диаметр, Å	Белок, %	РНК, %
Проростки гороха	80	4 000 000	280	55	45
Белый клевер	80	—	—	46	54
Дрожжи	80	4 100 000	240	58	42
Печень крысы	78	—	170	60	40
Ретикулоциты кролика	78	4 100 000	340	50	50
<i>Escherichia coli</i>	70	2 800 000	200	41	59
<i>Azotobacter vinelandi</i>	86	—	250	—	—

концентрации ионов магния или других двухвалентных катионов. Так, например, при концентрации ионов магния, равной 0,001 м, структура рибосом стабильна, при уменьшении концентрации в 10 раз рибосомы распадаются на две субъединицы, составляющие приблизительно $\frac{2}{3}$ и $\frac{1}{3}$ исходной рибосомы. При увеличении концентрации ионов магния в 10 раз две рибосомы соединяются вместе, возникает новая частица — димер; если затем концентрацию ионов магния довести до нормы, то субъединицы соединяются попарно, а димеры распадаются на мономеры: в обоих случаях реконструируется нормальная рибосома.

Дезагрегировать, а затем реконструировать рибосомы можно и другими двухвалентными катионами: кальцием, марганцем и кобальтом. Однако только рибосомы, реконструированные под влиянием магния и кобальта, полностью сохраняют свои функции. Большое значение магния в стабилизации структуры рибосом дало основание предположить, что в рибосомах он содержится в большом количестве. В действительности так и оказалось: в рибосомах гороха было найдено 0,31 ммоль магния на грамм сухого вещества; эти же рибосомы содержали кальция в 6 раз меньше; осталось неясным, каждая ли рибосома содержит магний и кальций в определенном соотношении или же в каждой частице находится только один элемент.

В последнее время для дезагрегации рибосом используют высокие концентрации солей, мочевины, щелочь, додецилсульфат, ацетон и уксусную кислоту. Однако при этом образуются очень мелкие, детально не изученные агрегаты, с константой седиментации от 12 до 25. Важно отметить, что при дезагрегации рибосом магнием полученные субъединицы представляют собой рибонуклеопротеид с таким же соотношением белка и РНК, как и исходная рибосома.

Белок рибосом пока изучен очень мало. Известно лишь большое однообразие аминокислот в рибосомах различного происхождения; как правило, преобладают основные аминокислоты, поэтому белки рибосом являются щелочными. На основании наличия *N* концевых аминокислот (Tissieres, Watson, 1958; Vin, Bock, 1960) приходят к выводу о наличии в белках рибосом небольшого количества белковых субъединиц.

В субъединицах некоторых рибосом было найдено всего по одной молекуле РНК с молекулярным весом 1 300 000 и 600 000. Следовательно, рибосома представляет собой органоид клетки, состоящий из 2—3 молекул РНК и небольшого числа (9—10) белковых субъединиц, связанных между собой двухвалентными катионами, главным образом магнием.



Рис. 12. Рибосомы (схематическое изображение). 30S, 50S, 70S, 100S — константы седиментации

Хотя величина и форма рибосом еще недостаточно изучены, однако на основании некоторых электронномикроскопических исследований (Hall, Slayter, 1959), Вебстер и Уитман сочли возможным дать их

схематическое изображение (рис. 12) с указанием константы седиментации.

Рибосомы являются основным центром синтеза белка в клетке (Littlefield, Keller, Gross, Zamecnik, 1955; Petermann, Hamilton, 1955). Бесспорность этого факта является общепризнанной, и в настоящее время ведутся интенсивные исследования механизмов участия рибосом в отдельных ступенях белкового синтеза — активировании аминокислот, образовании пептидной связи, освобождении полипептида от рибосом.

Для понимания взаимодействия органоидов в клетке чрезвычайно важно знать их биогенез. К сожалению, мы не располагаем надежными экспериментальными данными об образовании рибосом в клетке.

Исходя из общих представлений о генетической роли ядра, неоднократно делались предположения, что рибосомы возникают в ядре или же РНК рибосом синтезируется в ядре, а затем выделяется в цитоплазму. Для доказательства этого положения широко использовались опыты по включению меченых аминокислот в белки органоидов клетки. Однако на основании опытов с включением меченых аминокислот в ядерные и безъядерные фрагменты ацетабулярии Вебстер и Уитман (1961) утверждают, что рибосомы и рибосомальная РНК цитоплазмы образуются непосредственно в цитоплазме, а не в ядре.

Выделение, исследование морфологии и функции рибосом, бесспорные доказательства, что в них осуществляется синтез белка, является очень крупным вкладом в наши знания физиологии органоидов клетки.

ЛИЗОСОМЫ И ДРУГИЕ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИЕ ГРАНУЛЫ

При центрифугировании гомогенатов различных тканей в течение 10 мин при 18 000 *g* над митохондриями осаждается так называемый пушистый слой. Электронномикроскопические исследования и химический анализ показали, что гранулы, содержащиеся в этом слое, меньше митохондрий и отличаются от них более высокой концентрацией РНК и фосфолипидов. По своему химическому составу они близки к микросомной фракции. Однако после тщательной очистки оказалось, что эта фракция сильно отличается от микросом по содержанию ферментов. Исследованием свойств вновь выделенной фракции органоидов занимались многие исследователи и особенно успешно К. де Дюв с сотр. (1960). Вновь выделенным органоидам дано было название лизосом. В лизосомах было найдено 10 различных ферментов, которые все являются гидролазами: нуклеазы, фосфатазы, несколько протеаз, ферменты, расщепляющие мукополисахариды, а также арилсульфатазы *A* и *B*. На электронномикроскопических фотографиях этой фракции видны пузырьки и гранулы самых различных размеров. Ряд авторов (Kuff, Hogeboom, Dalton, 1956; Claude, 1960) показали, что лизосомы ограничены оболочкой толщиной 50—60 Å, их диаметр равен 260—600 Å; оболочка может быть одинарной и двойной. Физиологическая функция этих органоидов пока еще недостаточно изучена. На основании наличия в них набора ферментов, способных расщепить большинство естественных соединений, кроме липидов, высказывается предположение, что основной функцией лизосом является переваривание сложных органических соединений. В цитоплазме клеток корешков лука обнаружены структурные элементы, в которых образуются мембранные системы.

В лаборатории К. де Дюва исследуются особые цитоплазматические частицы — фагосомы.

Штраус (Straus, 1959) обнаружил, что если крысам внутривенно ввести пероксидазу хрена, то этот чужеродный белок исчезает из кровяного русла и накапливается в печени и почках в цитоплазматических частицах, которые они назвали фагосомами. Сотрудник К. де Дюва Жак (Jacques, 1960) обнаружил много общих черт между фагосомами и лизосомами и считает, что лизосомы могут сливаться с фагосомами, образуя пищеварительную вакуоль. Наряду с этим было обнаружено, что в цитоплазме содержатся особые час-

тицы, содержащие уриказу, и частицы, содержащие моноаминоксидазу.

Полученные данные о наличии в цитоплазме структурных образований различного химического состава свидетельствуют о том, что число органоидов в живой клетке значительно больше, чем предполагалось раньше.

АППАРАТ ГОЛЬДЖИ

Представление об особом органоиде, еще в 1898 г. обнаруженном Гольджи в нейроне и в других животных клетках при помощи импрегнации серебром и осмием, до сих пор дискутируется. Очень многие исследователи считают это образование артефактом. Такие авторитетные исследователи, как Палад и Клауде, рассматривают аппарат Гольджи как артефакт, обусловленный действием этилового спирта на липоидные гранулы. В то же время в учебниках цитологии (Макаров, 1953; Данжар, 1950) наличие внутриклеточного аппарата Гольджи трактуется как совершенно бесспорный факт. При этом подчеркивается, что в исследованиях этого органоида в животной клетке очень много сделано нашими соотечественниками (Насонов, 1918; Nasonoff, 1923, 1924). Чаще всего в животных клетках аппарат Гольджи описывается в виде сети из переплетенных нитей или же в виде отдельных палочек, комочков, чешуек, серповидных образований — так называемых диктиосом, собранных в группы или же рассеянных по всей цитоплазме. Ряд наших ученых (Карпова, 1925, Weiner, 1930), (Крюкова, 1923) подробно описали аппарат Гольджи в живых клетках и утверждают, что методика осмиривания выявляет реально существующие структуры.

Дж. Гатенби (1957) на основании электронномикроскопических исследований дает подробное описание структуры этого органоида в клетках животных. Шнайдер и др. (Schneider и др., 1953), используя дифференциальное центрифугирование, в градиенте плотности выделили вещества аппарата Гольджи и обнаружили в них высокое содержание РНК, фосфолипидов и фосфатазы.

Имеющиеся данные пока еще не позволяют сделать окончательного заключения о функции этого органоида клетки. Неоднократно высказываемые предположения о секреторной функции аппарата Гольджи до сих пор не получили экспериментального обоснования.

О ФУНКЦИИ И ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ОРГАНОИДОВ КЛЕТКИ

Мы не можем дать всесторонней оценки функциональной значимости всех видимых в клетке органоидов, механизмов их взаимодействия, степени участия в метаболизме клетки,

так как многие структурные элементы клетки, которые мы увидели в ней благодаря электронному микроскопу, или недостаточно или же совершенно не изучены. Тем не менее важно выяснить роль в метаболизме клетки достаточно хорошо изученных органоидов: ядра, митохондрий и рибосом. Мы рассмотрим далее участие каждого органоида клетки в основных, решающих процессах обмена веществ клетки.

Роль органоидов в трансформации энергии в живой клетке

Вопрос о том, в каком структурном элементе клетки происходит освобождение и трансформация энергии, необходимой для всех актов жизнедеятельности клетки, является одним из самых актуальных в клеточной физиологии. При рассмотрении этого вопроса мы исходим из вероятного, но недостаточно обоснованного положения, что освобождение энергии и ее трансформация в форму, легко доступную для использования в клетке, осуществляются в одном и том же органоиде. Пути освобождения энергии многообразны, в то же время в трансформации энергии, используемой во внутриклеточных процессах, в последние годы открыт универсальный механизм — образование макроэргических фосфатных или сульфатных связей. Первый является главным, ведущим и определяющим энергетикой клетки.

Следовательно, мы должны ответить на вопрос, в каком органоиде или в каких органоидах клетки осуществляется синтез АТФ, допуская при этом, что там же освобождается энергия, используемая на образование макроэргических связей.

Казалось естественным предположить, что ведущая роль в метаболизме клетки принадлежит самому крупному, хорошо оформленному органоиду клетки — ядру. Поэтому Леб считал, что ядро является центром окислительных процессов клетки. По существу, и Вильсон придерживался того же взгляда, утверждая, что ядро является депо ферментов клетки.

Нужно сказать, что как старые, так и многие из современных опытов по меротомии и энуклеации в какой-то степени подтверждали точку зрения Леба и Вильсона.

Так, безъядерные фрагменты растительных клеток, полученные рядом авторов (Klebs, 1887; Haberland, 1874 и др.), жили в течение нескольких дней, а иногда и недель, но полностью теряли способность к синтезу целлюлозы и крахмала.

В опытах с простейшими было доказано, что из разрезанных кусочков инфузорий регенерируют только те, которые со-

держат ядро; безъядерные фрагменты довольно быстро погибали.

Уже в недавнее время (Т. Браше, 1955) было показано, что при энуклеации амёб безъядерные фрагменты становятся неподвижными, в них замедляется ток цитоплазмы, они округляются, а затем довольно быстро погибают. При пересадке ядра другой амёбы в безъядерные фрагменты они начинают функционировать нормально. Однако когда в опытных фрагментах амёб определили дыхание (вернее потребление кислорода), то не обнаружили существенных изменений, хотя наблюдения велись в течение десяти дней. При фрагментации одноклеточной водоросли *Acetabularia* даже через три недели после начала опыта безъядерные фрагменты дышали энергичнее фрагментов, содержащих ядро. В литературе имеется еще ряд указаний на то, что ядро не контролирует аэробного дыхания клетки.

Исследования энергии дыхания безъядерных фрагментов клеток дали основание считать ошибочными представления Леба о ядре как центре окислительных процессов в клетке. Бесспорное отсутствие в ядрах сукциндегидразы и других ферментов цикла трикарбоновых кислот, обилие окислительных ферментов в митохондриях позволило более четко и ясно сформулировать, что дыхательным центром клетки является не ядро, а митохондрии.

Естественно возникает вопрос, являются ли митохондрии единственным органоидом клетки, где синтезируется АТФ? Не так давно ряд исследователей склонялся к такому пониманию роли митохондрий в животных и растительных не фотосинтезирующих клетках.

Однако более детальное и глубокое исследование ферментов ядра показало возможность освобождения энергии в ядре гликолитическим путем. Не менее важно было выяснить, возможны ли трансформации этой энергии, образование фосфатных макроэргических связей, синтез АТФ непосредственно в ядре. А. Е. Мирский (1961) и В. Г. Олфри (1961) дали очень веские доказательства наличия в изолированных ядрах процессов фосфорилирования, синтеза АТФ. При этом они установили интересный факт, что кофактором синтеза АТФ в ядрах является ДНК (правда, действие ДНК не специфично, ее можно заменить дрожжевой РНК, синтетической полиадениловой кислотой, хондриотином сульфата, гепарином, полиаспарагиновой кислотой). Синтез АТФ в ядре свидетельствует о том, что митохондрии в животных и растительных не фотосинтезирующих клетках не являются единственными «преобразующими машинами», к ним нужно отнести и ядра. Размах фосфорилирования в ядрах нам неизвестен. Неизвестно также, используется ли энергия АТФ, синтезированная в ядре, только на осуществление процессов, происходя-

щих в нем, или же возможно выделение АТФ в цитоплазму. Несомненно лишь, что в энергетическом отношении ядро совершенно не зависит от митохондрий; при наличии субстрата оно самостоятельно может освобождать заключенную в нем энергию, трансформировать ее в форму, доступную для осуществления всех процессов, происходящих в ядре с затратой энергии.

Роль органоидов в синтезе белка в клетке

Вопросы о месте синтеза белка в клетке, роли органоидов, особенно ядра, в этом процессе находятся в центре внимания биологов¹. Несмотря на огромные усилия большой армии исследователей — генетиков, эмбриологов, гистологов, физиологов, биохимиков и микробиологов, многие вопросы этой сложной проблемы еще очень далеки от решения. Рассматривать эту проблему во всех аспектах и останавливаться на истории вопроса нет никакой возможности. После того как Касперссон (Caspersson, 1941) установил, что для всех видов белкового синтеза необходима нуклеиновая кислота, он выступил со своей концепцией о месте и механизме синтеза белка в клетке. Исходя из того, что вся клеточная ДНК локализована в хромосомах, он сделал заключение, что ядро представляет собой центр синтеза белка в клетке. По представлениям Касперссона, белки, синтезированные в ядре, выделяются в цитоплазму, стимулируют в ней интенсивное образование РНК, которая и вызывает синтез белка в цитоплазме.

Нужно сказать, что, отправляясь от бесспорного положения о взаимосвязи синтеза белка с содержанием РНК, Касперссон предложил чисто умозрительную схему, совершенно необоснованную экспериментально, а на ее основе у генетиков и биохимиков возникла масса спекулятивных гипотез о механизме передачи наследственных свойств. Упрощенно эта схема заключалась в том, что под влиянием первичной генетической субстанции ДНК синтезируется РНК, а последняя обуславливает синтез белка в клетке.

В многочисленных опытах с животными и растительными клетками полностью подтвердилась правильность исходного положения Касперссона — синтез белка непосредственно связан с наличием РНК. Как правило, все ткани и органы с высоким уровнем синтеза белка характеризуются высоким содержанием РНК. Можно считать твердо установленным, что синтез РНК всегда предшествует синтезу белка. Следовательно, когда мы рассматриваем роль ядра в синтезе белка в клетке, мы не можем рассматривать ее вне связи с синтезом РНК.

¹ См. сводки: Б. В. Кедровский (1959); Р. Б. Хесин (1960).

Данные по внутриклеточной локализации РНК свидетельствуют, что основная масса ее находится в цитоплазме в виде нуклеопроteidных гранул рибосом, очень незначительное количество в митохондриях. Высокая концентрация РНК обнаруживается в ядрышках и, как правило, небольшие количества ее находятся в хромосомах.

Таким образом, если мы признаем необходимость наличия РНК для синтеза белка, то ее локализация указывает на возможные очаги белкового синтеза в клетке. Следовательно, мы можем считать, что белок синтезируется в ядре, главным образом в ядрышке, в цитоплазме — в рибосомах, рассеянных во всей ее толще, и не исключается возможность синтеза белка в митохондриях. Однако это логическое заключение должно быть непосредственно подтверждено экспериментальными данными.

Одно время считалось, что для решения вопроса о месте синтеза белка в клетке особенно убедительны опыты по меротомии, энуклеации и пересадке ядер. Наиболее удобными объектами для этих работ оказались амёбы и ацетабулярии. У амёб очень легко получать ядерные и безъядерные компоненты, извлекать из них ядра и пересаживать их в другие экземпляры. Прекрасным объектом оказалась *Acetabularia* на том этапе жизненного цикла, когда она представляет собой одноклеточный организм, состоящий из стебелька и нескольких ризоидов, в одном из которых находится ядро. Удаляя этот ризоид, мы получаем безъядерный организм. Оказалась легко осуществимой и пересадка ядер в безъядерные организмы.

Всестороннее исследование обмена веществ одновозрастных экземпляров нормальных и безъядерных ацетабулярий дает некоторое представление о физиологической функции этого основного органоида клетки.

Наиболее интересный и большой материал был получен Гаммерлингом и его школой, а также Браше с сотрудниками. Было установлено, что *Acetabularia*, лишенная ядра, может жить в течение нескольких месяцев, обладает высокой регенерационной способностью, образует, так же как и нормальная водоросль, довольно крупные шапочки. Способность безъядерных фрагментов *Acetabularia* к регенерации и росту свидетельствует о том, что синтез белка, а следовательно РНК, может происходить в цитоплазме без участия ядра. Непосредственные определения (Т. Браше, 1955) РНК в содержащих ядро и безъядерных фрагментах *Acetabularia* показали, что скорость синтеза РНК в первую неделю после удаления ядра была выше в безъядерных фрагментах, чем во фрагментах, содержащих ядро. Однако затем скорость синтеза РНК в безъядерных фрагментах оказывается несколько ниже, чем в контрольных. Методом меченых предшественни-

ков РНК было показано, что в безъядерных фрагментах осуществляется синтез РНК.

Как и следовало ожидать, аналогичные данные были получены и для белкового синтеза в безъядерных фрагментах *Acetabularia*. Если опыты проводить с водорослью перед началом образования шапочек, то в первые недели синтез белка происходит интенсивнее в безъядерных фрагментах, чем в содержащих ядро. Однако через 2—3 недели после начала опыта синтез белка прекращается. Результаты, полученные в этих опытах, являются веским аргументом в пользу того, что для синтеза РНК и белка в клетке присутствие ядра не обязательно. Т. Браше (1955) показал, что включение меченой углекислоты в белки ядерных и безъядерных фрагментов *Acetabularia* в первые две недели опыта происходит с одинаковой скоростью; затем безъядерные фрагменты начинают отставать и через 7 недель они уже включают в 2,5 раза меньше меченой CO_2 , чем белки фрагментов, содержащих ядра. Из этих опытов напрашивается вывод, что ядро не контролирует синтеза РНК и белка в цитоплазме. Результаты опытов с ядерными и безъядерными фрагментами амебы отличны от полученных на *Acetabularia*. У амеб основная масса РНК находится в цитоплазме. Многочисленными цитохимическими, а затем и химическими анализами было показано, что при удалении ядра из амебы уже через два дня начинает заметно падать содержание РНК. Из этих данных был сделан вывод, что синтез РНК в клетке находится под непосредственным контролем ядра. Опыты с мечеными предшественниками дали еще более четкие результаты. Так, например, меченый урацил совершенно не включается в безъядерные фрагменты амебы. Правда, есть указания, что аденин включается в РНК и в безъядерных фрагментах (Ж. Браше, 1960). При пересадке ядер с меченой РНК было обнаружено, что через 12 час цитоплазма становится радиоактивной. Следовательно, РНК передвигается из ядра в цитоплазму. Если же меченое ядро пересадить в нормальную амебу, то второе ядро не становится радиоактивным, т. е. РНК передвигается только в одном направлении из ядра в цитоплазму; обратного движения не наблюдается.

Если удаление ядра у амебы снижает обмен РНК, мы должны ожидать падения белкового синтеза в безъядерных фрагментах. Действительно, общее содержание белка в них заметно падает. При использовании меченого метионина (Mazia, Prescott, 1955) было показано, что его включение в безъядерном фрагменте немедленно после разрезания амебы надвое уменьшается в 2,5 раза. Если вместо метионина применить меченый фенилаланин, то различия во включении между ядерными и безъядерными фрагментами амебы окажутся значительно меньше.

Удаление ядра у амёбы не останавливает полностью синтеза белка, а лишь значительно его снижает. Ж. Браше (1960) показал, что удаление ядра у амёбы по-разному влияет на содержание некоторых ферментов в цитоплазме, а следовательно, и на синтез специфических белков. Для решения вопроса о месте синтеза РНК в клетке большое значение имел анализ ее нуклеотидного состава (Smellie, Meindol, Davidson, 1953). При этом оказалось, что он не одинаков в ядерной и цитоплазматической РНК. Это послужило основанием для утверждения, что цитоплазматическая РНК не ядерного происхождения.

В последнее время много ведется исследований с изолированными ядрами. На основании автордиографии и анализа кинетики включения радиоактивных предшественников в РНК была предложена следующая схема синтеза РНК (Харрис, 1961).

Цитоплазматическая РНК синтезируется в цитоплазме, ядерная — в ядре. Синтез цитоплазматической РНК значительно медленнее ядерной. При этом цитоплазматическая РНК довольно стабильна, в то время, как ядерная РНК быстро синтезируется, вовлекается в обмен веществ и довольно легко распадается.

Следовательно, здесь речь идет о разных формах РНК. Вопрос о формах РНК, их значении в синтезе белка в клетке привлек внимание многих исследователей и широко освещается в печати (Хесин, 1961; Жакоб и Моно, 1961; Гро и Хиатт, 1961). Однако формы РНК как в ядре, так и в цитоплазме еще очень плохо изучены.

Усовершенствование методов получения и очистки ядер позволило значительно продвинуться вперед в познании роли ядра в синтезе белков. Ряду исследователей (Мирский, 1961; Олфри, 1961) удалось показать, что изолированные ядра включают меченые аминокислоты, т. е. они способны к независимому от цитоплазмы синтезу белка. Обнаружены и характерные особенности этого процесса в ядрах.

Прежде всего доказано, что для синтеза белка в ядре совершенно необходимы ионы натрия. При добавлении их к инкубационной среде с мечеными аминокислотами обнаружено резкое увеличение скорости включения аланина, глицина, лейцина, лизина, валина и других аминокислот. Для включения аминокислот в цитоплазму требуется присутствие ионов калия.

Второй особенностью синтеза белка в ядре является ясно выраженное влияние на этот процесс ДНК. При обработке ядер дезоксирибонуклеазой они совершенно прекращают связывать меченые аминокислоты. Такая зависимость синтеза белка в ядре от наличия ДНК закономерна и понятна, поскольку синтез АТФ в ядрах как источник энергии находится

в прямой зависимости от содержания в них ДНК. Необходимость АТФ для синтеза белка в ядрах была доказана убедительными опытами по действию цианида, азиды и денитрофенола на синтез белков и АТФ в ядрах. Все ингибиторы синтеза АТФ блокируют включение аминокислот в ядерные белки. После того как в ядрах были обнаружены 15 энзимов активирующих аминокислоты, было доказано прямое участие АТФ в синтезе белка в ядрах. Когда же из ядер были выделены рибосомы и показано, что при соответствующих условиях в присутствии АТФ, рН 5 энзима и гуанозинтрифосфата (ГТФ) они способны осуществлять синтез белков, была окончательно установлена возможность независимого синтеза белка в ядрах и показано место осуществления этого процесса.

Таким образом, к настоящему времени имеются убедительные доказательства, что основа жизни — белок — может синтезироваться в цитоплазме и ядре, в специальных органоидах — рибосомах. Обнаружение рибосом в митохондриях дает основание заключить, что и в них осуществляется синтез белка. Многочисленные ферменты, обнаруженные в митохондриях, по всей вероятности, синтезируются на месте. Как было сказано выше, РНК также образуется во всех компонентах клетки, где осуществляется синтез белка.

Из всего сказанного выше следует, что образование белков и РНК происходит в различных частях клетки. Роль отдельных структурных компонентов клетки неравноценна. Основная масса внутриклеточного белка образуется в цитоплазме. Синтез белка и РНК в изолированных компонентах клетки — ядре, митохондриях, микросомах — свидетельствует об определенной самостоятельности их в этом процессе (Plaut, 1961).

Однако все органоиды клетки находятся в большой зависимости друг от друга и не могут длительно существовать и продуктивно функционировать в изолированном виде. Рост клетки, ее функционирование возможны только в результате взаимодействия всех ее частей. Осуществление всех видов жизнедеятельности является функцией клетки как единого целого.

ЛИТЕРАТУРА

- Белозерский А. Н. Уч. зап. МГУ, 1935, вып. IV; Биохимия, 1936, 1; «Баховские чтения», XIV. М., Изд-во АН СССР, 1959; Нуклеиновые кислоты и их биологическое значение. М., «Знание», 1961; V Междунар. биохим. конгр., Симп. III. М., Изд-во АН СССР, 1961б. Белозерский А. Н. и Дубровская И. Биохимия, 1936, 1. Белозерский А. Н. и Чигирев С. Биохимия, 1936, 1. Боннер В. Д. V Междунар. биохим. конгр., Симп. II. М., Изд-во АН СССР, 1961. Браше Ж. Сб. Совр. пробл. цитол. М., ИЛ, 1955. Браше Ж. Биохимическая цитология. М., ИЛ, 1960. Вебстер Г., Уитман С. Л. V Междунар. биохим. конгр., Симп. II. М., Изд-во АН СССР, 1961. Вильсон Эдмунд. Клетка и

ее роль в развитии и наследственности, т. II. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1940. В о о ф. Сб. «Совр. пробл. биофизики», т. I. М., ИЛ, 1961. Гатен-би Дж. Сб. «Пробл. цитофизиол.», М., ИЛ, 1957. Гвоздев В. А. и Хесин Р. Б. ДАН СССР, 1960, 131. Глик Д. Методика гисто- и цитохимии. М., ИЛ, 1950. Горощенко Ю. Л. и Машанский В. Ф. Цитология, 1961, 3, № 4. Грин Д. Е. V Междунар. биохим. конгр., Пленарная лекция. М., Изд-во АН СССР, 1961. Гро Ф. и Хиатт Х. V Междунар. биохим. конгр., Симп. I. М., Изд-во АН СССР, 1961. Дан-жар П. Цитология растений и общая цитология. М., ИЛ, 1950. Да-унс А. Л. Сб. «Совр. пробл. цитол.», М., ИЛ, 1955; Нуклеиновые кислоты. М., ИЛ, 1957. Дэвидсон Дж. Биохимия нуклеиновых кислот. М., ИЛ, 1952. Дюв К. де V Междунар. биохим. конгр., Симп. II. М., Изд-во АН СССР, 1961. Дюсе Ж. V Междунар. биохим. конгр., Симп. II. Изд-во АН СССР, 1961. Жакоб Ф. и Моно Ж. V Междунар. биохим. конгр., Симп. I. М., Изд-во АН СССР, 1961. Збарский И. Б. V Междунар. биохим. конгр., Симп. II. М., Изд-во АН СССР, 1961. Зильберт Г. V Междунар. биохим. конгр., Симп. II. М., Изд-во АН СССР, 1961. Кедровский Б. В. Усп. совр. биол., 1942, 15, вып. 3; Цитология белковых синтезов в животной клетке. М., Изд-во АН СССР, 1959. Кизель А. Р. Химия протоплазмы. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1940. Кикнадзе Н. И. Цитология, 1961, 3, № 5. Крюкова З. Н. Арх. анат., гистол. и эмбриол., 1923, 8. Линсберг О. и Эрнстер Л. Сб. «Пробл. цитофизиол.», М., ИЛ, 1957. Макаров П. В. Основы цитологии. М., «Советская наука», 1953; Усп. совр. биол., 1960, 50, вып. 1; Сб. «Нуклеиновые кислоты и нуклеопротенды». М., Изд-во АН СССР, 1961. Мирский А. Е. V Междунар. биохим. конгр., Симп. II. М. Изд-во АН СССР, 1961. Насонов Д. Н. Русск. арх. анат., гистол. и эмбриол. 1918, 2. Олфри В. Г. V Междунар. биохим. конгр., Симп. II. М., Изд-во АН СССР, 1961. Пирс А. Э. Гистохимия теоретическая и прикладная. М., ИЛ, 1956. Поульсон Д. и Боуэн В. Сб. «Совр. пробл. цитол.», М., ИЛ, 1955. Прокофьева-Бельговская А. А. Сб. «Итоги науки (биол. науки)», т. 3. М., Изд-во АН СССР, 1960. Рис Г. Химические основы наследственности. М., ИЛ, 1960. Роскин Г. И. ДАН СССР, 1943, № 4; Микроскопическая техника. М., «Советская наука», 1957. Сисакян Н. М. Усп. совр. биол., 1961а, 51; V Междунар. биохим. конгр., Симп. II. М., Изд-во АН СССР, 1961б. Сисакян Н. М. и Одинцова М. С. Изв. АН СССР, сер. биол., 1960, № 6. Сисакян Н. М. и Спиридонова Г. И. Биохимия, 1957, XXII, вып. 5. Фрей-Висслинг А. Субмикроскопическое строение протоплазмы и ее производных. М., ИЛ, 1950. Харрис Г. V Междунар. биохим. конгр., Симп. II. М., Изд-во АН СССР, 1961. Хесин Р. Б. V Междунар. биохим. конгр., Симп. II. М., Изд-во АН СССР, 1961. Шестранд Ф. Сб. «Пробл. цитофизиол.», М., ИЛ, 1957. Allfrey V. G., Mirsky A. E., Stern H. Adv. in Enzymol., 1955, 16. Allfrey V., Stern H., Mirsky A. E. a. Saetren H. J. Gen. Physiol., 1952, № 35. Baltus E. Biochim. et Biophys. Acta, 1954, 15. Benda C. Verhand der Anatom. Gesellsch. Jena, 1893. Bensley R. R. a. Hoerr N. L. Anat. Rec., 1931, 60. Bensley R. R., Bensley S. H. Handbook of Histological and cytological Technique. Chicago, 1938. Boivin A., Vendrely R., Vendrely C. Compt rend: evidence based on analyses, 1948. Brachet J. Embryologie chimique. Desoer. Liège, 1944; Acad. Press. Ing., N.-Y., 1957. Buvat R. Ann. Sci. Nat. Bot., 1959, 11. Brown R. Plant Physiol., 1960, 1. A. Callan H. G. Symp. Soc. Expt. Biol., 1952, No. 6. Callan H. G. Publ. Union int. Sci. Biol., 1955 (1956), 21. Caspersson T. Naturwiss., 1941, 29; Cell growth and cell function. W. W. Norton Co, N. Y., 1950. Chao F., Schachman H. K. Arch. Biochem. a. Biophys., 1956, No. 61. Claude A. Science, 1940, 91; J. Expt. Med., 1944, 80; 1946, 8; Adv. in Enzymol., 1949, 5; Arch. Int. Physiol. et Biochim., 1960, 68, N 4. Claude A., Potter J. S. J. Expt. Med., 1943, 77. Clauss H., Werz G. Ztschr. Naturforsch., 1961, 6, № 3. Davidson J. N. The biochemistry of the nucleic acids. London, 1953. Dawson J. M., Hossack J.,

Wyburn G. M. Proc. Roy. Soc., 1955, 144, 132. Defendi V., Pearson B. Histochemical Demonstration of Reductase Activation of the Nucleole of Chicken Erythrocyte. Experimentia, II, 1955. Dounce A. L., Beyer G. T. J. Biol. Chem., 1948, 173. De Duve C. Nature, 1960, 187. De Duve C., Beaufay H., Jacques P., Rahman J., Li J., Sellinger O. L., Wattiaux R., Coninck de. Biochim. et Biophys. Acta, 1960, 40. Feulgen R., Behrens M. u. Mahdihassan S. Ztschr. Phys. Chem., 1937, 246. Frenster J. H., Allfrey V., Mirsky A. E. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 1960, 46. Frey-Wyssling A. Submicroscopic morphology of protoplasm. Elsevier, Amsterdam, 1953; Macromolecules in cell structure. Cambridge, Massachusetts, 1957. Genevès Louis. C. R. Acad. Sci., 1960, 252, № 25. Gerassimoff J. J. Stschr. Allg. Phys., 1902, 1. Green D. E., Loomis W. F., Anerbach V. H. Amer. J. Biol. Chem., 1948, 172. Haberlandt G. Physiological Plant Anatomy, 4-th Ed, Frans Drummond, 1914. Hall B. D., Doty P. Molecular Biol., 1960, 2. Hall C. E., Slayter H. S. Molecular Biol., 1959, 1. Hammerling J. Z. Int. Rev. Cytol., 1953, 2. Hanstein I. Das Protoplasma als Träger der pflanzlichen und tierischen Lebensverrichtungen. Heidelberg, 1880. Herbert E., Potter V. R., Takaji Y. J. J. Biol. Chem., 1955, 213. Hogeboom G. H., Schneider W. G. J. Biol. Chem., 1952, 197. Hogeboom G. H., Schneider W. G. a. Palade G. E. J. Biol. Chem., 1948, 172. Hogeboom G. H., Schneider W. G., Striebich M. J. Cancer Res., 1953, 13. Holter H. Adv. in Enzymol., 1952, 13, № 1. Joyet-Lavergne. Protoplasma, 1929, 6, 84. Karpova L. Ztschr. Zellforsch. u. mikr. Anat., 1925, 2, 4. Kautz J. K., De-Marsh. Exptl. Cell. Res., 1955, 8. Keilin D. Proc. Roy. Soc., London, 1929, 104. Kirsch J. E., Siekevitz P., Palade G. E. J. Biol. Chem., 1960, 235. Klebs G. Biol. Ztbl., 1887, 7. Kuff E. L., Hogeboom E. H., Dalton A. J. J. Biophys., Biochem., Cytol., 1956, 2, 33. Kuster E. Die Pflanzenzelle. Gustav Fischer Verlag, Jena, 1956. Lasarow A. Biol. Symp., 1943, 10, 9. Lewitsky G. Ber. Dtsch. Bot. Ges., 1910, 28. Littlefield J. W., Keller E. B. J. Biol. Chem., 1957, 13. Littlefield J. W., Keller E. B., Gross J., Zamecnik P. C. J. Biol. Chem., 1955, 217. Loeb J. Wilhelm Raux Arch. Entwicklungsmech. Organ., 1899, 8. Lytleton J. W. Biochem. J., 1960, 74. Mazia D. Proc. Nat. Acad. Sci., 1954, 40. Mazia D., Prescott D. M. Biochem et Biophys. Acta, 1955, 17. Mercer F. Rev. Plant Physiol., 1960, 11. Meves F. Ber. Dtsch. Bot. Gesellschaft., 1904, 20. Milovidov P. F. Physik und Chemie des Zellkernes. Berlin, 1949. Mirsky A. E., Pollister A. W. Biol. Simp., 1943, 10. Mirsky A. E., Ris H. J. J. Gen. Physic, 1947, 31; Nature, 1949, 163. Monty K. J., Litt M., Kay E. R., Dounce A. L. J. Biophys., Biochem., Cytol., 1956, 2. Naora H., Mirsky A. E., Allfrey K. G. J. Gen. Physiol., 1961, 44, № 4. Nasonoff D. N. Arch. mikr. Anat., 1923, 97; 1924, 100. Novikoff A. B. Federation Proc., 1956, 15. Novikoff A. B., Podber E., Ryan J., Noe E. J. Histochem. a. Cytochem., 1953, 1. Palade G. E. Anat. Rec., 1952, 114. Palade G. E., Glaude, A. J. Morph., 1949, 85. Palade G. E., Siekevitz J. Biophys., Biochem., Cytol., 1956, 2. Petermann M. L., Hamilton M. G. J. Biophys., Biochem., Cytol., 1955, 1. Petermann M. E., Hamilton B. G. J. Biol. Chem., 1957, 224. Porter K. R. Dynamics of Growth Processes, Princeton Univ. Press, New Jersey, 1954. Plaut W. Semaine hop-taux Pathol. e. biol., 1961, 9, № 7. Porter K. R. Federation Proc., 1955, 14. Rattenbury J. A. a. Serra J. A. Portug. Acta Biol., 1952, 3. Ragand C. C. R. Soc. Biol., 1909, 66. Rendi R. Exptl. Cell. Res., Biochem. et Biophys., 1959, 17. Robinson A. E. a. Brown R. Nature, 1953, 171. Rubinstein D. F., Denstedt O. F. J. Biochem a. Physiol., 1956, № 2, № 34. Schachman H. K., Pordee A. B., Stanier R. Y. Arch. Biochem. a. Biophys., 1952, 38. Schneider W. C., Hogeboom G. H. Rev. Cancer Res., 1951, II, 1. Schneider W. C., Dalton A. J., Kuff E. L., Felix M. Nature, 1953, 172. Serra J. A. Handb. der Pflanzenphysiol., 1955, 1. Setter-

feld G. *Canad. J. Bot.*, 1961, **39**, № 2. Sjostrand F. S. *Nature*, 1953, **171**; *Int. Rev. of Cytol.*, 1956, **5**. Slautterback D. B. *Expt. Cell. Res.*, 1953, **5**. Smellie R. M., Mcindol W. M., Davidson J. N. *Biochim et Biophys. Acta*, 1953, **11**. Stern H., Mirsky A. E. J. *Gen. Physiol.*, 1952, **36**. Stich H. L. *Naturforsch.*, 1951, **6**. Straus W. J. *Biophys., Biochem., Cytol.*, 1959, **5**. Strugger S. *Ztschr. Naturforsch.*, 1957, **12**, N 5. Sun C. N. *Cytologia*, 1960, **25**, № 3—4. Takata K., Osawa S. *Biochim et Biophys. Acta*, 1957, **24**. Tissieres A., Watson J. D., *Nature*, 1958, **182**. Tso P., Bonner J., Vinograd J. J. *Biophys., Biochem., Cytol.*, 1956, **2**. Vendrely R., Vendrely C. *Experientia*, 1948, **4**; 1949, **5**; Vendrely C. a. Vendrely R. C. R. *Soc. Biol., Paris*, 1949, **143**, No. 138. Vendrely G. *Bull. Biol. France e. Belg.*, 1952, **86**. Verworn M. *Die Bewegungen der lebendigen Substanz*. Jena, 1892. Vincent. W. S. *Proc. Nat. Acad. Sci., US.*, 1952, **38**. Warburg O. *Pfluger's Arch.*, 1913, **154**. Weiner P. A. *Ztschr. Mikr. Anat. Forsch.*, 1930, **13**. Zillil W., Krone W., Albers M. *Ztschr. Physiol. Chem.*, 1959, **317**. Yin, F. H. Bock R. M. *Federat. Proc.*, 1960, **19**.

ДЕЛЕНИЕ И РОСТ КЛЕТКИ

ДЕЛЕНИЕ КЛЕТКИ

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ДЕЛЕНИЙ ПРИ РОСТЕ РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНОВ РАСТЕНИЯ

В процессе роста каждого органа растения обычно различают три стадии. На первой стадии, часто называемой эмбриональной, в точках роста (апикальных меристемах) происходит образование зачатка органа и первоначальное разделение его на отдельные ткани. Во время второй стадии — растяжения, зачаток органа, в результате быстрого роста достигает своего окончательного размера и приобретает окончательную форму. Наконец, в течение третьей стадии заканчивается дифференцировка клеток, происходит одревеснение клеточных стенок, возникновение на них структурных утолщений, в результате чего дальнейший рост становится невозможным.

Эта схема была сформулирована почти сто лет назад Саксом (Sachs, 1882) и до сих пор имеет широкое распространение.

Рост органа складывается из двух процессов: увеличения числа клеток и увеличения объема образовавшихся клеток. Оба эти процесса идут во время первых двух стадий роста, но с различными скоростями.

«Жизненный цикл» клетки начинается с момента ее образования. Не всегда клетки после делений увеличиваются в размерах (и тем самым участвуют в росте растения). Так, например, в некоторых закончивших рост тканях изредка встречаются случайные деления, в результате чего клетки становятся меньше; при опадении листьев происходит образование отделительного слоя в результате делений определенных клеток черешка; после деления клеток около нанесенных меха-

нических повреждений не обязательно наступает увеличение размеров образовавшихся клеток.

Можно привести и другие примеры отсутствия роста клеток после их образования.

Подавляющее большинство клеток после одного или нескольких делений переходит к быстрому увеличению размеров, что приводит к росту растения.

Общая характеристика меристем

У растений новообразование органов происходит в апикальных меристемах, которые выделяются на довольно ранних стадиях развития зародыша и сохраняются в течение всей жизни растения. Это происходит вследствие того, что судьба клеток, входящих в состав меристемы, различна. Если данная меристема длительно сохраняет способность к делениям, то в ней имеются инициальные клетки, которые всегда остаются в составе меристемы. Все остальные клетки — производные инициальных клеток.

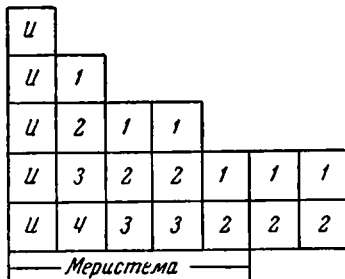


Рис. 13. Схема функционирования инициальных клеток (u) в меристеме. Цифрами обозначены клетки, образующиеся в результате последовательных делений инициальных клеток

Поскольку меристемы сохраняют более или менее постоянный объем, производные инициальных клеток после нескольких делений уходят из меристемы (рис. 13). Следовательно, лишь очень небольшое число клеток постоянно остается в меристемах и длительно сохраняет способ-

ность к более или менее регулярным делениям.

Широко распространено мнение, что все клетки, из которых состоит закончивший рост орган, возникают в меристемах. Однако это правильно лишь для некоторых органов и совершенно неверно для других. Поэтому часто встречающееся определение меристем как областей, в которых исключительно протекают клеточные деления, неверно. В растущих органах (не меристемах) может образовываться гораздо больше клеток, чем образовалось в меристемах (например, в листьях), но деления протекают там лишь сравнительно небольшой отрезок времени и не связаны с заложением новых органов.

Методы изучения скорости образования клеток

Изучение скорости образования клеток началось с определения митотического коэффициента, т. е. процента клеток в митозе от общего числа клеток. До настоящего времени во

многих работах для характеристики скорости размножения клеток приводятся только митотические коэффициенты.

Однако сам по себе митотический коэффициент не характеризует скорости образования клеток. В тканях, состоящих из клеток, находящихся в стадии деления или подготовки к нему, он указывает лишь на соотношение между длительностью интерфазы и временем, затрачиваемым на митоз. В других тканях он зависит еще от процента клеток, прекративших деление. Недостаточность митотического коэффициента как единственной характеристики скорости образования клеток отчетливо иллюстрируют данные Брауна (Brown, 1951), который одним из первых обратил на это внимание. В корнях гороха при 15° и 30°С митотические коэффициенты мало отличаются друг от друга (11,7 и 13,0%), а длительность митотического цикла (времени образования клетки) резко различается (25,6 и 14,3 час); скорость образования клеток во втором случае почти в два раза выше.

Поэтому для определения скорости образования клеток необходимо изучить изменение числа клеток в растущем органе или его части. Ранее для этих целей использовались очень кропотливые методы, основанные на измерении размеров клеток. Сравнив изменение объема растущего органа и его клеток, можно выявить, сколько образовалось клеток за определенный промежуток времени. Этим методом были выполнены исследования по росту плодов тыкв Синнотом (Sinnot, 1939) и по росту листьев И. Г. Серебряковым (1947). Принципиально сходный метод был использован неоднократно для определения скорости образования клеток на различном расстоянии от кончика корня (Hejnowicz, 1959). Браун и др. (Браун, 1955) предложил способ определения числа клеток в отрезке корня путем подсчета их после мацерации в счетной камере. Для вычисления скорости образования клеток определяют число клеток через известные промежутки времени в растущем органе или его отрезке.

Существуют еще два довольно широко распространенных метода, в которых используются колхицин и меченный триптом тимидин (см. стр. 73). Применение этих методов дало довольно сходные результаты, несмотря на определенные недостатки каждого из них.

Образование клеток в разных органах на первой и второй стадиях роста

Корень. Зона клеточных делений занимает в корнях большую область. Она обширнее в более толстых корнях и короче в тонких. Например, митозы прекращаются у корней лука (*Allium cepa*) на расстоянии 1010—1900 мк от кончика корня (корни из луковицы более толстые), у того же вида (корни из семян более тонкие) — 510—900 мк, конских бо-

бов — 2050—5000 *мк*, овса — 810—1000 *мк*, пшеницы (*Triticum vulgare*) — 750—1000 *мк*, ячменя — 800—950 *мк*, кукурузы — 1680—1800 *мк* (Wagner, 1937), гороха — 1500 *мк* (Браун и др., 1955), тимофеевки — 400 *мк* (Goodvin, Stepka, 1945).

Приведенные данные получены на корнях проростков. По мере роста корня размер зоны клеточных делений сокращается. Деления, за счет которых корень растет в толщину, прекращаются раньше, чем деления, за счет которых он растет в длину.

После возникновения в инициальной области клетка несколько раз делится, все время удаляясь от инициальных клеток, так как растут и делятся клетки, лежащие ближе к кончику корня (см. рис. 13). В корне кукурузы каждая клетка делится в среднем 6 раз (Erickson и др., 1956). Больше число делений наблюдается у клеток толстых корней, чем у тонких.

Определений скорости образования клеток на разном расстоянии от кончика корня пока еще очень мало. Эриксон и Сакс (Erickson, Sax, 1956) провели такого рода исследования на корнях кукурузы, применив для этой цели фотографирование нанесенных тушью меток. Одновременно определялось число клеток, а также процент клеток, находящихся на разных фазах митоза. Определив скорость удаления от кончика корня меток, поставленных на разных расстояниях от кончика, и изменение количества клеток на единицу длины корня по мере удаления от кончика, авторы рассчитали скорость образования клеток на единицу длины корня на разном расстоянии от кончика и относительную скорость образования клеток, т. е. скорость образования клеток на одну клетку. Эти данные приведены на рис. 14. Они согласуются с результатами Балдовинуса (Baldovinos, 1953), показавшего, что скорость образования клеток в корнях кукурузы во втором миллиметре от кончика большая, чем в первом. Получены аналогичные результаты при определении скорости роста и образования клеток на разных расстояниях от кончика в эпидермисе корня тимофеевки (*Ph. pratense*) (Goodvin, Avers, 1956). Для этого фотографировалась одна и та же группа клеток, лежащих на разном расстоянии от кончика, через равные интервалы времени и проводили измерения по фотографиям. Кривые изменения относительных скоростей роста и образования клеток на разном расстоянии от кончика приведены на рис. 14. Отчетливо видно, что изменение кривых скоростей образования клеток и роста корня по мере удаления от кончика симметрично в корнях разной толщины (кукуруза — 1,1 *мм*, тимофеевка — 0,18 *мм*).

Иные результаты были получены Хейновичем (Hejnowicz, 1959) при изучении фотографическим методом роста эпидер-

миса и двух внешних слоев клеток коры корней пшеницы. Относительная скорость образования клеток была приблизительно постоянной по всей длине зоны митозов, за исключением клеток, наиболее апикальных и расположенных в самом конце зоны делений (~ 1 мм от кончика). Область наибольшей скорости образования клеток на единицу длины корня лежит в начале второй половины зоны митозов, что согласуется с данными вышеупомянутых авторов.

Относительная скорость роста — скорость роста, делен-

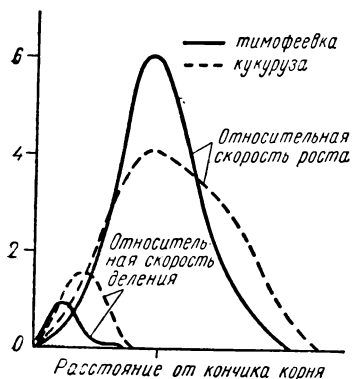


Рис. 14. Относительная скорость роста и образование клеток на разном расстоянии от кончика корня кукурузы и тимфефевки

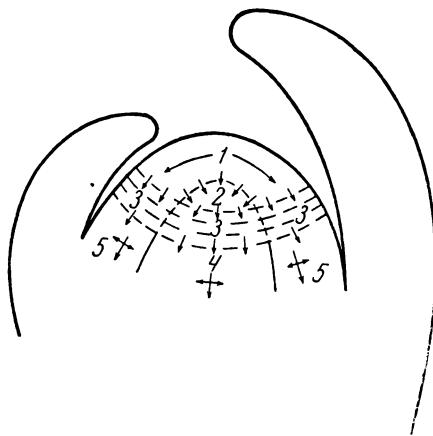


Рис. 15. Распределение направлений клеточных делений в точке роста стебля двудольных растений (по Gifford).

ная на длину растущей части, резко возрастает на некотором расстоянии от кончика корня при переходе к растяжению. Это было показано различными способами: фотографическим, измерениями длин соседних клеток в переходной области и др. Клеточные деления обычно прекращаются до или вскоре после возрастания относительной скорости роста. Сопоставление имеющихся данных показывает, что лишь отдельные клетки некоторых тканей делятся один раз после перехода к растяжению.

Максимумы относительных скоростей образования клеток и роста корня четко разделены (см. рис. 14).

Стебель и лист. В конусе нарастания стебля протекают более сложные морфогенетические процессы, чем в кончике корня. Направления клеточных делений здесь различны в разных областях (рис. 15).

Образование листьев начинается с периклиналильных делений клеток поверхностных слоев, но никогда не самого поверхностного слоя клеток (см. рис. 15). Плоскость, разделяю-

щая клетки, проходит параллельно поверхности. Постепенно образуется выпячивание, которое называют листовым бугорком. Объем листового бугорка быстро возрастает и в него вовлекается значительная часть конуса нарастания (у люпина, например, 35—40% клеток). В этой области концентрируются клеточные деления. В зависимости от расстояния от кончика конуса нарастания, на котором возникает бугорок, в него вовлекается разное количество клеток конуса. Постепенно бугорок превращается в листовой зачаток (примордий) и выделяется из конуса нарастания.

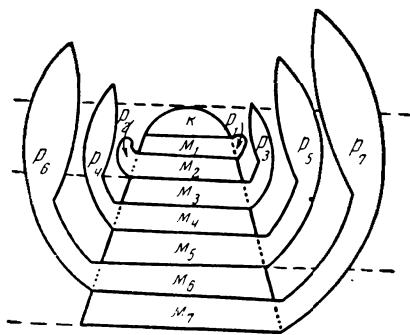


Рис. 16. Схема выделения последовательных междоузлий (M) и примордиев (p). K — конус (по Sunderland, Brown, 1956)

При этом объем конуса сильно уменьшается, хотя и в различной степени у разных растений.

Зачаток листа быстро растет в длину. Рост идет неравномерно, поэтому зачаточный лист загибается над верхушкой.

После отделения листа происходит перераспределение клеточных делений, в результате чего объем конуса нарастания быстро восстанавливается и начинается образование нового листа.

Период между образованием двух последовательных зачатков листа называется пластохроном. Его величина зависит от вида, возраста и условий жизни растения.

В подавляющем большинстве работ характеристика скорости образования клеток в точке роста стебля давалась лишь по митотическому коэффициенту. Поэтому исключительно большой интерес представляют данные Сендерланда и Брауна (Sunderland, Brown, 1956), изучивших точными методами скорость образования клеток в точке роста люпина. Они вырезали зачатки первых семи листьев и междоузлий (рис. 16) и после мацерации определяли число клеток в них. Величина пластохрона оставалась приблизительно постоянной за этот период. Поэтому можно было легко определить «время жизни» последовательных семи зачатков листьев и междоузлий; зная величину пластохрона, можно определить, за сколько времени, например, третий зачаток станет четвертым или пятым. За это же время из его клеток образуется то число клеток, которое есть в четвертом или пятом зачатке. Отсюда легко определить скорость образования клеток. Одновременно определялся объем клеток.

По данным этих авторов, количество клеток в первом междоузлии и листе равнялось в сумме 2300, а седьмом —

32 000. Так как средняя величина пластохрома равнялась двум дням, время, в течение которого из 2200 клеток образовалось 32 000 клеток, составляло 14 дней. Количество клеток увеличилось в 16 раз, т. е. произошло 4 цикла деления ($2^4=16$). Следовательно, средняя продолжительность одного цикла деления составляла около трех дней.

Размеры клеток по мере удаления от конуса увеличивались и наблюдалась их вакуолизация. Однако количество клеток от первого до седьмого узла возрастает экспоненциально. Это, по мнению авторов, означает, что «по крайней мере в эмбриональной области стебля вакуолизация, как таковая, оказывает малое влияние на клеточное деление».

Изложенные результаты подтверждаются данными ряда авторов, наблюдавших клеточные деления в вакуолизованных клетках стебля.

Переход к растяжению происходит в стебле постепенно, не столь резко, как в корне. В работах не указываются точно границы зон роста. Характерно, однако, что размеры клеток даже в самой эмбриональной части стебля постепенно увеличиваются и в клетках возникают заметные вакуоли.

О моменте прекращения делений в листьях накоплено сравнительно мало данных. При распускании почки сырой вес листа быстро увеличивается. Рост листа в это время считается большинством авторов типичным растяжением, однако количество клеток также увеличивается.

Возможны разнообразные соотношения между степенью увеличения числа клеток в листе и объемом отдельной клетки. Сандерланд (Sunderland, 1960) определил после мацерации число клеток в растущих листьях подсолнечника и люпина. Примерно 10% клеток образовалось до выхода листа из почки, остальные — после. Деления прекращались, когда листья достигали $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ своего окончательного размера (рис. 17). Во время роста в почке происходило 4-кратное увеличение среднего объема клетки, а после разворачивания, — 10-кратное. Увеличение объема клеток продолжалось после прекращения делений, но незначительно (рис. 17, 18).

Продолжительность одного цикла деления в верхушечной почке люпина в среднем составляет 2 дня, а после разворачивания — 4 дня; у подсолнечника размножение клеток листьев внутри почки также идет быстрее, чем после разворачивания листа.

Интересно, что в черешке количество клеток тоже увеличивается (у 10-го листа подсолнечника от 241 900 на 63-й день до 1 051 300 — на 104-й день). Анатомическое сходство черешка с междоузлием дает возможность предполагать, что в них также протекают деления во время растяжения.

В более старых работах можно найти указание на прекращение клеточных делений в листьях, хотя строение клеток в листе не определялось. Эвери (Avery) указывал, что клеточные деления в листьях табака всего прекращаются в эпидермисе листа, при длине

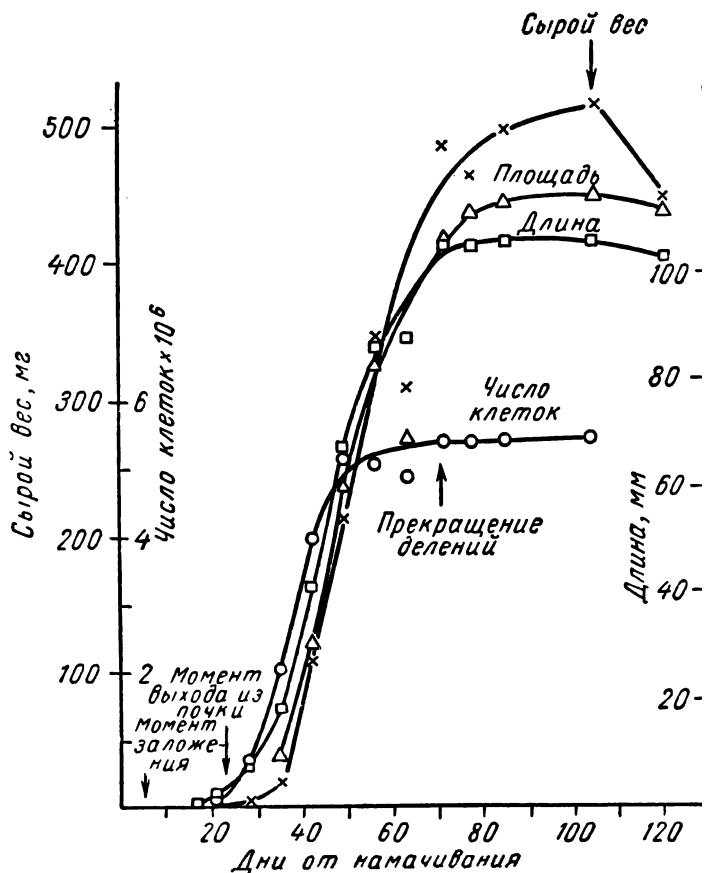


Рис. 17. Изменение площади листа и числа клеток в нем в процессе роста (по Sunderland, 1960). Стрелка показывает момент прекращения делений

что составляет $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{6}$ окончательного размера листа; клеточные деления прекращаются в мезофиле и в последнюю очередь в палисадной ткани.

И. Г. Серебряков (1947) нашел, что при распуске почек происходит энергичное деление клеток. Размер может даже уменьшаться в этот момент. У световых черемухи за время роста количество клеток нижнего

миса возрастает в 525 раз, а площадь клетки — в 2 раза; у теневых соответственно в 168 и 4,55 раза. У липы размножение клеток идет не столь интенсивно. В световых листьях число клеток нижнего эпидермиса увеличивается в 29,6 раза, а площадь клетки в 20 раз, у теневых — соответственно в 11 и 29 раз. Имеется еще ряд данных о делениях клеток при разворачивании и росте листьев в растяжении (Годнев и Калишевич, 1938; Arney, 1956; Ashby, Wangerman, 1950).

Колеоптиль и другие органы. В колеоптиле пшеницы клеточные деления идут между 18—60 час. после намачивания

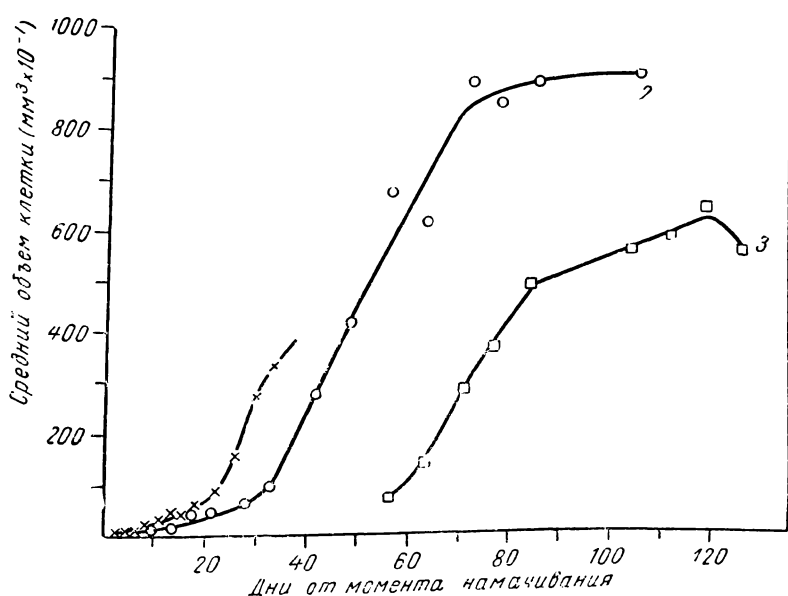


Рис. 18. Изменение объема клеток при росте листа (по Sunderland, 1960): 1 — люпин, 2 — подсолнечник (вторая пара листьев), 3 — подсолнечник (10-й лист).

семени. Рост заканчивается к 96 час. Делится примерно 80—90% клеток и число их возрастает с 36 000 до 125 000. К моменту окончания делений колеоптиль достигает 17 мм длины (Wright, 1961).

У овса клеточные деления прекращаются, когда колеоптиль достигает 8 мм длины и число клеток увеличивается в нем от 25 000 до 75 000. Деления могут происходить в крупных вакуолизированных клетках.

При распускании лепестков в них клеточных делений не происходит (Matthaei, 1957).

При развитии плодов клеточные деления в завязи более интенсивно протекают на первой стадии развития, до раскры-

тия цветка. Затем рост и деления останавливаются. После опыления скорость роста резко возрастает, но происходит постепенное прекращение делений. В более крупных плодах дольше происходят клеточные деления и дольше длится период растяжения (Nitsch, 1953; Sinnott, 1939, 1945; Smith, 1950). Деления клеток сначала прекращаются в центральной части плода, а затем постепенно в более периферических. В плодах авокадо клеточные деления продолжают до их зрелости (Sinnott, 1960).

Число клеток в клубне картофеля возрастает в течение большей части периода роста клубня. Число клеток возрастает за этот период примерно в 500 раз, а объем клетки — в 10 раз. Среднее время одного цикла деления — 6 дней. Число клеток связано с размером клубня по следующей формуле:

$$N = 2,71 \times 10^4 X 0,73,$$

где N — число клеток; X — размер клубня (Plaisted, 1957).

Бредбери (Bradbury, 1953) описала деления клеток клубня картофеля, наполненных крахмальными зёрнами. По некоторым данным в больших клубнях больше клеток и они более крупные.

Скорость деления клеток в разных тканях растения

Митозы распределяются по меристеме неравномерно. В самом кончике корня лежит группа инициальных клеток, отличающихся большей величиной и слабой окрашиваемостью. Эта группа занимает примерно половину или треть ширины кончика (рис. 19) и состоит у кукурузы примерно из 500 клеток, у горчицы (*Sinapis alba*) из 600, у конских бобов из 1100 клеток. Митозы в них встречаются очень редко по сравнению с окружающими клетками. Поэтому эта область называется «покоящимся центром». Все же деления здесь происходят. По данным Клауса (Clowes, 1961), время между двумя последовательными делениями клетки «покоящегося центра» корня кукурузы равно приблизительно 200 час., а у выше лежащих клеток — 20—30 час.

Аналогично корню, в точке роста стебля апикальные инициальные клетки в ряде случаев делятся очень редко. По данным Бюва (Buvat, 1953), у яровой пшеницы деления в апикальных клетках начинаются, когда заканчивается образование листьев и происходит переход конуса нарастания в генеративное состояние. Поэтому он называет эту область «меристемой ожидания». Клетки «меристемы ожидания» сходны по своей морфологии, метаболизму и положению с клетками «покоящегося центра» корня. Подобные клетки находили и у других растений, но не во все периоды жизни.

Пофем (Porham, 1958) и Неуман (Newman, 1956) не нашли подобных клеток в точках роста ряда растений (хризантема, колеус, клевер). Подобные примеры можно умножить, но они не отрицают возможности существования покоящихся инициальных клеток в определенные периоды жизни растения (Василевская и др., 1958; Buvat, 1955).

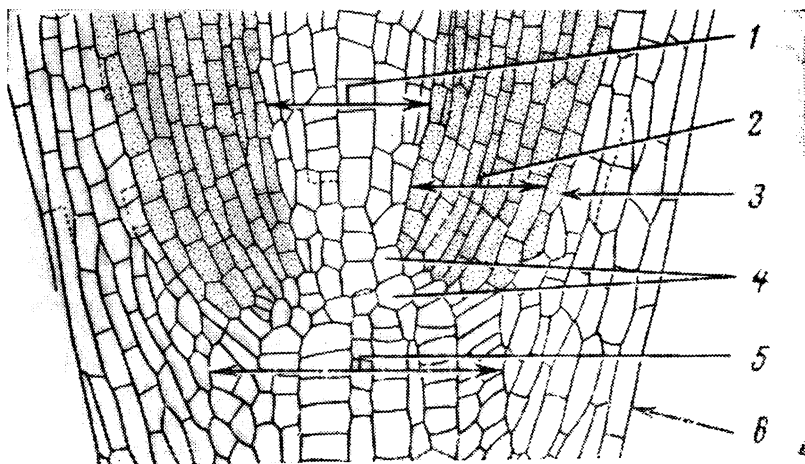
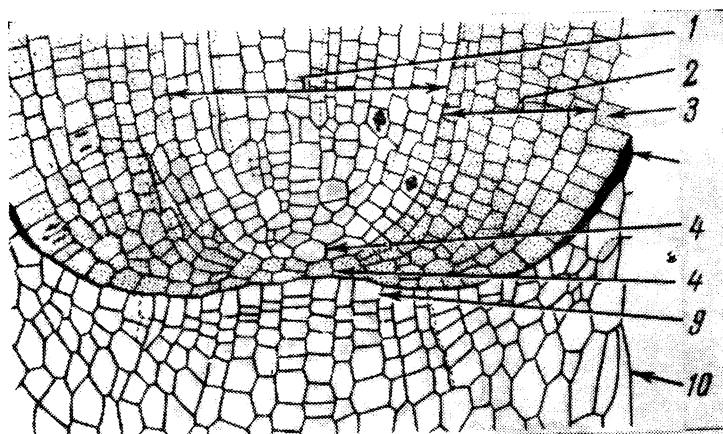


Рис. 19. Строение инициальной области корней кукурузы (вверху) и лука (по Esau):

1 — центральный цилиндр, 2 — кора, 3 — дерматоген, 4 — инициальные клетки, 5 — центральная колонка клеток корневого чехлика, 6, 10 — корневого чехлика, 7 — инициальные клетки центрального цилиндра, 8 — инициальные клетки коры, 9 — калиптроген

В корне также, по ряду данных, может меняться размер «покоящегося центра», однако подробно этот вопрос до сих пор не исследован. Физиологическая роль «покоящегося центра» в меристемах пока неясна.

В разных тканях меристемы скорость образования клеток неодинакова. Это связано, во-первых, с разным числом клеток в разных тканях из-за различий размеров самих меристематических клеток. Эти различия проявляются уже в клетках, лежащих рядом с инициальными клетками (см. рис. 19).

Во-вторых, это связано с тем, что относительная скорость образования клеток, т. е. скорость образования клеток в расчете на одну клетку, в разных тканях различна (Clowes, 1961; Hejnowicz, 1959).

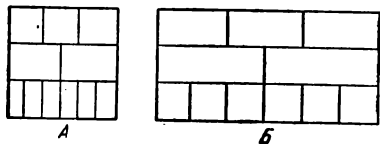


Рис. 20. Изменение размеров клеток в процессе роста при отсутствии скользящего роста. А — до начала растяжения; Б — после начала растяжения

В-третьих, скорость образования клеток зависит от расстояния от инициальных клеток, на котором прекращаются деления в данной ткани.

Так, например, в корне митозы раньше всего прекращаются в клетках ксилемы и протофлоэмы, а дольше всего сохраняются в клетках перестика.

В стебле деления клеток дольше всего продолжают в прокамбии, а ранее всего заканчиваются в сосудах и сердцевине. В листьях деления прекращаются сначала в клетках эпидермиса, а в последнюю очередь — в палисадных клетках. Три указанных выше фактора обуславливают различный размер клеток в отдельных тканях к моменту полного прекращения делений.

Подобным образом регулируется соотношение размеров клеток в закончившем рост органе, так как скользящий рост отсутствует в подавляющем большинстве органов, за исключением млечников и трахеид у хвойных, которые могут расти своими концами, как бы вклиниваясь между двумя соседними клетками. Если в двух граничащих тканях (рис. 20) размеры клеток различны, то по мере роста они, увеличиваясь в одинаковое число раз, сохраняют прежнее отношение. Если клетки какой-либо ткани не увеличивались в той же степени, как другие, то образовались бы разрывы, которых нет в нормально растущих органах. Такие разрывы возникают, например, при повреждении клеток эпидермиса в результате облучения (Vgumfield, 1953). Лишь клетки, не составляющие сплошной ткани, а разбросанные среди других клеток, например, трихобласты, образующие корневые волоски, могут расти с другой относительной и абсолютной скоростью (Sinnott,

Vloch, 1939). Этот принцип наблюдается во всех органах растения. В тканях, в будущем более мелкоклеточных, митозы продолжаются более длительно.

В зависимости от функции ткани она состоит из более мелких или более крупных клеток. Например, клетки запасющих паренхимных тканей крупнее, чем клетки секретирующих тканей. Возникновение различий в размерах является одним из проявлений физиологической дифференцировки клеток, так как размер клетки оказывает существенное влияние на особенности ее метаболизма.

МИТОЗ

Подавляющее большинство клеток в растении образуется в результате митотического деления¹. Существенная особенность митоза состоит в том, что каждая дочерняя клетка получает один из двух тождественных наборов хромосом, имеющих в материнских клетках. Для точного распределения наборов хромосом в клетке образуется специальный аппарат, называемый веретеном. Само тело клетки не обязательно делится на две равные части.

Ход митоза

При митозе происходят сложные последовательные изменения структуры ядра и цитоплазмы² (рис. 21).

Профаза. Первым признаком перехода клетки к делению является увеличение объема ее ядра, что связано с резким увеличением количества воды в ядре, разжижением ядерного сока. В ядре становятся видимыми извитые нити, «будущие» хромосомы, которые сильно красятся основными красителями (отсюда и название — хромосомы, т. е. красящиеся тельца). Постепенно нити утолщаются и укорачиваются. Они отличаются более высоким показателем преломления, что свидетельствует о более высокой концентрации веществ в них. Во время этой стадии, называемой профазой, хромосомы практически не изменяют своего положения в ядре.

¹ При образовании зигот происходит мейоз, при котором два дочерних ядра, образующихся в результате митотического деления, делятся еще раз, причем перед вторым делением число хромосом не увеличивается. В результате мейоза образуются поэтому четыре ядра, с гаплоидным набором хромосом каждое. Особенности мейоза мы рассматривать не будем.

² При описании хода митоза по возможности будут использованы факты, полученные с помощью киносъемки на живом материале польскими исследователями супругами Байер.

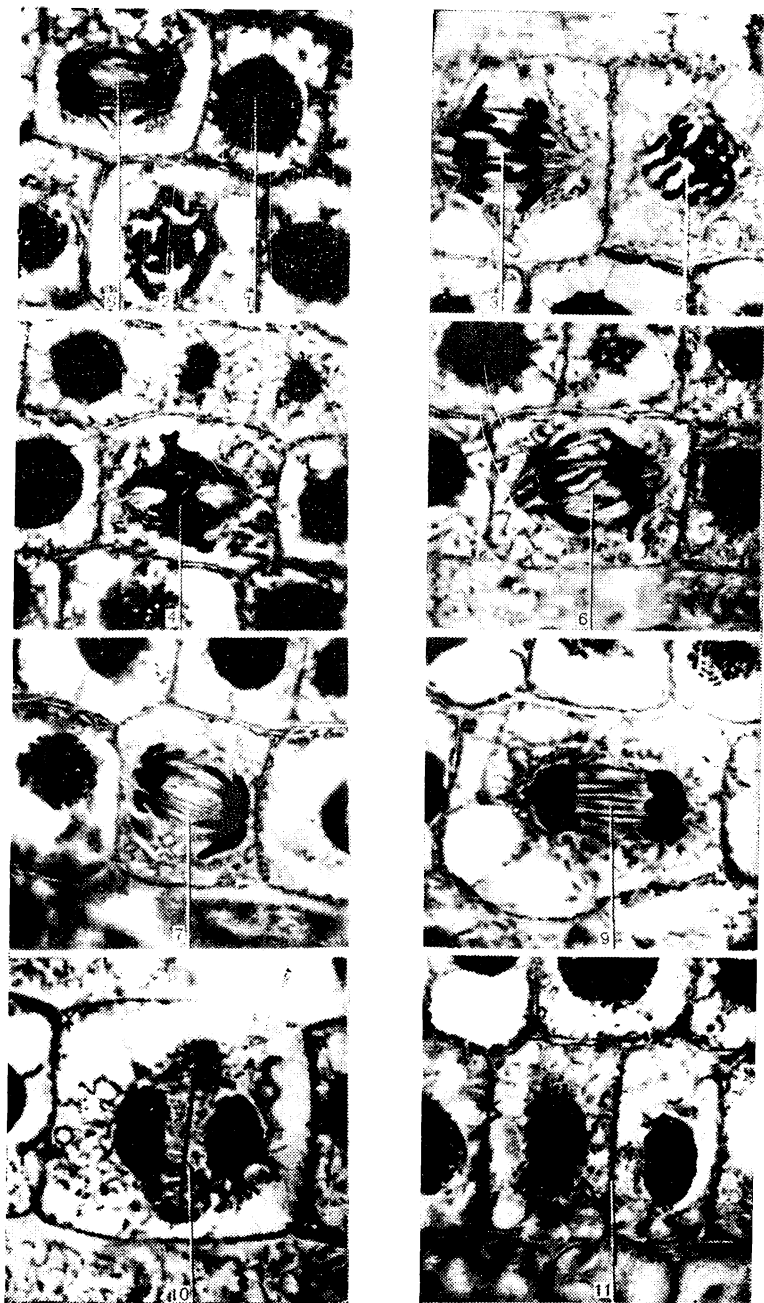


Рис. 21. Митоз в клетках кончика корня лука:

1 — покоящееся ядро, 2,3 — профаза, 4 — метафаза, 5,6 — 7 — анафаза, 8 — начало телофазы, 10—11 — телофаза (по Ries, 1953)

Начиная с ранней профазы в цитоплазме происходят значительные морфологические изменения, связанные с ее участием в образовании будущего веретена. Вокруг ядра начинает образовываться «светлая зона», т. е. область более гомогенной цитоплазмы, в результате перехода из нее в более периферическую часть цитоплазмы митохондрий, пластид и мелких гранул. После заложения «светлая зона» расширяется во всех направлениях перпендикулярно к поверхности ядра; достигая особенно большого размера к концу профазы. Это процесс медленный и легче наблюдается в клетках с большими ядрами и хромосомами. В шарообразных клетках «светлая зона» равномерно окружает ядро, в удлинённых она вытянута, образуя «полярные колпачки» на ядрах, часто заметные на фиксированных препаратах. Сравнение изменений объема «светлой зоны» и ядра не дает оснований для вывода, что рост «светлой зоны» происходит за счет миграции веществ из ядра.

После образования «светлой зоны» дальнейшее развитие веретена зависит от растворения ядерной оболочки. Перед разрывом ядерной оболочки объем ядра сначала увеличивается, а в момент разрыва резко уменьшается. Одновременно сжимается клубок хромосомных нитей. Этот процесс называется митотической контракцией.

Прометафаза. Через несколько минут после митотической контракции начинается следующая фаза митоза — прометафаза (метакинез), во время которой хромосомы перемещаются в середину клетки, образуя метафазную пластинку (см. рис. 21).

После разрыва ядерной оболочки вещества «светлой зоны» смешиваются с ядерным соком. После этого в развивающемся веретене устанавливается продольная ориентированная структура, определяющая впоследствии перемещение хромосом к полюсам.

Перед переходом к метакинезу, приводящему к образованию метафазной пластинки, не только устанавливается структура веретена (рис. 22), но и происходит соединение аппарата веретена с хромосомами. Уже в профазе в большинстве хромосом заметен перегиб, в котором находится специальное образование — кинетохор (или центромер). Он имеет сложную структуру, занимает всегда одно и то же место в данной хромосоме и играет важную роль в движении хромосом.

В самом начале метакинеза, по наблюдениям Байер и Моле-Байер, внешний вид кинетохоров меняется. Они внезапно расширяются, превращаясь в «светлое пятно», а затем постепенно уменьшаются. С этого момента начинается их активное участие в движении хромосом. Хромосома движется к полюсу кинетохором вперед. Там она поворачивается часто на

180°. При этом та же самая часть кинетохора, которая «вела» хромосому к полюсу, «ведет» ее обратно к пластинке. Морфологические данные о значении кинетохоров в движении хромосом подтверждаются при изучении митозов в предварительно облученных клетках (Прокофьева-Бельговская, 1960). При избирательном повреждении кинетохора облучением хромосома не может участвовать в митозе.

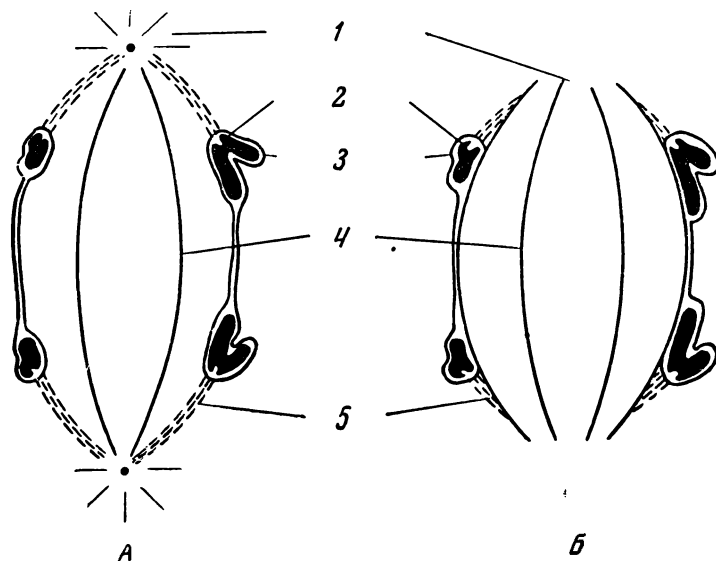


Рис. 22. Схема строения веретена в животной (А) и растительной (Б) клетках:

1 — полюс или центр, 2 — кинетохор, 3 — хромосома, 4 — межполюсные нити, 5 — хромосомные нити (по Лисц, 1959)

Движения хромосом во время метакинеза очень разнообразны. Кроме того, в это время происходит раскручивание двух сестринских хромосом, которые еще соединены друг с другом в кинетохоре. Хромосомы движутся к метафазной пластинке не самым коротким путем и занимают на ней место не самое близкое к их первоначальному месту в профазном ядре. Природа сил, действующих в метакинезе, как и в анафазе, остается неясной.

Ядрышки к этому времени обычно растворяются. Если они сохраняются, то удаляются или через веретено в начале метакинеза, или проталкиваются к полюсу и удаляются из веретена в конце метакинеза.

Метафаза. Образование метафазной пластинки (см. рис. 21) означает, что закончены все процессы и структурные преобразования, необходимые для успешного протекания следующей стадии деления клетки — анафазы, т. е. хромосо-

мы расположены в середине веретена и веретено построено. На рис. 22 показана схема строения веретена в животной и растительной клетках. В первых имеются центриоли, к которым сходятся нити веретена, во вторых их нет. Вопрос о реальности существования «нитей» веретена многократно обсуждался в литературе. После усовершенствования поляризационного микроскопа Инуе было показано наличие двоякопреломляющих «волокон» в живых растительных и животных клетках. Наличие двойного преломления может быть объяснено ориентированием макромолекул в этих областях веретена. В животных клетках «волокна» соединяются на полюсе и двойное преломление сильнее в участках волокон около кинетохоров и центриоль. В растительных клетках оно сильнее около кинетохоров и делается слабее по направлению к полюсам; волокна не сходятся к одной точке на полюсе (Ипохе, 1959). Это согласуется с данными большинства морфологов об отсутствии центриолей в растительных клетках. Характер связи между кинетохорами и полюсами остается невыясненным.

Большое значение для изучения веретена имело его выделение из клеток. Это было сделано впервые в 1952 г. Мэзия и Даном на синхронно делящихся яйцах морского ежа. Значение структуры веретена для нормального завершения митоза было доказано при использовании некоторых митотических ядов, так называемых ядов веретена (Браше, 1960; Каудри, 1958). Одним из наиболее типичных представителей этого класса митотических ядов является колхицин. При воздействии не слишком высоких концентраций ядов на веретена митозы начинаются, но останавливаются на стадии метафазы. Ориентированная структура веретена при действии их не возникает. При воздействии колхицина отсутствует двойное преломление у «волокон» веретена; выделенные веретена имеют вид аморфного геля.

Отсутствие ориентированной структуры веретена не дает возможности нормального разделения хромосом в анафазе, хотя разделение сестринских хромосом происходит.

Анафаза. В начале анафазы происходит разъединение в кинетохоре двух сестринских хромосом, которые к этому времени уже раскручены. Затем хромосомы передвигаются к полюсам, причем сила, действующая на них, приложена к кинетохору. Скорость движения хромосом к полюсам колеблется в разных типах клеток от 0,4 до 5 $\mu\text{к}$ в минуту (Мэзия, 1957).

Во время движения хромосомы в анафазе перед кинетохором находится область с более сильным двойным преломлением. Ряд исследователей предполагает выделение из кинетохоров и центриолей каких-то химических веществ, вызывающих структурные преобразования в веретене.

По мере передвижения хромосом к полюсам веретено несколько удлиняется. В середине веретена начинается образование фрагмопласта — перегородки, разделяющей две образующиеся клетки (см. рис. 21). По имеющимся данным (Ипопе, 1959), волокна, находящиеся здесь, обладают сильным вторичным двойным преломлением, что свидетельствует об упорядоченном расположении макромолекул. Внутри

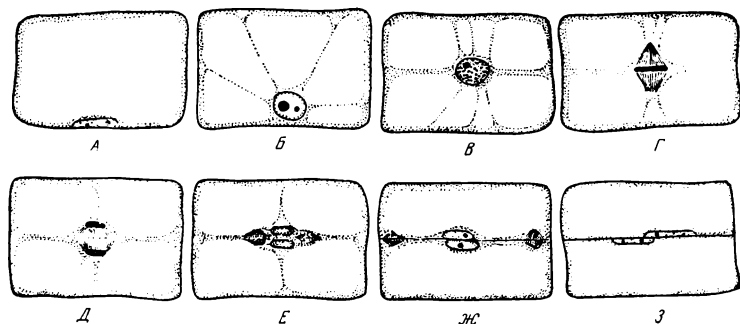


Рис. 23. Деление вакуолированных клеток сердцевины в точке роста стебля (полусхема). А — З — последовательные этапы деления (из Büning, 1953, по Sinnott, Bloch, 1939)

фрагмопласта возникает клеточная пластинка (срединная пластинка), разделяющая материнскую клетку на две¹. В ее образовании принимают участие мелкие гранулы, окрашивающиеся основными красителями. Вполне вероятно, что эти гранулы связаны с эндоплазматическим ретикулулом.

Телофаза. После расхождения хромосом к полюсам начинается последняя стадия митоза — телофаза. Хромосомы объединяются и образуются ядра, принимающие постепенно типичную интерфазную структуру. Образуются ядрышки. Их образование происходит всегда в связи с определенными участками хромосом. Веретено растворяется.

Описанные факты относятся к делению клеток без развитой центральной вакуоли. При делении сильно вакуолированных клеток образуется тяж протоплазмы через клетку, называемый фразмосомой (рис. 23). Сюда передвигается ядро и здесь происходит его деление (Sinnott, 1939; Bailey, 1954).

Продолжительность отдельных стадий митоза. Она варьирует у разных объектов. Самой длинной является стадия профазы. В табл. 2 мы приводим данные о максимальной и минимальной продолжительности отдельных фаз митоза.

¹ Подробные данные о разделении тела клетки можно найти в сводке Мюльдорфа (Mühdorf, 1951).

Наиболее быстро идут митозы при дроблении яйца у животных.

В растениях митозы идут медленнее. Их продолжительность зависит от внешних условий и типа клеток. Особенно большое влияние имеет температура (Brown, 1951; Küster, 1956).

Таблица 2

Продолжительность отдельных фаз митоза (в минутах)
(Мэзия, 1957)

Фаза митоза	Минимальное время	Максимальное время
Профаза	2	270
Метафаза	0,3	175
Анафаза	0,33	122
Телофаза	1,53	140

Продолжительность митоза определяется различными способами. Во-первых, непосредственным наблюдением за делящимися клетками (визуально или с использованием замедленной киносъемки); во-вторых, зная скорость образования клеток, время одной генерации (см. стр. 59), можно по относительной встречаемости клеток, находящихся на разных стадиях деления, рассчитать продолжительность каждой стадии; в-третьих, используется метод «метки» клеток, находящихся на определенной фазе митоза или в интерфазе. Например, колхицин останавливает деление на стадии метафазы. Наблюдая накопление метафаз в обрабатываемых колхицином клетках через известные промежутки времени, можно определить продолжительность митоза. Часто используется меченый тритием тимидин, который включается в ядра клеток в середине интерфазы (см. ниже). Наблюдая затем динамику появления клеток с мечеными ядрами на разных стадиях деления, можно определить их продолжительность. Указанные методы дают сходные результаты (Clowes, 1958).

Метаболизм клетки во время митоза и интерфазы

Интенсивность дыхания во время митоза часто значительно снижается (Erickson, 1947; Stern и др., 1948; Stern, 1959). Было описано падение активности гликолитических ферментов — альдолазы и дегидрогеназы глицеринового альдегида — в делящихся клетках пыльников лилии, очень высокой в них

во время интерфазы (Stern, 1959). Начавшийся митоз с трудом останавливается дыхательными ингибиторами и анаэробнозом. Ингибирование не сказывается на очередном делении, хотя блокирует последующие деления (см. сводку Swann, 1957). С другой стороны, во время митоза в клетке совершается работа, требующая известных затрат энергии. На живых клетках была показана Гофман-Берлинг (Hoffman-Berling, 1959) необходимость АТФ для разделения клеточного тела. Таким образом, имеется противоречие между низкой активностью дыхания, устойчивостью митоза к дыхательным ингибиторам и необходимостью использования во время митоза энергии, поставляемой дыханием.

Это противоречие пытался разрешить Сванн (Swann, 1957). Он предложил наличие механизма, запасающего в интерфазе энергию для последующего деления. Уже давно известно, что размножающиеся клетки на стадии интерфазы наиболее чувствительны к отсутствию кислорода или к действию дыхательных ингибиторов.

Механизм запасаения энергии для деления изучался на яйцах морского ежа. По всей вероятности, запасаются не просто молекулы с макроэргическими связями, а скорее имеется какой-то механизм, специфически связанный с клеточными делениями. Химическая природа этого «резервуара энергии» митоза еще не расшифрована (Swann, 1957; Mazia, 1960).

Сопоставление имеющихся данных показывает, что на деление расходуется лишь очень небольшая часть энергии дыхания (Swann, 1957). Дробящиеся яйца, в которых деления идут часто, дышат значительно слабее (в 10 раз и более), чем клетки большинства растущих тканей. Основное количество энергии требуется, очевидно, на синтетические процессы.

Как уже было сказано выше, основная часть энергии для деления вырабатывается во время интерфазы. В этот же период происходят основные синтетические процессы, необходимые для последующего деления.

В профазе хромосомы состоят, как правило, из двух сестринских хроматид; следовательно, построение вещества дочерних хромосом происходит раньше профазы.

Точное определение момента редупликации ДНК и синтеза хромосомных белков стало возможным лишь после применения различных новых методов цитологического анализа. С этой целью были использованы: количественная цитофотометрия — определение количества ДНК в ядре по реакции Фельгена и гистонов на препаратах, окрашенных прочным зеленым при pH — 8; гистоавторадиография — определение времени синтеза ДНК по включению в нее P^{32} и меченых оснований, для белков — по включению аминокислот. Особен-

но успешным для определения времени синтеза ДНК оказалось применение меченного тритием тимидина (сводка этих работ — Жинкин, Заварзин, Дондуа, 1960).

При изучении интерфазы соматических клеток животных и растений выяснилось, что в подавляющем большинстве случаев именно в это время синтезируются ДНК и одновременно с ней гистоны. Лишь в очень редких случаях синтез этих веществ происходит в конце телофазы или начале профазы (см. сводки Браше, 1960; Кедровский, 1959; Swann, 1957, а также Sissen, 1959; Taylor, 1961).

Интерфазу можно разделить на три периода: первый — до начала синтеза ДНК, второй — синтез ДНК, третий — после окончания синтеза до начала деления. Продолжительность синтеза ДНК довольно близка в различных типах клеток (животных и растительных). Например, по данным Вимбера (Wimber, 1960), полученным с использованием тимидина, длина всего цикла деления равна в корне *Tradescantia paludosa* в среднем 20 час. Время синтеза ДНК — 10,8 час, он начинается через 4 час после окончания митоза. Переход к митозу происходит через 2,7 час после завершения синтеза. Продолжительность профазы составляет 1,62 час, метафазы — 0,3, анафазы и телофазы — 0,6 час. Сходные данные были получены на клетках кишечного эпителия мыши (Quastler, 1960). Колебания продолжительности интерфазы определяются главным образом продолжительностью первого периода — от конца телофазы до начала синтеза ДНК.

Стерн (Stern, 1960) показал, что в развивающихся клетках пыльников лилии происходит увеличение количества дезоксирибозидов в 25—30 раз непосредственно перед и во время синтеза ДНК. Ряд авторов (Nasatir, Bryan, Rake, 1961) обнаружили, что в это же время происходит резкое изменение фракции свободных аминокислот. Появляется аргинин, в 10 раз увеличивается количество гистидина, а количество лизина уменьшается в 4 раза.

Во время интерфазы синтез РНК иногда замедляется в период синтеза ДНК или резко снижается, хотя в других случаях РНК и ДНК синтезируются одновременно. Во время митоза, особенно с конца профазы, когда хромосомы наиболее плотны, синтез РНК отсутствует. Эти данные согласуются, с одной стороны, с широко распространенными представлениями о роли ядра в синтезе РНК и, с другой стороны, с данными о метаболической инертности ДНК в конденсированном состоянии. Функционирование ДНК, по всей вероятности, осуществляется лишь в интерфазном ядре (Sissen, 1959; Taylor, 1959, 1960).

Включение P^{32} ослабляется во время митоза в клетках амебы, что Д. Мэзия (1957) рассматривает в связи с метаболическим инактивированием ядра во время деления.

Данные по включению меченых аминокислот и накоплению белка во время деления противоречивы. Возможно, это объясняется более косвенным участием ядра в синтезе белка, чем в синтезе РНК.

Материал хромосом (ДНК, гистоны, кислые белки, РНК) строится во время интерфазы. То же самое можно сказать о веществах веретена. На растительных клетках время образования веществ веретена не определялось. Данные, полученные на клетках животных, свидетельствуют о том, что образование веществ веретена происходит перед тем, как мы видим первые признаки его появления.

В образовании веретена и становлении его структуры важную роль играют сульфгидрильные группы. Их количество увеличивается при вступлении клетки в митоз благодаря синтезу или восстановлению. Сульфгидрильные яды тормозят образование веретена (см. сводку Stern, 1959).

Таким образом, во время митоза интенсивность ряда метаболических процессов может падать, по всей вероятности, из-за выключения ядра из метаболизма клетки. Результаты получаются несколько различные в зависимости от типа изучаемых клеток. Основные синтетические процессы, необходимые для митоза, происходят в интерфазе. Установление этого факта имеет важное значение для выяснения механизма регуляции перехода клетки к делению.

Регуляция перехода клетки к делению

Одна из двух клеток, образующихся в результате деления инициальной клетки, после нескольких делений прекращает делиться. Как мы отмечали (стр. 59—66), остановка митозов происходит или до стадии растяжения, или во время ее. Клетки различных органов или тканей одного и того же органа после отделения от инициальной клетки испытывают неодинаковое число делений. Прекращение размножения клеток обусловлено необходимостью поддержания для нормального функционирования растения определенных соотношений между размерами различных органов, их числом, размерами клеток в них и отдельных тканях. В органах, непрерывно растущих (например, корне), поддерживается определенное соотношение размеров отдельных зон роста — меристемы и зоны растяжения. Отмеченные корреляции выработаны в процессе эволюционного приспособления растений к окружающей среде. В зависимости от внешних условий и возраста растения они могут изменяться. Кроме того, имеется еще одна причина, обуславливающая необходимость остановки делений, а именно: ослабление специфического функционирования клеток во время их размножения. Поэтому максимальная активность специфического функционирования

достигает обычно после окончания делений (исключение составляют листья). Трудно предположить, что прекращение делений в растущем органе определяется недостатком питательных веществ, как это имеет место в культуре одноклеточных организмов. Часть клеток, прекращающих деления, находится ближе к источникам питания, чем делящиеся клетки. Так, например, в корне приток питательных веществ идет сверху вниз, размножение клеток останавливается именно в верхней части меристемы. В растущий стебель приток веществ направляется снизу вверх, а прекращение делений наблюдается внизу. Деления останавливаются сначала в нижних листьях, которые ближе к корню. Следовательно, в растущих органах остановка делений обусловлена каким-то другим регулирующим механизмом, обеспечивающим как бы внезапную остановку делений.

Мы уже отмечали выше, что во время интерфазы происходит ряд процессов, необходимых для успешного завершения митоза: редулицируются хромосомы (синтезируются ДНК и гистоны), образуются белки веретена, запасается энергия, необходимая для митоза, и др.

В эксперименте было показано, что при ингибировании некоторых процессов может начаться митоз; однако течение его не будет нормальным, а возникнут различные аномалии митоза. В нормальных условиях аномалии не наблюдаются. Следовательно, клетка переходит к делению, когда все процессы подготовки к нему полностью завершены. Поэтому остановка делений может происходить в результате блокирования лишь некоторых процессов подготовки к делению в различные периоды интерфазы. Действительно, на корнях лука и конского боба было показано Йенсеном (Jensen, 1958), что уже неделящиеся клетки в конце меристемы имеют удвоенное количество ДНК, т. е. блокирование перехода клетки к митозу происходит после периода синтеза ДНК. В настоящее время неизвестно, какие другие процессы подготовки и перехода к митозу, кроме синтеза ДНК и гистонов, блокируются при нормальной остановке делений в растущих органах растения. Вероятно, существует несколько путей остановки делений (см. сводку Swann, 1958).

В заключение остановимся на вопросе о связи роста клетки и перехода ее к делению, так как размеру клетки часто придается важное значение в регуляции перехода к митозу.

В растущих органах деления происходят в клетках различного размера. Это означает, что рост клетки и переход ее к делению не находятся в прямой зависимости даже в меристемах. Клетка может переходить к делению, хотя она еще не достигла размера материнской, и наоборот. В некоторых случаях деления протекают в клетках, не увеличивающихся

в объеме, однако и здесь деления отделены друг от друга определенным промежутком времени — интерфазой. В это время происходят процессы подготовки к последующему делению, которые не могут протекать во время самого митоза.

При различных условиях, различных экспериментальных воздействиях рост и деление могут быть еще более разделены друг от друга, в результате чего возможно получение или гигантских, или очень мелких клеток (Гартман, 1936; Swann, 1957).

Разбирая вопрос о связи роста и деления, Мэзия (Mazia, 1960) отмечает, что рост не является необходимым для клеточного деления. Однако существует минимальный размер клетки, при котором возможны митозы. Так, например, при механическом ингибировании роста корней конского боба клеточные деления прекращаются, если клетки имеют некоторый минимальный размер.

В обычных случаях рост и деления клеток идут приблизительно параллельно, по крайней мере в первый период, т. е. поддерживается один и тот же размер клеток. Затем увеличение объема часто происходит относительно быстрее, чем деления, и размер клеток увеличивается. Однако могут быть и другие соотношения. Таким образом, в растущих тканях размер клеток определяется соотношением скоростей увеличения объема клеток и их деления.

При самых различных неблагоприятных воздействиях способность меристематических клеток к делению тормозится, как правило, в большей степени, чем увеличение их объема. В результате размер меристематических клеток может увеличиваться в несколько раз, а число клеток — уменьшается. Одновременно наблюдается вакуолизация этих клеток вплоть до образования центральной вакуоли.

Интересно отметить, что при действии даже очень различных по своей природе неблагоприятных воздействий (облучение не слишком высокими дозами, действие минимальной для роста температуры, повышенной концентрации некоторых ростовых веществ, антиметаболитов пуриновых и пиримидиновых оснований и др.) наблюдается сходный характер изменения роста клеток и их морфологии; хотя вещества воздействуют на различные звенья обмена, однако во всех случаях это приводит к нарушению соотношения роста и деления, в результате чего клетки становятся больших размеров и в них увеличиваются вакуоли.

Прекращение делений во время нормального роста, по всей вероятности, не есть результат вакуолизации клетки. Мы уже отмечали способность вакуолизированных клеток делиться. В зависимости от органа и ткани деления останавливаются на разных стадиях вакуолизации.

Кроме митоза существует еще прямое деление ядра — амитоз. В этом случае ядро не проходит описанных выше фаз деления.

Морфологические детали амитоза у отдельных типов клеток различны. Мы ограничимся описанием типичного амитоза, протекающего в накапливающих крахмал клетках клубня картофеля (Прокофьева-Бельговская, 1953). В покое ядре с большим ядрышком, окруженным двориком, постепенно формируется маленькое ядрышко (рис. 24). Затем участок ядра вокруг маленького ядрышка начинает обособляться, и ядро принимает отчетливо двойственное строение (рис. 25). В некоторых случаях дочернее ядро выступает из исходного в виде «червеобразной» структуры на поверхности исходного ядра. Постепенно молодое ядро все более обособляется, и ядра разъединяются, оставаясь связанными некоторое время полюсами.

В настоящее время совершенно не выяснено, как распределяется ДНК при амитозе между двумя дочерними ядрами. Судя по размерам ядер, это распределение случайно. Лишь в единичных случаях описано появление митоза после амитоза; эти факты, полученные несовершенными методами, нуждаются в тщательной проверке.

Амитозы встречаются, как правило, в некоторых узко дифференцированных клетках, в клетках разрушающихся и больных (или после вредных химических воздействий), в стареющих, сильно вакуолизованных клетках, в клетках, используемых для запасаания питательных веществ (например, клетки эндосперма). К. П. Трухачева и Б. В. Кедровский (1951) от-

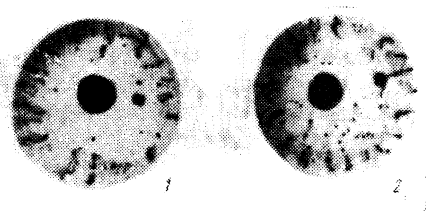


Рис. 24. Начальные фазы амитотического деления ядра (по Прокофьевой-Бельговской, 1953)



Рис. 25. Средние (вверху) и заключительные (внизу) фазы амитотического деления ядра (по Прокофьевой-Бельговской, 1953)

метили вероятность протекания амитоза в некоторых камбиальных клетках. Во всех этих случаях амитозы не связаны, как правило, с увеличением числа клеток и ростом органа. Клеточная оболочка возникает между двумя образующимися ядрами лишь в единичных случаях.

Физиологические причины, вызывающие амитоз, мало известны. По мнению ряда исследователей (Ries, 1953; Прокофьева-Бельговская, 1960), амитоз обусловлен сохранением активного функционирования клетки во время деления, так как во время митоза специфическое функционирование клетки резко ослабляется, например останавливается секреция, отложение запасных питательных веществ и т. п. (Залкинд, 1952). Во время амитоза функционирование клеток часто не тормозится (например, отложение крахмала в клетках клубня картофеля; Прокофьева-Бельговская, 1953). В других случаях наступление амитоза вызвано иными причинами, а именно — какими-то патологическими процессами, дифференцировкой узкоспециализированных клеток и др.

Возможно, что распространение амитозов несколько уменьшается, тем не менее можно утверждать, что размножение клеток, а следовательно, и рост растений идут главным образом посредством митозов.

РОСТ КЛЕТКИ

ИЗМЕНЕНИЕ ОБЪЕМА И СТРУКТУРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КЛЕТКИ В ПРОЦЕССЕ ЕЕ РОСТА

Изменение объема клетки

Увеличение объема органа происходит во время первых двух стадий роста — «эмбриональной» стадии (меристемы) и стадии растяжения. В последней скорость роста гораздо выше. Это обусловлено изменением самого характера роста, выражающимся в образовании большой центральной вакуоли, и непропорциональным увеличением количества воды в клетке.

В корнях средняя продолжительность интерфазы, за которую клетка приблизительно удваивает свой размер, примерно равна по длительности стадии растяжения, в течение которой размер клетки возрастает в 10—30 раз (см. стр. 83). В стеблях и листьях продолжительность интерфазы составляет даже несколько суток, и скорость роста также резко возрастает в стадии растяжения (см. рис. 17). Скорость роста особенно быстро растягивающихся органов относительно даже превышает скорость роста бактериальных клеток, отличающихся самой высокой скоростью размножения. Однако

растягивающиеся клетки одних органов могут расти гораздо медленнее, чем меристематические клетки других.

Остановимся на особенностях роста клеток в отдельных органах.

В корнях объем клетки возрастает примерно в 10—30 раз (Браун и др., 1955; Потапов и др., 1959; Baldovinos, 1953; Goodvin и др., 1956). Подавляющее большинство результатов получено на корнях бобовых и злаков. Клетки увеличиваются за стадию растяжения примерно в одинаковой степени у растений двух столь разных семейств, хотя клетки злаков более крупные.

О росте клеток в стеблях имеется меньше данных. Тромбетта (Trombetta, 1959) показал, что объем клеток стебля тыквы, гороха, элодеи, фасоли, клевера, подсолнечника возрастает по крайней мере в 10—15 раз, тогда как у суккулента *Briophyllum* — примерно в 100 раз. В гипокотиле бобового *Vigna sesquipedalis* объем клетки увеличивается примерно в 25 раз (Izawa, 1958).

В листьях в среднем объем клетки возрастает в 10—20 раз (Серебряков, 1947; Ashby и др., 1950; Sunderland, 1960).

Значительно увеличивается объем клеток в плодах. По данным Синнота (Sinnott, 1939, 1945), в плодах тыквы объем клеток мякоти после прекращения клеточных делений увеличивается иногда в миллион раз. За время клеточных делений средний объем клетки увеличивается различно в отдельных тканях (от 8 до 30 раз).

Следует отметить, что для решения вопроса о том, во сколько раз увеличивается объем меристематической клетки за время растяжения, необходимо учитывать число делений клетки во время этой стадии.

Сравним в этом отношении два органа растения — лист и корень. В корне после перехода к растяжению, к резкому увеличению относительной скорости роста, наблюдаются лишь единичные деления.

Следовательно, рост происходит главным образом за счет увеличения объема клеток. В листе в этой стадии происходит несколько циклов клеточных делений. Поэтому хотя объем клетки возрастает за время растяжения лишь в 10—20 раз, но из одной меристематической клетки возникает гораздо больший объем ткани. Поэтому объем закончившего роста листа может в 1000 раз превышать объем меристематического зачатка.

Приведенный материал относится к изменению среднего размера клетки органа за время роста. Клетки отдельных тканей различаются по своим размерам. Как мы уже отмечали, эти различия возникают в период клеточных делений, а в течение последующего растяжения размеры клеток изменяются пропорционально друг другу.

Изменение строения и состава клеточной стенки

Растительная клетка имеет твердую оболочку. Если при росте клетки произошло необратимое увеличение размеров ее оболочки, то тем самым фиксируется достижение клеткой определенного объема.

Мы остановимся лишь на самых существенных чертах строения клеточной стенки. Подробные данные можно найти в сводках (Küster, 1956; Frey-Wyssling, 1959; Setterfield, 1961).

Тонкая и эластичная первичная клеточная оболочка образуется на срединной пластинке, возникающей при делении

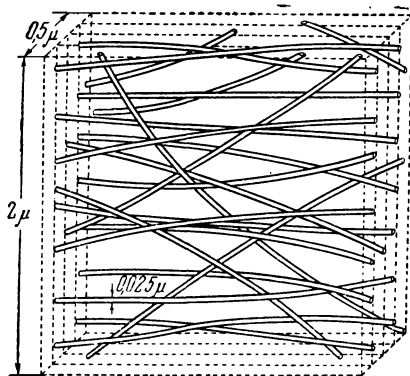


Рис. 26. Расположение микрофибрилл целлюлозы в первичной оболочке в нативном состоянии при оптимальной оводненности матрикса. Микрофибриллы занимают 2,5% объема (по Frey-Wyssling, 1959)

(рис. 26), что в колеоптиле они занимают лишь 2,5% объема стенки (Frey-Wyssling, 1959).

Остановимся на химическом составе клеточных стенок. Оболочки содержат примерно 92—94% воды. В состав самих первичных клеточных оболочек стебля гороха входят 26,3% целлюлозы, 40,2% гемицеллюлозы, 19,6% пектиновых веществ и 12,8% белка. Относительно сходный состав имеют первичные клеточные стенки других органов. Так, высушенные стенки колеоптиля овса содержат 42% целлюлозы, 38% гемицеллюлозы, 8% пектиновых веществ и 12% белка. По мере роста состав первичной стенки несколько меняется (Baldovinos, 1953; Jensen и др., 1960).

Растяжение связано не только с изменением состава клеточных стенок, но и с изменением их структуры. При растя-

жении происходит не растягивание сети фибрилл, а пластическое растяжение основного вещества. При переходе клетки в эту стадию повышается пластическая и эластическая растяжимость клеточной стенки. По предположению ряда исследователей, это связано с высвобождением Са из пектата Са (см. подробно Полевой, 1959; Setterfielld, 1961).

Выделяют различные типы роста клеточной стенки: рост в ширину, рост растяжением с изменения размеров в одном направлении, верхушечный рост, винтовой рост и т. д. Верхушечный рост наблюдается у волосков, пыльцевых трубок и т. п. Однако, как показывают данные, полученные на волосках семян хлопчатника, (O'Kelley и др., 1953), включение углерода из $C^{14}O_2$ в клеточные стенки происходит и на значительном расстоянии от кончика. Это показывает, что рост происходит на значительном расстоянии от него, что сближает рост волосков с типичным растяжением. На других объектах подобных исследований не проводилось.

В большинстве случаев во время стадии растяжения увеличивается сухой вес клеточной стенки, например в клетках корней (Baldovinos, 1953), гипокотыля (Izawa, 1958), в волосках семян хлопчатника (O'Kelley и др., 1953), в колеоптилях.

Однако иногда возможно растяжение без увеличения веса клеточной стенки, что наблюдается в тычиночных нитях злаков, а также в спорогонах.

В опытах с изолированными отрезками колеоптилей и корней было показано, что накопление веществ клеточной стенки при росте зависит от температуры, наличия ауксинов и количества сахаров. В зависимости от внешних условий количество веществ клеточной стенки при росте клетки может уменьшаться или увеличиваться в разной степени, непропорционально увеличению объема клетки (Thomas, 1958).

Доля веществ клеточной стенки в сухом веществе клетки за время растяжения может несколько возрастать или оставаться практически неизменной. Накопление веществ клеточной стенки во время роста происходит в различной степени, в зависимости от принадлежности клетки к определенной ткани (органу) и внешних условий. Эти различия могут быть отражением функциональной дифференцировки клеток.

После достижения клеткой окончательного размера происходит отложение новых слоев на клеточную оболочку путем оппозиции. В длинных лубяных волокнах возможно образование вторичной стенки в средней части оболочки клетки, хотя на обоих растущих концах еще сохраняется первичная стенка. Вес стенки увеличивается и составляет постепенно все большую часть веса клетки.

Соотношение между основным веществом и микрофибриллами во вторичной клеточной оболочке изменяется: целлюло-

за составляет более 90% в сухом веществе клеточной стенки. Степень полимеризации макромолекул целлюлозы увеличивается (O'Kelley и др., 1953).

Микрофибриллы располагаются обычно параллельно друг другу, что приводит к появлению анизотропии (Фрей-Висслинг, 1950; Frey-Wyssling, 1959); они соприкасаются друг с другом. Схематически изменение расположения микрофибрилл при переходе от одного типа оболочки к другому показано на

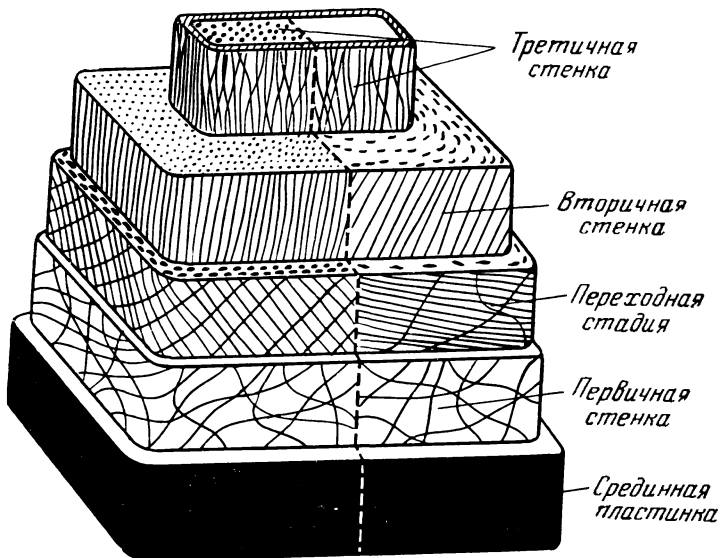


Рис. 27. Изменение расположения микрофибрилл в клеточной стенке по мере роста и дифференцировки клетки (по Frey-Wyssling, 1959)

рис. 27. Между отдельными макромолекулами возникают химические связи. В результате этого повышается прочность стенок.

В некоторых волокнах различают еще третичную клеточную стенку (Frey-Wyssling, 1959).

Дальнейшее упрочнение оболочек связано с одревеснением или минерализацией оболочек, образованием кутикулы и т. п. Подробные данные об этом можно найти в некоторых монографиях (Küster, 1956; Frey-Wyssling, 1959).

Развитие системы вакуолей (вакуома) при росте клетки

В типичных клетках меристемы нет центральной вакуоли. Вакуом состоит из отдельных мелких вакуолей, имеющих форму капелек, нитей, похожих на длинные митохондрии; в

других случаях вакуум представляет собой сеть канальцев.

Убедиться в преемственности между этими образованиями и будущими центральными крупными вакуолями можно при наблюдении их перестройки в процессе роста клетки. Впервые это было сделано Данжаром в 1916—1920 гг. с помощью прижизненной окраски, хотя наличие в меристемах вакуолей было известно и раньше. Эти данные были полностью подтверждены при изучении вакуолей, в которых содержится

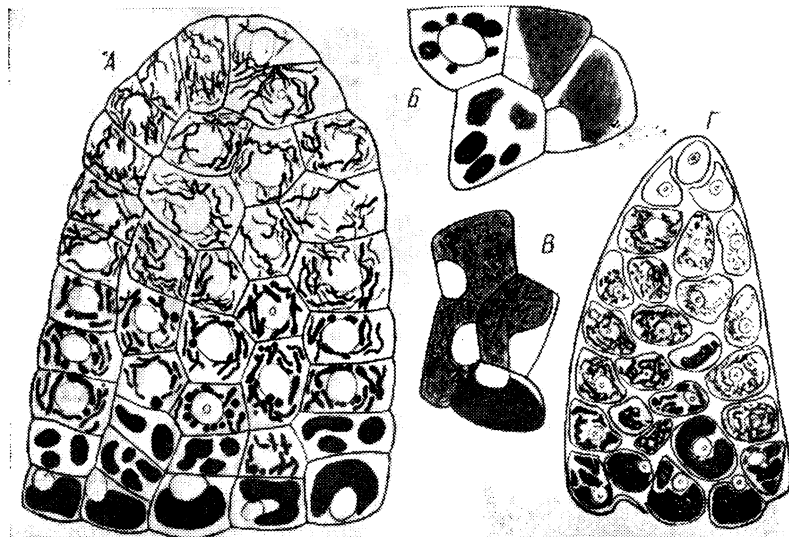


Рис. 28. Окрашенные антоцианом вакуоли в клетках зубчика живого лепестка розы. А, Г — клетки кончика; Б, В — старые клетки (по Pense, из Guilliermond, 1941)

имеющийся в клетке антоциан. Развитие таких вакуолей в зубчиках молодого лепестка розы показано на рис. 28.

Маленькие вакуольки в меристематических клетках представляют собой не капельки воды, а, напротив, довольно концентрированный раствор различных веществ — фенольных соединений, пигментов, белков и др.

Состав этих веществ изучен пока еще совершенно недостаточно. Показано, что он варьирует не только у разных видов, но и в меристематических зачатках различных тканей одного и того же растения. По удельному весу эти вакуоли часто тяжелее протоплазмы, что свидетельствует о более высокой концентрации веществ в них.

По мере роста и увеличения размеров клетки объем вакуома увеличивается, а удельный вес падает и постепенно

становится ниже удельного веса цитоплазмы (Guilliermond, 1941; Milovidov, 1930).

Во время стадии растяжения в клетках большинства тканей образуется центральная вакуоль, объем которой растет быстрее объема протоплазмы (см. стр. 88—89). В то же самое время происходит быстрое накопление в клетке различных низкомолекулярных веществ, значительная часть которых сосредоточивается в вакуоле. Эти два процесса взаимосвязаны (см. стр. 117—118).

Относительный объем вакуоли варьирует в зависимости от принадлежности клетки к определенному органу или ткани. В палисадных клетках листьев вакуоль занимает относительно меньший объем, чем в паренхиматических клетках корня и стебля.

Уже после окончания роста и образования большой центральной вакуоли возможна редукция центральной вакуоли с образованием вакуома в виде канальцев. Это происходит в некоторых клетках волосков перед образованием секрета (Stahl, 1957) и в развивающихся клетках эндосперма пшеницы при переходе к отложению запасных белков (Александров, 1954).

Морфология вакуолизации, расположения ядра и протоплазмы различаются в зависимости от принадлежности клетки к определенной ткани. В. Г. Александров и О. Г. Александрова (1940) показали связь конфигурации вакуоли с характером веществ, накапливаемых клеткой. Указанные отличия между клетками разных тканей в развитии вакуома обусловлены особенностями функционирования отдельных клеток, на чем мы остановимся подробнее ниже. Образование различного вакуома есть одно из проявлений функциональной дифференцировки клеток, происходящей во время их роста.

Изменение объема протоплазмы

По мере роста клетки в стадии растяжения протоплазма занимает в ней, как мы уже отмечали, относительно все меньший объем в результате образования и увеличения большой центральной вакуоли.

Имеется мало точных данных об изменении объема протоплазмы при росте клетки. Это связано с большими трудностями измерения объема протоплазмы из-за сложной геометрической формы протопласта (нити протоплазмы, проходящие через вакуоль, и т. п.). С другой стороны, объем протоплазмы в клетке изменяется в связи с повреждением и фиксацией. Поэтому полученные результаты носят приблизительный характер.

Приблизительные подсчеты показывают, что абсолютный объем протоплазмы при росте клетки увеличивается и прото-

плазма в закончившей рост клетке занимает 0,1—0,4 ее объема. Это согласуется с данными, полученными на спорогене *Pellia epiphylla* (Bold, 1938) и колеоптилях кукурузы (Frey-Wyssling, Blank, 1940). По данным Ильина, в эпидермисе листьев плюща вакуоля занимает всего лишь 38% объема клетки, а в клетках мезофилла — 48%. Сходные результаты получены на клетках коры яблони (Алексеев, 1948).

При наличии клеточных делений суммарный объем протоплазмы всех клеток растущего органа увеличивается в еще большей степени, чем объем протоплазмы в каждой отдельной клетке.

В некоторых клетках (секретирующих, будущих цистолитах, в клетках, запасаящих белок и в волосках) вообще не происходит образования большой центральной вакуоли, и объем протоплазмы увеличивается почти в той же степени, как и объем клетки.

Приведенные факты показывают, что объем протоплазмы может увеличиваться при росте как меристематических, так и растягивающихся клеток. Однако в последних он возрастает не столь резко, как объем клеток. На основании этого во многих руководствах голословно отрицалось увеличение объема протоплазмы во время стадии растяжения (Л. Иванов, 1931; Boysen-Jensen, 1939). Эта точка зрения не соответствует фактам.

Следует отметить, что объем протоплазмы может изменяться и после окончания роста клетки. Это происходит, например, в случаях редукции центральной вакуоли. Кроме того, возможны быстрые изменения при раздражении и т. п. При пожелтении листьев в них происходит уменьшение объема протоплазмы (Meuер, 1918). Эти изменения могут быть в эксперименте обратимы.

Таким образом, соотношение между объемом протоплазмы и объемом клетки зависит от размера клетки и ее принадлежности к определенной ткани, от возраста и внешних условий.

Изменение структуры протоплазмы. Развитие эндоплазматического ретикулума

При переходе клетки в стадию растяжения падает электроннооптическая плотность протоплазмы, что связано с уменьшением количества сухого вещества в единице ее объема. Наиболее резкие изменения отмечены в гранулах, попадающих при дифференциальном центрифугировании в микросомную фракцию и содержащих значительную часть сухого вещества протоплазмы. В меристематической клетке большая часть этих маленьких плотных гранул диаметром 8—40 мкм не связана с цитоплазматическими мембранами; они густо рассеяны по цитоплазме всей клетки. По мере роста клетки ко-

личество этих гранул в единице объема цитоплазмы падает. Однако Сеттерфильд (Setterfield, 1961) показал на колеоптилях овса, что количество их в клетке не уменьшается, пока растяжение не закончится. Следовательно, падение количества этих гранул в единице объема происходит из-за увеличения объема протоплазмы, в котором они распределены.

По мере растяжения и окончания роста значительная часть свободных мелких гранул связывается с цитоплазмными мембранами, в результате чего происходит коренная перестройка эндоплазматического ретикулума. Это находится в связи с изменением метаболизма клетки.

Количество цитоплазмных мембран значительно увеличивается за время растяжения (Fenze и др., 1954; Setterfield, 1961). По имеющимся данным образование мембраны эндоплазматического ретикулума происходит из пузырьков 0,1—0,3 мк в диаметре, которые многочисленны в меристематических клетках разных органов.

Результаты электронной микроскопии, свидетельствующие о падении количества вещества в единице объема протоплазмы при переходе к растяжению, подтверждаются рядом других данных.

В многократно проводившихся наблюдениях на живых клетках было установлено, что протоплазма меристематических клеток сильнее преломляет свет и кажется на препарате густой, зернистой. Более высокое преломление света связано с более высокой концентрацией белков, липоидов, РНК в единице объема протоплазмы (Küster, 1956). На ряде объектов прямыми измерениями было показано, что при растяжении объем протоплазмы возрастает в большей степени, чем количество белка в клетке.

Окрашиваемость протоплазмы фиксированных клеток различными красителями резко падает в большинстве клеток по мере их вакуолизации и роста¹. Лишь в клетках секретующих, в некоторых клетках перещика, в клетках, впоследствии образующих цистолиты, секреты и т. п., окрашиваемость протоплазмы сохраняется довольно высокой. В этих же типах клеток недоразвита центральная вакуоль.

Падение окрашиваемости кислыми или основными красителями может определяться двумя причинами: уменьшением количества белка или РНК в единице объема протоплазмы или изменением способности этих веществ связывать краситель. Гистохимическими методами автором было показано, что белки меристематических и растягивающихся клеток связывают за единицу веса одинаковое количество красителя бромфенолового синего. Поэтому падение окрашивае-

¹ В пыльцевых клетках окрашиваемость протоплазмы при росте может возрастать (Bryan, 1954).

мости в растягивающихся клетках корня обусловлено не изменением способности белков связывать краситель, а уменьшением концентрации белка в единице объема протоплазмы, т. е. разжижением протоплазмы. На других объектах таких исследований не проводилось.

Вышеизложенные факты показывают, что при переходе к растяжению происходит разжижение протоплазмы, т. е. уменьшение количества вещества в единице ее объема. По мере дальнейшего растяжения падает относительно доля рибосом в микросомной фракции и во всей клетке. Одновременно уменьшается доля вещества цитоплазмы, осаждающегося в микросомной фракции; этот процесс происходит и после окончания роста по мере старения клетки (Oota, Osawa, 1954).

В так называемую фракцию микросом попадают, с одной стороны, гранулы-рибосомы (связанные с мембранами или свободные), а с другой стороны — обрывки цитоплазматических мембран. Состав этой фракции различен в зависимости от стадии роста клеток. Так, например, Сеттерфильд (Setterfield, 1961) нашел, что микросомная фракция из колеоптилей овса длиной 17 и 37 мм состоит в основном из рибосом, а при длине колеоптилей 54 мм — также из обрывков мембран.

По данным Оота и Осава (Oota, Osawa, 1954), в гипокотиле бобового *Vigna sesquipedalis*, выращиваемого в темноте, на 3—6-й день в микросомной фракции падает отношение РНК/белок. Это, по всей вероятности, свидетельствует об уменьшении относительной доли вещества рибосом в ней, так как отношение РНК/белок практически одинаково у рибосом из самых разных источников (животных, растений, микроорганизмов) (Loftfield, 1958).

Аналогичные данные об уменьшении отношения РНК/белок в микросомной фракции при старении клеток корня кукурузы получили Лунд и др. (Lund и др., 1958).

В микросомной фракции (главным образом в рибосомах) содержится большая часть РНК клетки. Это верно и для вакуолизованных клеток растений (см. сводку Сисакаяна и Одинцовой, 1960). Поэтому, так как количество РНК во многих случаях накапливается за время растяжения (см. ниже), количество рибосом в клетке должно увеличиваться.

Вполне вероятно, что рибосомы могут образовываться и после окончания роста при резком увеличении количества РНК в клетке. Подобные данные широко известны на животных клетках (Браше, 1956, 1960).

По мере относительного уменьшения микросомной фракции увеличивается доля белка в митохондриальной фракции. Такая же закономерность наблюдается при росте и дифференцировке животных клеток. Это связано с существенными изменениями метаболизма клеток: усилением дыхания, акти-

визацией превращений низкомолекулярных соединений, относительным падением содержания РНК и интенсивности синтеза белка.

Изменение количества и структуры митохондрий

В меристематических клетках митохондрии довольно разнородны по форме и величине. Они имеют вид отдельных гранул или их цепочек, либо коротких толстых палочек (Anderson, 1937; Chilliernond, 1941; Lewitzky, 1910). Электронно-оптические исследования показали наличие закономерных изменений структуры митохондрий по мере роста клетки. Лунд и др. (Lund и др., 1958) описали два типа митохондрий, находимых в меристематических клетках кончика корня кукурузы. В одних были хорошо заметны митохондриальные гребни, в других они были недоразвиты. По мере роста происходила дифференцировка митохондриальных гребней, и митохондрии со структурой второго типа отсутствовали в растягивающихся клетках. Аналогичные данные получены в ряде других работ (Buvat, Lance, 1958; Кей и др., 1960; Mercer, 1960; Whalley и др., 1960). Форма и размеры митохондрий очень лабильны. Они могут меняться в течение всей жизни клетки в зависимости от возраста, функционального состояния и условий окружающей среды (Мейсель, 1950; Buvat, 1953; Lewitzky, 1910).

При увеличении размеров меристематической клетки и переходе ее к растяжению происходит увеличение числа митохондрий в клетке. Хотя специальных подсчетов проведено не было, в этом можно убедиться на основании ряда косвенных данных. Так, например, при росте клеток колеоптиля овса число митохондрий в единице объема протоплазмы остается постоянным. Поэтому если объем протоплазмы возрастает, то увеличивается и число митохондрий в клетке (Setterfield, 1961). О возрастании числа митохондрий в клетке можно судить по увеличению количества белка в митохондриальной фракции. Лунд с сотрудниками (Lund и др., 1958) показал, что процент белка в митохондриальной фракции увеличивается в закончивших рост клетках корня кукурузы. При этом само количество белка в клетке возрастает в несколько раз. Размеры митохондрий, по нашим наблюдениям, несколько уменьшаются. Следовательно, можно сделать вывод, что число митохондрий увеличивается. Сходные данные имеются для клеток других органов (Akazawa, Beewers, 1957; Кей и др., 1960; Ts'o и др., 1959). Кей и др. (Кей и др., 1960) показали, что при действии 2,4 D количество белка в митохондриальной фракции увеличивается параллельно с увеличением объема клеток, происходящего за счет радиального растяжения.

При росте клеток плодов перца процент белка в митохондриальной фракции по отношению к общему количеству белка падает, но количество белка в ней увеличивается (Howard и др., 1957). Эти данные приведены в табл. 3. Они представляют интерес, так как в этом случае растущие клетки очень специализированы. Интересны также данные об увеличении количества митохондрий при быстром росте початка *Arum* (Simon, 1959).

Таблица 3

Количество белков в митохондриальной фракции в растущих плодах перца (по Howard и др., 1957)

Зрелость	Вес плода, г	Азот белка, г на 100 г сырого веса	Количество азота белка в 1 плоде, мг	Процент азота белка клетки в митохондриальной фракции	Количество азота белка в митохондриальной фракции, мг на 1 плод*
Зеленые плоды	10—15	0,27	27—41	5,3	1,4— 2,2
	30—40	0,19	57—76	4,4	2,5— 3,3
	40—60	0,21	84—126	4,6	3,9— 5,8
	60—80	0,23	138—184	5,3	7,3— 9,8
Зрелые зеленые	100—180	0,16	160—288	4,7	7,5—13,5
	180—250	0,17	306—425	4,0	12,2—17,0
Спелые	180—250	0,19	342—475	3,1	12,3—14,7

* Вычислены автором.

Приведенные факты свидетельствуют об увеличении числа митохондрий во время роста клетки.

Однако прямой зависимости между увеличением объема клетки и числа митохондрий в ней не наблюдается. Этот вывод можно сделать, с одной стороны, потому, что число митохондрий в единице объема протоплазмы разное в различных клетках; с другой стороны, при воздействии различных факторов объем клетки и число митохондрий в ней изменяются в разной степени. Это было показано в работе Линдблада (Lindblad, 1959; см. также Florell, 1956, 1957; Key и др., 1960; Nakazawa, 1959).

Изменение числа и размеров пластид

В меристематических клетках встречаются пропластиды, лейкопласты и иногда мелкие хлоропласты, находящиеся на первых стадиях развития (Данжар, 1950; Haberlandt, 1924; Küster, 1956).

Развитие пластидного аппарата клетки происходит главным образом во время стадии растяжения. Однако в ряде случаев, еще до перехода к растяжению, по мере удаления

меристематической клетки от инициальных клеток в ней часто усиливается функционирование пластид, особенно лейкопластов, в которых откладывается крахмал (Guilliermond, 1941; Priestley, 1926).

Основные закономерности роста пластид особенно наглядно могут быть выявлены при изучении хлоропластов (Годнев и др., 1938; Мироненко, 1952; Романчук, 1958; Табенцкий, 1947; Табенцкий и Чугаева, 1957; Meyer, 1918). Число их в клетке увеличивается за время растяжения. Структура и размеры пластид закономерно изменяются в онтогенезе листа. Сначала размер хлоропластов постепенно увеличивается, достигает максимума, а затем уменьшается. Особенно резкое уменьшение размеров наступает перед опадением листа. По данным А. А. Табенцкого (1952), в клетке могут одновременно быть хлоропласты разного размера и разной структуры, что свидетельствует об их разновозрастности. Как упоминалось, в растущих клетках могут быть найдены митохондрии различной структуры, т. е. находящиеся на различных стадиях развития.

Следовательно, развитие отдельных пластид и митохондрий, понимаемое как закономерное изменение в онтогенезе клетки их структуры и размеров, происходит неодновременно, что приводит к наличию в клетке одних и тех же органоидов с разной структурой.

Число пластид и их размеры могут увеличиваться после окончания роста клетки (Табенцкий и Чугаева, 1957; Breslawetz, 1926); при старении клетки число пластид в ней может уменьшаться.

Увеличение числа пластид и их размеров по мере роста клетки происходит различно в зависимости от принадлежности клетки к определенной ткани и внешних условий. Так, например, в клетках столбчатой паренхимы число пластид больше, чем в клетках губчатой паренхимы, хотя размер последних много крупнее (Годнев и др., 1938; Любименко, 1924; Haberlandt, 1924). Подобные различия наблюдались и для хромопластов в разных тканях плодов (Вечер, 1961).

Напряженность света сказывается на размерах пластид. В теневых листьях клетки и пластиды крупнее, чем в световых (Любименко, 1924). Затенение выросших листьев приводит к уменьшению размеров пластид и в дальнейшем у некоторых растений к разрушению их. При этом изменяется состав пластид (Годнев и др., 1938; Осипова, 1953). В этиолированных растениях пластиды мелки и не обладают структурой, типичной для хлоропластов. Она развивается в них при зеленении этиолированных растений (Wettstein, 1959).

Различное снабжение растения отдельными минеральными элементами сказывается на числе и размере хлоропластов. (Табенцкий и Чугаева, 1957).

При раздельном удобрении азотом, фосфором и калием хлоропласты достигают больших размеров, а число их в клетке меньше, чем при полном удобрении.

Уровень снабжения растения азотом особенно резко скачивается на развитии хлоропластов.

В хлоропластах находится примерно 40% белка клетки. Впервые это было установлено Граником (Granick, 1938) на табаке и помидорах и многократно подтверждалось на разных растениях (этиолированных и зеленых) (Рабинович, 1951). По данным Граника (Granick, 1938), при старении листа количество белка падает одновременно в цитоплазме и хлоропластах, и соотношение между количеством белка в них остается прежним.

Рост ядра при росте клетки

Изменение размеров ядер. Изменение размеров ядер при росте клеток наиболее подробно и на различных объектах изучал Тромбетта (Trombetta, 1939). В области клеточных делений с увеличением объема клетки объем ядра всегда возрастал, однако медленнее, чем объем клетки. Соотношение скоростей изменения объемов ядра и клетки остается постоянным. В клетках корней скорость роста объема ядра составляет $\frac{2}{3}$ от скорости увеличения объема клетки, т. е. рост объема ядра происходит с той же относительной скоростью, с которой увеличивается поверхность клетки при росте ее объема¹. Не наблюдается какой-либо зависимости между этим соотношением в клетках корней и принадлежностью растения к семейству или роду, а также связи с принадлежностью растения одного вида к карликовой или нормальной расе. У стеблей различных растений отношение скоростей роста ядра и клетки более сильно варьирует, но в среднем оно ниже, чем в корнях, т. е. с увеличением объема клетки ядро увеличивается меньше, чем в клетках корня.

При переходе к растяжению отношение скоростей роста ядра и клетки в одних случаях может оставаться постоянным (стебли шести видов), в других случаях происходит более резкое увеличение объема клетки, чем ядра.

В стебле карликового подсолнечника размер ядер не увеличивается за время растяжения, а в нормальном высокорослом растении даже падает.

После прекращения делений может происходить и резкое возрастание скорости роста объема ядра (карликовая и высокорослая расы настурции, бриофиллума).

¹ При увеличении объема поверхность возрастает более медленно, чем объем, так как поверхность пропорциональна квадрату линейных размеров, а объем — кубу (отношение логарифмов поверхности и объема равно $\frac{2}{3}$).

Таким образом, отношение скоростей роста объемов ядра и клетки, зависит от вида, органа и стадии роста. Однако абсолютно объем клетки увеличивается, как правило, быстрее, чем объем ядра. Эта закономерность проявляется столь резко, что, по мнению ряда авторов, большая относительная величина ядра при наличии крупного ядрышка есть один из самых характерных признаков эмбрионального состояния клетки.

В закончивших рост клетках абсолютная и относительная величина ядер сильно колеблется. Это определяется прежде всего принадлежностью клетки к той или же иной ткани (органу), т. е. функциональной дифференцировкой клеток. Особенно больших размеров достигают ядра в секретующих клетках. В паренхиматических клетках объем ядра относительно меньше. С возрастом клеток объем ядер уменьшается.

Имеют место суточные колебания размеров ядер, сохраняющиеся при постоянных условиях (Бюннинг, 1961), а также изменения размеров ядер, ядрышек и клеток в зависимости от температуры.

Изменяется размер ядер и при различном снабжении минеральными веществами. Так, в корнях, выращиваемых при недостатке Са, размер ядер и хромосом меньше, чем в норме, а при избытке фосфора — больше. Подобные факты описаны в ряде работ (Конарев, 1959).

Наличие в клетке сахаров, уровень окислительного фосфорилирования сказываются на размерах ядер. Они заметно увеличиваются при погружении корней в раствор сахарозы (Саблина, 1903). В листьях при затемнении объем ядер уменьшается. В устьичных клетках форма и размер ядер изменяются при закрывании и открывании щели.

Подробно было изучено влияние темноты и ряда ингибиторов на размер ядер и ядрышек в клетках водоросли *Acetabularia*. Выдерживание в темноте зрелых побегов водорослей в течение 30 суток приводило к трехкратному снижению размеров ядра и к еще большему снижению размеров ядрышек. Действие ядов, снимающих включение P^{32} в полифосфаты, на размер ядер и ядрышек показано в табл. 4.

В клетках, закончивших рост, размер ядра может как уменьшаться, так и увеличиваться.

Механизм и физиологическая сущность этих изменений неодинаковы в различных случаях.

Ядро может в значительной степени изменять размеры в результате колебаний количества воды в нем. Для учета количества воды в настоящее время используют интерференционную, рентгеновскую микроскопию и цитофотометрию. Однако подобные исследования пока лишь единичны. В большинстве работ о степени гидратации ядра судят лишь

приблизительно на основе окрашиваемости, исходя из предположения, что интенсивность окраски свидетельствует о концентрации сухого вещества (главным образом белка и нуклеиновых кислот).

По Гартману (Hartmann, 1919), колебания размеров ядер при разной температуре в значительной степени связаны с изменением гидратации. Суточные колебания величины ядер, по мнению Э. Бюннинга (1961), также обусловлены содержанием в них воды, так как «ядра меньшего объема имеют

Таблица 4

Действие ряда ингибиторов на ядра и рост водоросли *Acetabularia* в течение 10 дней
(по St'ch, 1959)

Показатель	В начале опыта	Контроль	2,4-Динитро-фенол (1 : 12 030)	Моноод-уксусная кислота (1 : 10 0.0)	Акрифлавин
Объем ядра, $мл^3$	$13,2 \pm 3,3$	$243,5 \pm 39,1$	$57,5 \pm 12,8$	$59,6 \pm 10,1$	$197,7 \pm 30,4$
Объем ядрышек, $мл^3$	$0,8 \pm 0,2$	$129,9 \pm 38,8$	$6,7 \pm 1,4$	$6,3 \pm 1,3$	$79,7 \pm 12,7$
Число ядрышек	1	18—26	1	1	10—19
Прирост, $мм$	—	$5,4 \pm 2,7$	0	0	0

более плотную структуру, чем ядра, набухшие в результате поглощения воды». При плазмолизме объем ядер уменьшается, после деплазмолиза восстанавливается.

В работе Бриана (Bryan, 1954) с помощью цитофотометрии показана различная оводненность вегетативного и генеративного ядер пыльцевых клеток. В крупном вегетативном ядре содержание воды гораздо выше.

Содержание воды в ядрах изучено пока совершенно недостаточно. Тем не менее имеются данные о том, что при росте клеток увеличение объемов ядер не может быть объяснено лишь повышением гидратации.

Эндополиплоидия. В многочисленных работах было показано кратное возрастание количества ДНК (эндополиплоидия) в процессе роста клетки и после его завершения. Наличие эндополиплоидии может быть установлено прямым подсчетом хромосом во время спонтанного или индуцированного (поранением или обработкой гетероауксином) митоза в закончивших рост тканях и подсчетом хромоцентров (Tschermak-Woess и др., 1956). Цитологические результаты были подтверждены количественным цитофотометрическим опреде-

лением ДНК по Фельгену (Deeley и др., 1957; Partanen, 1959; Setterfield, 1961) и данными гистоавторадиографии (см. стр. 77). С другой стороны, возрастание количества ДНК в клетке подтверждено биохимическими исследованиями, в которых количество ДНК рассчитывалось на одну клетку (Потапов и др., 1959; Holmes и др., 1955; Südi, Maroti, 1957).

В стеблях, кроме диплоидных клеток, постоянно обнаруживаются полиплоидные клетки. Они наиболее часто встречаются в коре и сердцевине. У некоторых растений определенные ткани состоят исключительно из полиплоидных клеток (например, колленхима в коре *Solanum lycopersicum* состоит из тетра- и октоплоидных клеток). У некоторых растений отмечена эндополиплоидия в клетках эпидермиса.

В корнях эндополиплоидные клетки наиболее часто встречаются также в коре, сердцевине и ксилеме. Особенно часто бывают эндополиплоидными клетки запасящей паренхимы и клетки волосков; в последнем случае степень ее может быть очень велика. Как правило, диплоидные клетки находятся на периферии паренхимы, далее вглубь встречаются ди- и полиплоидные клетки и затем только полиплоидные (Fenze и др., 1954; Holzer, 1952; Küster, 1956; Sinnott, 1960; Tschermak-Woess, 1956).

Увеличение количества ДНК в ядре сопровождается эндомитозами. При эндомитозе происходит увеличение количества хромосом в одном ядре без его деления (Küster, 1956). Количество ДНК в ядре увеличивается не во время эндомитоза, а перед ним (аналогично митозу) (Tschermak-Woess, 1959). Эндомитоз может протекать в разные периоды роста клетки и после того, как она достигнет окончательных размеров. В корнях растений некоторых семейств эндомитозы имеют место в меристеме, причем после эндомитоза может следовать обычный митоз (Ervin, 1941; Küster, 1956). В некоторых случаях во время растяжения с эндомитозом связан очень быстрый рост объема ядра, его удвоение (Doležal и др., 1955).

Объем эндополиплоидных ядер часто больше, чем диплоидных. При низких значениях пloidности могут быть кратные ей отношения объемов ядер. Однако объем ядра зависит не только от пloidности. Поэтому полиплоидные ядра могут быть такие же или даже меньше диплоидных. Между величиной клетки и степенью пloidности ядра также нет однозначной зависимости, хотя часто эндополиплоидные клетки крупнее (Tschermak-Woess и др., 1953).

Рост ядра во время растяжения не является просто набуханием, а связан с протекающими в ядре процессами синтеза. Характер этих процессов зависит от функциональной дифференцировки клеток и отличается в отдельных тканях.

Изменения ядрышка при росте клетки

Величина ядрышка изменяется при росте клетки. В меристематических клетках ядрышки крупные. Величина ядрышек заметно возрастает перед митозом. При переходе к растяжению размер ядрышка изменяется различно в зависимости от того, к какой ткани (органу) принадлежит клетка.

Величина ядрышка зависит от функционального состояния клетки. Его размеры могут увеличиваться или уменьшаться после окончания роста клетки. В стареющих клетках размер ядрышка резко уменьшается.

Наибольшего относительного и абсолютного размера ядрышки достигают в секретирующих клетках, в некоторых клетках волосков и идиобластов. Эти клетки отличаются крупными ядрами (часто эндополиплоидными), сильно красящейся на препаратах цитоплазмой и недоразвитием центральной вакуоли.

При голодании или выдерживании листа в темноте диаметр ядрышка уменьшается сильнее, чем диаметр ядра, а при избытке углеводов увеличивается более резко. При различном снабжении минеральными элементами абсолютные и относительные (по отношению к ядру или клетке) размеры ядрышка меняются.

Литература о ядрышках велика; здесь приведены лишь работы и сводки некоторых авторов (Конарев, 1959; Саблина, 1903; Савиновская, 1958; Bünning, 1953; Gates, 1942; Heitz, 1931; Küster, 1956; Lafontaine, 1958; Lutman, 1934; Meyer, 1918; Stich, 1959; Woods, 1937).

Взаимосвязь процессов роста и дифференцировки клеток

Процесс дифференцировки в широком смысле слова можно определить как образование из оплодотворенной зиготы различных типов клеток¹. В этом смысле уже клетки меристем находятся на определенной ступени дифференциации, поскольку существуют определенные различия между клетками меристем отдельных органов, с одной стороны, и меристематическими клетками отдельных тканей в одной меристеме — с другой стороны. Дифференцировка клеток, становление специфических особенностей клеток отдельных тканей, происходит в результате накопления последовательных изменений в структуре и составе клеток. Это происходит как во время роста клетки, так и после окончания роста.

¹ Обычно, особенно в учебной литературе по физиологии растений термин дифференцировка применяется в более узком значении, как развитие отдельных высокоспециализированных клеток.

В период клеточных делений геометрически определяется принадлежность клетки к определенной ткани. Уже меристематические клетки представляют собой зачатки будущих тканей. Однако клетки одного зачатка могут при делениях давать клетки как своей ткани, так и другой ткани. Например, в корнях значительная часть клеток коры возникает в результате поперечных делений клеток будущей эндодермы (Williams, 1947). В период делений, как мы отмечали выше, закладываются различия в размерах клеток большинства тканей. Деления протекают в клетках, находящихся на разных ступенях дифференциации.

Четкие различия могут быть выявлены между меристематическими клетками в одной меристеме. Рассмотрим для примера меристему корня.

Клетки различных зачатков будущих тканей неодинаковы не только по форме, размерам (см. рис. 19), но и по химическому составу. Количество белка и РНК в единице объема протоплазмы у них различно (Иванов, 1961; Кедровский и Трухачева, 1948; Gejola, 1955); в меристемах корней одни клетки могут содержать такие вещества, которых нет в других, например, антоциан (Molisch, 1928), фенольные соединения и др.; отложение крахмала в корнях кукурузы происходит, по нашим наблюдениям, во всех тканях, кроме перидермы (с прилегающими к нему 2—3 слоями клеток центрального цилиндра) и эпидермиса.

Кроме того, клетки отдельных зачатков различаются по абсолютным и относительным размерам ядер и ядрышек, количеству и морфологии митохондрий, пластид и т. п. (Guilliermond, 1941; Lafontaine, 1958; Lewitzky, 1910; Whalley и др., 1960).

Эти морфологические особенности отдельных клеток связаны с отличиями в их обмене веществ.

В стадии растяжения происходит еще более резкая дифференцировка клеток. Морфологически это проявляется в различной степени вакуолизации клеток и непропорциональном развитии отдельных органоидов (например, пластид). В связи с этим возникают более существенные различия в метаболизме. Ряд тканей приступает на этой стадии к выполнению своей специфической функции.

Из вышесказанного следует, что должны существовать как общие, так и специфические закономерности роста клеток разных органов. Игнорирование особенностей дифференцировки клеток приводит к неправильному представлению о физиологии роста клетки.

Взаимосвязь процессов роста и дифференцировки пока еще мало изучена. Было показано в конце прошлого века Пфефером, что остановка роста корешка заливкой в гипс при достаточной влажности не останавливает дифференцировки

клеток. Так, в очень мелких клетках ксилемы, расположенных близко от инициальных клеток, возникают типичные утолщения.

Условия, благоприятствующие быстрому росту, тормозят развитие высокоспециализированных клеток (Конарев, 1959, Loomis, 1953). Избыток воды, азота, недостаток света усиливают рост, но процессы утолщения стенок, увеличения количества некоторых вторичных веществ (гумми, смолы и т. п.) задерживаются. Они происходят главным образом на третьей стадии роста органа после завершения растяжения. С другой стороны, недостаток азота, воды усиливает процессы дифференцировки, если при этом не происходит торможения фотосинтеза.

Общепринятой теории, объясняющей эти явления, пока нет. Лумис (Loomis, 1953) считает, что указанные выше условия регулируют использование ассимилятов, образующихся при фотосинтезе. В одних случаях основная масса их используется на рост, в других — на дифференцировку (понимаемую в узком смысле). Однако эта теория не вскрывает механизма описываемых явлений.

Различная зависимость от внешних условий процессов роста и дифференцировки делает понятным явление, которое мы неоднократно отмечали при описании изменения органоидов в процессе роста клетки. А именно, влияние внешних условий по-разному сказывается, с одной стороны, на росте клеток, а с другой — на образовании отдельных органоидов.

НАКОПЛЕНИЕ БЕЛКА, РНК И НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ НА РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ РОСТА КЛЕТКИ

Накопление белка и растворимых азотсодержащих соединений (аминокислот, амидов и т. п.)

Меристематические клетки. Делящиеся меристематические клетки все время воспроизводят самих себя. Поэтому накапливаемые белки распределяются между отдельными органоидами клетки примерно в том же отношении, как распределены уже имеющиеся белки. Например, если в клетке 40% белка находится в ядре, а 20% — в митохондриях, то и 40% накапливаемого белка будет в ядрах и 20% — в митохондриях. Иначе количество (размеры) каких-либо органоидов возрастало бы непропорционально, в результате чего образовались бы клетки, отличные от материнских.

Это соотношение несколько изменяется в процессе дифференцировки меристематических клеток; поэтому клетки разных тканей отличаются друг от друга.

При остановке делений, а затем по мере роста синтезируемые клеткой белки распределяются по органоидам уже

не в том отношении, как распределены имеющиеся к этому моменту белки. Поэтому соотношение между количеством белка в различных органоидах постепенно изменяется. Так, например, мы уже указывали, что количество белка возрастает в большей степени в митохондриальной, чем в микросомной фракции.

Меристематические клетки как по особенностям ядер (относительно большой объем ядра и ядрышка, высокая концентрация в них белка и РНК), так и по строению цитоплазмы (особенности эндоплазматического ретикулула) напоминают клетки животных с усиленным ядерным синтезом белка (Бродский, 1961). Относительная доля белка в ядрах и само участие ядер в синтезе белка (насколько можно судить по цитологическим данным) уменьшаются при переходе клеток к растяжению.

При снижении митотической активности и остановке делений перед переходом к растяжению в клетках могут откладываться запасные белки в виде включений в вакуолях и алейроновых зерен (Кедровский и др., 1948; Трухачева и Кедровский, 1951; Priestley, 1926). Автор наблюдал отложение таких включений в вакуолях клеток корня люпина (кора, центральная паренхима) на границе с зоной растяжения. Интересно, что они откладываются совершенно сходно топографически с отложением крахмала в корне кукурузы.

В почках перед переходом к состоянию покоя также откладываются запасные белки. Превращение веществ при распускании почек сходно с превращениями при прорастании семян (Стюард и Томпсон, 1958).

Таким образом, важнейшей особенностью белкового синтеза в активно делящихся меристематических клетках является распределение синтезируемого белка по органоидам в том же самом отношении, как распределены уже имеющиеся белки, в результате чего происходит самовоспроизведение клеток. По мере остановки делений эти соотношения нарушаются. В этом отношении активно делящиеся меристематические клетки сходны с другими интенсивно размножающимися клетками (микроорганизмы и одноклеточные в экспоненциальной стадии роста, клетки культур тканей и т. п.). Кроме того, они напоминают эти клетки по соотношению протекающих в них процессов распада и синтеза белков.

В клетке происходит постоянный распад и синтез белков. В меристематических клетках по сравнению с остальными клетками распад белков заторможен. Этот вывод можно сделать на основе гистоавторадиографических исследований (Clowes, 1958; Jensen, 1957), проведенных на корнях нескольких видов растений с использованием различных аминокислот. При переходе клеток к растяжению количество моле-

кул меченой аминокислоты, включаемое в белки клеток, возрастает гораздо в большей степени, чем увеличивается количество белка в клетке. Сходные данные получены на других активно делящихся растительных клетках (Yemm и др., 1958). Следовательно, в растягивающихся клетках на единицу белка включается больше меченых аминокислот.

Заторможность распада белка сочетается с относительно меньшей активностью протеолитических ферментов в меристематических клетках (Браун и др., 1955; Robinson, 1956).

Скорость распада и синтеза белков возрастает с повышением интенсивности превращений низкомолекулярных азотсодержащих соединений. Можно предполагать, что распад и синтез белков («динамическое состояние») имеет существенное значение в превращении низкомолекулярных соединений.

Для меристематических клеток характерна низкая активность многих ферментов (см. стр. 105) при расчете на единицу белка, что связано, по мнению ряда авторов, с тем, что белки ферментов составляют относительно меньшую долю в общем белке клетки. Эти данные согласуются с более низкой активностью дыхания (на единицу белка), с малой скоростью превращений низкомолекулярных соединений.

Клетки в стадии растяжения. Так как процентное содержание белка часто уменьшается по мере вакуолизации клеток из-за образования большой вакуоли, а затем в результате усиленного отложения веществ клеточной стенки, накопление белка в клетке может быть выявлено только при расчете результатов определений на одну клетку или орган, если число клеток в нем не изменяется.

Неправильные методы расчета привели к ошибочным утверждениям о неизменности количества белка в клетке во время стадии растяжения.

Коренной пересмотр вопроса о синтезе белка во время растяжения начался с работ Фрей-Вислинга и Бланка (Freu-Wyssling, Blank, 1940). В них было показано накопление белка в клетке во время типичного роста в стадии растяжения. Были выбраны объекты (тычиночные нити злаков, колеоптили), растущие очень быстро. Клеточные деления в них на этой стадии не происходят. Поэтому наблюдавшееся значительное увеличение количества белка в тычиночной нити и колеоптиле во время роста свидетельствует о накоплении белка в одной усредненной клетке в процессе растяжения.

Исключительно важное значение для выяснения закономерностей накопления веществ в клетке по мере роста имела разработка Брауном (Brown, 1951) метода определения числа клеток в отрезке корня после мацерации его в хромовой кислоте. Исследования, проведенные с помощью этого метода на корнях (Браун и др., 1955; Обручев, 1962; Потапов

и др., 1959; Heyes, 1960; Morgan, 1954), типокотиле (Izawa, 1958), колеоптиле (Wright, 1961), показали, что во время стадии растяжения, по крайней мере в первой половине этой стадии, в клетке накапливается белок. После окончания растяжения, а иногда уже во второй половине этой стадии, количество белка в клетке уменьшается.

Результаты, полученные на других органах при использовании одного из указанных выше методов расчета, показывают, что накопление белка в клетке происходит на любой стадии ее роста, хотя в клетках некоторых органов количество белка в отдельные периоды роста может оставаться неизменным или даже уменьшаться. Такие данные получены на лепестках различных растений (Matthaei, 1957), клубнях картофеля (Зайцева, 1951; Plaisted, 1957), плодах (Howard и др., 1957, Nitsch, 1953). В листьях двудольных количество белков за время растяжения сначала значительно возрастает, а затем падает (Смирнов, 1954). Имеются данные о накоплении белка после прекращения делений в клетках листьев табака (Granick, 1938). В листьях однодольных растений о накоплении белка во время стадии растяжения можно судить на основании следующих сопоставлений. В основании листа лежит зона клеточных делений; постепенно клетки, лежащие ближе к верхушке, переходят к растяжению, а в верхушке могут находиться клетки, уже закончившие рост. Имеются данные о возрастании процента белка от сырого веса клетки по мере приближения от основания к верхушке (Сабинин, 1940), а так как сырой вес клетки в это время увеличивается, то и количество белка в ней также должно возрастать.

В секретирующих и других клетках с интенсивно красящейся протоплазмой содержание белка на стадии растяжения возрастает, вероятно, особенно сильно. Однако количественных определений на них не проводилось.

Доказательство накопления белка в клетках во время стадии растяжения имело принципиально важное значение для понимания природы растяжения. Было разрушено представление о растяжении как чисто осмотическом увеличении объема клетки. Данные, приведенные в предыдущей и этой главах, ясно показывают, что на стадии растяжения происходит не только увеличение объема вакуоли, но и увеличение числа и размеров органоидов клетки, накопление в ней белка, что сближает процессы роста животных и растительных клеток.

Следует подчеркнуть, что прямой пропорциональности между накоплением белка в клетке и увеличением ее объема часто не наблюдается. На рис. 23 и 30 изображены кривые, характеризующие изменение объема и накопление белка по мере роста клетки корня гороха. При сравнении этих кри-

вых отчетливо видно, что в период растяжения объем клетки увеличивается быстрее, чем накопление белка. Поэтому процент белка от сырого веса падает. Сходные результаты были получены при изучении роста клеток гипокотыля и колеоптыля и корней других растений.

Однако могут быть и другие соотношения между накоплением белка и увеличением объема клетки во время растяжения. Особенно интересные результаты были получены при изучении роста лепестков (Matthaei, 1957). При распускании цветка размеры лепестков сильно увеличиваются. Количе-

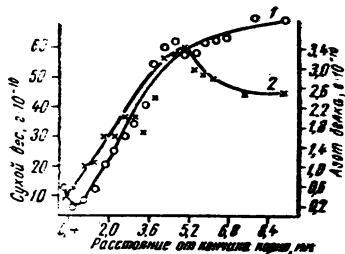


Рис. 29. Средний сухой вес и азот белка (определяемый путем пересчета на одну клетку) в клетках корня гороха, расположенных на разном расстоянии от кончика:

1 — сухой вес, 2 — азот белка (по Брауну и др., 1955)

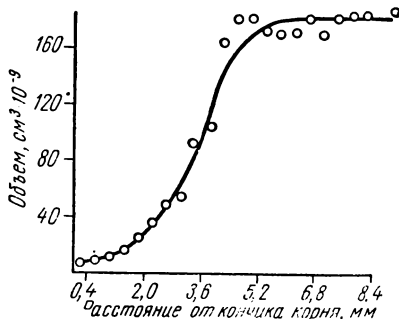


Рис. 30. Средний объем клеток корня гороха, расположенных на разном расстоянии от кончика (по Брауну и др. 1955)

ство белка в них за время роста может возрасти, падать или сохраняться постоянным. Часто сначала белок накапливается, а потом разрушается, несмотря на продолжающееся растяжение клеток. В некоторых случаях накопление белка происходит даже быстрее, чем увеличение сырого веса. Например, при обычных условиях у *Aristolochia elegans* за 44 час поверхность лепестка увеличивается на 75%, сырой вес на 80%, а содержание белка на 237%. При росте лепестков георгина количество белка в них падает, несмотря на значительное увеличение размеров.

Известны также случаи увеличения в клетках листьев процента белка от сырого веса при растяжении.

Характерно, что рост клетки и накопление в ней белка по-разному зависят от внешних условий.

При относительно более высокой температуре белки могут не накапливаться в растущих клетках лепестков, у которых это происходит в обычных условиях, а, наоборот, их количество может уменьшаться, несмотря на более интенсивное растяжение (Matthaei, 1957).

С другой стороны, накопление белка в листьях существенно зависит от обеспеченности растения азотом (Саби-

нин, 1940). Сходные данные получены при исследовании клеток корней.

Таким образом, данные по накоплению белка в клетках за время их растяжения несколько противоречивы. Причины становятся понятными при изучении качественных особенностей синтеза белка на этой стадии.

Переход к растяжению сопровождается существенными изменениями в строении и функционировании органоидов клетки: протоплазма разжижается; увеличивается количество митохондрий в клетке и «вызревает» их структура; перестраивается эндоплазматический ретикулум; развиваются и дифференцируются пластиды; постепенно усиливается отложение веществ клеточной стенки.

Все эти процессы связаны с перестройкой метаболизма клетки. Резко возрастает скорость превращений низкомолекулярных веществ, усиливается (при расчете на единицу белка) интенсивность дыхания. Очень важно, что именно на этой стадии роста клетка часто начинает выполнять специфические функции, присущие той ткани, к которой она принадлежит. Так, например, происходит фотосинтез в растущих клетках листьев, отложение запасных веществ в растягивающихся клетках плодов и корнеплодов. Здесь специфические функции проявляются ясно. Изменение состава растущих клеток, вероятно, также обусловлено специфическими особенностями функционирования клеток. Мы уже отмечали возрастание процента белка от сырого веса во время растяжения в клетках листьев; в других вегетативных органах он падает. Это различие не может быть связано с развитием в клетках листьев пластид, так как в них находится лишь 30—40% белка листа, что недостаточно для объяснения возрастания его процента. Вполне вероятно предположение, что эти отличия обусловлены в значительной степени особенностями белкового обмена в листьях. В большинстве вегетативных органов способность клеток к белковому синтезу резко снижается еще до прекращения увеличения объема. «Однако в зеленом растении при наличии необходимых условий жизнедеятельности листья на протяжении целого вегетационного периода, а у вечнозеленых растений даже и нескольких лет, являются органами, где происходит новообразование белков»¹.

Изменение характера роста при переходе клетки к растяжению связано с качественной перестройкой синтеза белка.

Продолжается накопление белков органоидов. Оно происходит различно в клетках отдельных тканей, что приводит к резкой дифференцировке клеток. Преимущественно развитие

¹ Д. А. Сабинин. Физиологические основы питания растений (1955).

отдельных органоидов и, в связи с этим, накопление их белков, как указывалось выше, — существенное отличие этих клеток от меристематических. В клетке увеличивается активность большого числа различных ферментов. Такие данные имеются для аскорбиноксидазы, полиметилэстеразы, полифенолоксидазы, цитохромоксидазы, пероксидазы, дегидраз, протеолитических ферментов (см. стр. 103), инвертазы, кислой фосфатазы и др. (рис. 31).

Ускоряется обновление белка: постоянный распад и ресинтез его молекул. Это связано с накоплением в клетке низкомолекулярных соединений азота и ускорением их превращений. Значительная часть белка, образуемого в ряде клеток, не связана прямо с увеличением размеров, а может служить для запасаения низкомолекулярных азотсодержащих соединений.

Образование таких белков происходит усиленно в лепестках, где вскоре оно сменяется (иногда до окончания роста объема клетки) их распадом.

В растущих листьях образующиеся белки имеют различную природу. Часть белка непосредственно не связана с ростом клетки. Уже давно известны значительные суточные колебания содержания белка в листьях, сходные с колебаниями количества крахмала. Поэтому вполне вероятно, что часть образуемых белков возникает в результате превращения первичных продуктов фотосинтеза.

В некоторых плодах откладываются запасные белки, также не связанные непосредственно с ростом клетки как таковым.

В растягивающихся клетках корней и стеблей образуется некоторый избыток белка, который разрушается после или до окончания роста клетки. Природа этого белка пока не выяснена. У корней бобовых количество белка в клетке увеличивается во время растяжения в большей степени, чем у кукурузы, что, вероятно, связано с более активным азотным и белковым метаболизмом у бобовых. Продукты распада белка

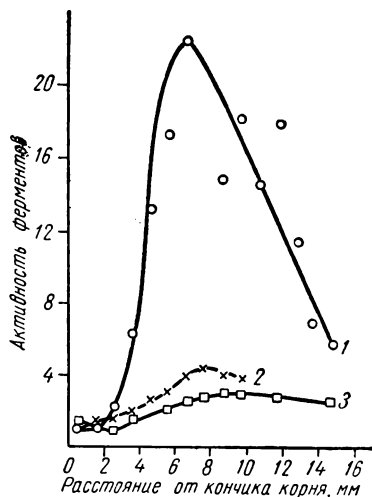


Рис. 31. Средняя активность ферментов (определяемая путем пересчета на одну клетку) в клетках корня бобов, расположенных на различном расстоянии от его кончика:

1 — активность инвертазы, 2 — активность депептидазы, 3 — активность кислой фосфатазы. По оси ординат отложены условные единицы; наименьшие величины, полученные в каждой серии, приняты за единицу (по Брауну и др., 1955)

передвигаются в растущие части и, таким образом, может совершаться круговорот азотистых соединений, т. е. распад их в одних частях растений и образование в других (Уетт и др., 1958). Интересный пример сочетания процессов распада и ресинтеза белка в различных частях растущего органа был получен Изава (Izawa, 1958). В гипокотиле бобового *Vigna sesquipedalis* количество белка не изменяется в течение 3—6 дней прорастивания в темноте. Изава показал, что при этом белок накапливается в клетках в начале стадии растяжения и убывает в конце этой стадии. При этом распад и синтез уравновешены в разных частях гипокотиля, так что количество белка в органе не изменяется.

Таким образом, уровень накопления белка в клетке во время растяжения определяется совокупностью синтезов различных белков и зависит от типа клеток и внешних условий. Поэтому не может быть закономерностей накопления белка, общих для всех типов клеток. Кроме того, необходимо учитывать, что у клеток некоторых органов прекращение делений и начало растяжения отделены большим промежутком времени, во время которого происходит запасание белков. Этим можно объяснить, почему у лепестков некоторых растений во время растяжений клеток может происходить даже распад белков.

В растягивающейся клетке накопление белка в значительной степени определяется «переработкой» поступающих в нее азотистых соединений. В связи с этим интересно сопоставить закономерности накопления белка в клетках целого растения и тех же клетках при росте изолированных отрезков растягивающихся органов в простых средах.

Изолированные сегменты колеоптилей овса, растущие в растворе сахарозы и гетероауксина, не накапливают белка; напротив, количество его даже несколько падает (Thimann, Loos, 1957). Количество белка в изолированных отрезках колеоптилей после роста их в растворах сахарозы с добавлением гетероауксина и аргинина практически одинаково с контрольными, хотя объем закончивших рост колеоптилей различен.

В опытах с мечеными аминокислотами не найдено усиления включения при стимуляции роста гетероауксином. Однако как в контрольных, так и в обработанных гетероауксином изолированных отрезках стебля происходило включение меченых аминокислот в белки, что, по мнению авторов, свидетельствует о распаде и ресинтезе белка. Данные, полученные на изолированных отрезках стеблей противоречивы. Христиансен и Тиман (см. Thimann, Loos, 1957) описали падение количества аминокислот и возрастание количества белка и аспирагина при росте изолированных отрезков этиолированного стебля гороха; эти синтезы только незначительно уско-

рялись при оптимальной обработке ауксином. Однако впоследствии в той же лаборатории не наблюдали возрастания количества белка в этом объекте при прежних условиях хотя, накопление аспарагина и рост происходили с той же интенсивностью. Это свидетельствует, по мнению автора, о том, что соотношение между ростом и накоплением белка может быть легко изменено при небольших колебаниях внешних условий (Thimann, Loos, 1957).

Изолированные отрезки зоны растяжения корней кукурузы росли в растворе сахарозы. При этом в них не происходило увеличения количества белка (Brown, 1953), наблюдаемого в нормально растущих корнях.

Тиман и Лус (Thimann, Loos, 1957) изучили влияние ауксина на рост и образование белка в изолированных срезах клубня картофеля и артишока. В срезах клубня картофеля ауксин в оптимальной концентрации вызывал усиление поглощения воды на 30—40%, а накопления белка — на 10—15%. В срезах артишока, обработанных ауксином, поглощение воды увеличилось на 1000%, а накопление белка — на 400%. Продолжительность опыта с картофелем была 4 дня, с артишоком — 6 дней. Синтез белка усиливался под влиянием ауксина в течение первых двух дней. В последующие два дня в срезах клубня картофеля накопление воды шло более быстро, а белка — более медленно и одинаково в обработанных и не обработанных ауксином срезах. В срезах артишока поглощение воды постепенно замедлялось у обработанных ауксином, хотя и было довольно значительно, и не происходило в контрольных срезах. Количество белка уменьшалось. У контрольных срезов картофеля и артишока весь прирост белка распался, и количество белка в конце опыта вернулось к исходному. У обработанных срезов распалась только треть приросшего количества белка. Накопление белка сопровождалось усилением дыхания. По мнению авторов, синтезируемый белок состоял из ферментов, чем можно объяснить возрастание активности ферментов после обработки ауксином.

Опыты с изолированными отрезками стебля показали, что рост клетки может идти без накопления белка. Тем не менее синтез белка происходит, и отсутствие накопления связано с уравновешенностью синтеза и распада белка. Неизвестно, увеличивается ли при росте изолированных отрезков число органоидов. Возможно, что в меристематической клетке есть запасные белки, из которых строятся органоиды. Возможно, что число их не изменяется. Остается неясным, в какой степени строится набор органоидов такой клетки, обеспечивающий ее специфическое функционирование, поэтому нельзя решить принципиального вопроса — является ли рост без накопления белка нормальным или это лишь увеличение объема клетки без построения органоидов.

При обработке корней антагонистами ауксина длина корневой резко увеличивается, хотя количество белка остается тем же (Burstöm, 1951).

Приведенные факты подтверждают высказанные выше соображения о косвенном характере связи между увеличением объема клетки и накоплением в ней белка. Синтез белка обязательно происходит при растяжении клетки. Однако происходит ли накопление белка или нет, зависит от ряда причин, в том числе от притока низкомолекулярных веществ к растущим клеткам.

Вопрос о соотношении скоростей накопления белка в растягивающихся и меристематических клетках не может быть решен однозначно. Неоднократно высказывалось мнение о том, что накопление белка наиболее быстро происходит в меристематических клетках. Оно было основано, в частности, на снижении процента белкового азота от общего в растягивающихся клетках. Однако это утверждение далеко не всегда правильно. Соотношение между количеством белкового и небелкового азота определяется рядом причин, в частности зависит от типа клетки и притока небелковых соединений азота. В некоторых быстро растягивающихся клетках (например, тычиночных нитях) происходит при растяжении увеличение процента белкового азота от общего. В листьях этот процент значительно выше, чем в корнях и стеблях.

Скорость накопления (а тем более синтеза, так как распад усиливается) в ряде случаев может быть выше в стадии растяжения (при расчете на клетку и единицу белка). Это было показано для колеоптилей пшеницы (Wright, 1961). К такому же выводу можно прийти, рассматривая данные Р. Брауна и сотрудников (1955), полученные на клетках корня. За стадию растяжения количество белка в клетке увеличивается в 5 раз, а за время интерфазы — в 2 раза, хотя продолжительность этих стадий примерно одинакова.

В различных меристематических клетках скорость накопления белка варьирует. Так, например, в корнях продолжительность интерфазы, в течение которой удваивается количество белка в клетке, в несколько раз меньше, чем в стеблях.

Таким образом, увеличение количества белка в клетке может происходить на всех стадиях роста и после его завершения.

Соотношение между увеличением объема клетки и накоплением белка в ней определяется рядом факторов: во-первых, стадией роста, на которой находится клетка, во-вторых, принадлежностью клетки к определенному органу или ткани и, в-третьих, внешними условиями. Поэтому это соотношение не может быть однозначным в любых растущих клетках.

Накопление РНК в клетке на разных стадиях роста (данные биохимических определений). В активно делящихся меристематических клетках накапливаемая РНК, аналогично белкам, распределяется между отдельными органоидами клетки в том же самом отношении, как и в самих исходных клетках. Таким образом происходит воспроизведение клеток, похожих на материнские.

По мере перехода к растяжению в большинстве клеток происходит перераспределение РНК, а именно — уменьшается абсолютно и относительно количество ее в ядре и увеличивается в цитоплазме. Это выражается в уменьшении относительных размеров ядер и их базофилии (количество ДНК в ядрах не уменьшается) и часто даже в абсолютном уменьшении размеров ядрышек¹. С помощью дифференциального центрифугирования было показано падение отношения РНК/белок в ядерной фракции по мере растяжения клеток эпикотилия (Tso, Sato, 1959).

По всей вероятности, перераспределение РНК связано с активизацией белкового синтеза в цитоплазме, с образованием в ней новых типов белков (в частности, ферментов) и построением ее органоидов. В настоящее время доказано, что ядро играет важнейшую роль в синтезе РНК и, вероятно, в нем образуется практически вся РНК клетки, большая часть которой затем переходит в цитоплазму. Эти представления хорошо согласуются с данными об участии ядра в образовании рибосом (Браше, 1960; Збарский, 1961; Кедровский, 1959). Таким образом, можно предположить, что в ядре меристематической клетки накоплен некоторый избыток РНК, который при переходе клетки к растяжению используется для быстрого образования органоидов и белков цитоплазмы.

Данные об изменении количества РНК в клетке за время растяжения несколько противоречивы.

Увеличение количества РНК во время стадии растяжения было описано в жонках фасоли (Конарев, 1959), конских бобов (Homes, 1955), гороха (Heyes, 1959), люпина и кукурузы (Обручева, 1962). Часть РНК клетки распадалась после окончания роста ее объема.

В других работах, выполненных на тех же растениях, не наблюдали накопления РНК в клетке (Woodstock, 1959) или, напротив, отмечался распад РНК (Südi, 1957).

Причины противоречивости результатов неясны. Вполне возможно, что они связаны с несовершенством использованных методов определения РНК, так как противоречивые ре-

¹ В клетках, резко базофильных во взрослом состоянии (секретирующих и т. п.), имеются относительно крупные базофильные ядра с большими ядрышками.

зультаты получены при исследовании корней растений одного вида, выращенных при сходных условиях (Südi, 1957; Heyes, 1960). Наиболее точный метод определения РНК, основанный на использовании электрофоретического разделения пуриновых и пиримидиновых оснований, стал использоваться лишь сравнительно недавно.

Об изменении количества РНК при росте клеток стебля имеется меньше данных.

В. Г. Конарев (1959) определял отношение РНК/ДНК в разных зонах гипокотыля подсолнечника и фасоли. Деление на зоны проводилось условно, по интенсивности прироста, так что во всех зонах есть клетки в стадии растяжения. Возрастные отношения РНК/ДНК по мере окончания роста клетки свидетельствует об увеличении количества РНК в клетке, так как количество ДНК при отсутствии делений, как правило, не изменяется или увеличивается. Оота и Осава (Oota, Osawa, 1954) описали увеличение количества РНК в клетках гипокотыля *Vigna sesquipedalis* в первые три дня проращивания в темноте (на второй день делений в гипокотыле нет). После этого происходит распад РНК, хотя увеличение объема клеток еще происходит.

Сходная картина — возрастание количества РНК в начальный период растяжения и падение при продолжающемся увеличении объема клеток — описана на колеоптиле пшеницы (Wright, 1961). Аналогичные результаты были получены при изучении листьев гороха (табл. 5).

Таблица 5

Сырой вес листа, клетки и содержание фосфора РНК в листьях гороха (Smil'ne, Krotkov, 1961)

Дни после посева	Сырой вес листа, мг	РНК—Р, мг на 1 г сырого веса	РНК—Р, мг на лист	Сырой вес клетки, $г \times 10^{-7}$ *	РНК—Р на 1 клетку, $мг \times 10^{-7}$ *
6	9,0	740	6,6	0,08	59,2
7	13,9	570	7,9	0,1	57,0
9	34,4	342	11,8	0,125	42,8
12	56,9	160	9,1	0,133	21,2
16	54,9	90	3,3	—	—

* Вычислены по приведенным в работе данным.

Как видно из таблицы, с 6-го по 9-й день в листе гороха происходит накопление РНК, однако в клетке количество РНК уменьшается. Это происходит в результате клеточных делений. По этой же причине сырой вес листа возрастает гораздо быстрее, чем сырой вес клетки. После 9-го дня начинается распад РНК.

По данным Н. С. Турковой и Л. А. Ждановой (1959), процент РНК от сухого веса листа возрастает в начале вегетации. Следовательно, происходит накопление РНК в листе, так как сухой вес листа также увеличивается. Затем количество РНК уменьшается.

Сопоставление приведенных данных показывает, что в различных органах наблюдается сходная закономерность изменения количества РНК в клетке во время роста. Сначала происходит накопление РНК, а затем ее частичный распад. Причины, обуславливающие последовательность смены процесса накопления РНК ее распадом, будут рассмотрены нами ниже (см. стр. 115—116).

Гистохимическое изучение РНК в растущих клетках. При биохимических исследованиях определяется количество РНК в «усредненной клетке» органа. Эти данные характеризуют изменение количества РНК в паренхиматических клетках, включающих подавляющую часть клеток органа. В различных специализированных тканях и закономерности накопления РНК в процессе роста могут быть различными. Это было выявлено при гистохимических исследованиях.

Следует отметить, что с помощью гистохимических методов выполняется большая часть работ, посвященных изучению изменения содержания РНК при росте и дифференцировке клеток. Поэтому необходимо охарактеризовать возможности гистохимических методов и способы количественной оценки результатов.

В подавляющем большинстве исследований использовалось для выявления РНК окрашивание срезов основными красителями (пиронином, толуидиновым синим) при кислых значениях рН.

На продольных срезах, сделанных через точку роста корня или стебля, видны клетки, находящиеся на разных стадиях роста. Окрасив такой срез, сравнивают интенсивность окраски протоплазмы (или каких-либо структур) в разных клетках.

Сопоставляя интенсивность окраски, мы сравниваем количества красителя, связанные на единицу площади среза. Так как срез имеет одну и ту же толщину, мы фактически сопоставляем количества красителя, связанные на единицу объема в разных клетках (структурах). При этом допускается, что количество красителя, связанное в данном объеме, примерно пропорционально количеству РНК.

Это было подтверждено в большинстве случаев при сравнении биохимических и гистохимических результатов (Браше, 1956).

Таким образом, при гистохимическом исследовании мы определяем объемную концентрацию РНК. Для того чтобы судить о количестве РНК в клетке, необходимо определить

объем клетки и точное значение объемной концентрации РНК, что до сих пор не производилось в ботанических исследованиях.

По мере перехода меристематической клетки к растяжению объемная концентрация РНК в протоплазме падает. Это было показано на точках роста корней и стеблей. В клетках с хорошо развитой центральной вакуолей объемная концентрация РНК тем меньше, чем более развита вакуоль. В некоторых тканях (перцикл, камбий, секреторирующие клетки и т. п.) объемная концентрация РНК может оставаться неизменной или даже повышаться (Кедровский и др., 1948; Gerola, 1955; Конарев, 1959; Иванов, 1961).

Количество РНК в клетке на разных стадиях роста гистохимическими методами не определялось. Поэтому о количестве РНК в клетке приходится судить на основании биохимических определений, в которых игнорируются отличия между клетками разных тканей. Падение объемной концентрации РНК при переходе клеток к растяжению во многих случаях не может быть объяснено уменьшением количества РНК в клетке. Количество РНК при переходе к растяжению в клетках корней и стеблей обычно или возрастает (см. стр. 111—112), или остается неизменным (Woodstock, 1959). Поэтому кажется более вероятным предположение, что падение объемной концентрации РНК вызвано структурными изменениями, происходящими в протоплазме, а именно — уменьшением количества рибонуклеопротеидных гранул в единице объема протоплазмы. Это предположение подтверждается данными электронной микроскопии и дифференциального центрифугирования (см. стр. 89—91).

Возможность разжижения протоплазмы при переходе клетки к растяжению заставляет искать другие подходы к гистохимическому изучению РНК и других веществ. Интересно сопоставить изменение объемной концентрации РНК при переходе клеток к растяжению с изменением процента РНК в сухом веществе протоплазмы (исключая оболочку и вещества, растворенные в вакуоле); последний близок к отношению *РНК/белок*, так как белок составляет основную часть сухого вещества протоплазмы. Таким образом мы можем выяснить, в какой степени падение объемной концентрации РНК определяется разжижением протоплазмы и в какой степени — уменьшением доли РНК в сухом веществе протоплазмы.

В. Б. Ивановым (1961) было показано на небольшом материале, что в кончике корня кукурузы отношение *РНК/белок* выше у клеток, расположенных непосредственно после «покоящегося центра» и лежащих в области перехода к растяжению, чем у находящихся между ними клеток. Эти результаты согласуются с биохимическими данными, полученными на корнях лука и конского боба (Jensen, 1956, 1958).

Увеличение отношения *РНК/белок* предшествует увеличению интенсивности белкового синтеза.

В конце меристематической стадии синтез белка происходит менее интенсивно, чем в первой половине стадии растяжения (Jensen, 1957; Clowes, 1958). На других органах гистохимическими методами таких исследований не проводилось.

Изменение отношения *РНК/белок* в процессе роста клетки. Результаты многочисленных исследований проведенных на разнообразных объектах, показывают, что «синтезу белка и размножению клеток предшествует увеличение отношения РНК по отношению к белку выше уровня, присущего нормальным зрелым и покоящимся клеткам» (Лесли, 1954). Поэтому определение величины отношения *РНК/белок* необходимо для характеристики растущих клеток.

С этой точки зрения интересно проанализировать, как меняется эта величина в процессе роста клетки и как она связана с изменением в ней интенсивности синтеза белка.

Лишь в единичных работах на одном и том же материале изучалось изменение количества РНК и белка в клетке во время всего периода роста.

По данным Дженсена (Jensen, 1958), накопление РНК в меристематических клетках корней лука и конских бобов, по мере удаления их от инициальных клеток, происходит быстрее, чем накопление белка. В конце меристемы количество РНК в клетке некоторое время остается неизменным, а количество белка или уменьшается (конский боб), или также не изменяется. Поэтому отношение *РНК/белок* выше в клетках переходной области, чем у нижележащих клеток. При изучении этого соотношения в стадии растяжения были получены различные результаты: по одним данным, накопление РНК происходит при растяжении быстрее, чем белка (Обручева, 1962); по другим — оба процесса идут параллельно (Heyes, 1959). После окончания роста количество РНК уменьшается в клетке более резко, чем количество белка. Так как в клетке происходит постоянный распад и синтез макромолекул РНК и белка, большее снижение количества РНК может быть истолковано как более раннее ослабление ее синтеза.

В других работах не проводилось одновременного определения РНК и белка в корневых клетках. Сопоставляя опубликованные результаты соответствующих исследований, можно сделать вывод, что количество белка за период растяжения увеличивается более резко, чем РНК, и синтез РНК ослабляется раньше, чем синтез белка.

Сходные данные получены на других органах. В клетках колеоптиля пшеницы (Wright, 1961), гипокотилей фасоли, гороха, подсолнечника, *Vigna sesquipedalis* (Oota, и др., 1954;

Конарев, 1959) отношение *РНК/белок* выше в начале стадии растяжения, а затем падает. В молодых листьях оно выше, чем в старых.

После укоренения листьев табака в них происходит значительное увеличение количества белка. Сначала отношение *РНК/белок* возрастает, а затем РНК и белок накапливаются с одинаковой интенсивностью (Böttger, 1958).

Все эти данные показывают, что обычно синтез РНК усиливается раньше, чем синтез белка, благодаря чему к периоду особенно интенсивного синтеза белка отношение *РНК/белок* возрастает (см. также стр. 102). В дальнейшем он ослабляется быстрее синтеза белка. Затем, по мере ускорения синтеза белка, белок начинает накапливаться более быстро, и отношение изменяется. В течение некоторого времени накопление РНК и белка может идти параллельно друг другу. В конце периода растяжения или после его окончания значительная часть РНК распадается. Это сопровождается увеличением активности рибонуклеазы (Robinson, и др., 1958), повышением атакуемости РНК рибонуклеазой (Сисакян и Одинцова, 1960).

Описанная взаимосвязь между накоплением РНК и белка в процессе роста растительной клетки хорошо согласуется с данными, полученными на животных клетках. Эти данные послужили основой для создания теории о связи нуклеиновых кислот с синтезом белка.

Экспериментальное изучение роли нуклеиновых кислот в процессе роста клетки. Рост меристематических и растягивающихся клеток тормозится при действии на них аналогов пуриновых и пиримидиновых оснований, нарушающих синтез РНК, например, 2,6-диаминопурина (Setterfield, Dupan, 1955), барбитуратов, тиоурацила (Höhn, 1954). Последний тормозит образование корней на черенках, образование почек на листе бриофиллума. В корнях тиоурацил вызывает раннее заложение сосудов, прекращение митозов. При этом рост клеток в растяжении задерживается. Прорастание семян салата также тормозится тиоурацилом. Урацил, примененный, в более высоких концентрациях, снимает ингибирующее действие тиоурацила на эти объекты (Höhn, 1954).

При действии тиоурацила в концентрации 10^{-4} г/мл на декапитированные колеоптили овса он тормозит растяжение. В этом случае, так же как при торможении трипафлавином, урацил не в состоянии компенсировать угнетающее действие. Тиоурацил даже в удвоенной концентрации не ингибирует рост декапитированных колеоптилей, стимулированных гетероауксином (Höhn, 1954). Причина этого явления пока неясна.

Браше (Brachet, 1954, 1955, 1956) описал влияние рибонуклеазы на рост и метаболизм корня лука. Рост корня тормо-

зится и практически останавливается при концентрации рибонуклеазы 1 мг/мл. Включение P^{32} в РНК тормозится на 63% за 1 час, на 80% за 2 час. и на 97% после 3 час. воздействия. В той же самой степени ингибируется включение аминокислот в белки. Накопление белка ингибируется. Дыхание остается неизменным. Фосфорилирование несколько ослабляется, однако в клетке накапливается АТФ.

Рост восстанавливается (возможно, временно) при действии дрожжевой РНК.

Механизм действия рибонуклеазы сложен и полностью еще не выяснен.

Масуда (Masuda, 1959) изучил влияние рибонуклеазы на изолированные колеоптили при обработке гетероауксином. Отрезки, обработанные рибонуклеазой, не реагируют на гетероауксин в течение 90 мин., а затем способность реагировать отчасти восстанавливается. Сопоставление ряда фактов (в частности, по кинетике связывания основных красителей) позволило автору высказать гипотезу первичного действия ауксина. По его мнению, ауксин увеличивает способность РНК, находящейся на поверхности цитоплазмы, связывать катионы. В результате этого часть Са отнимается от пектиновых веществ и, таким образом, разрыхляется клеточная стенка.

Изучение действия ингибиторов синтеза РНК на рост только началось. Пока на растительных объектах получены лишь первые ориентировочные результаты. Несомненно, что более глубокие исследования в этом направлении дадут материал очень важный для создания теории регуляции роста растительной клетки. До сих пор остается невыясненным играет ли РНК какую-либо роль в процессах роста кроме ее участия, в процессах синтеза белков. Остается неясным также, какую роль играет синтез информационных РНК в переходе клеток от одной стадии роста к другой.

Накопление низкомолекулярных веществ в процессе роста клетки

Мы рассмотрели накопление основных структурных компонентов цитоплазмы — белка и РНК — во время роста клетки. Отложение запасных веществ — крахмала, жира, аллейроновых зерен — происходит главным образом после окончания роста. В отдельных случаях (см. стр. 102) они откладываются перед переходом клетки к растяжению. В специализированных запасающих тканях накопление этих веществ начинается уже во время роста клеток.

Как правило, во время растяжения количество низкомолекулярных веществ в клетке возрастает более быстро, чем вы-

сокомолекулярных, что приводит к увеличению количества тургорогенов. Эта закономерность наблюдается часто для растворимых в спирте азотсодержащих соединений (см. стр. 104—108), сахаров, органических кислот, низкомолекулярных фосфорных соединений, неорганических ионов и т. п. Во время растяжения часто происходит распад крахмала. Отношение *редуцирующие сахара/нередуцирующие сахара* возрастает. Отмеченная закономерность выявлена в большом числе работ, и мы укажем лишь некоторые (Зайцева, 1951; Nitsch, 1953; Жолкевич, 1954; Смирнов, 1954; Pisek, 1955; Norris, 1956; Jensen, 1955, 1958; Isawa, 1958).

Накопление низкомолекулярных соединений связано с вакуолизацией клетки, с образованием большой центральной вакуоли. Распределение низкомолекулярных веществ между протоплазмой и вакуолью изучено пока недостаточно. Тем не менее сейчас ясно, что большая часть их находится в вакуоли (Pisek, 1955). Корреляция между вакуолизацией протопласта и накоплением низкомолекулярных соединений может быть выявлена и при сравнении различных типов клеток. В клетках животных, невакуолизированных, гораздо меньше содержится низкомолекулярных соединений, чем в растительных клетках. Мы упоминали о том, что в железистых и некоторых других клетках растений нет центральной вакуоли, несмотря на значительные размеры клеток. Это, вероятно, связано с характером обмена веществ в этих клетках, который сходен с метаболизмом аналогичных клеток животных. В растении процессы превращения низкомолекулярных веществ играют относительно большую роль в метаболизме, чем в животных клетках. Это объясняется автотрофным характером питания растений, поглощением простейших соединений и синтезом из них сложных органических веществ. В жизненном цикле каждой клетки эти процессы начинают идти особенно активно лишь после вакуолизации.

Функции вакуоли в метаболизме низкомолекулярных веществ различны. В ней сосредоточивается значительная часть этих веществ. Таким образом в клетке осуществляется откладывание низкомолекулярных веществ. Кроме того, высокая концентрация их в протоплазме плохо сказывается на коллоидах протоплазмы, на протоплазменных белках, так как многие низкомолекулярные вещества могут денатурировать белки. В вакуолях вредные вещества и ионы часто связываются с образованием нерастворимых соединений. Там же совершается ряд превращений низкомолекулярных соединений и облегчается их диффузия.

Образование центральной вакуоли приводит к тому, что протоплазма занимает тонкий постенный слой, в результате чего увеличивается как абсолютная, так и относительная поверхность клетки. Если бы не было образования большой

центральной вакуоли, тот же объем протоплазмы имел бы гораздо меньшую поверхность поглощения и выделения разнообразных веществ. Поэтому у некоторых вакуолизированных клеток величина удельной поверхности протоплазмы может быть выше, чем у мелких меристематических клеток.

Структурные изменения при вакуолизации взаимосвязаны с перестройкой обмена веществ клетки. Накопление низкомолекулярных веществ, активизацию их превращений сопровождается подъем интенсивности дыхания. При расчете на сырой вес наибольшая интенсивность дыхания (Thimann, 1960; Ziegler, 1961) обнаруживается у меристематических клеток. Однако при расчете на клетку (орган) или белок интенсивность дыхания, как правило, выше в растягивающихся клетках (Браун и др., 1955; Ziegler, 1961). Большая интенсивность дыхания (при расчете на сырой вес) в меристематических клетках объясняется особенностями их строения — отсутствием центральной вакуоли, большей концентрацией протоплазмы в единице сырого веса и большим числом митохондрий в единице объема протоплазмы.

Активность дыхания на единицу белка в них снижена. В ряде случаев дыхательный коэффициент в меристемах значительно больше единицы. Это связано с наличием в них процессов брожения, о чем свидетельствуют отдельные случаи нахождения в них спирта. Однако брожение в меристемах не является обязательным. Его наличие определяется недостаточной аэрацией из-за плотного соприкосновения клеток с густой протоплазмой (Обручева, 1962). По мнению ряда исследователей, некоторая заторможенность окислительных процессов в меристемах создает более восстановленные условия (более отрицательный окислительно-восстановительный потенциал), благоприятные для клеточных делений и синтезов (Туркова, 1955; Ziegler, 1961).

Активность окислительного фосфорилирования (величины P/O , P/N) в закончивших рост клетках выше, чем в растущих (Lund и др., 1958; Key и др., 1960). То же явление наблюдал В. П. Скулачев (1961) на растущих мышцах. Он считает, что окисление в растущей мышце выполняет несколько различных функций. Кроме своей основной функции — выработки АТФ для мышечного сокращения, окисление поставляет короткие углеродные цепи и водород для биосинтезов растущей ткани и обеспечивает образование дополнительного количества АТФ, необходимого для вовлечения пластического материала в обмен. Сходными причинами можно, вероятно, объяснить сниженную величину P/O в растущих растительных клетках. Низкая активность окислительного фосфорилирования, возможно, связана с недоразвитием структуры митохондрий (см. стр. 92—93). Подъем интенсивности дыхания клетки в стадии растяжения при расчете на клетку

(орган) или белок обусловлен, с одной стороны, увеличением в ней количества митохондрий и абсолютным и относительным возрастанием в них количества белка, а с другой стороны, структурными изменениями в митохондриях и клетке в целом.

Мы уже отмечали, что объем клетки и количество низкомолекулярных веществ в ней увеличиваются за время растяжения часто в большей степени, чем количество высокополимерных соединений в протоплазме (белка, РНК и др.).

Д. А. Сабинин (1955) рассматривал вакуолизацию клетки как «процесс, являющийся следствием возрастных изменений в обмене веществ»¹, объясняя ее наступление следующим образом: «При нормальном ходе старения клетки вакуолизации протопласта — это выражение уменьшения способности к синтезу высокополимерных компонентов структуры протоплазмы при еще сохраняющейся интенсивной продукции низкомолекулярных соединений»².

Если принять эту точку зрения, нужно считать, что синтезы этих высокополимерных веществ идут на стадии растяжения медленнее, чем на ранних этапах развития клетки. Однако они могут протекать в расчете на клетку (а часто и на единицу количества белка) более быстро. Поэтому следует считать, что вакуолизация коррелирует не со снижением абсолютной интенсивности этих синтезов, а с уменьшением их относительной доли в общем метаболизме. Следует также учитывать, что и белок, и РНК находятся на этой стадии в более «динамическом состоянии», т. е. скорости их распада и ресинтеза повышаются.

Таким образом, накопление низкомолекулярных веществ не может быть объяснено снижением скорости синтеза белка и РНК в расчете на клетку. Оно определяется включением растущей клетки в метаболизм всего растения, становлением в ней разнообразных процессов превращений низкомолекулярных веществ, столь распространенных в растении. Вакуолизация клетки и накопление этих веществ необходимы для формирования нормально функционирующей растительной клетки.

ЛИТЕРАТУРА

Александров В. Г. Анатомия растений. М., «Советская наука», 1954. Александров В. Г., Александрова О. Г. ДАН СССР, 1940, 26, № 3. Алексеев А. М. Водный режим растений и влияние на него засухи. Казань, 1948. Браше Ж. Сб. «Нуклеиновые кислоты». М., ИЛ, 1956; Биохимическая цитология. М., ИЛ, 1960. Браун Р., Рейт В., Робинсон Е. Сб. «Совр. пробл. цитол.». М., ИЛ, 1955. Бродский В. Я. Цитология, 1961, 3, № 3. Бюнинг Э. Ритмы физиологических процессов. М., ИЛ, 1961. Василевская В. К., Кондратьева-Мель-

¹ Д. А. Сабинин. Физиологические основы питания растений (1955).

² Там же.

виль Е. Н. Сб. «Пробл. бот.», 1958, вып. 3. Вечер А. С. Пластиды растений. Минск, 1961. Гартман М. Общая биология. М., Биомедгиз, 1936. Годнев Т. Н., Калишевич С. В. «Сб. памяти акад. Любименко». Киев, 1938. Годнев Т. Н., Лешина А. В., Ходоренко Л. А. Физиол. раст., 1960, 7, вып. 6. Данжар П. Цитология растений и общая цитология. М., ИЛ, 1950. Жинкин Л. Н., Заварзин А. А., Дондуа А. К. Цитология, 1960, 2, № 6. Жолкевич В. Н. Тр. Ин-та физиол. раст. АН СССР, 8, вып. 2. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1951. Зайцева М. Г. Бот. ж., 1951, № 3. Залкинд С. Я. Усп. совр. биол., 1952, 33, вып. 3. Збарский И. Б. V Международный биохим. конгр. Симп. II. М., Изд-во АН СССР, 1961. Иванов В. Б. Журн. общ. биол., 1961, 22, № 2. Иванов Л. А. Физиология растений. М., Сельхозгиз, 1931. Каудри Е. Раковые клетки. М., ИЛ, 1958. Кедровский Б. В., Трухачева К. П. ДАН СССР, 1948, LX, № 3. Кедровский Б. В. Цитология белковых синтезов в животной клетке. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1959. Конарев В. Г. Нуклеиновые кислоты и морфогенез растений. М., «Высшая школа», 1959. Лесли И. Сб. «Нуклеиновые кислоты». М., ИЛ, 1956. Любименко В. Н. Биология растений, ч. I. Л., Гос. изд., 1924. Мейсель М. Н. Функциональная морфология дрожжевых организмов. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1950. Мироненко А. В. Сб. «Научн. тр. Ин-та биол. АН БССР», вып. 3. Минск, 1952. Мэзия Д. Сб. «Вопросы биофизики». М., ИЛ, 1957. Обручева Н. В. Автореф. канд. дис. М., 1962. Осипова О. П. Изв. АН СССР, сер. биол., 1953, № 1. Полевой В. В. Сб. «Ростовые вещества и их роль в процессах роста и развития растений». Л., 1959. Потапов Н. Г., Обручева Н. В., Мароти М. Сб. «Рост растений». Львов, 1959. Прокофьева-Бельговская А. А. Изв. АН СССР, сер. биол., 1953, № 6; Сб. «Итоги науки (биол. науки)», т. 3. М., Изд-во АН СССР, 1960. Рабинович Е. Фотосинтез, т. I. М., ИЛ, 1951. Романчук П. С. Физиол. раст., 1958, 5, вып. 5. Сабинин Д. А. Минеральное питание растений. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1940; Физиологические основы питания растений. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1955. Саблина В. К. Тр. О-ва естествоисп. отд. бот., 1903, 33, вып. 3. Савиновская А. А. Усп. совр. биол., 1958, XLVI, вып. 2 (5). Серебряков И. Г. Вестн. Моск. ун-та, 1947, № 7. Сисякян Н. М., Одинцова М. С. Изв. АН СССР, сер. биол., 1960, № 6. Скулачев В. П. Автореф. канд. дисс. М., 1961. Смирнов А. П. Физиолого-химические основы обработки табачного сырья. М., Пищепромиздат, 1954. Стюард Ф., Томпсон Дж. Сб. «Белки», т. III, ч. I. М., ИЛ, 1958. Табенцкий А. А. Изв. АН СССР, сер. биол., 1947, № 5. Табенцкий А. А., Чугаева Г. С. Тр. Всес. н.-и. ин-та сахарной свеклы, т. 35. Киев, 1957. Трухачева К. П., Кедровский Б. В. ДАН СССР, 1951, 78, № 6. Туркова Н. С. Вестн. Моск. ун-та, 1955, № 9. Туркова Н. С., Жданова Л. А. Сб. «Итоги и перспективы исследований развития растений». М.—Л., Изд-во АН СССР, 1959. Фрей-Висслинг А. Субмикроскопическое строение протоплазмы и ее производных. М., ИЛ, 1950. Akazawa T., Beevers H. Biochem J., 1957, 67, No. 1. Anderson L. E. Amer. J. Bot., 1933, 23, № 7. Arney S. E. J. Expt. Bot., 1956, 7, No 19. Ashby E., Wangerman E. New Phytol., 1950, 49. Avery G. S. Amer. J. Bot., 1933, 20. Bailey I. W. Chron. Bot., 1954, 15. Bajer A. Acta Soc. Bot. Poloniae, 1953, 22; Acta Soc. Bot. Poloniae, 1954, 23; Expt. Cell. Res., 1957, 13, No 3; 1958, 14, No 2. Bajer A., Mole-Bajer J. Chromosoma, 1956, 7, № 6—7. Baldovinos G. «Growth a. differentiation in plants». Iowa State College, 1953. Bold H. C. Amer. J. Bot., 1938, 25, No. 8. Böttger I. Flora (Jena), 1958, 146, H. 1—2. Boysen-Jensen P. Die Elemente der Pflanzenphysiologie. Jena, 1939. Brachet J. Nature, 1954, 174; Biochim et Biophys. Acta, 1955; 16; 1956, 19. Bradbury D. Amer. J. Bot., 1953, 40, No 4. Breslawetz L. P. Ztschr. Zellforsch u. mikr. Anat., 1926, 3, No 1. Brown R. J. Expt. Bot., 1951, 2. Brumfield R. T. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 1953, 39, No 5. Bryan J. H. D. Chromosoma, 1954, 4, H. 4.

Bünning E. *Entwicklungs und Bewegungsphysiologie der Pflanze*, 3 Aufl. Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1953; *Protoplasmatologia*, 1958, 9a. Burstrom H. *Physiol. Plant.*, 1951, 4, No 1. Buvat R. *Morphological changes in chondriosomes Endeavour*, 1953, 12, No 45; *L'Année Bot.*, 1955, 31. Buvat R., Lance A. *C. R. Acad. Sci.*, 1958, 247, № 15. Clowes F. A. L. *J. Expt. Bot.*, 1958, 9, № 26; 1961, 12, № 35. Deeley E. M., Davies H. G., Chayen J. *Expt. Cell. Res.*, 1957, 12, Doležal R., Tschermak-Woess E. *Österr. Bot. Ztschr.*, 1955, 102, H. 2—3. Erickson R. O. *Nature (London)*, 1947, 159. Erickson R. O., Sax K. B. *Proc. Amer. Philosoph. Soc.*, 1956, 100. Ervin C. D. *Amer. J. Bot.*, 1941, 28. Fenzle E., Tschermak-Waess E. *Österr. Bot. Ztschr.*, 1954, 101, H. 1—2. Florell C. *Physiol. Plant*, 1956, 9; 1957, 10, № 4. Frey-Wyssling A. *Die pflanzliche Zellwand*. Springer-Verlag, 1959. Frey-Wyssling A. *Blank F. Nature*, 1940, 145, № 3686. Gates R. R. *Bot. Rev.*, 1942, 8, № 6. Gerola F. H. *Rend. Ist. Lombardo Sci. Mat. e Natur.*, 1955, 88, № 2. Guilliermond A. *The cytoplasm of plant cell*. Waltham Mass., USA, 1941. Goodvin R. H., Avers Ch. J. *Amer. J. Bot.*, 1956, 43. Goodvin R. H., Stepka W. *Amer. J. Bot.*, 1945, 32. Granick S. *Amer. J. Bot.*, 1938, 24, N 8. Haberlandt G. *Physiologische Pflanzenanatomie*. Berlin, 1924. Heitz E. *Planta*, 1931, 12. Hejnowicz Z. *Physiol. Plant*, 1959, 12. Heyes J. K. *Pr. R. Soc.*, Ser. B. *Nature*, 152, № 947. Heyes K. *Symp. Soc. Expt. Biol.*, 1959, 13. Hoffman-Berling H. *Cell, Organism and Milien*. N. Y., 1959. Höhn K. *Naturwissensch.*, 1954, 41, H. 22. Holzer K. *Österr. Bot. Ztschr.*, 1952, 99. Holmes B. E. et al. *Expt. Cell. Res.*, 1955, 8. Howard F. D., Vamaguchi M. *Plant Physiol.*, 1957, 32, N 5. Inoue S. *Rev. of moderns physics*, 1959, 31, № 1. Izawa M. *Japan. J. Bot.*, 1958, 16, № 2. Jensen W. A. *Expt. Cell. Res.*, 1955, 8; 1956, 10, № 1; *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 1957, 43, № 12; *Plant Physiol.*, 1958a, 33, № 1; *Expt. Cell. Res.*, 1958b, 14, № 3. Jensen W. A., Ashton M. *Plant Physiol.*, 1960, 35, № 2. Key J. L., Hanson J. B., Boles R. F. *Plant Physiol.*, 1960, 35, No. 2. Küster E. *Die Pflanzenzelle*, 3 Aufl. Jena, 1956. Lafontaine J. G. *J. Biophys., Biochem., Cytol.*, 1958, 4, N 6. Lewitzky G. A. *Ber. Bot. Ges.*, 1910, 28. Lindblad K. L. *Plant Physiol.*, 1959, 12, № 2. Loftfield R. B. *Progress in Biophysics and biophysical Chemistry*, 1958. 8. Loomis W. E. «Growth a. differentiation in plants». *Jowa State College*, 1953. Lund H. A., Vatter A. E., Hanson J. B. *J. Biophys., Biochem., Cytol.*, 1958, 4, No. 1. Lutman B. F. *Vermont. Agr. Expt. Sta. Bull.*, 1934. Masuda V. *Physiol. Plant*, 1959, 12. Mattheli H. *Planta*, 1957, 48, No. 4. Mazia D. *Ann. N. Y. Sc.* 1960, 90, 2. Mercer F. V. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 1960, 11. Meyer A. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.*, 1918, 35. Milovidov P. *Protoplasma (Berlin)*, 1930, 10. Molisch H. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.*, 1928, 46. Morgan C., Reith W. S. *J. Expt. Bot.*, 1954, 5, No 13. Mühlendorf A. *Die Zellteilung als Plasmateilung*. Wien, 1951. Nakazawa S. *Bot. May. Tokyo*, 1959, 72, No. 848. Nasatir M., Bryan A. M., Rake A. *Science*, 1961, v. 134. Newman J. V. *Phytomorphology*, 1956, 6. Nitsch J. P. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 1953, 4. Norris W. E. *Bot. Gaz.*, 1956, 117, No. 3. O'Kelley J. C., Carr P. H. *Growth a. differentiation in plants*. *Jowa State College Press*, 1953. Oota Ya, Osawa S. *Biochim. et Biophys. Acta*, 1954, 15, No 1. Partanen C. R. «*Developmental Cytology*». N. Y., 1959. Pisek A. *Handb. der Pflanzenphysiol.*, 1955, 1. Plaisted P. H. *Plant Physiol.*, 1957, 32, No. 5. Priestley J. H. *New Phytol.*, 1926, 25. Popham R. A. *Ann. J. Bot.*, 1958, 45, № 3. Quastler H. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1960, 90, art. 2. Ries E. *Biologie der Zelle*. Leipzig, 1953. Robinson E. J. *Expt. bot.*, 1956, 7, No. 20. Robinson E., Cartwright P. M. *J. Expt. Bot.*, 1958, 9, № 27. Sachs J. *Vorlesungen über Pflanzen Physiologie*. Engelmann, Leipzig, 1882. Schrader F. *Mitosis*, 2-ed. N. Y., Columbia Univ. Press, 1953. Setterfield Can. J. Bot., 1961, 39, No. 2. Simon E. W. *J. Expt. Bot.*, 1959, 10, No. 28. Setterfield G., Duncan R. E. *J. Biophys., Biochem., Cytol.*, 1955, 1, № 5. Sin-

nott E. W. Amer. J. Bot., 1939, **26**, No. 4; Plant morphogenesis. N. Y.—London, 1960. Sinnott E. W., Bloch R. Amer. J. Bot., 1939, **26**, No. 8; 1941, **28**. Sinnott E. W. Growth., 1945, **9**. Siskin J. E. Expt. Cell. Res., 1959, **16**. Smillie R. M., Krotkov G. Canad. J. Bot., 1961, **39**, № 4. Smith W. H. Ann. Bot. N. S., 1950, **14**. Stahl E. Ztschr. Bot., 1957, **45**, N 3—4. Stern H. Bot. Rev., 1959, **25**, № 2; Ann. N. Y. Acad. Sci., 1960, **90**, art. 2. Stern H., Kirk P. L. J. Gen. Physiol., 1948, **31**. Stich H. F. B «Changes in Nucleoli Related to Alterations in Cellular Metabolism». N. Y., 1959. Südi J., Maroti M. Acta bot. Acad. Sci. Hung., fasc. 1—2, 1957. Sunderland N. J. Expt. Bot., 1960, **11**, № 31. Sunderland N., Brown R. J. Expt. Bot., 1956, **7**. Swann M. M. Cancer Res., 1957, **17**, № 8; 1958, **18**, № 10. Taylor I. H. Amer. J. Bot., 1959, **46**, № 7; Ann. N. Y. Acad. Sci., 1960, **90**, art. 2; Ann. Rev. Plant Physiol., 1961, **12**. Thomas M. Plant physiology. Churchill, London, 1958. Thimann K. V., Loos G. H. Plant Physiol., 1957, **32**, No. 4. Thimann K. V. B «Fundamental aspects of normal and malignant growth», 1960. Trombetta V. V. Amer. J. Bot., 1959, **26**. Tschermak-Woess E. Protoplasma, 1956, **46**, H. 1—4; Chromosoma, 1959, **10**, No. 5. Tschermak-Woess E., Doležal R. Österr. Bot. Ztschr., 1953, **100**, H. 3. Tso P. O. P., Sato C. S. Expt. Cell. Res., 1959, **17**. Wagner M. Planta, 1937, **27**. Wetstein von. Developmental Changes in Chloroplasts and Their Genetic Control. The Ronald Press Company, N. Y., 1959. Whalley W. G., Mollenhauer H. H., Leech J. H. Amer. J. Bot., 1960, **47**. Williams B. C. Amer. J. Bot., 1947, **34**. Wimber D. E. Amer. J. Bot., 1960, **47**, No. 10. Woods M. W. Amer. J. Bot., 1937, **24**. Woodstock L. W. Dissertation Abstr. 1959, **19** (12), Wrysh S. T. C. J. Exp. Bot., 1961, **12**, No. 35. Yemm E. W., Folkes B. F. Ann. Rev. Plant. Physiol., 1958, **9**. Ziegler H. Handb. der Pflanzenphysiol., 1961, **14**.

НОВЫЕ МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ СОСТАВА И СВОЙСТВ КЛЕТКИ

Последние десятилетия второй половины XX столетия характеризуются широким фронтом работ в области физиологии растений. Большие успехи, достигнутые современной физиологией клетки при изучении тонкой морфологии, химического состава и функций клеточных органелл, обусловлены широким использованием исследователями биофизических и биохимических методов анализа клетки. Применение современных оптических методов исследования (ультрафиолетовая и флуоресцентная микроскопия, поляризационная и интерференционная микроскопия), рентгеноструктурный анализ, электронная микроскопия, методы радиоактивного анализа и дифференциальное центрифугирование помогают сегодня не только глубоко обоснованию фактов, полученных классической физиологией растений, но и построению новой области наших знаний — молекулярной биологии, фундаментальному изучению биологических структур и взаимосвязанных с ними функций на основе физико-химии.

ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ

Развитие электронной микроскопии революционизировало наши знания о клетке и субклеточных структурах. Основой этого является то, что электронный микроскоп позволяет непосредственно наблюдать структуры размерами 10—100 Å, лежащие за пределами разрешения, т. е. предела возможного видения, обычного светового микроскопа¹ (0,02 мк). Изучение таких субмикроскопических структур (ультраструктур) очень важно, так как физико-химические изменения биологических процессов происходят именно на этом макромолекулярном уровне.

¹ Подробнее см. в сборнике «Электронная микроскопия», под ред. А. А. Лебедева. ГИТЛ, 1954.

Исключительно высокая разрешающая сила электронного микроскопа связана с тем, что в качестве освещающего луча используется поток электронов, имеющих очень малую длину волны. Из теории, разработанной Аббе, известно, что разрешающая сила микроскопа тем больше, чем короче длина волны используемого света. Длина волны, соответствующая пучку электронов, движущемуся с большой скоростью, определяется следующим уравнением:

$$\lambda = \sqrt{\frac{150}{v}} \text{ \AA},$$

где λ — длина волны; v — ускоряющий потенциал в вольтах.

Электронный микроскоп, как и обычный (оптический) микроскоп, имеет три системы линз: а) конденсорную, фокусирующую пучок электронов на объект; б) объективную, создающую увеличенное изображение объекта; в) проекционную (окулярную), увеличивающую электронное изображение линзы объектива (рис. 32). Источником света служит нить катода, которая после нагревания является источником электронов. Испускаемые нитью электроны ускоряются наложением потенциала большого напряжения.

В отличие от обычных стеклянных линз, «линзы» электронного микроскопа представляют собой источники электростатического либо электромагнитного поля. В соответствии с этим линзы электронного микроскопа бывают двух типов — электростатические и электромагнитные.

В первом случае они представляют собой два электрода, между которыми поддерживается разность потенциалов, а во втором — однородное магнитное поле, создаваемое внутри соленоида. В линзе объектива и в проекционной линзе магнитное поле концентрируется полюсными наконечниками (детали из мягкого железа, разделенные латунной прокладкой).

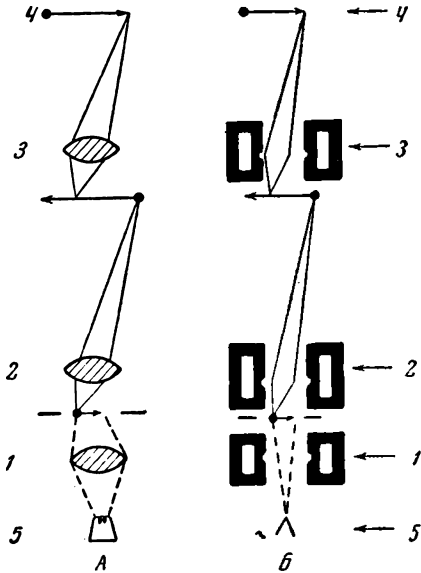


Рис. 32. Схема построения светового (А) и электронного (Б) микроскопа: 1 — конденсорная линза, 2 — линза объектива, 3 — проекционная линза, 4 — фотографическая пластинка (или место изображения), 5 — источник электронов (или света)

Электронное изображение, получающееся на флуоресцирующем экране, имеет те же недостатки, что и изображение в обычном микроскопе: астигматизм, сферическую и хроматическую абберации. Для их устранения применяются различные приспособления, исправляющие электроннооптическое изображение (стигматоры, дающие электрическое или магнитное поле противоположного знака, стабилизаторы, которые сводят до минимума колебания тока и напряжения, что обеспечивает получение монохроматического пучка электронов, и т. д.).

Несмотря на кажущееся сходство оптического и электронного микроскопов, они принципиально отличаются в способе образования изображения. Если в световом микроскопе получение изображения зависит от степени поглощения света, то в электронном микроскопе оно обусловлено рассеиванием электронов.

В создании электроннооптического изображения принимают участие так называемые упруго рассеянные электроны, т. е. такие электроны, которые после столкновения с атомами объекта изменяют лишь скорость своего движения, но не направление. Электроны, изменившие скорость и направление движения, после прохождения объекта задерживаются апертурными диафрагмами линз (3-миллиметровыми медными дисками с центральным отверстием 0,05—0,3 мм) и не участвуют в построении изображения.

Образование изображения зависит, таким образом, от рассеивания электронов и находится в обратной зависимости от толщины и плотности объекта и порядкового номера составляющих его атомов. Этим предъявляются известные требования к приготовлению биологического материала, подлежащего исследованию.

Из-за низкой проникающей способности электронов толщина объекта не должна превышать 0,2 мк, а при максимальном разрешении должна быть еще меньше. Объект для просмотра в электронном микроскопе укладывается на тонкую подложку из коллодия, формвара (до 150 Å толщиной), которая в свою очередь помещается на тончайшую металлическую сеточку с числом отверстий не менее 200 на 1 мм².

Разработана специальная методика получения особо тонких (так называемых ультратонких) срезов объекта (толщиной 100—200 Å) с помощью ультрамикротомов (Боровягин и Дубров, 1960). В отличие от обычных микротомов с механической подачей, в ультрамикротоме подача объекта осуществляется путем электрического нагрева латунного стержня, несущего объект; последний залит в особую капсулу из пластических масс, твердеющих при полимеризации (например, n = бутилметакрилат).

Существенно изменился и нож ультрамикротомов — в настоящее время для получения срезов в электронной микроскопии используются стеклянные ножи, т. е. кусочки достаточно толстого стекла (4—5 мм), разрезанные алмазом под определенным углом; острые кромки ножа и являются режущим лезвием.

С тем чтобы увеличить контраст электронномикроскопического изображения и сохранить субмикроскопическую структуру клеточных частей, объект фиксируется особыми фиксаторами, содержащими атомы тяжелых металлов: четырехокисью осмия, фосфорновольфрамовой и фосфорномолибденовой кислотами.

Другой особенностью электронно микроскопического исследования биологических объектов является необходимость помещения последнего в вакуум и полной его дегидратации.

Недавно сконструированы сверхвысоковольтные микроскопы (ускоряющее напряжение 400 000 вольт). С их помощью можно наблюдать живые бактерии, хлоропласты в слое атмосферного воздуха, без фиксации и приготовления ультратонких срезов.

РЕНТГЕНОСТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ

При бомбардировке атомов какого-либо металла электронами высокой энергии возникает особый вид излучения, называемый рентгеновыми лучами (рис. 33). Электроны, бомбардирующие металл («мишень»), получают от нагретой электрическим током вольфрамовой нити, а их ускорение достигается приложением высоковольтного напряжения (порядка 50—60 кВ) между нитью и мишенью. Подобно электронному микроскопу, нить, испускающая электроны, и бомбардируемая ими мишень находятся в вакууме. Длина волны рентгеновых лучей зависит от величины ускоряющего потенциала и материала, из которого изготовлена мишень. Мишень, являющаяся источником рентгеновых лучей, сильно нагревается во время бомбардировки ее электронами, поэтому в рентгеновских трубках для отвода тепла используется особая система с проточной водой.

Рентгеновы лучи не поддаются фокусировке обычными методами, поэтому выделение необходимого параллельного пучка рентгеновых лучей (коллимирование) производят с помощью либо свинцовых экранов с малыми отверстиями, либо капилляров из свинцового стекла. Еще меньше рассеивание рентгеновых лучей получается при их коллимировании в специальных монохроматорах рентгеновых лучей с кристаллами кальцита. При дифракционных измерениях очень важно получить монохроматические рентгеновы лучи, для этого необходимо, чтобы бомбардирующие электроны ионизирова-

ли внутренние электроны атомов мишени (так на *к*-оболочки).

Поглощение рентгеновых лучей резко возрастает с увеличением атомного номера поглощающего вещества. Поэтому «окно» рентгеновской трубки делают из материала с малым атомным номером (алюминий). Для каждого элемента имеется характерный спектр поглощения рентгеновских лучей; так после прохождения рентгеновских лучей через тонкую пластинку из никеля получается монохроматическое рентгеновское излучение с длиной волны в $1,54 \text{ \AA}$.

При прохождении через вещество рентгеновские лучи дифрагируют на определенный угол, зависящий от угла падения, длины их волны, порядка отражения и расстояния до плоскостями кристалла (если вещество кристалл

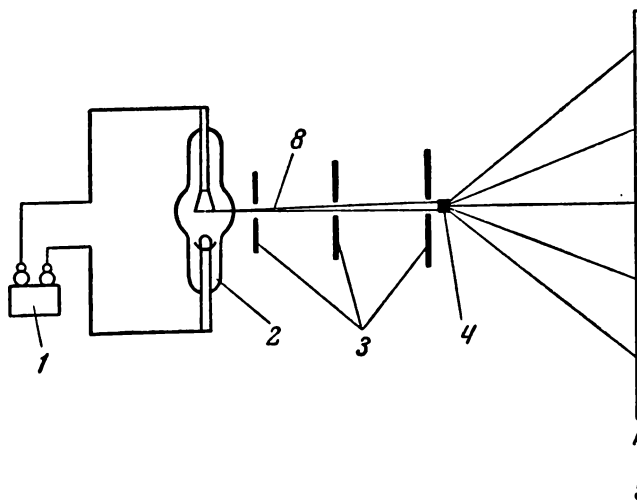


Рис. 33. Схема аппарата для рентгеноструктурного анализа.

1 — высоковольтный трансформатор, 2 — рентгеновская трубка с мишенью, 3 — свинцовые коллимирующие диафрагмы, 4 — фотолампа, 5 — фотолампа, 6 — лучи, рассеянные под малыми углами, 7 — лучи, рассеянные под большим углом, 8 — рентгеновский луч.

Если структура вещества обладает периодичностью, то рентгеновские лучи будут дифрагировать, причем на фотолампе углы дифракции относятся к дифракционным — малым и большим углам дифракции. Малые дифракции соответствуют межмолекулярным плоскостям, большие углы — межатомным плоскостям.

Дифракционная картина какого-либо вещества и концентрических колец различной интенсивности структура вещества обладает высшей степенью упорядоченности (кристаллы), то появляются еще и радиальные рефлекты (пятна на фотолампе).

Расшифровка дифракционных картин основана на изучении следующих величин: а) углов дифракции, характеризующих направление кристаллических плоскостей, и расстояния между ними; б) ширины интерференционных кругов, определяющих размеры кристаллических плоскостей; в) интенсивности рефлексов, характеризующей число атомов в кристаллических плоскостях.

Рентгеноструктурный анализ применяется для исследования различных веществ, находящихся в биологических системах¹. В биологических объектах дифракционные картины обусловлены в основном рассеиванием рентгеновых лучей атомами углерода, кислорода, азота и других тяжелых металлов.

С помощью рентгеноструктурного анализа получены данные о строении стенок растительных клеток, белков, нуклеиновых кислот.

ЦИТОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ АБСОРБЦИОННЫЙ АНАЛИЗ В УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ И ВИДИМОЙ ЧАСТЯХ СПЕКТРА

Необходимость количественного и качественного выявления веществ в целой клетке или составляющих ее частях привела к созданию целой серии разнообразных методов, называемых **цитофотометрическими** методами (Walker, 1956).

Эти методы основываются на известном факте, что вещества органического происхождения обладают характерными абсорбционными спектрами в видимом, ультрафиолетовом и инфракрасном свете. Соответственно этому и разрабатывались специальные методы исследования — ультрафиолетовый абсорбционный анализ, цитофотометрический анализ в видимой части спектра и инфракрасная спектроскопия. Последний из методов в настоящее время применяется только к анализу веществ, выделенных из клетки, и здесь рассматриваться не будет.

Ультрафиолетовый абсорбционный анализ

Большинство органических веществ, находящихся в клетке, бесцветны. Они не поглощают видимый свет, однако интенсивно поглощают ультрафиолетовые лучи, что выявляется в виде так называемых кривых поглощения.

На основе анализа кривых поглощения многочисленных веществ в ультрафиолетовых лучах Касперсон (Caspersson) пришел к выводу, что нуклеиновые кислоты и белки клетки являются главными компонентами избирательного поглощения ультрафиолетовых лучей. В частности, белковые структуры обладают максимумом поглощения при длине волны 280 *мк*, а нуклеиновые кислоты — при 260 *мк*.

¹ Подробнее см. в книге «Методы цитологического анализа», под ред. Р. Меллорса. М., ИЛ, 1957.

Специфическая абсорбция ультрафиолетовых лучей нуклеиновыми кислотами обусловлена присутствием пуриновых и пиримидиновых оснований, входящих в состав нуклеиновых кислот, и их главным хромофором (группа, ответственная за специфическое поглощение; связь $C=C=$; $-C=N$).

В белках сильное поглощение ультрафиолетовых лучей объясняется присутствием циклических аминокислот — трип-

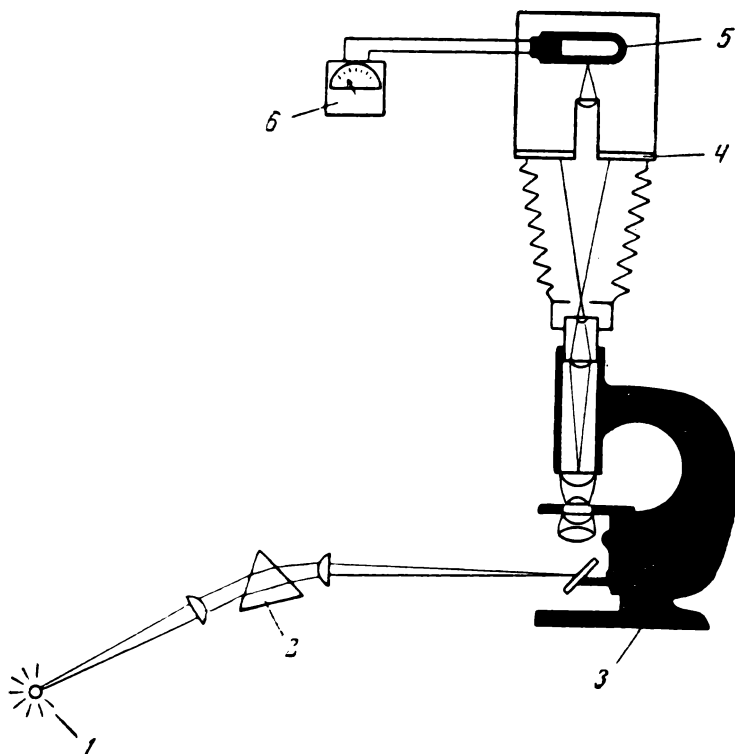


Рис. 34. Схема цитофотометра:

1 — источник света, 2 — монохроматор, 3 — микроскоп, 4 — место для фотоэлемента, 5 — фотоумножитель, 6 — записывающий прибор

тофана, цистина и фенилаланина, которые содержат хромофорную группу — $CC-CONH$ и др.

Приборы для абсорбционной спектроскопии в ультрафиолетовых лучах состоят из следующих основных узлов: 1) источник света, 2) монохроматор, 3) микроскоп и приемник ультрафиолетовых лучей (фотографического или фотоэлектрического типа) (рис. 34).

До исследования изучаемый материал должен быть правильно зафиксирован.

Специфические требования к фиксации цитофотометрируемых объектов заключаются в сохранении ими способности к окрашиванию красителями, химической и «энзиматической» экстракции веществ и др. (Бродский, 1960).

Основой цитофотометрического анализа является закон поглощения света Ламберта-Бера:

$$E = \log_{10} \frac{I_0}{I} = \kappa c d,$$

где E — величина поглощения; I_0 — исходная интенсивность света; I — интенсивность света после прохождения через слой вещества; c — концентрация вещества в граммах на литр; d — толщина кюветы (или биологического препарата); κ — коэффициент погашения (экстинкции).

Зная толщину фотометрируемых срезов, можно вычислить среднюю концентрацию веществ в клетке, отдельных структурах, если предварительно определить значение $\frac{I_0}{I}$ и фотометрируемую площадь.

С этой целью препарат фотографируют в ультрафиолетовых лучах с длиной волны 257, 275, 310 мкм, а на полученном негативе проводят количественные измерения пропускания лучей в различных частях клетки (для нахождения I) и свободном от клетки участке (для определения I_0). Эти определения производятся с помощью автоматического регистрирующего прибора для измерения плотности фотографических пластинок (микроденситометр), либо измерением непосредственного изображения в микроскопе с помощью фотоэлектронного умножителя с последующей регистрацией на гальванометре.

Измеренные плотности переводятся затем в показатели поглощения объекта и сравниваются с калибровочными кривыми, снятыми заранее с растворами веществ известной концентрации. Особенностью цитофотометрического метода является требование, чтобы скорость перемещения просматриваемого участка клетки (при фотографическом методе) находилась в линейном соответствии с получающейся кривой пропускания. В этом случае точки кривой пропускания будут соответствовать определенным участкам клетки.

Цитофотометрический анализ в видимой части спектра

Этот вид спектрофотометрического анализа открывает еще большие возможности для цитохимического анализа клеток. Наряду с выяснением химического состава этот метод позволяет проводить объективное сравнение реакций и окрасок, выяснение химических комплексов и молекулярной структуры в клеточных компонентах. В основном метод

цитофотометрии в видимом свете связана с изучением фиксированного материала, окрашенного специальными красителями или реактивами, специфическими для определенных химических веществ (табл. 6).

При цитофотометрическом анализе в видимом свете используются те же принципы измерения и схемы аппаратов, как и при ультрафиолетовом абсорбционном анализе.

Таблица 6

Специфические красители и реакции для биологически важных веществ

Определяемое вещество	Специфический краситель или реакция	Область спектра, <i>мкм</i>
Белки	Нафтоловый желтый	435
Тирозин триптофан	Реакция Миллона	365, 490
Основные аминокислоты	Прочный зеленый	623
Нуклеиновые кислоты	Азур А	390—625
Фосфорнокислые группы	Азур Б	546, 590 643
Дезоксирибонуклеиновая кислота	Реакция Фельгена	550
Пуриновые остатки	Ядерная реакция Фельгена	550—575
Остатки фосфорной кислоты	Метилловый зеленый	625, 645
Полисахариды (с 1,2-гликольными группами)	Реакция Шифф-иодная кислота	550

В последнее время усиленно развивается одна из новых областей спектрофотометрии — цитофотометрический анализ в видимом свете живых (не фиксированных) клеток (Спансе, 1954). Микроспектрофотометрический анализ живых клеток позволяет изучить внутриклеточные реакции, следить за внутренней перестройкой химических веществ без нарушения живой структуры (окислительно-восстановительные реакции, перенос электронов в дыхательной цепи и т. д.).

ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ МИКРОСКОПИЯ

При освещении вещества коротковолновым светом (возбуждающий свет) возникает особый вид свечения, называемый флуоресценцией.

Длина волны флуоресцентного излучения всегда больше длины волны возбуждающего света (закон смещения) (рис. 35). Этот основной закон флуоресценции используется в флуоресцентной микроскопии, где в качестве возбуждающего света применяются ультрафиолетовые лучи. После возбуждения ими флуоресценции препарат высвечивает в лучах более длинных волн (синие, желтые, красные).

Флуоресценция биологического объекта может быть двух видов: собственная (автофлуоресценция) и вторичная (наведенная).

Автофлуоресценция наблюдается у неокрашенного объекта за счет свечений собственных веществ, входящих в состав клетки или ткани. Обычно автофлуоресценция, наблюдаемая у неокрашенного объекта в видимом свете, очень слабая, мало контрастная и представлена голубовато-белесым светом (исключением является автофлуоресценция хлорофиллосодержащих клеток и ряда других). Поэтому объект подвергается предварительному окра-

шиванию специальными красителями (флуорохромами); наблюдающаяся после этого флуоресценция называется вторичной. В своем большинстве флуорохромы являются органическими красителями или веществами растительного происхождения, цвет флуоресценции их может быть самым разнообразным и обуславливается химическим составом и физико-химическими условиями в клетке. Флуорохромы могут избирательно накапливаться в тех или иных клетках, субклеточных структурах (ядре, ядрышке, цитоплазме, митохондриях и т. п.) и способствовать их выявлению. Методика окрашивания объектов (флуорохромирование) не отличается от обычной гистологической окраски. Следует лишь отметить, что концентрации флуорохромов, используемые в флуоресцентной микроскопии, очень низкие — 0,001—0,01%. Это преимущество флуорохромирования широко используется для изучения живых клеток, так как при такой обработке они не теряют своей жизнеспособности.

Флуоресцентный микроскоп, используемый для наблюдения флуоресценции биологических объектов, в своей основе сходен с обычным световым микроскопом. Отличием флуоресцентного микроскопа является наличие сильного источника коротковолновых лучей и светофильтров (выделяющих возбуждающие лучи, защитные).

Очень важным для развития флуоресцентной микроскопии явилось использование сине-фиолетовых лучей в качестве возбудителя флуоресценции объектов (Мейсель, 1951, 1957). Так как сине-фиолетовые лучи не повреждают живых объектов, это очень сильно расширяет границы применения флуо-

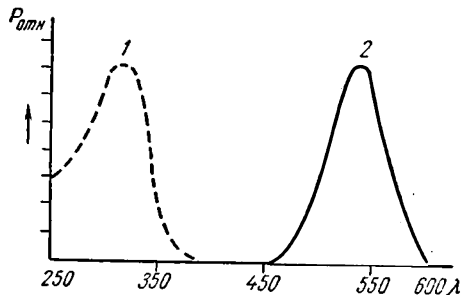


Рис. 35. Кривая соотношения спектра возбуждения (1) и флуоресценции (2): $P_{отн}$. λ — длины волны в мкм

ресцентной микроскопии к изучению функционального состояния живых клеток.

В последнее время получает все большее развитие так называемая ультрафиолетовая флуоресцентная микроскопия: Основой этого вида микроскопии служит использование собственной флуоресценции (автофлуоресценции) объекта в ультрафиолетовой области спектра (Брумберг, 1957). Наличие собственной флуоресценции в ультрафиолетовой части спектра связано с тем, что большинство веществ, содержащихся в клетках растений и животных, обладают сильным поглощением в области коротковолновых ультрафиолетовых лучей (240—280 мк). Согласно закону смещения, при освещении такими лучами флуоресценция объекта будет наблюдаться в более длинноволновой части ультрафиолетового спектра (300—420 мк). Проведение исследования различных объектов показало, что собственная флуоресценция их в ультрафиолетовой области спектра оказалась весьма значительной и очень характерной.

Метод ультрафиолетовой флуоресцентной микроскопии находит широкое применение в ботанических исследованиях, поскольку растительные объекты отличаются большим различием в химическом составе структур и дифференцированным расположением параплазматических веществ (Барский и др., 1960).

РАДИОАКТИВНЫЕ ИЗОТОПЫ

Применение в биологии в качестве индикаторов радиоактивных и стабильных изотопов открыло широкие возможности познания сущности биохимических и физиологических процессов в организмах (Камен, 1948; Кузин, 1954; Курсанов, 1954; Клечковский, 1955).

При помощи меченых атомов изучаются вопросы питания растений — эффективность отдельных форм удобрений, скорость поступления и передвижения отдельных элементов питания по растению, лучшее использование определенных видов удобрений теми или другими растениями.

Для этой цели применяют удобрение, меченное радиоактивным изотопом. Например, при изучении питания растений фосфором удобно использовать суперфосфат, меченный радиоактивным фосфором P^{32} . Эти опыты проводились в вегетационных условиях и в полевых. К листьям опытных растений подключались специальные счетчики (Гейгера), которые учитывали радиоактивность и таким образом давали сведения о поступлении меченого фосфора P^{32} . Можно также брать пробы растений и вести учет радиоактивности материала в лабораторных условиях. Таким путем было установлено, что хлопчатник и кукуруза усваивают фосфор лучше при местном внесении, чем при разбросном. Салат лучше использует фос-

фаты при ленточном внесении. Кукуруза активнее поглощает фосфор удобрений в первый период вегетации, а картофель поглощает его на протяжении почти всего вегетационного периода.

Изучение изотопного состава кислорода фотосинтеза (Виноградов, Тейс, 1941) и опыты Рубена с сотрудниками (1941), применявшими обогащенные тяжелым кислородом O^{18} воду и углекислоту, доказали образование кислорода фотосинтеза за счет фотохимического разложения воды.

При помощи меченых атомов продолжается изучение механизма дегидрирования воды при фотосинтезе (Виноградов, Кутюрин, 1961).

Используя меченый углерод C^{14} , Кальвин и Бенсон (Calvin, Benson, 1947) проследили путь его превращений от $C^{14}O_2$ до гексоз.

Применение радиоизотопов для анализа первичных продуктов ассимиляции CO_2 и дальнейших их превращений позволило показать разнообразие продуктов фотосинтеза (Ничипорович, 1961; Моиз, 1961).

Исследования, проводимые с использованием радиоактивных и стабильных изотопов, позволили уточнить схему круговорота веществ в растении (Курсанов, 1960). Применение меченых атомов дало возможность получить данные о роли РНК в синтезе белков (Жакоб и Моно, 1961).

Вот далеко не полный перечень того, что дало применение радиоактивных изотопов для познания физиологических процессов в растении.

В чем состоит отличие радиоактивных изотопов от обычных нерадиоактивных элементов?

Сложные химические соединения состоят из молекул, а молекулы из атомов. Атом — частица, не разлагаемая химическим путем. Атомы каждого элемента отличаются от атомов других элементов по весу и свойствам.

Великий русский ученый Д. И. Менделеев открыл зависимость свойств элементов от их атомного веса и составил на основании этих данных периодическую систему элементов, которая заложила основу учения о строении атомов.

Наиболее общая схема строения атома такова: в центре атома находится ядро, в котором сосредоточена почти вся масса атома и которое имеет положительно заряженные частицы — протоны, и частицы, не несущие заряды, — нейтроны; на определенном расстоянии от ядра располагаются орбиты, на которых с большой скоростью движутся электроны, почти не имеющие массы и несущие отрицательные заряды.

Простейший атом — атом водорода — состоит из ядра, имеющего один протон, который удерживает на орбите один электрон. Наличием этого электрона на орбите определяются

химические свойства атома водорода. Следующим за водородом в периодической системе стоит атом гелия; ядро гелия имеет 2 протона, которые удерживают на орбите 2 электрона, но масса атома гелия в 4 раза более массы водорода; следовательно, ядро атома гелия содержит еще 2 частицы, не несущие заряда, т. е. нейтроны.

Атом углерода C^{12} имеет в ядре 6 протонов и 6 нейтронов, а на двух орбитах расположены электроны: 2 на внутренней

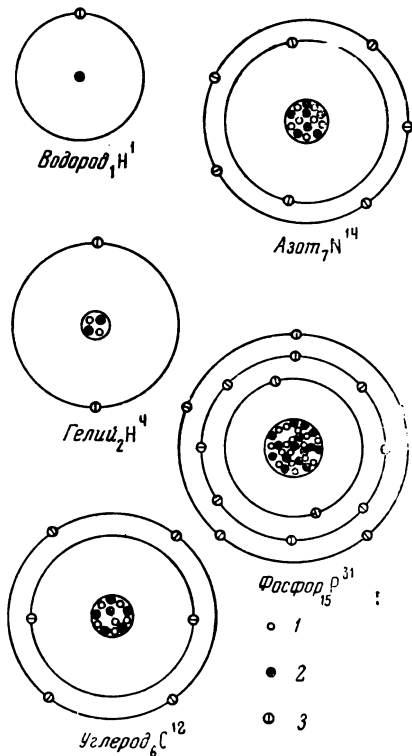


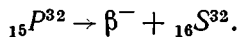
Рис. 36. Схема строения атомов:
1 — протон, 2 — нейтрон, 3 — электрон

и 4 на внешней орбитах. Число электронов на внешней орбите определяет у каждого элемента его валентность (рис. 36).

Фосфор имеет атомный вес 31. Радиоизотоп фосфора имеет атомный вес 32: в его ядре имеется лишний нейтрон и оно становится энергетически неустойчивым, радиоактивным.

При радиоактивном распаде фосфора³² в его ядре нейтрон превращается в протон с испусканием β -частицы электрона. При этом сам радиоактивный фосфор, излучая электроны, превращается в стабильный изотоп серы S^{32} .

Реакция протекает по следующему уравнению:¹



Открытие в 1934 г. Ирэн Кюри и Фредериком Жолио явления искусственной радиоактивности позволило получать искусственные радиоизотопы путем бомбардировки стабильных изотопов α -частицами и нейтронами.

Радиоактивные элементы (нестабильные изотопы) характеризуются испусканием ионизирующего излучения, которое регистрируется специальными счетчиками (Габелова, 1955).

Свойства излучаемых частиц у различных радиоактивных элементов различны: α -частицы представляют собой ядра ге-

¹ Слева внизу от символа элемента — порядковый номер, равный числу протонов в ядре атома; справа сверху — массовое число, равное сумме протонов и нейтронов.

лия с относительной массой 7380, энергией 4—6 мэв (миллион электронвольт), с относительно малой проникающей способностью и высокой удельной ионизацией. Они излучаются элементами с атомным номером 83 (висмут) и выше, поэтому их использование в качестве индикаторов для биологических объектов не представляет интереса.

Радиоактивные изотопы испускают β -частицы: β^- (электроны) или β^+ (позитроны). Частицы β^- являются электронами с ничтожно малой относительной массой, и энергия частиц у применяемых в качестве индикаторов в биологии радиоизотопов колеблется в пределах 0,018—1,71 мэв. β -частицы обладают приблизительно в 100 раз большей проникающей способностью, чем α -частицы, но меньшей удельной ионизацией.

Третий вид излучений — это γ -лучи: фотоны с энергией у радиоизотопов биологических индикаторов 0,01—2 мэв и проникающей способностью, в 1000—10 000 раз большей, чем у α -частиц.

Радиоактивность обычно измеряется в единицах *кюри* (с). Одно *кюри* — это количество радиоактивного вещества, в котором происходит $3,7 \times 10^{10}$ распадов в 1 сек.

Практически в работах с биологическими объектами пользуются растворами с меньшей радиоактивностью, измеряемой в милликюри (1 *мкюри*— $3,7 \times 10^7$ распадов в 1 сек) и микрокюри (1 *мккюри*— $3,7 \times 10^4$ распадов в 1 сек).

Гамма-лучи измеряются в единицах рентгенах (г или р).

Почти все элементы в природе представлены несколькими изотопами, из которых радиоактивные изотопы составляют незначительную часть.

Так, например, у водорода имеются три изотопа; два из них существуют в природе: протий (${}^1\text{H}^1$)¹ в количестве 99,9852 атомных % и дейтерий (${}^1\text{H}^2$) в количестве 0,0148 атомных %. Тритий (${}^1\text{H}^3$) получен искусственно.

В природе существует также несколько изотопов серы: S^{32} составляет 95,06%; S^{33} — 0,74%; S^{34} —4,18%; S^{36} —0,016%; кроме них имеются три искусственно полученных изотопа — S^{31} , S^{35} и S^{37} .

Кислород представлен в природе тремя изотопами, из них O^{16} — 99,758%; O^{17} — 0,039%; O^{18} — 0,203%.

Азот встречается в природе в виде двух изотопов: N^{14} — 99,62%; N^{15} — 0,38%. O^{18} и N^{15} — тяжелые стабильные изотопы, использующиеся в качестве биологических индикаторов; определение их производится на масс-спектрометре или на масс-спектрографе.

¹ Слева внизу от символа элемента — порядковый номер, у водорода равный единице, так как его заряд равен единице (один протон в ядре атома); справа сверху — массовое число, равное сумме протонов и нейтронов.

АВТОРАДИОГРАФИЯ

Замечательные возможности для изучения поступления, локализации и передвижения веществ в органах, тканях и клетках растений дает применение методов радиоавтографии и микроавтографии.

В основе радиографии лежит создание на фотоэмульсии скрытого изображения изучаемого объекта за счет ионизирующего излучения радиоизотопа и проявление этого изображения после определенного срока экспозиции (Фитцджеральд, 1957).

Ядра радиоактивных атомов способны самопроизвольно распадаться, излучая частицы и превращаясь при этом в ядра другого типа. Ядра различных радиоизотопов обладают различными периодами полураспада — от долей секунды до миллиардов лет. Периодом полураспада (T) называется время, за которое половина наличных ядер, вне зависимости от абсолютного их количества, распадается. Период полураспада (T) для каждого радиоизотопа величина постоянная.

Для радиоавтографии применяются только радиоактивные излучающие изотопы, причем те, продолжительность жизни которых позволяет провести требуемое воздействие на растение, приготовить препараты и экспонировать в течение определенного срока препараты на фотоэмульсии.

Для этой цели применимы H^3 (тритий), имеющий $T=11$ лет; C^{14} , где $T=5000$ лет; P^{32} ($T=14,3$ дня); Ca^{45} ($T=180$ дней) и некоторые другие радиоизотопы (Верховская, 1955; Войт, 1956).

Воздействие радиоизотопа, находящегося в определенных тканях и клетках, на фотоэмульсию состоит в том, что он своим излучением выбивает электроны из зерен бромистого серебра эмульсии. Так, например, радиофосфор P^{32} испускает β -частицу с энергией $1,6$ мэв, что приводит к созданию на пути β -частицы $50\,000$ электронов и $50\,000$ положительно заряженных ионов. Захват электронов, освобождаемых кристаллами бромистого серебра, происходит в центрах чувствительности, состоящих из коллоидного серебра, или сульфида серебра. Эти центры приобретают отрицательный заряд; по направлению к ним перемещаются ионы серебра, где они нейтрализуют электроны с образованием металлического серебра. Таким образом в центрах чувствительности растут кристаллы металлического серебра, называемые центрами скрытого изображения.

При получении микроавтографов особое значение имеет разрешающая способность, которая зависит от ряда причин. Разрешающая способность тем больше, чем тоньше экспонируемый образец, чем тоньше фотоэмульсия и чем теснее контакт между препаратом и эмульсией, а также чем меньше энергия частиц и чем короче время экспозиции.

Однако желательно иметь прослойку в виде тончайшей пленки, отделяющей растительный объект от эмульсии, так как за счет восстанавливающих или окисляющих веществ, способных диффундировать из ткани и вызывающих в пленке химические реакции, могут быть вызваны артефакты, сходные при проявлении с картиной распределения изотопа в ткани (Odeblad, 1953).

Влажность при экспозиции не должна быть высокой, чтобы не разбухла желатина пленки, что ведет к нарушению геометрических пропорций изображения. Следует избегать значительного давления на препарат во время экспозиции, так как он расплющивается и тогда размеры изображения также не соответствуют истинным.

Фиксация часто вызывает деформацию клеток и поэтому следует выбирать и употреблять фиксаторы с большой осторожностью (в частности, для микрорадиоавтографии неприемлемы фиксаторы, содержащие сулему и хром). Фиксаторы также могут отчасти изменять картину распределения веществ в клетках.

Плотность изображения зависит от толщины объекта и толщины слоя эмульсии, которые должны быть равномерно тонкими (1—5 мк) на всем протяжении.

Данные, полученные путем микрорадиоавтографии, могут быть сопоставлены с данными, полученными на тех же препаратах цито- и гистохимическими методами, а также с данными ультрафиолетовой микроскопии, что дает возможность наиболее полно проследить за распределением и превращением веществ во внутриклеточных структурах.

В ряде работ (Агнон и др., 1940; Harrison и др., 1944; Жданова 1956; Сатарова, 1957, 1958, 1961; Курсанов и др., 1959; Турецкая, 1961), проведенных с относительно толстыми срезами с растительных объектов, авторам удавалось проследить за распределением изотопов по органам и тканям, но не по клеточным структурам.

Одновременно проводились исследования, ставившие целью получение радиоавтографов клеток для изучения внутриклеточной локализации веществ (Pearson и др., 1948; Fitzgerald и др., 1955; Adams и др., 1952; Chapman-Andresen, 1953; Taylor, 1953, 1959).

З. И. Журбицкий (1960) разработал упрощенный контактный метод микрорадиоавтографии растений. При помощи метода микрорадиоавтографии автор изучал распределение P^{32} и Ca^{45} на поперечных и продольных срезах у растений томатов и распределение C^{14} на срезах с побега и корня рябины.

Контактная микрорадиоавтография не всегда позволяет получить четкие изображения гистологических срезов. Поэтому были разработаны методы покрытия срезов жидкой эмульсией или съемным фотографическим слоем (Belanger,

Leblend, 1946; Глик, 1950; Howard и др., 1951). Эти способы позволяют одновременно наблюдать под микроскопом срезы ткани и их радиоавтографическое изображение (Фитцджеральд, 1957). Гаррис и др. (Harris и др., 1950) получили хорошие радиоавтографы гистологических срезов при применении разработанных ими методов предварительного замораживания ткани при помощи хлористого метила, изопентана или жидкого азота.

Я. В. Мамуль и др. (1958) рекомендуют предназначенные для радиоавтографии объекты фиксировать в жидком азоте,

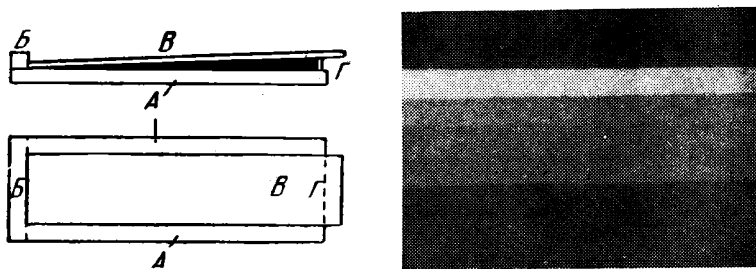


Рис. 37. Схема ступенчатого радиоактивного клина. *A* и *B* — стеклянные плоскопараллельные пластинки; *B* — упор, приклеенный к пластинке *A*; *Г* — прокладка для создания угла между пластинками; внизу радиоавтограф четырехступенчатого клина (по Мамулю)

отделять срезы от объекта пленкой толщиной в 1 мк и проводить экспозицию на безэкранной рентгенопленке в кассете, помещенной в сосуд с жидким азотом или контейнер с сухим льдом. Время экспозиции при этом следует удлинить, так как авторы показали, что если для почернения эмульсии при $+20^{\circ}\text{C}$ до плотности $D=1,4$ требуется какое-то время T , то для такого же почернения эмульсии при -72°C требуется в 2,5 раза больше времени, а для почернения при -193° — в 5 раз больше времени.

Таким методом были получены радиоавтографы с семян пшеницы и фасоли, замоченных в сульфате натрия с радиоактивной серой, и семян фасоли, замоченных в воде с тритием. При 12-часовом замачивании тритий проникал во все ткани семени фасоли. S^{35} не проникала в семя пшеницы дальше оболочки, а в семени фасоли локализовалась в оболочке и проникала в пространство между семядолями и в зародыш.

Представляет интерес количественный учет радиоактивности, соответствующей почернению на радиоавтографе. Для учета количественного распределения радиоактивности в тканях и срезах счетчики не подходят, так как они учитывают среднюю радиоактивность на сравнительно большой поверхности среза (Мамуль, 1955). Можно судить о количественном

распределении радиоизотопа в исследуемом объекте при помощи сравнительного фотометрического измерения почернения на радиоавтографе, вызванного экспонируемым объектом, и почернения, вызванного эталонами с определенной радиоактивностью. Метод эталонов имеет известные недостатки вследствие неравномерного распределения радиоактивности по эталону.

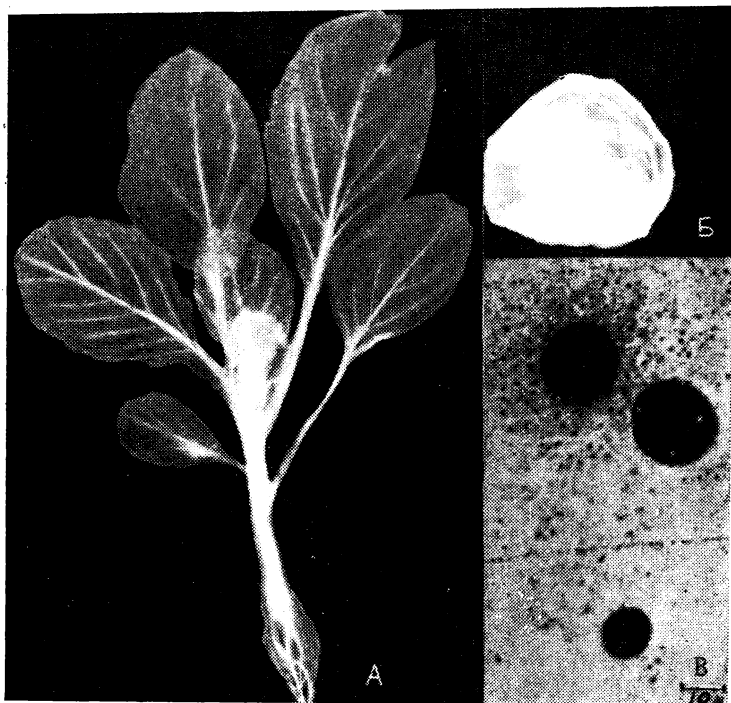


Рис. 38. Радиоавтографы и микрорадиоавтографы. А — радиоавтограф растения капусты, выращенной на питательной смеси с P^{32} (по Власюку); Б — радиоавтограф среза клубня картофеля, обработанного тиоциановой с S^{35} (ориг.); В — включение P^{32} в ядра клеток тапетума пыльника лилии (по Taylor)

Более усовершенствованным количественным методом является метод радиоактивного клина (рис. 37), разработанный Я. В. Мамулем (1955).

Методы микрорадиографии и количественной радиоавтографии позволяют наглядно видеть распределение веществ, меченных радиоактивными изотопами, в органах, тканях и клетках и судить об изменении их содержания (рис. 38). При помощи этих методов можно, следовательно, изучать не только локализацию, но и обмен веществ.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЕ УЛЬТРАЦЕНТРИФУГИРОВАНИЕ

Изучение химического состава и биологических функций клеток при помощи методов гисто- и цитохимии позволило получить ряд важнейших данных о химизме клеток, в частности установить наличие и локализацию в растительных клетках двух нуклеиновых кислот — ДНК в ядре и РНК в цитоплазме и ядрышке. Однако эти методы ограничены и не дают возможности достаточно полно изучить химическое строение и ферментативную активность таких субклеточных структур, как митохондрий и микрозомы.

Методы дифференциального ультрацентрифугирования и центрифугирования в градиенте плотности позволили выделить отдельные клеточные структуры из различных органов растительных тканей в количествах, достаточных для изучения их химизма и биохимических функций (Умбрейт и др., 1951; Хесин, 1960; Дюсе, 1961).

Заслуга применения метода дифференциального центрифугирования для выделения клеточных компонентов принадлежит Клауде (Claude, 1937, 1940).

Дифференциальное ультрацентрифугирование позволяет фракционировать компоненты клеток (ядра, пластиды, митохондрии, микрозомы), находящиеся в гомогенате из растительных тканей, а также выделять из растворов вещества, обладающие крупными молекулами с большим молекулярным весом (белки и нуклеиновые кислоты).

Обычно частицы, взвешенные в жидкости меньшей плотности, оседают постепенно под влиянием силы тяжести. При вращении центрифуги в растворе, находящемся в центрифужных пробирках, возникает радиальное ускорение и на каждую частицу начинает действовать центробежная сила, равная $M r \omega^2$, где M — масса частицы в граммах, r — расстояние частицы от оси вращения в сантиметрах и ω — угловая скорость в радианах в секунду. Разделение частиц при центрифугировании основано на их различии в массе; развиваемая при вращении центробежная сила, будучи пропорциональна массе, при всех прочих равных условиях будет способствовать ускорению осаждения в первую очередь крупных частиц. После удаления осадка при повторных центрифугированиях центрифугата (надосадочной жидкости) при возрастающем числе оборотов последовательно будут осаждаться частицы более мелкие, и таким путем будет достигнуто разделение на требуемые клеточные фракции.

Фактор разделения g зависит от расстояния, от оси вращения и от скорости вращения (Пири, 1960) ¹.

Скорость осаждения частиц приблизительно пропорциональна фактору разделения.

¹ Нормальное ускорение силы тяжести g равно 981 см/сек^2 .

Для фракционирования компонентов клеток необходимо было подобрать соответствующие условия среды и методы гомогенизации с тем, чтобы клеточные структуры выделенных фракций не повреждались и соответствовали бы по форме и свойствам структурам нормальных клеток.

При выделении компонентов клетки параллельно с гомогенизацией и фракционированием проводится цитологический контроль и под микроскопом идентифицируются структуры клеточных фракций и степень загрязнения одной фракции другой, которое доводится до минимума повторным промыванием и центрифугированием. Фракция субмикроскопических гранул — микрозом — идентифицируется при помощи электронного микроскопа.

Методы гомогенизации и фракционирования разрабатывались в основном на тканях животного происхождения, таких, как печень крысы, поджелудочная железа, зубная железа, опухолевые ткани и др. (Глик, 1950; Даунс, 1957; Хогebaум, Шнейдер, 1957).

Разрушение тканей и клеток проводится в гомогенизаторах разных типов. В гомогенизаторе Уоринга размельчение ткани производится вращающимися металлическими ножами; при этом происходит частичное разрушение клеточных структур, в частности митохондрий. Более мягкие условия гомогенизации создаются в гомогенизаторе Поттера с вращающимся пестиком; в ряде случаев предпочтение оказывают гомогенизаторам с пестиком, который двигается, как поршень, вверх и вниз.

Измельчению подвергаются лиофилизированные ткани или ацетоновый порошок, полученный после экстракции охлажденной ткани ацетоном на холоду. После лиофизации и гомогенизации ткани ее еще пропускают через шаровую мельницу. Выделение клеточных структур производится:

1) в водных растворах лимонной кислоты (при исследовании нуклеиновых кислот и липидов можно применять концентрированный раствор);

2) в водных изотопических или гипертоническом (0,88 М) растворах сахарозы с добавлением фосфатного буфера, а также в случае выделения ядер — хлористого кальция. Последний агглютинирует цитоплазматические гранулы, поэтому для выделения митохондрий рекомендуется удалять хлористый кальций из среды, для чего к сахарозно-фосфатному раствору добавляется версен (этилендиаминтетрауксусная кислота). В качестве среды для фракционирования используют также растворы этиленгликоля, полиэтиленгликоля и декстрана.

Широко используется метод выделения ядер в неводных растворителях, предложенный впервые Бернсом (Behrens, 1932), который проводил фракционирование в смеси четырех-

хлористого углерода и бензола. Впоследствии метод выделения ядер из тканей животного и растительного происхождения в неполярных растворителях был значительно усовершенствован.

Выделение клеточных структур из растительных тканей сопряжено с большими затруднениями. С одной стороны, растительные ткани имеют довольно плотные клеточные оболочки, разрушая которые легче повредить клеточные структуры. С другой стороны, растительные клетки имеют вакуоли с кислым вакуолярным соком, способным при разрушении вакуолей во время размельчения денатурировать белки и агглютинировать субмикроскопические структуры; большое значение для нативности структур имеет осмотическое давление, иногда достигающее в растительных клетках значительной величины.

Следовательно, при изучении растительных клеток имеет особое важное значение правильный выбор рН среды и осмотического раствора, применяемого для гомогенизации и центрифугирования (Дюсе, 1961).

Фельген и др. (Feulgen и др., 1937) впервые выделили ядра растительных клеток из зародышей ржи. Они лиофилизировали ткань, а затем размельчали ее и центрифугировали в бензоле.

Штерн и Мирский (Stern, Mirsky, 1952) выделили ядра из зародышей пшеницы, размалывая их в петролейном эфире и центрифугируя в смеси четыреххлористого углерода с циклогексаном.

Н. М. Сисакян и др. (1957) применяли для измельчения и выделения фракций из зародышей пшеницы, в том числе и ядер: 1) сахарозно-фосфатный буфер с добавлением CaCl_2 и 2) органические растворители (петролейный эфир при гомогенизации и толуол при дифференциальном центрифугировании).

Авторы указывают, что при выделении в сахарозно-фосфатном буфере теряется дегидразная активность вследствие удаления растворимых белков, а в органических растворителях вымываются свободные липиды.

Метод дифференциального центрифугирования широко применяется для выделения хлоропластов из листьев. Менке (Menke, 1938) изолировал хлоропласты из листьев шпината методом дифференциального центрифугирования в 1/15 М растворе фосфата. Граник (Granick, 1938) выделял хлоропласты из листьев высших растений, растирая и центрифугируя ткани в охлажденном до $+5^\circ$ 0,5 М растворе глюкозы. Нейш (Neisch, 1939) для выделения хлоропластов из листьев растирал ткани в дистиллированной воде с последующим центрифугированием и отмыванием до получения в осадке чистой фракции хлоропластов; вода может быть заменена

0,5 М раствором глюкозы. Выделяли хлоропласты методом центрифугирования при 30 000 об/мин О. П. Осипова и И. В. Тимофеева (1949). Затем густая зеленая масса отмывалась от липоидов и пигментов и из бесцветной массы хлоропластов извлекались белки.

Н. М. Сисакян с сотрудниками (1951), Сисакян и Филиппович (1956) для выделения пластид использовали методы Нейша и А. С. Вечера (1949).

Ряд авторов (Арноп и др., 1956; Jagendorf, Avron, 1958) проводили измельчение листьев в растворах хлористого натрия и сахарозы. Левит (Levitt, 1952, 1954) фракционировал центрифугированием цитоплазматические частицы и белки клубней картофеля и изучал в митохондриях и микросомах содержание белков, липидов, связанной воды, N, P, углеводов, ДНК и РНК; Мартин и Мортон (Martin, Morton, 1956) методом дифференциального центрифугирования выделяли митохондрии и микросомы из черешков листьев свеклы и изучали содержание в них липидов, белков, РНК и ДНК.

В зависимости от применяемых для центрифугирования сред фракции ядер и хлоропластов выделялись при ускорении 1000 g, митохондрии — от 10 000 до 20 000 g, микросомы — 20 000—140 000 g, а надосадочная цитоплазматическая фракция — свыше 140 000 g. В каждой фракции встречались 5—10% загрязнений частицами другой фракции (Дюсе, 1961).

Для характеристик высокомолекулярных веществ большое значение имеет определение константы седиментации методом ультрацентрифугирования.

Константой седиментации, характерной для осаждаемого вещества, называется скорость седиментации (осаждения) на единицу напряженности силового поля; она обозначается буквой S , а выражается в единицах Сведберга, т. е. в сантиметрах в 1 сек на 10^{13} единиц напряженности силового поля (Пикклс, 1956). Константа седиментации зависит от вязкости среды η , σ — плотности частиц и среды, и температуры. Поэтому при расчетах исправленная константа седиментации приводится к стандартным условиям, соответствующим воде при $+20^\circ\text{C}$, по формуле

$$S_{20} = \frac{\eta(\sigma - \rho_{20})}{\eta_{20}(\sigma - \rho)}$$

Пикклс подчеркивает, что скорость осаждения зависит от концентрации вещества: для большинства сывороточных белков она снижается на 10% при повышении концентрации раствора на 1%. Поэтому при определении константы седиментации желательно охватить диапазон не менее трех концентраций растворенного вещества и работать с разбавленными растворами не выше нескольких десятых процента.

Первые ультрацентрифуги были разработаны Сведбергом и его сотрудниками (Swedberg и др., 1940).

При помощи оптического устройства и фотографической записи во время центрифугирования ведутся наблюдения за границами осаждения.

Как при определении константы седиментации, так и при фракционировании цитоплазматических структур играет большую роль трение исследуемого раствора о стенки центрифужных сосудов. При выделении клеточных элементов оно приводит к их частичному разрушению. При остановке центрифуги возникает обратная диффузия, которая расширяет границу между фракциями. Этому препятствует центрифугирование в градиенте плотности, метод получения которого усовершенствован Холтерном (Holtern и др., 1953) путем добавления диодона к раствору сахарозы.

Разделение клеточных структур и макромолекул проводится с успехом в двухфазной системе воднорастворимых полимеров (Per-Ake Albertson, 1960).

Такие двухфазные системы получают смешиванием растворов:

декстран — полиэтиленгликоль,
декстран — метилцеллюлоза,
декстран — поливинилалкоголь,
декстран — гидроксипропилдекстрин,
декстран — сульфат-поливинилалкоголь,
карбоксиметилдекстран — полиэтиленгликоль.

Если смешать 2,2%-ный водный раствор декстрана с равным объемом 0,72%-ного водного раствора метилцеллюлозы, то смесь, постояв некоторое время, делится на два слоя. Верхний слой содержит 0,39% декстрана, 0,65% метилцеллюлозы и 98,96% воды. Нижний слой содержит 1,58% декстрана, 0,15% метилцеллюлозы и 98,27% воды.

Разделение клеточных частиц или макромолекул в такой двухфазной системе основано главным образом на свойствах их поверхностей. Оно зависит от природы, структуры и размера поверхности частиц, от строения и веса молекул полимера (табл. 7) (включая число полярных и неполярных групп), от ионного состава и рН фазовой системы.

Из таблицы видно, как частицы разного биологического происхождения по разному распределяются в двухфазной системе в зависимости от молекулярного веса полимера. Коэффициент распределения (K) между фазами меняется в зависимости от размеров молекул разделяемого вещества. Так, например, рибонуклеаза (молекулярный вес 13 000) имеет $K=1$ в системе *декстран — метилцеллюлоза* (D_{68} — МЦ 4000) при 20° С в 0,01 М буфера и 0,1 М NaCl; фикоэритрин ($M=290\ 000$) имеет в этой же системе $K=0,63$. Высокополимерная дезоксирибонуклеиновая кислота из тимуса теленка, имеющая

**Распределение различных частиц в системе декстран — полиэтиленгликоль
в зависимости от молекулярного веса полимера**

Фазовая система	Частицы крахмала	Целлюлозы	<i>Chlorella</i>	Эритроциты	Фикоэритрин
Декстран-полиэтиленгликоль 6000	В нижней фазе	В нижней фазе	В нижней фазе	В нижней фазе	В верхней фазе
Декстран 68-полиэтиленгликоль 6000	»	»	В верхней фазе	На внутренней поверхности раздела фаз	»
Декстран 68-полиэтиленгликоль 4000	»	»	»	»	»
Декстран 68-полиэтиленгликоль 20 000	»	»	В нижней фазе	В нижней фазе	В нижней фазе

константу седиментации $S_{20}=20,4$, имеет $K=0,014$ при $+4^{\circ}\text{C}$ в системе декстран — метилцеллюлоза, а рибонуклеиновая кислота дрожжей имеет $S_{20}=3,5$ и $K=0,43$ в той же системе.

Метод распределения в двухфазной системе полимеров может служить для разделения целых клеток, цитоплазматических структур, вирусов, фагов и макромолекул, включающих высокополимерные протеины и нуклеиновые кислоты.

ЛИТЕРАТУРА

- Барский И. Я., Брумберг Е. М., Бухман М. П., Василевская В. К., Плужникова Г. Ф. Бот. журн., 1960, 44, № 5. Боровягин В. Л. и Дубров А. П. Цитология 1960, 2, № 5. Бродский В. Я. Цитология, 1960, 2, № 5, Брумберг Е. М. журн. общ. биол., 1957, 17, № 6. Верховская И. Н. В сб. «Метод меченых атомов в биологии». Изд-во МГУ, 1955. Вечер А. С. Изв. АН СССР, сер. биол., 1949, № 3. Виноградов А. П., Кутюрин В. М., V Междунар. биохим. конгр., Симп. VI, М., Изд-во АН СССР, 1961. Виноградов А. П., Тейс Р. В. ДАН СССР, 1941, 33. Войт А. В сб. «Биофизические методы исследования». М., ИЛ, 1956. Габелова Н. А. Сб. «Метод меченых атомов в биологии». Изд-во МГУ, 1955. Глик Д. Методика гисто- и цитохимии. М., ИЛ, 1950. Даунс А. Сб. Нуклеиновые кислоты. М., ИЛ, 1957. Дюсе Ж. V Междунар. биохим. конгр., Симп. II, М., Изд-во АН СССР, 1961. Жакоб Ф. и Моно Ж. V Междунар. биохим. конгр., Симп. I, М., Изд-во АН СССР, 1961. Жданова Л. П. Физиол. раст., 1956, 3, вып. 5. Журбицкий З. И. Физиол. раст., 1960, 7, вып. 1. Камен М. Радиоактивные индикаторы в биологии. М., ИЛ, 1948. Клечковский В. М. Сб. «Метод меченых атомов в биологии». Изд-во МГУ, 1955. Кузин А. М. Меченые атомы в исследованиях по сельскому хозяйству. М., Изд-во АН СССР, 1954. Курсанов А. Л. Меченые атомы в разработке научных основ питания растений. М., Изд-во АН СССР, 1954; «Тимирязевские чтения», 20, М., Изд-во АН СССР, 1960. Курсанов А. Л., Бровченко М. И. и Парийская А. И. Физиол. раст., 1959, 6. Мамуль Я. В. Сб. «Метод меченых атомов в биологии». Изд-во МГУ, 1955. Мамуль Я. В., Орлова Л. В., Шуватов Т. Ф., Кузин А. М. Биофизика, 1958, 3, № 5. Мейсль М. Н. Изв. АН СССР,

сер. физ., 1951, 15, № 6; Микробиология, 1957, 26, № 6. Моиз А. А. V Междунар. биохим. конгр., Симп. VI, М., Изд-во АН СССР, 1961. Ничипорович А. А. V Междунар. биохим. конгр., Симп. VI, М., Изд-во АН СССР, 1961. Осипова О. П. и Тимофеева И. В. ДАН СССР, 1949, 67; 1950, 74. Пикклс Е. Сб. «Биофизические методы исследования». М., ИЛ, 1956. Пирри Н. Сб. «Биохимические методы анализа растений». М., ИЛ, 1960. Сатарова Н. А. ДАН СССР, 1958, 122. Сатарова Н. А. и Бокарев К. С. «Сб. памяти Н. А. Максимова». М., Изд-во АН СССР, 1957; Тр. Ташкентск. конф. по мирному использованию атомной энергии, т. III. Ташкент, 1961. Сисакян Н. М. «Баховские чтения», V, М., Изд-во АН СССР, 1951. Сисакян Н. М., Васильева Н. А., Спиридонова Г. А. Биохимия, 1957, 22, вып. 5. Турецкая Р. X. Физиология корнеобразования у черенков. М., Изд-во АН СССР, 1961. Умбрейт В. В., Буррас Р. X., Штауффер Д. Ф. Манометрические методы изучения тканевого обмена. М., ИЛ, 1951. Фитцджеральд Р. Сб. «Методы цитологии». М., ИЛ, 1957. Хесин Р. Б. Биохимия цитоплазмы. М., Изд-во АН СССР, 1960. Хоргебаум Д., Шнейдер В. Сб. «Нуклеиновые кислоты». М., ИЛ, 1957. Adams A. M., Miller J. J. Nature, 1952, 170, № 9. Arnon D. I., Allen M. B. Biochim. et Biophys. Acta, 1956, 20. Arnon D. I., Stout P. R., Sipos F. Amer. J. Bot., 1940, 27. Belanger L. F. a. Leblens C. P. Endocrinology, 1946, 39. Behrens H. Hoppe-Seyler Ztschr. Physiol. Chemi, 1932, 209. Calvin M. a Benson H. A. Science, 1947, 105. Chance B. Science, 1954, 120, № 3124. Chapman-Andressen C. J. Expt. Cell. Res., 1953, 4. Claude A. Science, 1940, 91. Feulgen R., Behrens M., Mahdihassan S. Ztschr. Physiol. Chem., 1937, 246. Fitzgerald P. J., Fidinoff M. L., Kholi J. E. a Simmel E. B. Science, 1955, 114. Granick S. J. Bot., 1938, 25, 8. Holtern H., Ottesen M., Weber R. Experientia, 1953, 9. Harris J. E., Sloan J. F., Kind D. T. Nature, 1950, 166. Harrison B. F., Thomas M. D. a Hill G. R. Plant Physiol., 1944, 19. Howard A., Pelc S. R. J. Expt. Cell Res., 1951, 2. Jagendorf A. T., Avron M. J. Biol. Chem., 1958, 231. Levitt J. Physiol. Plantarum, 1952, 5. Levitt J. a Millikan D. F. Physiol. Plantarum, 1954, 7, № 1. Martin E. M. a. Morton R. K. Biochem. J., 1956a, 62, № 2; 1956b, 64, № 2. Menke W. Ztschr. Physiol. Chem., 1938, 257, H. 43. Neish A. C. Biochem. J., 1939, 33, № 293. Odeblad E. Acta radiologica, 1953, 39, 192. Pearson I. A., Hammer J. M., Corrigan K. E., Hayden H. S. J. Bacteriol., 1948, 56. Per-Ake Albertson. Partition of cell particles and Macromolecules. N. Y., Upsala, 1960. Stern H., Mirsky A. E. Gen. Physiol., 1952, 36, № 181. Svedberg T., Pedersen K. D. The ultracentrifuge. Oxford, 1940. Taylor J. H. J. Expt. Cell Res., 1953, 4; Amer. J. Bot., 1959, 46, № 7. Wilker P. M. B. «Physical techniques in biological research». Ed. G. Oster a. A. Pollister, 111, 1956.

ПЕРВИЧНЫЕ ПРОЦЕССЫ ФОТОСИНТЕЗА РАСТЕНИЙ

Исследованиями последних лет установлены следующие основные стадии в цепи реакций, составляющих процесс фотосинтеза.

1. Поглощение квантов света пигментами растения, ведущее к образованию возбужденных состояний и фотофизическим превращениям энергии света в пигментных структурах.

2. Первичные фотохимические процессы, в которых используется энергия квантов света, поглощенных пигментами (при этом образуются крайне активные и неустойчивые первичные фотопродукты).

3. Включение первичных фотопродуктов в цепь энзиматических процессов, ведущее к образованию более устойчивых соединений, в которых «запасается» энергия квантов света. (Среди этих соединений наиболее изучены восстановленные пиридиннуклеотиды и богатые энергией фосфорные эфиры.)

4. Использование этих промежуточных соединений для осуществления циклических процессов связывания и восстановления углекислоты.

5. Включение промежуточных продуктов углеродного фотосинтетического цикла в процессы дыхания, обмена азота, фосфора, серы с образованием многообразных органических соединений.

Каждая из перечисленных выше стадий фотосинтеза является предметом углубленного изучения. Первичные фотофизические и фотохимические стадии фотосинтеза с давних пор изучают с помощью физических и химических методов; изучение промежуточных продуктов фиксации и превращения углекислоты является предметом биохимии.

В этой главе мы рассмотрим состояние вопроса о природе первичных процессов фотосинтеза, в которых происходит превращение энергии квантов света и их «запасание» в форме потенциальной химической энергии промежуточных продуктов. Особенности течения первичных фотофизических и фотохимических процессов тесно связаны с особенностями

структурной организации хлоропластов и гранул и состоянием в них пигментов. С рассмотрения этих вопросов начинается обзор. Дальнейшая последовательность изложения соответствует чередованию элементарных стадий: рассматриваются фотофизические превращения энергии света, поглощенного пигментами, природа первичного фотоакта, тесно связанная с изучением обратимых превращений хлорофилла. Образование более устойчивых соединений, запасающих энергию света, излагается в разделах «Фотосенсибилизирующее действие хлорофилла» и «Включение фотопродуктов в систему энзиматических процессов». Краткое изложение результатов изучения промежуточных продуктов с помощью изотопных методов завершает обзор.

В обзоре использована литература до 1960 г.¹

СТРУКТУРА ХЛОРОПЛАСТОВ И ГРАНУЛ

Давно было установлено, что хлорофилл растений содержится в особых клеточных структурах — хлоропластах.

Еще К. А. Тимирязев, рассматривая в микроскопе срезы листьев через красный светофильтр (в спектральной области, где весьма сильно поглощение хлорофилла), обнаружил в хлоропластах некоторых растений участки с большой концентрацией хлорофилла. Это были граны, или гранулы, — особые структурные образования, в которых содержится хлорофилл.

Недавно (Olson, Engel, 1959) были получены микроскопические фотографии хлоропластов, снятые с использованием ртутных линий при 435 мк (в области «сине-фиолетового» максимума поглощения хлорофилла). На этих фотографиях видна слоистая структура — неравномерное распределение хлорофилла в пластидах. В хлоропластах некоторых водорослей наблюдалось до 16 слоев.

Данные о следующем порядке организации — сложной структуре гранул и хлоропластов — получены благодаря применению электронной микроскопии, которая позволяет «увидеть» структурные элементы величиной до 20—200 Å, тогда как пределы «обычной» микроскопии лежат в пределах, соизмеримых с величиной световой волны, — до 4000 Å.

Однако электронная микроскопия пока не позволяет «увидеть» расположение и упаковку отдельных молекул.

На изображениях, полученных с помощью электронного микроскопа, темные и светлые зоны свидетельствуют о различ-

¹ После сдачи в печать этой статьи вышли книги, в которых читатель найдет новую литературу по затронутому вопросу: Труды Международного биохимического конгресса. Симпозиум VI «Механизм фотосинтеза». Изд-во АН СССР, 1962; сб. «Биохимия и биофизика фотосинтеза». М., «Наука», 1965.

ном поглощении и рассеивании электронов разными элементами структуры. Чтобы выявить эти различия более отчетливо, в технике электронной микроскопии широко применяется фиксация материала осмиевой кислотой, связывающейся преимущественно с липоидными компонентами клетки. Фиксированные объекты дают более контрастные изображения.

Электронномикроскопические изображения тонких срезов хлоропластов различных организмов показывают их слоистую и гранулярную структуру (рис. 39). Наряду с этим наблюдаются круглые гранулы — капли, содержащие липоидные вещества.

Имеются указания на то, что у высших растений слоистые структуры хлоропластов связаны с образованием гранул, представляющих собой набор дисков с диаметром от 0,4 до 2 мк, тогда как у водорослей часто наблюдаются структуры из 4—8 слоев, идущие через весь хлоропласт. Наблюдались и промежуточные структурные формы.

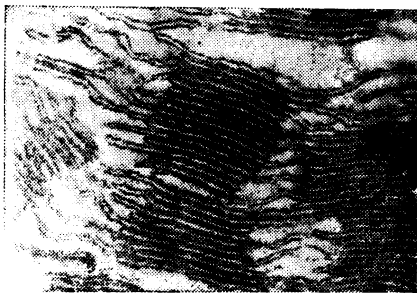


Рис. 39. Ламеллярная структура хлоропласта ячменя. Увеличение 125 000 (по Ветштейну)

На основании электронномикроскопических исследований хлоропластов Седжер (Sager, 1959) заключает, что они обладают оболочкой, состоящей из двух сплошных мембран с пространством между ними. Внутри хлоропласта наблюдается набор парных слоев — мембран. У каждой пары соединены концы и образованы диски, набор которых (обычно 10—12) соответствует грануле, наблюдаемой в «обычном» микроскопе.

Обнаружение тонкой структуры позволяет дать более точное разделение отдельных зон «стромы». В диске имеется внутреннее пространство; часть стромы расположена вне дисков в полости между ними. Диски отдельных гранул во многих случаях связаны слоями — перемычками меньшей толщины. В какой мере такая структура хлоропластов связана с наличием в них хлорофилла? Для этого клеточные структуры рассматривались в процессе образования и накопления хлорофилла при освещении этиолированных листьев, а также у мутантов, содержащих различные типы пигментов.

При изучении зеленения *Chlamydomonas* Седжер удалось наблюдать появление слоистой структуры лишь после 7 час освещения, т. е. тогда, когда в клетке уже было образовано довольно много хлорофилла (10% от конечного его количества). После 3 час освещения, когда в клетке было около 10⁶

молекул хлорофилла, слоистая структура не была обнаружена.

Веттштейн (Wettstein, 1959) изучал морфогенез структуры пластид в процессе развития у ячменя, кукурузы, аспидистры. Он указывает на следующие стадии морфогенеза пластид, которые удается наблюдать с помощью электронного микроскопа: образование полостей из внутренней мембраны пластид; агрегация и деление на слои отдельных дисков; увеличение числа слоистых дисков; рост и деление слоистых дисков с образованием непрерывных слоев; дифференциация областей грани и стромы; формирование гранул с образованием наборов дисков.

В этиолированных листьях ячменя наблюдалась регулярная сетчатая структура, которая при длительной этиоляции приводит к образованию слоев, отличающихся, однако, по форме и виду от слоистой структуры зеленых хлоропластов.

Таким образом, хотя образование слоистой структуры иногда наблюдается и в отсутствие хлорофилла, обычное для зеленых хлоропластов расположение слоев наблюдается лишь в его присутствии. Изучение бедных хлорофиллом мутантов показывает, что синтез малых количеств хлорофилла *a* и *b* происходит без образования слоистой структуры.

В работе Богорада (Bogorad и др. 1959), изучавшего влияние хлороза на структуру хлоропластов, отмечается, что слоистая структура видна лишь у зеленых пластид в присутствии железа, в хлоротичных листьях видны лишь некоторые элементы слоистой структуры.

По данным электронномикроскопических фотографий ряда авторов, толщина «черного» слоя гранулярного диска, богатая липоидами, обычно составляет 30—60 Å. В ряде новых работ высказаны предположения об ориентации молекул пигментов на границах *белок — липоид* в слоях гранул. Диаметр порфиринового кольца молекулы хлорофилла составляет 12—15 Å (при толщине около 4 Å); длина «фитольного» хвоста, по-видимому, составляет от 10 до 20 Å (Calvin, Sogo, 1957).

Таким образом, в «черных» слоях гранул в зависимости от ориентации можно расположить 1—3 молекулы хлорофилла. При этом хлорофилл может находиться в виде ориентированных монослоев, обладающих различными типами и плотностью упаковки, возможно соответствующей различным степеням агрегации, наблюдаемым в модельных системах. Отметим, что эти представления являются лишь гипотезой, требующей дальнейшего изучения.

Весьма важен вопрос о том, какая степень развития и сохранения структуры позволяет осуществить отдельные стадии процесса фотосинтеза. В связи с этим следует обратить внимание на работы, в которых изучалось появление фотосинте-

за в процессе зеленения этиолированных листьев. Этому вопросу был посвящен ряд исследований. Остановимся лишь на некоторых из них. Смит (Smith, 1954) указал на то, что фотосинтез удается наблюдать в процессе зеленения этиолированных проростков, когда протохлорофилл превращен в хлорофилл. В работах нашей лаборатории (Доман и др., 1961) измерялись темновая и световая фиксации меченой углекислоты этиолированными и зеленеющими листьями при одновременных спектральных измерениях промежуточных форм хлорофилла. После 3—4 час зеленения световая фиксация превосходит гетеротрофное темновое связывание меченой углекислоты. За это время образуется «мономерная» форма хлорофилла, но, судя по данным, описанным выше, характерно развитая слоистая структура хлоропластов еще не образуется. Таким образом, фотосинтетическое связывание углекислоты может, по-видимому, происходить, когда еще полностью не сформирована слоистая структура, характерная для «взрослых» хлоропластов.

Согласно работам Арнона (Arnon, 1954), изолированные хлоропласты способны осуществлять реакции фотосинтеза. Предпосылкой этого является наличие в хлоропластах богатого набора ферментов, обнаруженного и исследованного в работах Н. М. Сисакяна (1951, 1956, 1958). Механическое разрушение хлоропластов не сказывается на способности гомотенатов, содержащих гранулы, к реакции Хилла — выделению кислорода воды, сопряженному с восстановлением молекул — акцепторов электрона.

Уолкен (Wolken, 1959) показал, что белковый раствор «хлоропластина», выделенный из евглени с помощью 1%-ного раствора дигитонина и вряд ли сохранивший структуру дисков, способен осуществлять отдельные стадии фотосинтеза — реакцию Хилла и фотосинтетическое фосфорилирование.

Из этих опытов явствует, что осуществление отдельных стадий фотосинтеза, связанных с фотохимическим актом, не требует сложной пластинчатой структуры, наблюдаемой в срезах хлоропластов, хотя способность к «полному» фотосинтезу связана с развитием структур, описанных выше.

Бержерон (Bergeron, 1959) исследовал структуру хроматофоров, выделенных из диспергированных (с помощью звукового генератора) бактерий путем дифференциального центрифугирования. В составе хроматофоров *Chromatium* обнаружено 61% белка, 22% фосфолипидов, 4,2% бактериохлорофилла, 1,5% каротиноидов. На электронных микрофотографиях виден набор мелких колец диаметром около 300 Å и толщиной 30—40 Å. Автор полагает, что в этих слоях расположены пигменты — бактериохлорофилл и каротиноиды и дает умозрительную схему структуры этих слоев.

Итак, изучение тонкой структуры хлоропластов, гранул и хроматофоров бактерий пока не позволяет сделать определенных выводов о функциях тех или иных структур и о расположении в них молекул хлорофилла и сопутствующих ему соединений. С другой стороны, изучение состояния хлорофилла в организмах и в модельных системах с помощью абсорбционной и флуоресцентной спектроскопии и измерения «спектров действия» фотосинтеза позволили прийти к важным выводам о наличии разных форм пигментов в организмах, различных формах связи хлорофилла с белками и липоидами, разных типах агрегации и участия разных форм пигментов в отдельных стадиях процесса фотосинтеза. Результаты этих исследований рассматриваются в следующем разделе.

РАЗЛИЧНЫЕ ФОРМЫ ПИГМЕНТОВ В РАСТИТЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМАХ

Уже давно в работах В. Н. Любименко (1924, 1935) развивались предположения о связи хлорофилла и его аналогов с белками, а в работах К. А. Тимирязева, Д. И. Ивановского (1913), Вильштеттера и Штолля (1913) — об агрегации молекул хлорофилла в коллоидных частицах. Широкое применение в дальнейшем изложении терминов «мономерные» и «агрегированные» формы пигментов требует более четкого определения.

Под термином «мономерный» следует понимать состояние, когда практически отсутствует взаимодействие между молекулами пигмента; это имеет место в разбавленных растворах пигментов, в полярных растворителях и в разреженных монослоях. «Мономерный» хлорофилл может быть связан с липопротеином, растворен в липоидной фазе и может находиться в виде монослоя на белковолипидной фазовой границе в структурах гранул.

Термин «агрегированный» относится к формам, где наблюдается взаимодействие между молекулами хлорофилла — в твердых пленках, коллоидных частицах, кристаллах, плотно упакованных монослоях на фазовых границах.

Мы сопоставим здесь спектральные свойства пигментов в растительных организмах со свойствами индивидуальных пигментов в различных известных состояниях. Начнем с рассмотрения состояния пигментов в более просто организованных фотосинтезирующих бактериях.

Бактериохлорофилл

Вассинк, Катц, Доппенштейн (Wassink, Katz, Dorrenstein, 1942), Френч (French, 1940) более 20 лет тому назад обнаружили у различных штаммов пурпурных бактерий три максимума поглощения бактериохлорофилла в близкой ин-

фракрасной области спектра — при 800, 850 и 890 *мк*, тогда как пигмент, извлеченный из клеток органическими растворителями, обладает лишь одним максимумом поглощения — 770—780 *мк*. Пурпурные бактерии имеют максимум флуоресценции в области 910—920 *мк* (Vermeulen и др., 1937; Duysens, 1951), тогда как бактериохлорофилл в растворе — 780—790 *мк*. Нагревание до 60° С, ведущее к денатурации белков, и действие протеолитических ферментов заметно не влияют на вид спектра поглощения; нагревание до 80—90° ведет к падению максимума при 890 *мк* — наименее устойчивой формы. Долгое нагревание бактерий до 100° ведет к постепенному сдвигу максимума до 760—770 *мк* сначала исчезает максимум при 890 *мк*, затем при 850 *мк* (Красновский и др., 1953). Центрифугирование бактериального гомогената при 150 000 *g* после действия 0,5%-ного раствора детергента ведет к преимущественному осаждению формы с максимумом при 890 *мк* (Brill, 1958).

Для суждения о свойствах разных форм мы применили изучение кинетики их необратимого деструктивного выцветания. При освещении на воздухе быстрее всего выцветает форма бактериохлорофилла с максимумом 890 *мк* (Красновский и др., 1953). Это согласуется с наблюдениями Дюсенса (Duysens, 1957) и Годхера (Goedheer, 1957).

Спектры поглощения бактериохлорофилла, выделенного в чистом виде из культуры *Rhodospseudomonas* путем хроматографии на сахаре, изучались в наших работах (Войновская, Красновский, 1953), Вейглем (Weigl, 1952), Холтом и Джекобсом (Holt, Jacobs, 1954). Растворы (экстракты) бактериохлорофилла обладают поглощением в области 770—780 *мк*. Таким образом, взаимодействие с полярными молекулами растворителя не приводит к сдвигам, наблюдаемым в живых клетках.

Наши работы (Красновский и др., 1952) показали, что агрегированные формы бактериохлорофилла в твердых пленках (полученных при испарении растворов чистого бактериохлорофилла в вакууме) и водных коллоидных растворах обнаруживают далекий сдвиг максимума поглощения в инфракрасную область спектра (максимум поглощения при 790—800 и 850—880 *мк*), что наблюдается у бактериохлорофилла в живых бактериях. Эти результаты подтверждены в опытах группы Рабиновича (Jacobs, Vatter, Holt, 1954), показавших, что кристаллический бактериохлорофилл имеет максимум поглощения при 865 *мк*, и в опытах Комена (Comen, 1956), в которых были воспроизведены наши данные о спектрах поглощения коллоидных растворов бактериохлорофилла.

Бактериофеофитин, в отличие от бактериохлорофилла, дает лишь один тип упаковки с максимумом при 850 *мк* (Красновский и др., 1952). Эффективное взаимодействие

между системами π -электронов близко расположенных молекул пигмента ведет к значительному искажению спектра поглощения молекул пигмента. По-видимому, разные типы упаковки, обладающие разными максимумами поглощения, связаны с различной ориентацией молекул пигмента и образованием «мостиков» молекул растворителя через центральный атом магния в агрегированных структурах.

В нашей лаборатории удалось обнаружить флуоресценцию твердых пленок бактериохлорофилла в области 910—920 *мкм* (Красновский, 1959). В зависимости от количества остающегося растворителя, т. е. в зависимости от плотности упаковки молекул пигмента, в пленках удается наблюдать различные типы спектров флуоресценции. Таким образом в пленках бактериохлорофилла удалось воспроизвести спектральные свойства этого пигмента в живых бактериях.

Бактериовиридин (хлоробиум-хлорофилл)

Катц и Вассинк (Katz, Wassink, 1939) и Ларсен (Larsen, 1953) наблюдали у зеленых серных бактерий максимум поглощения при 740 *мкм*, тогда как извлеченный пигмент в растворе имел максимум при 660—670 *мкм*. В водно-глицериновой суспензии у зеленых бактерий наблюдается также слабый максимум при 670 *мкм* (Шапошников, Кондратьева, Федоров, 1958), вероятно соответствующий «мономерной» форме пигмента. В спектре флуоресценции суспензии зеленых бактерий наблюдаются слабый максимум при 680 *мкм* и интенсивный при 760—770 *мкм*. В присутствии глицерина растет «мономерный» максимум при 670—680 *мкм* (Красновский, Пакшина, 1959). Соотношения между максимумами поглощения, соответствующими мономерным и агрегированным формам, изменяются в процессе роста бактериальной культуры.

Бактериовиридин в растворах-экстрактах из бактерий и в хроматографически очищенном виде обладает поглощением, близким к хлорофиллу *a*. Наши опыты показали (Красновский, Пакшина, 1959; Красновский, Ерохин, Федорович, 1960), что твердые пленки, полученные при испарении растворов в вакууме, обладают максимумом при 730—740 *мкм*, соответствующим поглощению пигмента в живых бактериях. Пигмент, по-видимому, легко кристаллизуется. Водные коллоидные растворы бактериовиридина дают два типа упаковки с максимумами при 710—720 и 670—680 *мкм*. Существенно то, что наши опыты обнаружили флуоресценцию твердых пленок «чистого» бактериовиридина с максимумом при 760—780 *мкм*, т. е. в той же области, что и у живых бактерий. Совокупность полученных данных говорит о том, что в зеленых серных бактериях главная масса пигмента находится в упорядоченных агрегированных формах, а меньшая часть — в мономерных.

Протохлорофилл

Изучение состояния этого пигмента — предшественника хлорофилла необходимо, чтобы понять состояние хлорофилла и в растениях. Еще Н. А. Монтеверде и В. Н. Любименко (1911) в начале нашего века наблюдали, что протохлорофилл в оболочках тыквенных семян при освещении не переходит в хлорофилл и отличается от протохлорофилла этиолированных листьев. Смит и Шибата (Smith, Shibata, 1957), измеряя спектры поглощения этиолированных листьев, обнаружили две формы протохлорофилла — с максимумами при 635 и 648 мкм. Последняя активная форма при освещении быстро превращалась в хлорофилл. Одновременно в нашей лаборатории (Литвин, Красновский, 1957) при измерении спектров флуоресценции этиолированных листьев, охлажденных до -150° , обнаружены формы протохлорофилла с максимумами флуоресценции при 635 и 655 мкм; при освещении форма 655 мкм быстро превращается в предшественника хлорофилла. Если форма с поглощением при 648 мкм соответствует флуоресценции при 655 мкм, то максимум при 635 мкм, может соответствовать еще одной флуоресцирующей форме протохлорофилла с поглощением при 625—630 мкм, по-видимому, скрытой в общем максимуме поглощения при 635 мкм. Таким образом, результаты этих независимо проведенных исследований указывают на существование форм пигмента, отличающихся по своей фотобиологической активности.

При растирании этиолированных листьев фасоли в фосфатном буфере рН 8,5 протохлорофилл, связанный с белками, переходит в раствор и сохраняет способность при освещении переходить в хлорофилл (Красновский, Кособуцкая, 1952; Кособуцкая, Красновский, 1954). Изменяя спектры флуоресценции гомогенатов листьев фасоли, полученных в темноте, мы нашли в них активную и неактивную формы протохлорофилла (Красновский, Быстрова, 1960), причем «активная» форма была связана с более тяжелыми клеточными структурами (Красновский, Быстрова, 1961). При освещении гомогенатов этиолированных листьев образуется форма хлорофилла с максимумом флуоресценции при 690 мкм, затем 680 мкм, не переходящая, однако, в максимум при 686 мкм (характерный для зеленых листьев), так как в этих условиях нет накопления хлорофилла.

Образование протохлорофилла удалось наблюдать (Литвин, Красновский, Рихирева, 1959) не только в этиолированных, но и в зеленых листьях, применяя метод измерения спектров флуоресценции при низких температурах. После выдерживания зеленых листьев сахарной свеклы в темноте удалось наблюдать появление спектра флуоресценции протохлорофилла, превращающегося при освещении зеленых листьев в хло-

рофилл. А. А. Шлык с сотрудниками (1960) также показал образование протохлорофилла в зеленых листьях с помощью изотопных методов.

Смит получил активные препараты, извлекая «протохлорофилл-голохром» глицерином (Smith, Benitez, 1952, 1953). Он предпринял попытки изолировать этот «протохлорофилл-голохром», применяя методы осаждения сульфатом аммония и центрифугирование (Smith, Kurke, 1956). Очищенные препараты имели максимум поглощения при 636 мк, представляя, по-видимому, смесь активной и неактивной форм. Молекулярный вес «голохрома» лежал в пределах $1,2 \cdot 10^6$ — $2,1 \cdot 10^6$.

Измерение квантового выхода образования хлорофилла из протохлорофилла дало величину 0,6 (Smith, French, 1957, 1958; Smith, 1959). Измерения поляризации флуоресценции в «протохлорофилл-голохроме» привели к выводу, что степень поляризации одинакова у связанного протохлорофилла и растворенного в касторовом масле (Latimer, Smith, 1957, 1958). «Голохром» является, таким образом, «мономерной» формой пигмента.

Т. Н. Годнев и А. А. Шлык исследовали природу первичных продуктов фотохимической реакции, происходящей при освещении этиолированных листьев. Участие ферментативных процессов исключалось предварительным охлаждением. Наряду с пигментом, сходным по спектру и растворимости в щелочи с хлорофиллидом, ранее обнаруженным Вольфом и Прайсом (Wolf, Price, 1957) и Леффлером (Löffler, 1954, 1955), авторы наблюдали появление хлорофилла *a* даже в самом начале процесса. Они пришли к выводу, что в протохлорофилле этиолированных листьев имеются пигменты, содержащие фитол или лишенные его.

Виргин (Virgin, 1955, 1960), проводя бумажную хроматографию пигментов в процессе зеленения этиолированных листьев, показал последовательное образование бесфитольных и фитольных форм. Сопоставление спектров флуоресценции этиолированных листьев в процессе зеленения и данных бумажной хроматографии пигментов привело к выводу, что форма «655» является бесфитольной, а форма «635» — смесью бесфитольной и фитольной форм протохлорофилла (Красновский, Быстрова, Сорокина, 1961).

Хлорофилл

Изменения состояния в процессе образования при зеленении этиолированных листьев. Мы наблюдали в 1952 г., что свежобразованный из протохлорофилла хлорофилл имеет максимум поглощения при 670 мк, тогда как по мере зеленения максимум перемещался до 678 мк (Красновский, Кособуцкая, 1952, 1953). В гомогенатах из зеленеющих и зе-

ленных листьев по мере накопления хлорофилла увеличивается его светоустойчивость; первично образованный хлорофилл быстро выцветает в присутствии воздуха. По мере накопления хлорофилла абсолютное количество выцветающего пигмента растет очень медленно, оставаясь близким начальному его количеству (рис. 40).

Изучение промежуточных стадий образования хлорофилла из протохлорофилла в работе Шибата (Schibata, 1957), показало, что из протохлорофилла образуется промежуточный хлорофилл с максимумом при 684 мкм, быстро переходящий в хлорофилл «670» и затем в хлорофилл «677».

Применение метода измерения спектров флуоресценции при низкой температуре (Литвин, Красновский, 1957) показало образование промежуточного хлорофилла с максимумом флуоресценции 687—690 мкм, быстро переходящего в хлорофилл с флуоресценцией при 680 мкм и далее, по мере накопления хлорофилла, в максимум при 686 мкм. Это смещение определяется, по-видимому, реабсорбцией флуоресценции.

Итак, в процессе образования хлорофилла при зеленении этиолированных листьев удалось зафиксировать три формы пигмента с максимумами поглощения при 670, 684 и 677 мкм и соответствующими максимумами флуоресценции при 680, 690 и 686 мкм. По-видимому, все эти формы различаются по типу связи; на очереди выяснение химических отличий.

Состояние хлорофилла в фотосинтезирующих организмах: спектры поглощения. В спектрах поглощения листьев и хлоропластов наблюдали полосы, соответствующие хлорофиллу *a* (при 675—680 мкм) и хлорофиллу *b* (около 650 мкм). В организмах, содержащих лишь хлорофилл *a*, наблюдали максимум в области 675—680 мкм; у глубоководных красных водорослей (филлофора) мы наблюдали максимумы при 690, 675 и 670 мкм, а также в близкой инфракрасной области

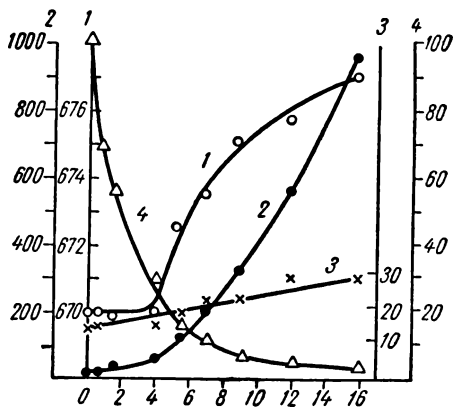


Рис. 40. Изменение спектральных и фотохимических свойств хлорофилла в естественном состоянии по мере его образования в этиолированных листьях:

1 — положение главного «красного» максимума поглощения в мкм (± 1 мкм), 2 — количество образовавшегося хлорофилла в относительных единицах, 3 — количество выцветающего хлорофилла в относительных единицах, 4 — процент фотохимически разрушенного хлорофилла после 5 мин интенсивного освещения

спектра — при 720 и 740 мкм (Красновский, Нестеровская, Гольденберг, 1956). Френч наблюдал у евглены поглощение при 690—695 мкм.

При обычной спектрофотометрической процедуре выражается зависимость оптической плотности от длины волны $D=f(\lambda)$. Френч (French, 1959) построил прибор нового типа — для «производной спектрофотометрии», в котором регистрируется $dD/d\lambda=f(\lambda)$. Этот способ регистрации дает возможность более отчетливо выявить максимумы, которые при обычном способе измерения фиксируются в виде несимметричных очертаний главного «суммарного» максимума поглощения и, таким образом, скрыты от наблюдателя. Применение этого метода позволило Френчу (French, и др., 1954, 1955; French, Huang, 1956, 1957) наблюдать в спектрах поглощения хлореллы и других организмов 2—3 максимума в области 670—690 мкм, по-видимому, соответствующих разным формам хлорофилла *a*.

Состояние хлорофилла в фотосинтезирующих организмах: спектры флуоресценции. При измерении спектров флуоресценции зеленых органов, обладающих высокой концентрацией хлорофилла, в результате реабсорбции искажается действительное положение главного «красного» максимума флуоресценции хлорофилла (French, Young, 1952); второй и третий максимумы флуоресценции (около 730 и 815 мкм) не испытывают этого искажения. Эти ошибки уменьшаются при уменьшении оптического пути света флуоресценции из толщи листа, поэтому реабсорбция меньше в случае применения инфльтрации водой и возбуждения флуоресценции лучше поглощаемым светом. В случае применения тканей, содержащих мало хлорофилла, состояние этого пигмента возможно, отличается от состояния в темно-зеленой ткани.

Обычно в спектрах флуоресценции листьев и водорослей наблюдаются максимумы при 686, 730 и 812—815 мкм. В ряде случаев наряду с «обычными» максимумами в зеленых листьях удалось наблюдать максимум при 690 мкм, вероятно, соответствующий промежуточной форме хлорофилла (Литвин, Красновский, 1957, 1958). В охлажденных до температуры жидкого азота листьях отчетливо видны максимумы при 690 и 686 мкм, обладающие структурой (Литвин, Красновский, Рихирева, 1959). Возможно, что соотношения между формами хлорофилла (690—686 мкм) зависит от ряда физиологических условий и от температуры, что можно привлечь для объяснения эффекта Эмерсона (Emerson, Chalmers, Gederstrand, 1957) по сдвигу длинноволновой границы фотосинтеза. Возможно, что освещение организмов красным или синим светом ведет к образованию «свежих» форм хлорофилла,

участвующих в фотосинтезе, что следует учесть при объяснении результатов измерений квантового выхода фотосинтеза красных водорослей в опытах Йокума и Блинкса (Josim, Blinks, 1958) и Броди (S. Brody, M. Brody, 1959). При замораживании концентрированных растворов хлорофилла и клеток хлореллы до -190°C Броди наблюдал рост максимумов флуоресценции при 710—720 мк, которые, по-видимому, принадлежали агрегированным формам.

Измерение спектров флуоресценции листьев в процессе зеленения при комнатной и низкой температурах показало, что по мере накопления хлорофилла сильно возрастает флуоресценция при 740 мк (рис. 41), которую следует приписать агрегированным формам хлорофилла (Литвин, Красновский, Рихирева, 1960). Флуоресценция агрегированных форм растет при понижении температуры, тогда как «мономерная» флуоресценция от температуры мало зависит.

Влияние воздействий.

Нагревание обычно ведет к перемещению максимума поглощения в короткую область спектра и соответствующему сдвигу максимума флуоресценции. Введение органических растворителей в водные гомогенаты хлоропластов или гранул в количестве, превышающем 50%, обычно приводит к извлечению пигментов в раствор. Малые количества растворителя (от 1 до 10%), не извлекая пигменты, приводят к нарушению естественного состояния связи, выражающемуся в сдвиге максимума поглощения от 678 до 670—672 мк, и соответствующему изменению флуоресценции; наиболее активно действие пиридина (Кособуцкая, Красновский, 1953).

В работах Т. Н. Годнева с сотрудниками (1947—1956), посвященных изучению состояния хлорофилла, было показано, что часть хлорофилла из листьев и изолированных хлоропластов может быть извлечена петролейным эфиром. При последовательном извлечении хлорофилла из препаратов высушенных хлоропластов полярными и неполярными растворите-

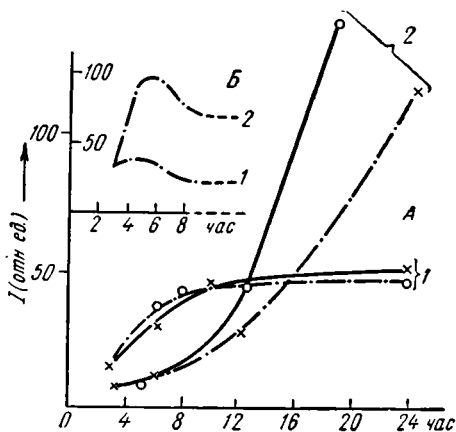


Рис. 41. Изменение интенсивности флуоресценции хлорофилла (при -196°C) в процессе зеленения этилированных листьев фасоли (сплошная линия) и их гомогенатов (пунктирная линия). А — 12-дневные и Б — 7-дневные растения:

1 — при 682 мк, 2 — при 730 мк

лями О. П. Осипова (1947, 1957) нашла, что 15—20% пигмента извлекается бензином. Автор полагает, что извлекаемый хлорофилл не связан с белком, а растворен в липоидах. Осипова (1960) указывает на увеличение количества ненасыщенных липоидов в хлоропластах после освещения. Количество формы хлорофилла, извлекающейся неполярными растворителями, зависело от вида растений (Годнев, Акулович, 1956; Годнев, Терентьев, Пармон, 1949; Осипова, 1947), увеличивалось с возрастом растения и по мере переваривания белковой стромы хлоропластов трипсином (Осипова, 1957). Д. И. Сапожников и С. А. Черноморский (1960), изучая извлекаемость хлорофилла смесью полярных и неполярных растворителей, установили наличие разных форм хлорофилла.

Различные формы пигментов, как уже указывалось, обладают разной устойчивостью к деструктивному фотохимическому окислению. Мы исследовали кинетику выцветания хлорофилла в гомогенатах тканей различных растений (Воробьева, Красновский, 1956; Красновский, Воробьева, Пакшина, 1957). Малая часть хлорофилла выцветает особенно быстро; количество быстро выцветающей фракции зависит от вида растений, физиологического состояния возраста; наибольшее количество фотохимически активной (быстро выцветающей) формы мы наблюдали у сахарной свеклы, лебеды и др., очень мало у злаковых (Красновский, Воробьева, Пакшина, 1957). Возможно, что этот эффект характеризует распад хлорофилл-белкового соединения и образование хлорофиллида. Браун и Френч (1959) изучали выцветание гомогенатов хлореллы методом производной спектрофотометрии. Д. И. Сапожников и Т. Г. Маслова (1957) показали, что термолабильность хлорофилл-белкового комплекса различается у разных растений и изменяется в процессе вегетации. Т. Н. Годнев и Н. К. Акулович (1958), изучая спектральные изменения при нагревании листьев, нашли, что начало этих изменений листьев лежит в области денатурации белков и различается у растений разных типов и разного возраста.

Предполагая, что разные формы пигментов могут быть связаны с различными клеточными структурами, мы предприняли попытку их разделения с помощью центрифугирования (25 000 *g* при охлаждении). Оказалось, что в гомогенатах листьев, обладающих значительным количеством быстро выцветающей формы, после центрифугирования (в надосадочной жидкости) поглощение перемещается от 677 до 672 *ммк*, в сторону более «дезагрегированных» форм.

Разные формы «чистого» хлорофилла. Как известно, в растворах хлорофилла в органических растворителях не удалось наблюдать спектра поглощения, наблюдаемого в растениях, так же как и в случае кислотно-основных воздействий.

В сильных основаниях нарушается циклопентановое кольцо (сдвиг в короткую область), в кислых средах происходит замена магния на водород. Исследование монослоев хлорофилла на воде в опытах группы Рабиновича (Jacobs, Holt, Rabinowitch, 1954) показало, что положение максимума поглощения зависит от плотности монослоя — степени двухмерной агрегации. «Жидкие», неупорядоченные монослои хлорофилла имели максимум поглощения при 675 мкм и плотные кристаллические — при 730 мкм. Трурнит и Колмано (Trurnit, Colmano, 1959) показали, что на границе воды и масла в зависимости от плотности упаковки монослоя ($8 \cdot 10^3$ — $16 \cdot 10^3$ моль/см²) максимум поглощения перемещается от 672 до 680 мкм; в плотных слоях соотношение в синем и красном максимумах поглощения соответствует наблюдаемым у водных коллоидных растворов хлорофилла.

Уже давно известно, что при разбавлении водой растворов хлорофилла (в смешивающихся с водой органических растворителях) образуются коллоидные растворы. Свежеобразованные коллоиды имеют максимум поглощения при 670 мкм, который передвигается все дальше в инфракрасную область по мере старения и дальнейшей агрегации. При выливании ацетоновых растворов хлорофилла в буферные растворы в щелочных средах образуются дезагрегированные формы с максимумом 670 мкм, а в более кислых — более крупные частицы (максимум около 690 мкм при pH 4,3), повидимому, обладающие кристаллической структурой (Белавцева, Воробьева, Красновский, 1959). На примере этилхлорофиллида *a* Рабинович, Джакобс, Холт и Кромхоут (Rabinowitch, Jacobs, Holt, Kromhout, 1952) показали, что по мере увеличения величины частиц максимум доходит до 740 мкм, что соответствует кристаллической форме пигмента (Jacobs, Vatter, Holt, 1954). Кристаллический хлорофилл *a* с максимумом поглощения при 730 мкм был получен в особых условиях, в присутствии воды, и изучен рентгенографически (Jacobs, Holt, Kromhout, Rabinowitch, 1957; Doppay, 1959). В сходных условиях Цилл, Колмано, Трурнит (Zill, Colmano, Trurnit, 1958) получили кристаллический хлорофилл с максимумом поглощения при 740 мкм.

В наших работах обнаружена еще одна кристаллическая форма хлорофилла *a* и *b* с максимумами поглощения соответственно при 690 и 675 мкм. Кристаллы при наблюдении в электронном микроскопе имеют игольчатую форму. Исследование с помощью электронографии показало кристаллическую структуру агрегированных форм хлорофилла с максимумом поглощения при 740 и 690 мкм (Белавцева, Воробьева, Красновский, 1959). Формы с максимумом при 675—670 мкм показали слабую упорядоченность. Следует отметить, что кристаллизация хлорофилла из смеси пиридина и

диоксана (в условиях, предложенных Такашима (Takashima, 1952) для выделения хлорофилл-липопротеина) приводит к получению кристаллов с «диоксановой» упаковкой с максимумом поглощения при 690 мкм. Броди (1958) наблюдал, что некоторые типы агрегированных форм хлорофилла могут обладать флуоресценцией в области 715—720 мкм при температуре жидкого азота. Агрегированные формы хлорофилла в твердых пленках обладают при —190° флуоресценцией в области 720—740 мкм (Литвин, Красновский, Рихирева, 1960).

Хлорофилл-белковые соединения. До сих пор не увенчались успехом попытки выделения хлорофилл-белкового соединения постоянного состава. Лишь в работе Такашима (1952) было описано выделение кристаллов «хлорофилл-липопротеина» из смеси α -пиколина и диоксана. Ввиду важности проблемы эти работы привлекли внимание и были повторены. Наши работы привели к выводу, что кристаллы Такашима являются кристаллами хлорофилла с «диоксановой» упаковкой, выпадающими вместе с белками и липоидами в условиях опыта (Красновский, Брин, 1954). Об этом говорит следующее: в условиях кристаллизации «чистый» хлорофилл дает такие же кристаллы с тем же максимумом поглощения, что и «хлорофилл-липопротеин»; при последовательной многократной кристаллизации эти кристаллы постепенно обедняются белком, не изменяя своей формы; при ультрацентрифугировании вещества хлоропластов в 50%-ном пиридине большая часть хлорофилла остается в низкомолекулярной фракции.

Образование и разрушение хлорофилла. В данном обзоре мы не имеем возможности рассмотреть обширный материал, посвященный изучению биосинтеза хлорофилла, однако вопрос о скорости его образования и разрушения в организме тесно связан с проблемой состояния и участия пигмента в фотосинтезе. Т. Н. Годнев и А. А. Шлык наблюдали снижение радиоактивности хлорофилла в растениях, ранее получивших C^{14} , а затем перенесенных в обычную среду. Этими опытами доказано обновление хлорофилла и, в частности, разрушение некоторых его молекул даже при накоплении пигмента в растущих органах (Шлык, 1957; Шлык и др., 1958). Удельная активность хлорофилла *a* в процессе обновления заметно выше, чем у хлорофилла *b*. Это касается как форбинной, так и фитольной частей молекулы. Изучив характер процесса во времени, авторы считают наиболее вероятным, что при биосинтезе в зеленых листьях хлорофилл *a* предшествует хлорофиллу *b*. Шлык (1956) показал, что скорость обмена хлорофилла в растениях имеет величину порядка 5,1% обновленных молекул в сутки. Ф. В. Турчин с соавторами (1955) в опытах с меченым азотом дают более высокую цифру — около 30%. В. М. Кутюрин (1956) в опытах с хлорофиллом, меченым дейтерием, дает цифру 8,1%.

В работах нашей группы (Литвин, Красновский, Рихирева, 1960) дана оценка скорости накопления и превращения протохлорофилла в зеленых листьях фасоли по изменению флуоресценции; получены результаты, близкие к данным Шлыка и Годнева.

Биосинтез пополняет убыль хлорофилла, частично разрушающегося при фотосинтезе путем деструктивного окисления. Сиронваль и Кандлер (Sironval, Kandler, 1958), изучая кинетику выцветания хлорофилла в живых клетках хлореллы при большой интенсивности света, показали наличие индукционного периода, определяющегося, по-видимому, наличием защитных веществ: сначала выцветает каротин, затем хлорофилл *a*, *b* и ксантофилл. Выцветание хлорофилла в хлопоропластах эвглены на свету и в темноте изучали Волкен и Меллон (Wolke, Mellon, 1957).

Изложенный материал позволяет представить следующую картину состояния пигментов в организмах. Бактериовиридин зеленых бактерий и бактериохлорофилл пурпурных находятся в главной массе в агрегированных упорядоченных формах разных типов; именно этим определяется особый вид спектров поглощения этих пигментов в живых бактериях.

Хлорофилл зеленых растений находится в агрегированных и мономерных формах, связанных и не связанных с белками и липоидами. Равновесие между формами изменяется в процессе образования хлорофилла, оно зависит от типа организма и физиологических условий. Природа связи с белками и липоидами и механизм участия разных форм пигментов в фотосинтезе пока не ясны. Возможно, что в фотохимических процессах разных типов участвуют разные формы пигментов¹.

Как связать эти представления с результатами электронномикроскопических наблюдений? Термин «агрегация» относится не только к взаимодействию между молекулами пигмента в «трехмерных» частицах, но и к «двухмерной» упаковке пигмента в монослоях. Различная плотность упаковки молекул хлорофилла в разных зонах гранулы может соответствовать агрегированным и мономерным формам; наконец, часть пигмента может находиться вообще вне слоистых структур.

ПОГЛОЩЕНИЕ ПИГМЕНТНОЙ СИСТЕМОЙ КВАНТА СВЕТА И ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ

Процесс фотосинтеза начинается поглощением кванта света пигментной системой. Энергия квантов используется для фотохимического процесса, деградирует в тепло и излучается

¹ Работами последних лет установлено участие разных форм пигментов в двух фотореакциях фотосинтеза (см. сноску на стр. 148).

в виде люминесценции разных типов, изучение которой важно для понимания природы элементарных процессов, следующих за поглощением кванта света. Обычно принимается, что вид спектра поглощения хлорофилла с двумя большими максимумами в видимой области указывает на наличие двух электронных возбужденных уровней и ряда колебательных подуровней. Наряду с $\pi \rightarrow \pi$ переходами делокализованных электронных системы сопряженных двойных связей при возбуждении недавно рассмотрены также возможности $n \rightarrow \pi$ переходов от неподеленных электронных пар атомов азота или кислорода в молекуле хлорофилла. Дж. Франк (Franck, 1958) выдвинул предположение, что в каждой полосе поглощения хлорофилла возможны оба типа переходов. Г. П. Гуринович, А. Н. Севченко и др. (1957, 1959), изучая спектры поглощения поляризации и люминесценции хлорофилла и его производных, пришли к заключению, что каждой полосе поглощения соответствуют свои электронные переходы, что согласуется с данными Штуппа и Куна (Stupp, Kuhn, 1952).

Изучение поляризации люминесценции хлорофилла и феофитина в растворах привело Л. А. Кравцова и В. В. Грузинского (1957) к выводу, что максимумы около 680 и 730 *мк* принадлежат не колебательным подуровням, а разным электронным уровням.

Длительность жизни τ возбужденных синглетных состояний хлорофилла и его аналогов измерялась в трех лабораториях (Дмитриевский, Ермолаев, Теренин, 1957; Brody, Rabinowitch, 1957; Тумерман, 1957); причем получились согласующиеся результаты. Величина τ хлорофилла в истинных растворах составляет от $5 \cdot 10^{-9}$ до $8 \cdot 10^{-9}$ *сек*; в живых листьях — в 2—3 раза меньше. Для объяснения этого выдвинуты предположения, что лишь часть хлорофилла существует в флуоресцирующей форме и существует отток энергии к нефлуоресцирующей фазе; из-за высокой концентрации молекул хлорофилла в хлоропластах и обмена энергией между молекулами уменьшается величина τ .

МЕТАСТАБИЛЬНЫЕ (ТРИПЛЕТНЫЕ) ВОЗБУЖДЕННЫЕ СОСТОЯНИЯ МОЛЕКУЛЫ ПИГМЕНТА

В согласии с общепринятыми представлениями возбужденная молекула пигмента в синглетном состоянии S может, потеряв немного энергии, перейти в метастабильное, долго живущее возбужденное состояние. Представления об участии метастабильных молекул хлорофилла в фотохимических реакциях хлорофилла выдвинуты в работах Франка и Ливингстона (Franck, Livingston, 1941), предполагавших таутомерную природу этих состояний. А. Н. Теренин (1943), Льюис и

Каша (Lewis, Kasha, 1944) обосновали ныне общепринятое представление о триплетной природе метастабильных состояний молекул ароматических соединений. Рассмотрим данные о возможности образования триплетных (Т) состояний хлорофилла.

Замедленная флуоресценция. Толлин, Фужимори и Кальвин (Tollin, Fujimori, Calvin, 1958), изучая спектр замедленного свечения хлоропластов при низких температурах, установили его подобие спектру флуоресценции. Вероятно, это свечение испускается при переходе $S^* \rightarrow S$ или может быть путем переходов $T \rightarrow S^* \rightarrow S$ за счет некоторого запаса тепловой энергии при -150°C .

Фосфоресценция. В работе Бекера и Каша (Becker, Kasha, 1955) обнаружена при низкой температуре фосфоресценция хлорофилла в близкой инфракрасной области спектра. Теренин (1959) подтвердил эти данные фотоэлектрическим методом. Фосфоресценцию хлорофилла *a* в замороженных растворах установить пока не удалось.

Импульсная спектроскопия. В ряде работ (см. ниже) показано, что под действием световой вспышки с большой энергией происходит переход молекул в триплетное состояние, причем из-за накопления молекул в этом состоянии наблюдается ослабление главной полосы поглощения и появление новой полосы, соответствующей переходу $T \rightarrow T^*$. В подобных опытах с хлорофиллом могут наблюдаться спектры фотовосстановленных форм хлорофилла, образованных в результате восприятия электрона (водорода) возбужденной молекулой хлорофилла от молекулы растворителя или примеси, учитывая способность хлорофилла легко претерпевать реакцию обратимого фотовосстановления.

Итак, совокупность известных данных указывает на вероятность образования триплетных соединений хлорофилла; требует дальнейшего изучения возможности участия этих состояний в процессе фотосинтеза.

Хемилюминесценция. Помимо флуоресценции и фосфоресценции, связанных с синглетным и триплетным возбужденным состоянием молекул хлорофилла, обнаружены новые типы замедленного свечения хлорофилла в организмах. Стрелер и Арнольд (Strehler, Arnold, 1951) обнаружили в растениях крайне слабое послесвечение, длящееся минуты после выключения света и по грубому определению спектрального состава близкое к флуоресценции хлорофилла. Измерение спектра возбуждения послесвечения показало его соответствие спектру действия фотосинтеза (спектру поглощения хлорофилла). Это свечение, которое следует отнести к хемилюминесценции, чувствительно к биохимическим ядам, температуре и, видимо, связано с элементарными процессами фотосинтеза. Дальнейшее изучение явления привело Стре-

лепа (Strehler, Lynch, 1957; Arthur, Strehler, 1957) к выводу, что это свечение имеет три составляющих: короткую, длящуюся 10^{-3} сек; длительную (минуты) и промежуточный тип свечения. Энзиматические яды — гидроксилламин, динитрофенол — подавляют длительную компоненту свечения в живых клетках; нагревание до 50°C не влияет на короткое свечение, но ингибирует длительное свечение, по видимому, связанное с биохимическими процессами. В этих работах изучалась также корреляция между люминесценцией и изменением поглощения света клетками хлореллы методом дифференциальной спектроскопии. При этом обнаружена качественная связь между долго живущей люминесценцией и изменением поглощения листьев при 525 и 648 мк. Возможно, что люминесценция связана с обратными реакциями фотопродуктов, обладающих поглощением в указанной области спектра. Обращает на себя внимание то, что максимум 525 мк соответствует максимуму фотовосстановленной формы хлорофилла, обнаруженной в наших работах. В связи с этим нужно заметить, что в нашей группе (Литвин, Владимир, Красновский, 1960) обнаружена хемилюминесценция при обратных реакциях (окислении) фотовосстановленной формы хлорофилла; интенсивность люминесценции резко возросла при введении аммиака к красной фотовосстановленной форме, т. е. при ускорении обратных реакций.

Толлин, Фужимори и Кальвин (Tollin, Fujumori, Calvin, 1957, 1958) изучали люминесценцию хлоропластов шпината при разных температурах. При комнатной температуре также обнаружены три вида послесвечения с полупериодом 0,15, 2 и 15 сек. При понижении температуры до -35° остается лишь наиболее коротко живущий компонент свечения. При -90° наблюдался новый вид свечения с полупериодом 0,3 сек, усиливающийся при дальнейшем охлаждении до -196° .

Высушенные в токе азота хлоропласты при нагревании дают два максимума термолюминесценции — при 50 и 150° , в согласии с работой Арнольда и Шервуд (Arnold, Sherwood, 1957). Свежевыделенные влажные хлоропласты не давали этого эффекта. Кальвин с сотрудниками (Calvin, Sogo, 1957; Sogo, Pop, Calvin, 1957) указывают на качественную корреляцию наблюдаемой люминесценции хлоропластов с результатами измерения электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) тех же объектов. Так, люминесценция и ЭПР возбуждаются светом, поглощенным хлорофиллом; время затухания свечения и ЭПР при комнатной температуре близки и равны секундам; при -140°C в сухих хлоропластах ЭПР сохраняется часами, и в соответствии с этим люминесценция в области $700-900$ мк не наблюдается; при 60°C ЭПР сухих хлоропластов длится несколько секунд, и при этой температуре также наблюдается пик термолюминесценции. Наблюдаемое свече-

ние авторы приписывают рекомбинации неспаренных электронов и «дырок» в квазикристаллической решетке хлорофилла в гранулах.

Различная длительность свечения в этой работе объясняется различной глубиной ловушек, захватывающих мобилизованные светом электроны. Низкотемпературное свечение может быть приписано либо испусканию кванта с нижнего триплетного уровня, либо переходу в возбужденное синглетное состояние за счет некоторого запаса тепловой энергии.

Нам кажется, что применение полупроводниковой модели упрощает действительную картину процесса, не учитывая ее биохимической специфики. Вместо электронных ловушек можно представить образование промежуточных ион-радикалов, обладающих различной длительностью жизни. Разные типы свечения можно объяснить рекомбинацией свободных радикалов с различной длительностью жизни, образуемых на пути фотохимического переноса электрона (при участии хлорофилла) по цепи промежуточных ферментных и окислительно-восстановительных систем.

Термолюминесценция. Арнольд и Шервуд (Arnold, Sherwood, 1957) обнаружили люминесценцию, возникающую при нагревании сухих пленок хлоропластов после предварительного их освещения. Максимум свечения наблюдали при нагреве сухих хлоропластов до 100—130° С. В течение четырех циклов (освещение — нагрев — охлаждение) люминесценция сохранялась, хотя ослаблялась с каждым циклом. С помощью светофильтров грубо измерена спектральная область свечения в пределах 630—800 мк. Освещение при температуре жидкого азота не приводило к измеримым эффектам свечения после нагревания.

Измерение электропроводности хлоропластов показало ее изменение в зависимости от температуры; при нагреве освещенных хлоропластов наблюдался минимум около 60—70°, тогда как охлажденный препарат показал монотонное падение сопротивления при нагревании. Авторы приходят к заключению, что эти явления сходны с известной термолюминесценцией кристаллических полупроводников при возбуждении ультрафиолетовыми или рентгеновыми лучами, и поэтому к хлоропластам применима обычная для полупроводников модель: при поглощении света электрон перемещается в зону проводимости и захватывается в ловушках различной глубины; нагрев освобождает электрон и приводит к высвечиванию запасенной энергии квантов света.

Авторы указывают, что для определенных суждений о механизме процесса нужны измерения фотопроводимости хлоропластов и эффекта Холла. В этих опытах использовались препараты, сходные с твердыми пленками хлорофилла, так как биологическая организация системы и нативное со-

стояние белка безусловно нарушались при нагреве препаратов хлоропластов до 140°C . Поэтому необходимо было выяснить, присуще это явление особому состоянию хлорофилла или является обычным свойством твердых пленок хлорофилла и других пигментов, изученных в опытах ряда исследователей.

В последующей работе (Arnold, Sherwood, 1959) изучалась термолюминесценция сухих хлоропластов в зависимости от температуры. Анализ полученной широкой полосы свечения приводит к выводу о возможности не только захвата электронов, но и образования химических соединений. Эффект наблюдался лишь в присутствии кислорода, тогда как CO_2 , H_2O и N_2 оказались несущественными для реакции. Мы указали на то, что природа эффекта может быть связана скорее с хемилюминесценцией хлорофилла под действием сенсibilизированно образуемых перекисей липоидов, чем с «физическим» механизмом термолюминесценции (Красновский, 1959).

В нашей лаборатории (Литвин, Владимиров, Красновский, 1960) были воспроизведены опыты Арнольда и Шервуд (Arnold, Sherwood, 1957). При этом оказалось, что эффект не связан с белковой структурой хлоропластов и требует наличия кислорода. В наших опытах пленки, полученные при испарении ацетоновых экстрактов хлоропластов, показали те же эффекты послесвечения, что и пленки из интактных хлоропластов. В отличие от этого, пленки чистого хлорофилла *a* и *b* не показали отчетливого послесвечения. По-видимому, ацетон экстрагирует из хлоропластов соединения (липоиды, доноры водорода), реагирующие с хлорофиллом при освещении. Кислород, реагируя с фотопродуктами хлорофилла, приводит к хемилюминесценции, подобно тому как это было нами показано в опытах со свечением, возникающим после фотовосстановления и фотоокисления хлорофилла.

Таким образом, «термолюминесценция» хлоропластов в действительности является хемилюминесценцией, что исключает полупроводниковую модель в трактовке этих опытов.

МИГРАЦИЯ ЭНЕРГИИ (ЭЛЕКТРОНА)

Возбужденная молекула хлорофилла или другого пигмента в фотосинтезирующих организмах может передать энергию возбуждения молекуле-партнеру, если эта молекула находится достаточно близко и если выполняются определенные соотношения энергетических уровней молекулы-донора и молекулы-акцептора. В гранулах хлоропластов молекулы пигмента находятся в высококонцентрированном состоянии, достаточно близко друг от друга, что предопределяет возможность передачи энергии между ними. При этом рассматриваются два общих типа миграции энергии — между молеку-

лами хлорофилла и от фикобилинов и каротиноидов к хлорофиллу. Условием миграции энергии к хлорофиллу является более низкое расположение возбужденного уровня у хлорофилла, чем у фикобилинов и каротиноидов.

Миграция энергии от фикобилинов и каротиноидов сопровождается явлением сенсibiliзированной флуоресценции хлорофилла под действием света, поглощенного этими пигментами (см. обзоры Теренина, 1951, 1956 и Рабиновича [Rabinowitch], 1957).

В отношении механизма передачи энергии рассматриваются следующие возможности:

1) передача энергии на уровне синглетного возбужденного состояния;

2) передача энергии на уровне метастабильного триплетного состояния;

3) миграция «экситона» или, в пределе, отдельная миграция электрона и электронной вакансии («дырки») в квазикристаллической агрегированной пигментной системе.

О возможности передачи энергии между молекулами хлорофилла в хлоропластах с участием молекул хлорофилла в синглетном возбужденном состоянии говорят наблюдения Арнольда и Мик (Arnold, Meek, 1956) над деполяризацией флуоресценции. С. В. Конев (1959) показал путем измерения поляризации флуоресценции фикоэритрина при комнатной и низкой температурах, что происходит обмен энергией возбуждения между многими остатками эритробилина, связанными с белком в молекуле этого хромопротеида.

Явление передачи энергии на триплетном уровне между различными органическими молекулами было открыто А. Н. Терениным и В. Л. Ермолаевым (1952). Дж. Франк (Frank, 1957) предположил возможность передачи энергии от молекул хлорофилла в синглетном состоянии к хлорофиллу в триплетном состоянии. В случае тесного взаимодействия между молекулами хлорофилла при двухмерной или трехмерной агрегации в гранулах возможна миграция «экситона» или, в пределе, электрона и дырки, ведущая к появлению фотопроводимости.

Действительно, А. Н. Теренин (1959) и Е. К. Пуцейко (1956) наблюдали фотопроводимость хлорофилла *a* и хлорофиллидов в твердых пленках; они определили «дырочный» характер фотопроводимости и установили, что максимумы фотоэлектрической чувствительности совпадают с максимумами поглощения кристаллического хлорофилла.

Нельсон (Nelson, 1957) и Кальвин (Calvin, 1959) описали опыты, в которых наблюдалась фотопроводимость в твердых пленках хлорофилла. Арнольд и Маклей (Arnold, MacLay, 1959) наблюдали фотопроводимость сухих пленок хлоропластов и пленок хлорофилла и каротина. Однако все эти эффек-

ты не специфичны для хлорофилла: в опытах А. Т. Вартаняна (Вартанян, Карпович, 1958) показано, что большинство органических красителей обладают фотопроводимостью в твердых пленках. Кроме того, хлорофилл в хлоропластах находится не в кристаллическом состоянии. На это указывают различия в максимумах поглощения хлорофилла в гранулах (678 *мкм*) и в кристаллических формах (690, 730 *мкм*).

Фотопроводимость может быть связана с появлением неспаренных электронов при освещении хлоропластов и хлорофилла, на что указывают измерения электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Коммонер с сотрудниками (Commoner и др., 1956, 1957) наблюдал появление сигнала ЭПР при освещении хлоропластов и живых клеток хлореллы. Кальвин с сотрудниками установил, что при охлаждении хлоропластов и фотосинтезирующих бактерий до -150° освещение также ведет к появлению сигнала ЭПР, исчезающего после выключения света. По величине сигнала ЭПР сделана оценка количества непарных электронов, составляющая от 1/100 до 1/500 всего количества молекул хлорофилла. Автор приходит к выводу, что появление сигнала при -150° свидетельствует лишь о перемещении электрона, рассматриваемого как фотофизический процесс. Броди с сотрудниками (Brody, Newell, Caster, 1960) наблюдал появление сигнала ЭПР в кристаллах и растворах хлорофилла.

Появление сигнала ЭПР может быть приписано образованию триплетных состояний, восприятию электрона возбужденной молекулой хлорофилла с образованием пары ион-радикалов. Пока неясно, определяют ли фотопроводимость неспаренные электроны, измеряемые методом ЭПР, или оба явления независимы.

Итак, за последние годы удалось обнаружить всевозможные типы люминесценции хлорофилла в хлоропластах, связанные с образованием возбужденных состояний (флуоресценция и фосфоресценция) и комбинацией первичных фотопродуктов (хемилюминесценция). Изучение этих явлений позволило получить важные данные о первичных актах превращения энергии света при фотосинтезе, предшествующих течению первичного фотохимического процесса.

ПЕРВИЧНЫЙ ФОТОХИМИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС И «ЗАПАСАНИЕ» ЭНЕРГИИ СВЕТА

ФОТОХИМИЯ ХЛОРОФИЛЛА И ЕГО АНАЛОГОВ

При фотосинтезе происходит окислительно-восстановительный процесс — использование водорода воды для восстановления углекислоты. Если хлорофилл действительно включается в цепь реакций переноса водорода от воды к углекис-

лоте, то следовало искать возможность обратимого фотохимического окисления или восстановления этого пигмента, сопровождающегося «запасанием» энергии света, в нестойких, обратимо реагирующих продуктах реакции хлорофилла с донорами или акцепторами электрона (водорода).

Обратимое фотохимическое окисление

В 1937 г. Рабинович и Вейсс (Rabinowitch, Weiss, 1937) обнаружили возможность обратимого фотоокисления хлорофилла ионами окисного железа. В наших работах была показана возможность частично обратимого фотоокисления хлорофилла и бактериохлорофилла кислородом и перекисью бензоила (Красновский, 1947). В работах Б. Я. Даина с сотрудниками (Буцко, Дайн, 1958) изучалось обратимое фотоокисление хлорофилла в комплексах с Fe^{+++} и были приведены доводы в пользу возможности переноса электрона в комплексе с образованием нестойких продуктов окисления. Авторы предположили, что первичный продукт окисления с максимумом поглощения при 510 мк представляет собой хлорофилл, окисленный по 7—8-му атому его структуры. И. И. Дилунг (1958) наблюдал образование нестойких продуктов окисления при взаимодействии хлорофилла с кислородом. Годхер (Goedheer, 1958) подтвердил наши опыты (Красновский, Войновская, 1951), по обратимому фотоокислению бактериохлорофилла с частичной регенерацией пигмента из окисленных продуктов аскорбиновой кислотой и установил возможность обратимого окисления бактериохлорофилла ионами железа и некоторыми другими соединениями.

Проводя освещение хлорофилла ультрафиолетом в стеклообразных средах при низких температурах, А. А. Качан и Б. Я. Дайн (1951) установили выцветание пигмента с регенерацией после размораживания. Они предположили в этом случае возможность фотоокисления хлорофилла молекулами растворителя. Подобная интерпретация была предложена Линшитц и Реннерт (Linschitz, Rennert, 1952) в опытах по освещению хлорофилла при низких температурах видимым светом; авторы показали, что введение хинона ведет к значительному усилению эффекта, обратимому после размораживания. Таким образом, эти опыты указывают возможность «одноэлектронного» обратимого окисления хлорофилла *p*-хиноном¹.

¹ За последние годы получены новые данные об условиях обратимых фотореакций хлорофилла с акцепторами электрона: см. сб. «Биохимия и биофизика фотосинтеза». М., «Наука», 1965.

Обратимое фотохимическое восстановление

Еще в конце XIX в. К. А. Тимирязев показал возможность обратимого восстановления хлорофилла металлическим цинком. Мы обнаружили в 1948 г. способность хлорофилла к реакции обратимого фотохимического восстановления (Красновский, 1948). В краткой сводке, даваемой ниже, оригинальные работы цитируются лишь частично; читатель отсылается к обзору автора (1960).

Хлорофилл. Кратковременное освещение красным светом пиридиновых растворов хлорофилла без воздуха в присутствии восстановителя (аскорбиновой кислоты или фенолгидразина) приводит к образованию продукта фотовосстановления красного цвета с максимумом поглощения при 525 *мк*. При выключении света реакция идет обратно с регенерацией хлорофилла — возвращением зеленого цвета раствора (реакция идет быстрее при введении окислителей). В качестве побочного процесса наблюдалась частичная феофитинизация, в особенности при избытке аскорбиновой кислоты и более длительном освещении. Реакцию удавалось наблюдать также в спирте в присутствии органических оснований — пиридина, никотина, фенолгидразина, гексаметилентетрамина; в толуоле и эфире — в присутствии фенолгидразина.

Бактериохлорофилл. Фотовосстановление аскорбиновой кислотой в пиридине приводит к образованию фотопродуктов, не обладающих характерным спектром поглощения в видимой области спектра. С сернистым натрием реакция быстро обратима, и спектр промежуточного продукта имеет максимум при 640 *мк* (Красновский, Пакшина, 1960). Бактериофеофитин в этих условиях образует более устойчивый зеленый продукт фотовосстановления (Красновский, Войновская, 1951).

Бактериовиридин. Этот пигмент образует фотовосстановленную форму, похожую на продукт фотовосстановления хлорофилла *a*. Феофитин, полученный из бактериовиридина, также похож по своим свойствам на феофитин *a*. Бактериовиридин отличается от хлорофилла большей скоростью фотоокисления в растворе, что приближает его к бактериохлорофиллу (Красновский, Пакшина, 1959).

Порфирины. Поведение протопорфирина, гематопорфирина, порфирина фотосинтезирующих бактерий и порфирина, полученного из протохлорофилла, оказалось сходным. Различия наблюдались лишь в скорости прямых и обратных реакций.

Фотовосстановление этих соединений мы изучали в органических растворителях и в кислых и щелочных водных растворах. В основаниях — пиридине и пиридине — при реакции с аскорбиновой кислотой обычно образуется зеленый фотопродукт с максимумом поглощения при 640 — 660 *мк*, при пуске воздуха обратно превращающейся в порфирин. В воде в присутствии 10% пиридина образуется фотопродукт с максимумом поглощения при 740 — 750 *мк*. Оба соединения связаны условиями кислотно-основного равновесия.

В кислых водных растворах резко меняется вид спектра поглощения порфиринов из-за присоединения протонов атомами азота пиррольных ядер и образуется фотовосстановленный продукт с максимумом поглощения при 520 *мк*.

Металлические комплексы хлорофилла. Б. Я. Даин с сотрудниками (Ашкинази, Даин, 1951; Ашкинази, Герасимова, Даин, 1955) установили и детально изучили фотовосстановление железных комплексов хлорофилла. Они предположили, что при реакции имеет место перенос электрона в комплексе Fe-хлорофилла с OH^1 ионами, молекулами воды, ионами металлов-восстановителя Б. Я. Даин и М. С. Ашкинази предположили, что в

возбужденном состоянии электронная система этих пигментов неустойчива. Это приводит к последующему (после поглощения кванта света) внутрикомплексному переносу электрона от органического скелета молекулы к центральному атому Fe, подвергающемуся при этом восстановлению. Образующийся дефект заряда пополняется за счет окисления растворителя. Так как эти следующие друг за другом акты переноса электрона наступают немедленно за актом поглощения света, то это приводит к значительному сокращению периода жизни возбужденного состояния, что проявляется в некотором расширении полос поглощения, в исчезновении колебательной структуры и флуоресценции.

Мы не смогли наблюдать фотовосстановления медных комплексов феофитина, но цинковый комплекс, обладающий флуоресценцией, показал способность к фотовосстановлению в опытах Н. В. Востриловой и В. И. Дуловой (1958). Раков и Кениг (Rackow, König, 1958) указали на хорошую обратимость фотовосстановления этого соединения.

Значение структуры пигмента. Реакцию фотовосстановления удалось наблюдать у всех производных и аналогов хлорофилла, обладающих структурой хлорина, бактериохлорина и порфина с центральными атомами водорода, магния или цинка. У различных пигментов отличаются спектральные свойства и реакционноспособность восстановленных форм в разных средах. Магниевые комплексы обычно образуют более активные (быстро обратимо реагирующие) восстановленные формы, чем феофитины. Главный признак, определяющий способность пигментов к реакции обратимого фотовосстановления, — наличие в молекуле пигмента системы сопряженных по кругу двойных связей, связывающих четыре пиррольных кольца.

Механизм фотовосстановления. Если до освещения система хлорофилл — аскорбиновая кислота в пиридине способна восстановить соединения с E_0 до $+0,05$ в (метиленовый синий), то после освещения наблюдалось восстановление соединений с E_0 до $-0,35$ в (сафранин Т, пиридин-нуклеотиды).

В. Б. Евстигнеев и В. А. Гаврилова (1953) детально исследовали фотопотенциал платинового электрода (E) при освещении реагирующего раствора. При понижении температуры наблюдалось повышение величины E_0 за счет уменьшения скорости обратных реакций и увеличения стационарной концентрации фотопродукта. Изменения потенциала наблюдались при -40° в условиях, когда не происходило образования «красной» формы хлорофилла. Эти наблюдения привели Евстигнеева к выводу, что потенциал определяется образованием первичной быстро обратимо реагирующей «электродно активной» восстановленной формы пигментов, которая и была в дальнейшем детально изучена Евстигнеевым (1958, 1954). Эти выводы подтвердились в работе Баннистера (Bannister, 1959), исследовавшего квантовый выход реакции фотовосстановления хлорофилла в зависимости от концентрации восстановителя.

Величина E_0 при освещении растворов хлорофилла и его аналогов с аскорбиновой кислотой достигла $-0,35$ в, что соответствует опытам с применением редоксиндикаторов. Таким образом, «электродно активная» форма и «красная» восстановленная форма имеют близкие величины E .

Гендрих (Hendrich, 1958) наблюдал изменение фотопотенциала при освещении системы хлорофилл — аскорбиновая кислота и изучал влияние ряда неорганических ионов на этот процесс. Он установил, что ионы Cu^{2+} и Ni^{2+} , которые могут реагировать с аскорбиновой кислотой, препятствуют появлению фотопотенциала.

При освещении системы хлорофилл—фенилгидразин в вакууме Евстигнеев и Гаврилова (1955) наблюдали повышение электропроводности; при выключении света электропроводность возвращалась к прежнему уровню, что свидетельствует об образовании фотопродуктов, имеющих природу ионов. Сопоставление кинетики электропроводности, появления фотопотенциала и спектральных данных для феофитинов при разных темпе-

ратурах указывает на то, что именно первичные электродно активные продукты определяют появление фотопроводимости.

Реакция с растворителем. Порре и Рабинович (Porret, Rabinowitch, 1937) наблюдали эффект обратимого выцветания хлорофилла в метаноле. Ливингстон (Livingston, 1941, 1948, 1957; Livingston, Ryan, 1953) изучал обратимые спектральные изменения растворов хлорофилла при освещении методами импульсной спектроскопии и отметил увеличение поглощения при 525 мкм, что соответствует максимуму фотовосстановленной формы хлорофилла. Линшиц и Реннерт (Linschitz, Rennert, 1952) обнаружили обратимые изменения спектра поглощения хлорофилла, освещаая его в стеклообразных средах при низкой температуре. Линшиц и Абрахамсон (Linschitz, Abrahamson, 1957), применяя технику импульсной спектроскопии, нашли в растворах хлорофилла в пиридине обратимое понижение максимума поглощения хлорофилла в красной области спектра и появление максимума в зеленой области, при 525 мкм, а также некоторое увеличение поглощения при 700 мкм. Авторы отмечают, что в пиридине длительность жизни продукта с поглощением при 525 мкм больше, чем в других растворителях, и обратимость процесса лучше, чем в очищенном метаноле. А. Н. Теренин с сотрудниками (1956) наблюдал с помощью импульсной техники обратимое понижение максимума поглощения в растворах фталоцианина магния, а также появление новых максимумов в гематопорфирине (Теренин, 1959).

Мы уже высказывали предположение, что наблюдаемые в описанных опытах эффекты объясняются обратимым фотовосстановлением хлорофилла, при котором молекулы растворителя являются донорами электрона (водорода). Действительно, кислород ингибировал обратимые эффекты в опытах этого типа в соответствии с быстрой реакцией окислителей с фотовосстановленной формой хлорофилла.

В опытах Фужимори и Ливингстона (Fujimori, Livingston, 1957) изучалось действие различных соединений на τ —длительность жизни метастабильного возбужденного состояния хлорофилла. Оказалось, что молекулы-окислители сокращают время τ , а восстановители не влияют на величину τ . Эти результаты можно понять, допуская, что при действии световых импульсов образуется фотовосстановленная форма хлорофилла. Понятно, что эта форма не реагирует с восстановителем (аскорбиновой кислотой), но реагирует с окислителем (хиноном). Действие каротина в этих опытах соответствует его влиянию на фотовосстановление хлорофилла, наблюдавшемуся в наших опытах (Красновский, 1959). По-видимому, в этих опытах имеет место эффект восприятия электрона (водорода) возбужденной молекулой пигмента, тогда как образование триплетного состояния, живущего менее долго, накладывается на главный эффект и трудно различимо при использованной технике регистрации (Теренин, 1959).

В своей последней работе Ливингстон (Livingston, Pugh, 1960) указывает на то, что, применяя пиридин, содержащий 2% воды, он все же заметил некоторое уменьшение длительности жизни «метастабильной формы» хлорофилла под влиянием аскорбиновой кислоты; эффект был на три порядка меньше, чем в случае хинона и кислорода. В этой работе высказываются предположения о том, что в опытах с применением импульсной спектроскопии наряду с образованием триплетов наблюдается образование фотовосстановленных форм.

Образование свободных радикалов. Молекулы-окислители (хиноны, нитросоединения) тушат флуоресценцию хлорофилла, но не реагируют с ним фотохимически, тогда как восстановители, реагируя, не оказывают «физически» тушащего действия на флуоресценцию пигмента. Эти наблюдения указывают на возможность участия в реакции именно метастабильных молекул пигмента, находящихся, согласно наиболее распространенным ныне представлениям, в триплетном состоянии. Обращение спина электрона при образовании триплетного уровня определяет длительное существование «дырки» — вакантного электронного уровня.

В элементарном акте фотовосстановления происходит восприятие электрона возбужденной молекулой хлорофилла от молекулы донора: при этом должно произойти образование пары ион-радикалов; последующий акт переноса протона может вести к образованию пары радикалов в ионной форме.

В нашей лаборатории проведено детальное исследование сенсibilизированной фотополимеризации системой пигмент—донор водорода в пиридиновых растворах и в водных эмульсиях. Полимеризацию инициируют хлорофилл, все его аналоги и производные. Фикобилины не оказывали действия на полимеризацию, так как они не способны к фотовосстановлению. В качестве доноров электрона были наиболее активны диэнолы, цистеин, соединения двухвалентного железа. Реакцию тормозили сафранин и рибофлавин, активно реагирующие с фотовосстановленными формами пигментов.

В анаэробных условиях полимеризацию, по-видимому, инициируют неон-радикальные первичные восстановленные формы пигментов, а в присутствии кислорода — перекисные радикалы — продукты фотовосстановления кислорода (ОН, HO₂). Линшиц и Вейссман (Linschitz, Weissman, 1957) не нашли парамагнитного резонанса у «красной» восстановленной формы хлорофилла; до сих пор неясно, является ли эта форма радикалом или валентнонасыщенным продуктом дисмутации, XH₂. Более вероятно следует считать вторую возможность. Освещение систем хлорофилл — аскорбиновая кислота и феофитин-аскорбиновая кислота в вакууме непосредственно в резонаторе ЭПР — спектрометра приводило к появлению сигнала, мгновенно исчезающего после выключения света. Без восстановителя эффект наблюдать не удалось.

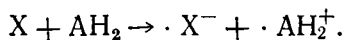
Структура сигнала парамагнитного резонанса, наблюдаемого при фотовосстановлении хлорофилла, соответствует структуре, наблюдаемой при окислении аскорбиновой кислоты, и принадлежит, по-видимому, монодегидроаскорбиновой кислоте. Это соединение обладает большей длительностью жизни, чем радикал хлорофилла. Эти выводы соответствуют работе Н. Н. Бубнова, А. А. Красновского, А. В. Умрихиной, В. Ф. Цепалова и В. Я. Шляпнихова (1960).

О том, что при фотовосстановлении хлорофилла образуются свободные радикалы, свидетельствует также чрезвычайно сильное ингибирующее действие тетрацена на эту реакцию, обнаруженное нами недавно. Согласно работам Шварца (Szwarc, 1955), тетрацен энергично взаимодействует со свободными радикалами органических молекул.

Используя представления Михаэлиса об одноэлектронном механизме окислительно-восстановительных реакций, нами (1948) была предложена следующая схема процесса.

1. Восприятие электрона возбужденной (вероятно, в триплетном состоянии) молекулой пигмента X от молекулы донора водорода AH₂ с образованием пары ион-радикалов.

Мы указывали на вероятность восприятия электрона системой сопряженных по кругу двойных связей молекулы пигмента:



Возможно, что перенос электрона происходит в коротко живущем комплексе хлорофилла (в основном, или возбужденном, состоянии) с молекулой-донором электрона, хотя до сих пор не удалось получить спектроскопических данных об образовании комплекса X·AH в сильно основных средах, где предпочтительно образуются комплексы (сольваты) пигментов с молекулами растворителя.

2. Перенос протона, связанного с молекулами среды — основания, с образованием пары радикалов и последующим образованием валентнонасыщенных соединений:



Экспериментальный материал, полученный в нашей лаборатории, подтвердил в основных чертах эту схему процесса.

Итак, под действием света наблюдаются обратимые окислительно-восстановительные превращения хлорофилла; на

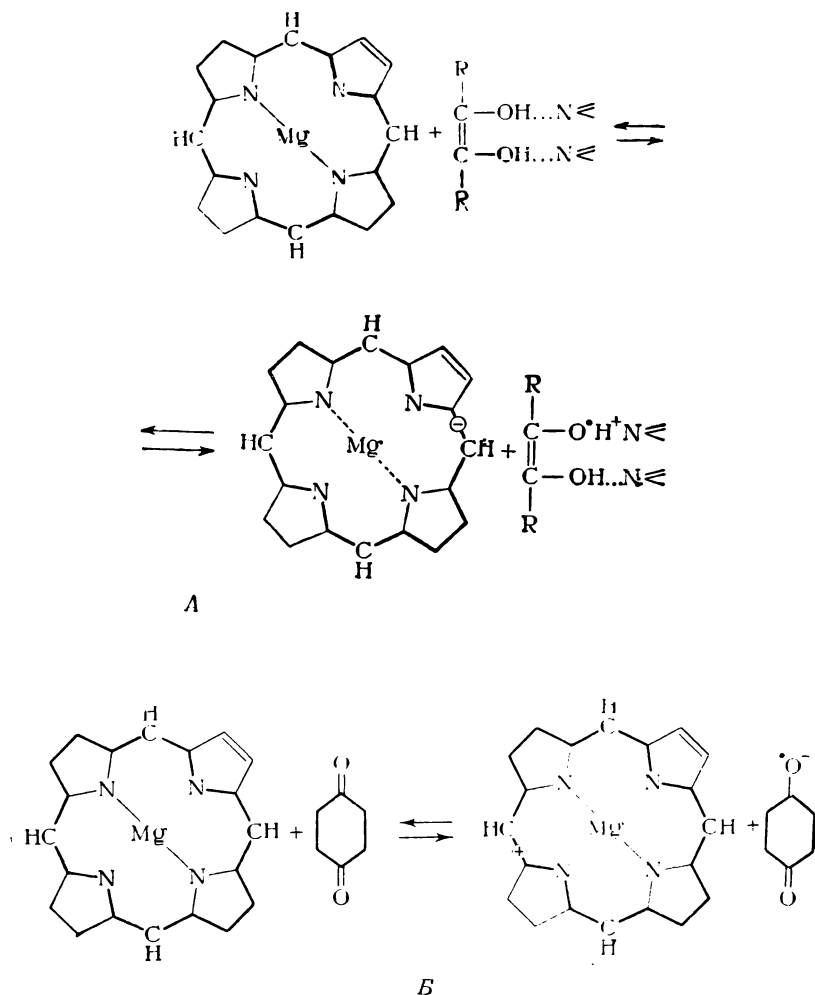


Рис. 42. Схема «одноэлектронного» обратимого фотовосстановления хлорофилла аскорбиновой кислотой (А) и обратимого фотоокисления *p*-хиноном (Б)

рис. 42 показаны схемы элементарного «одноэлектронного» фотоокисления и фотовосстановления хлорофилла.

Первичный фотохимический процесс — «полупроводниковые» представления

Выше рассматривались фотохимические свойства молекулы хлорофилла в различных условиях окружения, в средах различной природы, в присутствии доноров и акцепторов электрона.

В какой мере сохраняются свойства молекулы хлорофилла в агрегированных структурах, существование которых можно предполагать в хлоропластах? Таким структурам некоторые авторы приписывают полупроводниковые свойства — наличие общих электронных зон, в которых происходит обобществление возбужденных электронов молекул пигмента, и в результате действия света идет разделение зарядов — электрон переходит в зону проводимости и может быть воспринят подходящим акцептором, а «дырка» — воспринять электрон молекулы-донора. Так на языке полупроводниковых представлений описывается процесс мобилизации электрона при фотореакции.

Рассматривая обширный материал в области фотоэлектроники органических соединений, А. Н. Теренин (1956, 1960) указывает на то, что в кристаллах органических красителей обычно сохраняется спектр молекулы, искаженный в той или иной мере взаимодействием с тождественными молекулами, и, в отличие от неорганических полупроводников, не появляется новых сплошных полос поглощения, отличных от характерных для красителя максимумов. Теренин приходит к выводу, что эти факты говорят против обобществления π -электронов на нижних и верхних возбужденных уровнях. Он высказывает предположение, что электронная проводимость в кристаллах органических красителей может достигаться либо обобществлением триплетных уровней молекул после их возбуждения, либо «эстафетной» передачей электрона и «дырки» между возбужденной (синглетной или триплетной) и невозбужденной молекулой красителя.

Таким образом, «полупроводниковые» свойства органических красителей и хлорофилла в значительной мере определяются свойствами молекул хлорофилла.

Действительно, в опытах нашей лаборатории было установлено, что фотосенсибилизирующее действие хлорофилла проявляется в равной мере в «молекулярных» растворах, адсорбатах, коллоидах и кристаллах хлорофилла.

Пока трудно дать определенный механизм, объясняющий фотохимические свойства молекулы в агрегате. (Вспомним, что это, вероятно, слой в 1—3 молекулы хлорофилла на фазовой границе.) Однако если исходить из «эстафетной» схемы передачи электрона между молекулами, то в ее основе лежит элементарный окислительно-восстановительный процесс, при

котором одна молекула является донором, а другая — акцептором электрона или «дырки».

А. Н. Теренин и Е. К. Пуцейко показали «дырочный» характер проводимости пленок хлорофилла. Можно предположить, что основой «эстафетного бега» электрона будут служить чередующиеся окислительно-восстановительные акты элементарного фотовосстановления возбужденной молекулы хлорофилла соседней невозбужденной молекулой. В. Б. Евстигнеев и А. Н. Теренин (1951) показали, что знак фотопотенциала твердой пленки фталоцианина или хлорофилла зависит от наличия в среде доноров или акцепторов электрона, что указывает на возможность электронного окисления — восстановления на фазовой границе.

Таким образом, длящийся долгие годы спор о том, является ли хлорофилл «физическим» сенсibilизатором или «химическим», претерпевающим обратимые окислительно-восстановительные превращения, является скорее не вопросом существа, а вопросом терминологии.

В процессе переноса электрона при фотосинтезе молекула хлорофилла, удерживая короткое время лишний электрон или «дырку», претерпевает элементарное фотохимическое превращение, в конечном счете не изменяясь в результате быстро чередующихся обратимых актов.

Каротиноиды и фотосинтез

Каротиноиды являются непременными спутниками хлорофилла и бактериохлорофилла в структурах фотосинтезирующих организмов, однако природа их участия в фотосинтезе определенно не установлена. В работах 40-х годов было показано путем измерения квантового выхода фотосинтеза в разных участках спектра, что свет, поглощаемый каротиноидами диатомовых, бурых водорослей, фотосинтезирующих бактерий и, возможно, зеленых водорослей и высших растений, используется для фотосинтеза. Наблюдавшееся явление сенсibilизированной флуоресценции хлорофилла *a* под действием света, поглощенного каротиноидами, привело к общепринятым представлениям о передаче энергии от каротиноидов к хлорофиллу.

Наряду с этим существуют представления о «химическом» участии каротиноидов в фотосинтезе. Д. И. Сапожников с сотрудиниками (Сапожников, Красовская, Маевская, 1957; Сапожников, Бажанова, 1958) нашли, что при освещении листьев меняется соотношение лютеина и виолксантина (количество лютеина увеличивается при освещении). Основываясь на этих наблюдениях, Сапожников предположил, что эта система участвует в переносе кислорода следующим путем: поглощение света в комплексе хлорофилл—виолксан-

тин ведет к фотохимическому отщеплению кислорода с образованием «бирадикала» лютеина, реагирующего с молекулой воды с образованием восстановленной формы пигмента. Эта форма передает водород в систему реакций восстановления углекислоты с регенерацией виолосантина, снова вступающего во взаимодействие с хлорофиллом.

Линч и Френч (Lynch, French, 1957), экстрагируя петролейным эфиром хлоропласты, наблюдали, что они теряют способность к реакции Хилла; обратное введение экстрагированных веществ, содержащих каротин, приводило к реактивации.

Бишоп (Bishop, 1958) показал, что реактивирующее действие связано не с введением каротина, а с введением экстрагируемых петролейным эфиром соединений типа коэнзима Q, являющихся системой, участвующей в процессах переноса электрона.

В опытах нашей лаборатории было показано, что каротин и его аналоги (Красновский, Дроздова, Пакшина, 1960), энергично тормозя фотовосстановление хлорофилла, вероятно, способны к обратимому восприятию электрона от фотохимически измененных форм хлорофилла. Биологическое значение этого явления пока нельзя считать ясным.

Необходимы ли каротиноиды для фотосинтеза? В опытах Станьер и сотрудников (Stanier, 1959) было показано, что мутанты фотосинтезирующих бактерий, лишенные каротиноидов, все же сохраняли способность к фотосинтетическому росту. При этом наблюдалось быстрое фотоокислительное разрушение бактериохлорофилла. Это указывает на то, что каротиноиды защищают хлорофиллы от разрушения.

ФОТОХИМИЧЕСКИЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ ПИГМЕНТОВ В ОРГАНИЗМАХ

Изучение изолированных пигментов в растворах позволило установить возможность их обратимых фотохимических превращений; применение среды различной природы и выбор подходящих доноров и акцепторов электрона позволили добиться накопления продуктов, запаасающих энергию света, и изучить их свойства. Обнаружение обратимых фотохимических превращений пигментов непосредственно в организмах представляет более сложную задачу, так как в этом случае быстро протекающие обратимые фотохимические реакции сопряжены с цепью последовательных ферментативных процессов, и нельзя ожидать значительного накопления превращенных форм пигментов в нормальных физиологических условиях. Трудно ожидать образования в растениях тех промежуточных продуктов, которые удалось найти в модельных системах; эти опыты указывают скорее на принципиальную возможность элементарных процессов описанных типов.

Для изучения быстрых процессов в живых ненарушенных организмах особенно пригодны спектральные методы — измерение флуоресценции и поглощения света. Уже около 20 лет тому назад в работах лабораторий Каутского, Вассинка и Дж. Франка велись исследования флуоресценции листьев после периодов света и темноты и в разных условиях. Эти результаты обычно интерпретировались в духе физических представлений. Мы уже указывали на то, что эти изменения флуоресценции при освещении скорее связаны с изменением состояния и фотостационарной концентрации флуоресцирующей формы хлорофилла (Красновский, Кособуцкая, 1953). Так, обычное падение интенсивности флуоресценции при освещении и ее обратное появление после выдержки в темноте следует объяснить накоплением фотохимически измененных форм хлорофилла и их обратимой регенерацией. Аналогичные изменения флуоресценции наблюдаются, например, при фотовосстановлении хлорофилла в модельных системах.

За последние годы по мере совершенствования спектроскопической техники открылась возможность изучения малых и быстро протекающих световых изменений оптической плотности (ΔD) в живых организмах. Дифференциальные спектры, показывающие разность спектров поглощения между освещенным и неосвещенным объектами, характеризуются рядом максимумов, показывающих рост (положительные максимумы) или падение (отрицательные максимумы) оптической плотности на разных спектральных участках. Анализ этих спектров и сопоставление их с дифференциальными спектрами известных соединений (например, окисленного или восстановленного цитохрома) позволяют в некоторых случаях дать их интерпретацию. При этом следует учесть, что обычно в этих опытах наблюдаются изменения оптической плотности в максимумах порядка десятых долей процента и нельзя исключить возможности изменения не только поглощения, но и избыточного рассеяния (Latimer, 1957, 1959). Трактовка результатов разноречива. Различные исследователи приписывают полученные ими дифференциальные спектры поглощения изменениям цитохромов, флавинов, каротиноидов и других пигментов, присутствующих в растениях. Нас здесь, однако, будет интересовать лишь возможность превращений хлорофилла.

Дейсенс (Duysens, 1954, 1957) наблюдал положительный максимум при 515—520 *мкм* при освещении хлореллы; эти результаты были подтверждены в работах Витта (Witt, 1955), Л. Н. Белла (1956), Стрелера и Линч (Strehler, Lynch, 1957) и других авторов. Этот максимум по положению близок к фотовосстановленной форме хлорофилла. Однако во всех этих работах измерения производились в области 350—600 *мкм*. Для решения вопроса о превращениях хлорофилла и их при-

роде следовало расширить диапазон измерений в красную область спектра. Колеман, Холт и Рабинович (Coleman, Holt, Rabinowitch, 1956; Coleman, Rabinowitch, 1959) показали, что положительному максимуму при 520 *мкм* соответствует отрицательный максимум хлорофилла при 680 *мкм*. Кок (Кок, 1956, 1959) при исследовании ряда организмов наряду с максимумами в красной области обнаружил новый отрицательный максимум в области 700—705 *мкм*, который приписывается пока не известному пигменту. Сопоставляя дифференциальные спектры после освещения хлореллы и после реакции фотовосстановления хлорофилла, Колеман и Рабинович (Coleman, Rabinowitch, 1959) указывают на их сходство; более богатый набор максимумов у хлореллы указывает на возможное одновременно идущее изменение цитохромов, каротиноидов, флавинов.

Однако требует объяснения тот факт, что при фотовосстановлении хлорофилла отношение оптических плотностей (ΔD) при 670 и 520 *мкм* обычно составляет величину 2—3, тогда как в клетках хлореллы это отношение едва достигает единицы.

Витт (Witt, 1958) указывает, что увеличению поглощения при 515 *мкм* соответствует уменьшение поглощения при 430 *мкм* (в синем максимуме поглощения хлорофилла). Одновременно обратимо изменяется красная флуоресценция хлорофилла.

Весьма существенны измерения кинетики этих превращений. Разные авторы указали на наличие быстрых и медленных стадий измерения ΔD в разных максимумах (Витт, Белл, Стрелер). В работах нашей лаборатории были обнаружены медленные (в течение секунд) изменения в красном максимуме хлорофилла у гомогенатов листьев сахарной свеклы (Воробьева, Красновский, 1958). Изучение кинетики изменений ΔD при 515 *мкм* показало, что весь процесс складывается из нескольких стадий: быстрой (порядка 10^{-5} сек), которая не зависит от температуры, и медленной (10^{-2} сек), зависящей от температуры и связанной с темновой стадией процесса (Witt, 1955, 1957). Возможно, что различные стадии процесса, так же как и в случае фотосинтетической люминесценции, могут быть связаны с различными типами фотохимических процессов — быстрыми процессами переноса электрона и более медленными стадиями переноса водорода (протона) и дисмутации первично образуемых радикалов.

Л. Н. Белл (1956, 1957, 1959), занимаясь изучением дифференциальных спектров листьев, высказал предположение, что изменение ΔD при 515 *мкм* является побочным эффектом. Это основывалось на следующих наблюдениях: наличие эффекта в воздухе, лишенном CO_2 , и в листе, в котором фотосинтез подавлен фенилуретаном; насыщение при интен-

сивностях света, значительно меньших, чем те, которые необходимы для насыщения фотосинтеза; резкое уменьшение величины эффекта в условиях, близких к анаэробнозису, и при непрерывном действии возбуждающего света в течение 5—10 мин.

Аналогичные исследования велись с фотосинтезирующими бактериями. Дейсенс (Duysens, 1957) обнаружил обратимые изменения поглощения в максимумах поглощения бактериохлорофилла в пурпурных бактериях. Годхер (Goedheer, 1958) наблюдал отчетливые изменения бактериохлорофилла в хроматофорах бактерий в присутствии Fe^{+++} и связал эти изменения с фотоокислением бактериохлорофилла в живых клетках бактерий. Сходные результаты получены в работе Смит и Рамирец (Smith, Benitez, 1952—1953).

Опыты при низких температурах дают возможность исклчить течение энзиматических реакций и наблюдать в «чистом виде» спектральные изменения, обязанные первичному фотохимическому акту.

Мы уже упоминали выше о наблюдениях Литвина над обратимым изменением флуоресценции хлорофилла в листьях при температуре жидкого азота.

Ченс (Chance, Nishimura, 1960) наблюдал, освещая *Chromatium* при $-190^{\circ}C$, окисление цитохрома; можно предполагать, что этому соответствовало элементарное фотовосстановление бактериохлорофилла.

Арнольд и Клейтон (Arnold, Clayton, 1960) установили, что при освещении хроматофоров фотосинтезирующих бактерий при $+300^{\circ}K$ и при $+1^{\circ}$ наблюдаются обратимые спектральные изменения бактериохлорофилла. Авторы предположили, что это является результатом элементарного фотопроцесса — пространственного разделения электрона и «дырки». Этот процесс может идти в агрегированной структуре пигмента или является результатом восприятия электрона молекулой пигмента от донорных групп липопротеина, с которым он связан.

Опыты в модельных системах дают возможность понять природу элементарных процессов в живых организмах. Действительно, в нашей лаборатории удалось наблюдать обратимые изменения флуоресценции в системе хлорофилл — восстановитель при температуре жидкого азота. Броди (Brody, 1958), изучая спектры поглощения продуктов фотовосстановления хлорофилла, показал, что их образование наблюдается при освещении системы хлорофилл — фенилгидразин при $-196^{\circ}C$.

Итак, описанные опыты показывают начало разработки крайне важной области исследования — превращения пигментов непосредственно в живых организмах. Пока еще трудно дать вполне определенные заключения, однако эти опыты с

достаточной определенностью указывают на возможность обратимых фотохимических изменений хлорофилла. Дальнейшие исследования должны показать, связаны ли эти изменения с участием хлорофилла в процессе фотосинтеза.

Совместное действие двух световых квантов при фотосинтезе

За последние годы появились данные о том, что одновременное действие света разной длины волны может благоприятствовать течению фотосинтеза.

Варбург (Warburg и др., 1955) описал наблюдения над тем, что действие сине-зеленого света очень малой интенсивности (максимум спектра действия около 460 мкм) чрезвычайно увеличивает квантовый выход фотосинтеза хлореллы при действии красного света. Эмерсон (Emerson, 1958) установил, что при действии света средней области видимого спектра длинноволновая граница фотосинтеза хлореллы перемещается дальше в крайнюю красную область. Измерение спектра действия «эффекта Эмерсона» в работе Френча и Майерса (Myers, French, 1958, 1959) показало его близость к спектру поглощения хлорофилла *b*. Однако недавние измерения Говинди и Рабиновича (Govindjee, Rabinowitch, 1960) показали, что в спектре действия имеются максимумы при 650 и 670 мкм, соответствующие по положению активной форме протохлорофилла и «мономерной» форме хлорофилла. Эти авторы наблюдали также, что фотосинтез красных и зеленых водорослей, идущий в области 700 мкм, обратимо ингибируется действием более далекой инфракрасной области спектра (около 750 мкм). Механизм процесса неясен, высказываются предположения, что в клетках есть пигмент с поглощением 750 мкм, который в возбужденном состоянии может ингибировать фотосинтез.

Этот эффект связывает фотосинтез с другими процессами фотоморфогенеза в растениях, где наблюдается ингибирующее действие далекой красной области (максимум при 740 мкм) на фотопроцесс, возбуждаемый красным светом (максимум около 650 мкм).

Высказывались предположения, что свет «средней» области спектра может также активировать фотокаталитические системы, отличные от хлорофилла. Н. П. Воскресенская (1957) наблюдала, что в области 450—580 мкм усиливается поглощение хлорофилла некоторыми органами растения, не содержащими хлорофилла; в ее работе показана активность флавиновых и цитохромных систем. Мы наблюдали некоторое ускорение восстановления и окисления цитохрома *c* при освещении. Свет может действовать также на активность промежуточных (фотовосстановленных) форм хлорофилла и его ана-

логов, ускоряя обратные реакции. Наконец, мы уже упоминали гипотезу Дж. Франка (Frank, 1957) о совместном действии возбужденных молекул хлорофилла в синглетном и триплетном состоянии.

Следует указать, что совместное действие красных и синих квантов не обязательно для фотосинтеза, так как растения могут расти лишь в красном свете.

ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ХЛОРОФИЛЛА В ПРОЦЕССАХ ПЕРЕНОСА ВОДОРОДА (ЭЛЕКТРОНА)

Реакции этого типа изучались в системах различной сложности — в растворах пигментов, гомогенатах листьев и суспензиях хлоропластов. Эти реакции могут рассматриваться как звенья, «обломки» фотосинтетической цепи переноса электрона и поэтому установление их механизма поможет выяснению хода всего процесса в живых организмах.

Уже давно в работах лабораторий Баура, Гаффрона и др. было показано, что хлорофилл в растворе способен сенсibilизировать окисление ряда органических соединений кислородом и некоторыми азокрасителями.

В наших опытах при освещении красным светом системы *хлорофилл — донор электрона — акцептор электрона* наблюдалось сенсibilизированное восстановление молекул — акцепторов электрона за счет квантов света, поглощенных хлорофиллом (Красновский, 1948, 1960; Красновский, Брин, 1949). Таким сенсibilизирующим действием обладали все изученные аналоги хлорофилла. В случае бактериохлорофилла и бактериофеофитина реакции возбуждались в близкой инфракрасной области спектра. Используя аскорбиновую кислоту в качестве донора электрона, мы наблюдали фотовосстановление сафранина, рибофлавина, пиридиннуклеотидов. При выключении света эти реакции идут обратно с разной скоростью, иногда требуя введения кислорода для регенерации красителя из лейкоформы. В ходе этих реакций происходит некоторое «запасание» энергии света — увеличение свободной энергии системы, характеризуемое величиной разницы редокспотенциалов донора водорода (аскорбиновая кислота $E'_0 = 0,05 \text{ в}$) и акцептора водорода (пиридиннуклеотиды $E'_0 = -0,32 \text{ в}$).

В водной среде хлорофилл, адсорбированный цитохромом с сенсibilизирует окисление-восстановление этого соединения. При фотовосстановлении цитохрома донорами электрона могли служить белки; фотосенсibilизированное окисление цитохрома мы наблюдали в присутствии воздуха (Красновский, Войновская, 1956). В случае применения азокрасителей в качестве акцепторов электрона происходит их необ-

ратимое восстановление. В реакциях этого типа уже давно использовали азокраситель метиловый красный (Livingston, Pariser, 1948). В ряде сенсibilизированных реакций, идущих необратимо в аэробных условиях, кислород является конечным акцептором электрона.

Мы наблюдали фотосенсibilизированное окисление ряда доноров водорода, способных к фотовосстановлению хлорофилла и феофитина, а также восстановленных форм цитохрома *c* и пиридиннуклеотидов (Брин, Красновский, 1957, 1959). Вероятно, что в основных средах темновая стадия реакции сводится к регенерации хлорофилла из промежуточной фотовосстановленной формы за счет ее окисления кислородом.

Альтернативный механизм первичного фотообразования перекиси хлорофилла с последующим темновым актом восстановления этой перекиси донором водорода также вероятен, так как были обнаружены лабильные продукты фотоокисления хлорофилла и бактериохлорофилла, взаимодействующие с аскорбиновой кислотой; в результате происходила регенерация пигмента. Этим реакциям благоприятствуют спиртовые среды (Красновский, 1947). Реакция фотовосстановления хлорофилла донором водорода в основаниях может идти быстрее, чем фотореакция с кислородом. Высокий квантовый выход сенсibilизированного фотоокисления определяется, по-видимому, очень быстро идущей необратимой реакцией окисления промежуточных форм хлорофилла.

О том, что изученные сенсibilизированные реакции в основных средах идут через стадию обратимого фотовосстановления пигмента-сенсibilизатора, говорят следующие факты.

Сенсibilизированное восстановление молекул — акцепторов водорода наблюдается лишь в системе, содержащей доноры водорода, способные участвовать в реакции фотовосстановления хлорофилла.

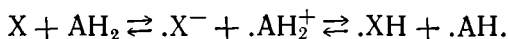
В тройной системе, содержащей донор электрона, пигмент и акцептор электрона, не удается наблюдать накопления фотовосстановленных форм пигментов из-за их быстрой реакции с молекулами — акцепторами электрона. Лишь после того, как весь акцептор «сенсibilизированно» восстановлен, наступает образование фотовосстановленной формы пигмента-сенсibilизатора. Это проявляется в форме индукционного периода при изучении кинетики сенсibilизированной реакции.

Удается раздельно осуществить фотостадии реакции (образование фотовосстановленных форм пигмента) и их взаимодействия в темноте с молекулами — акцепторами электрона. В случае хлорофилла это иллюстрируется опытами с «красной» фотовосстановленной формой, однако «пер-

вичные» фотовосстановленные формы реагируют с акцепторами гораздо быстрее, что было продемонстрировано в опытах Евстигнеева (1954, 1958). Показательно действие акцепторов на фотопотенциал электрода в системе *хлорофилл — аскорбиновая кислота* и «тушащее» действие этих соединений на фотопроводимость системы *хлорофилл — аскорбиновая кислота* (Евстигнеев, Гаврилова, 1955) вследствие их быстрой реакции с первичной фотовосстановленной формой хлорофилла.

Итак, механизм этих реакций в основных средах выражается схемой:

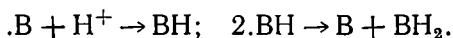
1. Фотовосстановление пигмента:



2. Темновые реакции фотовосстановленной формы с акцептором водорода (электрона) В, регенерация хлорофилла: быстрый процесс: $\cdot X^- + \text{В} \rightarrow \text{Х} + \cdot \text{В}^-$.

медленный процесс: $\cdot \text{ХН} + \text{В} \rightarrow \text{Х} + \cdot \text{ВН}$.

3. Дисмутация семихинонных форм:



Этот механизм сенсibilизации хлорофиллом, экспериментально установленный в нашей лаборатории, сходен со схемой Вейсса (Weiss, 1936), предложенной для красителей-сенсibilизаторов, способных к образованию лейкосоединений. Мы уже указывали на то, что в средах иной природы (спирт) может наблюдаться первичное фотоокисление хлорофилла (1947) в согласии с одной из схем Франка — Ливингстона (1941) и Теренина (1946) ¹.

В случае гетерогенной сенсibilизации на кристаллах пигментов и в коллоидных растворах трудно разделить отдельные стадии реакции, текущие на фазовой границе. Можно думать, что и здесь сохраняются элементарные акты восприятия или отдачи электрона на фазовой границе между молекулой пигмента и молекулой донора или акцептора электрона. На эту возможность указывают опыты В. Б. Евстигнеева и А. Н. Теренина (1951) по измерению фотопотенциалов твердых пленок хлорофилла и его аналогов в растворах электролитов.

Таким образом, «простые» реакции переноса водорода в модельных системах идут путем промежуточных фотохимиче-

¹ За последние годы установлены условия, благоприятствующие элементарному восстановлению или окислению возбужденной молекулы хлорофилла в процессе фотосенсibilизирующего действия: см. сборник «Биохимия и биофизика фотосинтеза». М., «Наука», 1965.

ских окислительно-восстановительных превращений хлорофилла. Вероятно, реакции этого типа являются звеном фото-биологических процессов в гомогенатах листьев и суспензиях хлоропластов, где первичные фотопродукты перерабатываются с участием энзиматических систем.

ВКЛЮЧЕНИЕ ФОТОПРОДУКТОВ В СИСТЕМУ БИОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Энзиматические системы хлоропластов

С давних пор известно, что при фотосинтезе имеет место сочетание фотохимических и темновых биохимических ферментативных стадий. Одним из путей, ведущих к установлению природы этих стадий фотосинтеза, является изучение энзиматической активности структур, содержащих пигменты— хлоропластов растений и хроматофоров бактерий. К этому вопросу в последние годы привлечено пристальное внимание.

Исчерпывающий обзор этой проблемы дан в сводных работах Н. М. Сисакяна (1951, 1956). В этих работах установлено, что хлоропласты обладают набором разнообразных ферментов, находящихся в различных состояниях, отличающихся различной прочностью связи с протеидным комплексом пластид. Сисакян указывает на то, что характер этой связи зависит от физиологического состояния растения, изменяется в процессе развития и может нарушаться при использовании некоторых методов изолирования структур и при распаде хлоропластов на гранулы. В хлоропластах находятся ферменты, участвующие в окислительно-восстановительных, гидролитических и различных синтетических реакциях (Сисакян, 1951, 1958).

В обзоре Френкеля (Frenkel, 1959) собран материал об энзиматической активности хроматофоров фотосинтезирующих бактерий.

Наличие различных ферментов, связанных со структурой хлоропластов, является предпосылкой их возможного сопряжения с фотохимическими реакциями пигментов. Для нас наиболее интересны системы, которые могут катализировать реакции молекул-доноров или акцепторов, «перехватывающих» электрон (водород), мобилизованный при фотохимических реакциях пигментов.

В работах Хилла (Hill, 1951) высказывались предположения об участии цитохромных систем на пути электрона при реакциях фотосинтеза. В работах Сисакяна и его сотрудников (1959) было показано возможное сопряжение цитохромоксидазы с фотохимическими реакциями хлорофилла. В качестве систем, воспринимающих электрон от хлорофилла, могут использоваться пиридиннуклеотиды и флавины. Участие

соответствующих ферментов в реакциях этого типа обуславливается дегидразной активностью пластид, обнаруженной в работах Н. М. Сисакяна и К. Г. Чамовой (1949), и связью между этой активностью и фотохимическими реакциями хлоропластов, изученными при помощи методов конкурентного ингибирования (Сисакян, Красновский, Михайлова, Брин, 1953). По-видимому, «белковый фактор» — пиридин-нуклеотид-редуктаза, упоминаемая ниже, является дегидразным ферментом этого типа. Е. А. Бойченко и др. (1959) указали на гидрогеназную активность хлоропластов и вероятную роль связанного Fe и Mn в реакциях восстановления углекислоты. Особое внимание ныне привлекает сопряжение ферментных и фотохимических реакций при фотофосфорилировании, заслуживающее особого рассмотрения.

Фотохимические окислительно-восстановительные реакции в гомогенатах зеленых листьев и хлоропластах

Гомогенаты листьев и суспензии хлоропластов способны к реакции Хилла, которой посвящена громадная литература, недавно суммированная, например, в обзоре Кленденнинга (Clendenning, 1957). За последнее время уделяется внимание более простым реакциям в гомогенатах и хлоропластах, связанным с переносом водорода. Иногда эти реакции свойственны системам, утратившим способность к реакции Хилла в результате стояния препаратов при комнатной температуре (Воробьева, Красновский, 1958). Вероятно, при этом инактивируются чувствительные энзиматические системы, участвующие в выделении молекулярного кислорода. Гуд и Хилл (Good, Hill, 1955) наблюдали фотовосстановление флавинадениннуклеотида и бензилвиологена хлоропластами в строго анаэробных условиях.

В работах нашей лаборатории (Воробьева, Красновский, 1958) наблюдалось обратимое фотовосстановление сафранина и необратимое восстановление метилового красного в гомогенатах зеленых листьев, содержащих аскорбат натрия.

Вернон и Хоббс (Vernon, Hobbs, 1957) наблюдали в гомогенатах зеленых листьев сахарной свеклы фотовосстановление флавинмононуклеотида (ФМН) и индигокармина в присутствии дихлорфенолиндофенола и аскорбата. Авторы связывают этот процесс с реакцией Хилла, тогда как, по нашему мнению, в этих реакциях происходит фотосенсибилизированный хлорофиллом перенос водорода, при котором аскорбиновая кислота (а не молекула воды, как при реакции Хилла) играет роль донора водорода.

Среди соединений, участвующих в этих, сравнительно простых реакциях, особое внимание привлекли цитохромы и пи-

ридиннуклеотиды. Сенсibilизированные хлорофиллом превращения цитохромов наблюдались как в простых модельных системах (Красновский, Войновская, 1956), так и в гомогенатах, суспензиях хлоропластов и живых организмах. Этому вопросу посвящена большая литература, изложенная в недавних обзорах Камена (Kamen, 1957), Смита и Ченса (Smith, Chance, 1958). Цитохромы могут играть роль как донора, так и акцептора электрона в сенсibilизированных реакциях в разных системах. В зависимости от окислительно-восстановительных свойств среды возможно фотохимическое восстановление или окисление цитохромов, которое может быть ступенью на пути переноса электрона при фотосинтезе (Hill, 1951). При рассмотрении механизма этих реакций выдвигались предположения о передаче энергии возбуждения от Mg к Fe-порфиринам, однако более вероятно в этих случаях передача электрона (Красновский, Войновская, 1956).

Фотовосстановление пиридиннуклеотидов

Эти реакции привлекли большое внимание, так как восстановленные пиридиннуклеотиды могут участвовать в реакциях темного усвоения углекислоты.

В 1949 г. мы экспериментально установили возможность фотосенсibilизированного восстановления дифосфопиридиннуклеотида в растворе за счет энергии света, поглощенного хлорофиллом (Красновский, Брин, 1949; Брин, Красновский, 1959). В 1951 г. вышли работы Вишняка и Очоа (Vishniak, Ochoa, 1951, 1952), Толмач (Tolmach, 1951) и Арнона (Arnon, 1951), в которых была показана возможность восстановления пиридиннуклеотидов в гомогенатах хлоропластов в присутствии ферментных препаратов. В 1956 г. Сан-Пьетро и Ланг (San Pietro, Lang, 1956, 1958) продемонстрировали восстановление пиридиннуклеотидов в гомогенатах спектрофотометрическим методом и нашли белковый фактор, катализирующий световую реакцию. К тем же заключениям пришел Арнон с сотрудниками (Arnon, Allen, Whatley, 1954). Вернон наблюдал фотовосстановление пиридиннуклеотидов в гомогенатах фотосинтезирующих бактерий (Vernon, Ihnen, 1957) и при длительном освещении суспензии хлоропластов (Vernon, Hobbs, 1957). Френкель обнаружил восстановление пиридиннуклеотидов с использованием восстановленного флавиномононуклеотида в хроматофорах фотосинтезирующих бактерий (Frenkel, 1958). Мы уже указывали выше на то, что найдена корреляция между подавлением активности пиридиннуклеотидных дегидраз и фотохимической активности хлоропластов (Сисакян, Красновский, Михайлова, Брин, 1953).

В ряде перечисленных работ о восстановлении пиридиннуклеотидов судили по увеличению коэффициента погашения при 340 мкм после освещения и падению его величины при введении алкогольдегидрогеназы и ацетальдегида в качестве субстрата окисления. Измерение спектра поглощения восстановленных форм пиридиннуклеотидов в этих работах сделать не удалось, по-видимому, из-за сильного поглощения света гомогенатом в этой области спектра.

Дейзенс и Амец (Duysens, Amesz, 1957) наблюдали восстановление пиридиннуклеотидов непосредственно в живых листьях растений, применив методы дифференциальной спектроскопии и измерения флуоресценции.

В нашей группе (Литвин, Красновский, 1957) измерение спектров флуоресценции листьев растений при разных температурах позволило обнаружить максимумы, соответствующие связанным и свободным формам восстановленных пиридиннуклеотидов.

Тамийя и соавторы (Tamiko-oh-Napa и др., 1959) не нашли соответствия между накоплением восстановленных пиридиннуклеотидов и накоплением «восстанавливающей» способности после освещения клеток хлореллы, измеренной по связыванию $C^{14}O_2$. При освещении наблюдалось увеличение количества ТРН и уменьшение ДРН. Авторы делают вывод, что в опытах с предварительным освещением образуется первичный восстанавливающий агент до того, как наступает восстановление пиридиннуклеотидов¹.

Элементарный механизм фотовосстановления пиридиннуклеотидов в хлоропластах, по-видимому, связан с участием хлорофилла в процессах переноса электрона. Однако требуются прямые опыты, подтверждающие этот механизм в биологически организованных системах.

Фотофосфорилирование

Уже давно предполагалось, что первичные фотопродукты, связанные с превращением пигментов, приводят к образованию соединений, участвующих в темновых биохимических реакциях фотосинтеза. В работах Варбурга (Warburg, 1955) развивались представления об образовании первичных фотопродуктов, претерпевающих обратные реакции, сопряженные с выделением кислорода и связыванием углекислоты. Критическое рассмотрение этих работ дано в статье Гаффрона и Розенберга (Gaffron, Rosenberg, 1955). Накопившийся ныне экспериментальный материал привел к выводу, что проме-

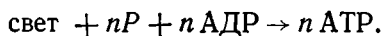
¹ Работы последних лет показали, что в этих реакциях участвует ферредоксин (см. сборник «Биохимия и биофизика фотосинтеза». М., «Наука», 1965).

жучотными соединениями, запасающими энергию света после фотохимической стадии, оказались давно известные биохимикам соединения: восстановленные формы пиридиннуклеотидов и богатые энергией фосфорные эфиры; возможно, однако, что дальнейшие исследования приведут к выделению новых промежуточных соединений (Tainiko-oh-Nama и др., 1959).

Представления о возможном образовании фосфорных эфиров при фотосинтезе выдвигались еще в 1943 г. в работах Рубена (Ruben, 1943), Эмерсона и сотрудником (Emerson, и др., 1944). Вассинк с сотрудниками (Wassink и др., 1949, 1951) наблюдали сдвиги в количестве фосфатов в суспензиях *Chromatium* и хлореллы при переходе от темноты к свету. Кандлер (Kandler, 1950) нашел изменения в содержании фосфатов у хлореллы в темноте и при освещении. Френкель (Frenkel, 1956) нашел, что в фотосинтезирующих бактериях освещение в анаэробных условиях ведет к накоплению фосфорных эфиров.

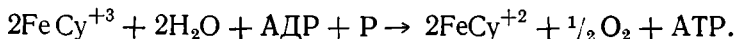
В работах Сисакяна (Сисакян, 1951, 1956, 1958) и других исследователей было показано, что в хлоропластах сосредоточены не только пигменты, но и разнообразные ферментные системы, способные ко многим биохимическим синтезам.

Арнон, Аллен и Уотли (Arnon, Allen, Whatley, 1954) установили способность изолированных хлоропластов к световому синтезу АТФ. То, что отмытые хлоропласты обладают весьма малой интенсивностью дыхания, облегчает изучение светового (фотосинтетического) образования исследуемых активных соединений. Детальное изучение явления в лаборатории Арнона привело к следующим результатам. Было обнаружено, что в условиях, когда не наблюдалось ни выделения, ни поглощения кислорода, при освещении хлоропластов происходило включение неорганического фосфата (P) в АТФ. Арнон назвал эту реакцию «циклическим фосфорилированием».



Весселс, Ягендорф и Аврон отметили, что скорость процесса сильно возрастала при добавлении кофакторов — аскорбиновой кислоты, флавиномононуклеотида, производных витамина К (Wessels, 1957, 1958), феназинметасульфата (Jagendorf, Avron, 1958) и некоторых других окислительно-восстановительных систем, переносящих электрон. Хилл и Уокер (Hill, Walker, 1959) показали, что активность феназинметасульфата объясняется его быстрым превращением на свету в пиоцианин. По-видимому, кофакторы включаются в систему переноса электрона между образуемыми фотохимически активными восстановленными и окисленными соединениями.

Дальнейшие работы Арнона показали, что можно найти условия сопряжения фотофосфорилирования и реакции Хилла, используя в качестве окислителя феррицианид, согласно суммарному уравнению:



и с реакцией восстановления ТРН:



Предполагается, что вводимый извне акцептор электрона реагирует с фотохимически образованным восстановителем, тогда как кислород выделяется «обычным» фотохимическим путем. Ягендорф рассмотрел условия включения переносчиков электрона в реакции различных типов (Jagendorf, 1959). В результате второй реакции образуются соединения, нужные для работы цикла усвоения углекислоты. Эта реакция идет с малым количеством кофакторов (ФМН, витамина К и аскорбиновой кислоты) или без них; накопление АТР резко возрастало при добавлении кофакторов в результате циклического фосфорилирования, когда исключалось выделение кислорода и образование ТРНН.

Образование АТР в случае применения хилловских окислителей как акцепторов электрона легко понять, так как в этом случае велик энергетический перепад. Вероятно, у первичных фотовосстановленных соединений величина E_0 не превышает потенциала водородного электрона ($E_0 = -0,42$ в при рН 7); их взаимодействие с системой $\text{Fe}^{+++}/\text{Fe}^{++}$ ($E_0 = +0,78$ в) сопровождается значительным уменьшением ΔF системы.

Иным является положение, когда акцептором электрона является ТРН или ДРН ($E_0 = -0,32$ в). Энергетический перепад здесь мал, и трудно представить возможность образования АТР «по пути» электрона от первичного восстановителя к ТРН (согласно схеме Арнона). Быть может, в этом случае часть АТР образуется все же за счет обратного окисления фотовосстановленного ТРН? В связи с этим следует указать, что в нашей лаборатории недавно наблюдалось энергичное фотоокисление ТРНН и ДРНН, сенсibilизированное хлорофиллом в растворах и суспензиях хлоропластов и гранул (Брин, Красновский, 1959).

В работах Арнона с сотрудниками (Arnon, 1959) удалось разделить световую и темновую стадии реакции: образование «ассимиляционной силы» — ТРНН и АТР — при освещении зеленых гранул в отсутствие кислорода и усвоение меченого CO_2 при взаимодействии освещенной суспензии с незеленым веществом хлоропластов в темноте. В присутствии каталитических количеств глюкозофосфата получались фосфорные эфиры сахаров и другие соединения, идентифицированные хроматографически и радиоавтографически. Эти результаты

подтверждены в опытах, когда искусственно полученные АТФ и ТРПН вводились в гомогенат зеленых листьев, содержащий меченый CO_2 .

Все эти работы являются важным обоснованием распространенной ныне картины фотосинтеза: световое образование восстановленных пиридиннуклеотидов и фосфорных эфиров и темновые реакции усвоения углекислоты с участием этих соединений. Однако пока остается неясным вопрос механизма сопряжения этих реакций с первичным фотохимическим процессом, идущим с участием хлорофилла. Здесь можно выдвинуть следующую гипотезу, основанную на изучении фотохимических свойств хлорофилла. В результате первичного фотохимического процесса образуется первичный восстановитель (фотовосстановленный хлорофилл) в объеме (липидной фазе) или на фазовой границе и окисленная форма донора водорода. В обратных реакциях этих активных соединений могут участвовать биохимические переносчики электрона — ФМН, витамин К. Следует отметить, что эти типы соединений (рибофлавин, хиноны) легко реагируют с фотовосстановленной формой хлорофилла, восстанавливаясь с регенерацией «зеленого» хлорофилла (Красновский, Пакшина, 1960).

Введение «необратимого» акцептора электрона (хилловского окислителя или пиридиннуклеотидов) направляет процесс по пути сопряжения реакции Хилла с образованием АТФ, тогда как различные «обратимые» редокс-системы замыкают цикл, приводя лишь к образованию АТФ. Таким образом, фосфорилирование во всех вариантах сопряжено с фотохимической мобилизацией электрона в гранулах хлоропластов и зависит от природы промежуточных систем, переносящих электрон.

В докладе на Международном симпозиуме по происхождению жизни (Изд-во АН СССР, 1957) мы выдвинули предположение, что эволюция пути фотосинтетического переноса электрона шла от «одноэлектронного» процесса у бактерий к «двухэлектронному» процессу у зеленых растений, выделяющих молекулярный кислород. Мы тогда писали: «Фотосинтезирующие бактерии еще «не умеют» выделять кислород воды в молекулярной форме и осуществляют более «дешевый» в энергетическом отношении тип фотосинтеза». Ван Ниль предположил, что у всех автотрофных организмов, в том числе у фотосинтезирующих бактерий, происходит элементарный фотолиз воды ($\text{HON} \rightarrow \text{H} + \text{OH}$), причем исходный донатор водорода реагирует с $[\text{OH}]$ радикалами, а $[\text{H}]$ используется для восстановления углекислоты. В согласии с этой точкой зрения было показано, что независимо от ΔF балансовой реакции (при различных водородных донаторах) квантовый выход бактериального фотосинтеза является постоянным (около

$8h\nu$ на молекулу углекислоты). Эти результаты свидетельствуют об одном и том же типе элементарных фотопроцессов (независимо от природы исходного донатора электрона) при фотосинтезе бактерий.

В работах нашей лаборатории было обнаружено, что бактериохлорофилл в растворе способен к фотосенсибилизированному переносу электрона от сероводорода, аскорбиновой кислоты к флавионам и другим акцепторам водорода. Участие воды в фотопроцессе, по нашему мнению, требует дальнейших доказательств. Более вероятно, что фотосинтезирующие бактерии «используют» электрон молекулы-донатора (например,



Рис. 43. Схема переноса электрона при фотосинтезе¹

SH' , $\text{S}_2\text{O}_3''$, органические кислоты) и протоны (водородные ионы) воды. Способность «вырывать» электрон воды или OH -ионов возникла лишь в процессе дальнейшего развития автотрофных организмов. Можно предположить, что развитие способности к выделению кислорода воды потребовало использования двух квантов света для переноса одного электрона, т. е. сопряжения двух элементарных фотопроцессов для преодоления высокого энергетического барьера на пути переноса одного электрона (водорода) от воды к углекислоте, тогда как при бактериальном фотосинтезе достаточно одного элементарного фотопроцесса (использования одного кванта света) для переноса одного атома водорода от молекулы донатора к углекислоте.

Двухступенчатый перенос электрона потребовал усложнения сопряжения с ферментативными системами и образования «резерва» промежуточных донаторов водорода. Можно себе представить развитие следующих ступеней: 1) перенос электрона от воды к промежуточному акцептору электрона (например, цитохром полифенолы, дегидроаскорбиновая кислота, дисульфиды) — реакция Хилла; 2) перенос электрона от восстановленных форм этих соединений к пиридиннуклеотидам, участвующим в реакциях восстановления углекислоты» (см. рис. 43).

¹ Работы последних лет показали включение ферредоксина в последнее звено цепи переноса электрона.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОМЕЖУТОЧНЫХ ПРОДУКТОВ С ПОМОЩЬЮ ИЗОТОПНЫХ МЕТОДОВ

Для изучения последовательно образуемых промежуточных соединений широко применяются изотопные методы. Организм фотосинтезирует в среде, содержащей меченые молекулы CO_2 , H_2O или других соединений; варьируя периоды темноты и освещения, организмы фиксируют (убивают) и изучают распределение изотопа в образуемых продуктах и в атомных группировках меченых молекул. Важной стадией в этой процедуре является метод фиксации, в процессе которой возможно искажение действительного распределения изотопа в организме за счет разложения нестойких соединений (при нагревании, действии растворителей). При этом изотоп может переходить в более устойчивые соединения, обнаруживаемые аналитически, которые в действительности не образуются в живых растениях и являются артефактом. «Мягким» методам фиксации растительного материала уделяется большое внимание в недавних работах с меченым углеродом, в которых исследуются первичные продукты фотосинтеза (Бойченко, Захарова, 1956; Доман, 1959; H. Metzner, H. Simon, B. Metzner, 1958).

Путь углерода. Для изучения продуктов ассимиляции углекислоты растениями ныне получил широчайшее распространение долго живущий радиоактивный изотоп углерода C^{14} в виде меченой углекислоты. С тяжелым изотопом C^{13} имеются лишь единичные работы, а коротко живущий радиоактивный изотоп C^{11} в настоящее время вообще не применяется.

Изучению промежуточных продуктов фотосинтеза с помощью C^{14}O_2 посвящено большое количество исследований. В настоящей статье мы хотим лишь ограничиться краткими замечаниями, тем более, что по этому вопросу имеются монографии (Заленский, Семихатова, Вознесенский, 1955; Bassham, Calvin, 1957).

Процесс начинается предварительным нестойким связыванием углекислоты, что показано в опытах Домана, Метцнера и сотрудников. Работы Кальвина, Бенсона и сотрудников показали, что восстановление углекислоты растениями является многоступенчатым циклическим процессом. В цикле регенерируется соединение, первично связывающее углекислоту; согласно работам Кальвина, это рибулезодифосфат, превращающийся затем в фосфоглицериновую кислоту.

Эти результаты были подтверждены в опытах Н. Г. Домана (1959) с низкотемпературной фиксацией и хроматографией первичных продуктов связывания углекислоты. Все время уточняются промежуточные продукты цикла и природа ферментных систем, управляющих отдельными стадиями реакции.

При изучении пути углерода при фотосинтезе Е. А. Бойченко и Н. И. Захарова (1956) сообщили об обнаружении железа в составе первичных продуктов восстановления $C^{14}O_2$.

В работах лаборатории А. А. Ничипоровича (1955, 1956, 1958, 1959) было показано, что относительная быстрота вхождения и распределения усвоенного в процессе фотосинтеза меченого углерода в разные продукты (углеводы, аминокислоты, органические кислоты, белки) сильно изменяется в зависимости от типа и вида растения, его возраста, характера корневого и азотного питания, интенсивности и спектрального состава света. Красный свет способствует усиленному образованию углеводов, а синий — аминокислот и белков. Выяснив, что синий свет активизирует цитохромные, флавиновые системы и световое дыхание, авторы считают, что одной из причин, меняющих соотношение путей превращений углерода, является изменение соотношений окислительных и восстановительных реакций фотосинтеза. Вопросы связи фотосинтеза и дыхания рассматриваются в недавнем обзоре П. А. Колесникова (1959).

При бактериальном фотосинтезе, в отличие от фотосинтеза растений, сахара не накапливаются в качестве конечных продуктов. Фуллер (Fuller, 1959), рассматривая путь углерода при фотосинтезе бактерий, показал, что у *Chromatium* фиксированный углерод первично накапливается в аспирагиновой кислоте.

Работа углеродных циклов требует подвода активных продуктов, образуемых в результате фотохимических реакций. В свете современных исследований — это восстановленные пиридиннуклеотиды и АТФ. Отдав водород в углеродном цикле, TPN и DPN возвращаются в систему фотохимических реакций; подобным образом АДФ возвращается в цикл фотосинтетического фосфорилирования.

Путь водорода. Применялись тяжелый изотоп водорода — дейтерий и радиоактивный тритий в виде тяжелой воды и T_2O . Из-за большого отличия в атомном весе этих изотопов от «обычного» водорода здесь велика величина изотопной дискриминации.

Мозес и Кальвин (Moses, Calvin, 1959) показали, что при фотосинтезе хлореллы в присутствии T_2O и $C^{14}O_2$ тритий появляется в тех же продуктах фотосинтеза, что и меченый углерод. Поскольку был использован T высокой удельной активности, влияние радиоактивности учитывалось по характеру распределения T в продуктах ассимиляции в этих опытах по сравнению с контрольными. Было найдено, что T на свету проникает с интенсивностью в три раза большей по сравнению с темновыми опытами. Первичное накопление T наблюдалось в гликолевой, фосфоглицериновой, глутаминовой кислотах. В темновых опытах T накапливается в большей сте-

пени в аминокислотах. Авторы подчеркивают трудности в интерпретации получаемых результатов, связанные с наличием водородного обмена и изотопного эффекта.

В другой работе Мозес, Холм-Хансен и Кальвин (Moses, Holm-Hansen, Calvin, 1958) изучили влияние больших концентраций D_2O в воде (до 99%) на фотосинтез хлореллы. С уменьшением интенсивности фотосинтеза в этой среде уменьшалось количество спиртонерастворимой фракции (белки, полисахариды, нуклеиновые кислоты) и распределение $C^{12}O_2$ напоминало ассимиляцию углекислоты в темноте с интенсивной работой цикла Кребса.

С целью выяснения возможности фотохимического обмена водородных атомов в молекуле хлорофилла в процессе фотосинтеза В. М. Кутюриным (1956, 1960) была выполнена работа с *Elodea canadensis* с концентрацией D_2O от 5 до 20%. Параллельно был использован N^{15} для определения интенсивности биосинтеза хлорофилла в условиях длительных опытов. Хлорофилл, экстрагированный из растений, был тщательно очищен хроматографически и высушен до постоянного веса. Сухие образцы хлорофилла сжигались, и вода, полученная от сжигания, анализировалась на масс-спектрометре. При кратковременных опытах (2, 4 час) D в хлорофилле не было обнаружено, в 68-часовом опыте содержание D соответствовало равновесному обмену 1,3 атома водорода из 72 атомов водорода молекулы хлорофилла. Отсутствие быстрого фотохимического обмена атомов водорода в хлорофилле свидетельствовало об отсутствии обратимого дегидрирования молекулы. В работе обсуждается возможность накопления дейтерия в хлорофилле за счет обмена и биосинтеза пигмента в течение опыта. Вишняк и Роуз (Vishniac, Rose, 1958) изучали включение трития в хлорофилл при освещении водорослей *Chlorella* в воде, содержащей T_2O . Опыты показали, что хлорофилл содержит лишь малую часть трития по сравнению с полным обменом одного атома водорода на одну молекулу хлорофилла. Эти результаты в общем согласуются со старыми опытами Норрис, Рубен и Аллен (Norris, Ruben, Allen, 1942).

Однако Вишняк нашел, что при извлечении пигментов ацетоном при -5° из фрагментов хлоропластов в остатке остается немного неизвлекаемого хлорофилла. В этих препаратах хлорофилл легко обменивает водород на тритий после освещения водорослей. При обработке щелочью этих препаратов вся радиоактивность хлорофилла уходит в воду. Таким образом, малая часть хлорофилла, находящаяся в другой форме, весьма активна к обмену. Пока неясно, происходит ли включение трития за счет окислительно-восстановительного или кислотного процесса. Последнее более вероятно, так как в модельных опытах в растворах хлорофилла в сме-

си пиридина с эфиром и T_2O наблюдалось включение некоторого количества трития в хлорофилл. В пиридине, по-видимому, происходит лабильзация атома водорода у C_{10} молекулы хлорофилла. В докладе на IX Ботаническом конгрессе Вишняк (Vishniak, 1959) указал, что при бумажной хроматографии пигментов из ацетонового порошка большая часть трития обнаруживается не в зоне хлорофилла, а в зоне другого пигмента, природа которого еще не установлена. Быть может, это производное хлорофилла, содержащее свободные карбоксильные группы (без фитола).

Таким образом, известный экспериментальный материал с применением изотопов водорода указывает на малую вероятность участия хлорофилла в фотосинтезе путем первичного обратимого дегидрирования.

Путь кислорода. Использовалась преимущественно вода, меченная тяжелым изотопом кислорода O^{18} . Этот изотоп кислорода был использован для выяснения различия в кислородном метаболизме при фотосинтезе и фоторедукции в работах М. В. Улубековой (1957, 1959). Водоросли после экспозиции в H_2O^{18} (в отдельных случаях использовалась CO_2^{18}), фиксировались жидким азотом, высушивались в вакууме. Сухие клетки сжигались, а кислород полученной воды анализировался на масс-спектрометре. Интенсивность включения O^{18} в органическое вещество клеток была пропорциональна интенсивности освещения, при 2—3 тыс. люксов не было обнаружено разности между уровнем обогащения кислорода при фотосинтезе и при фоторедукции.

Перспективным является применение активационного метода в опытах с O^{18} , описанных Кальвином с сотрудниками. Метод основан на облучении препаратов, содержащих повышенное количество O^{18} , протонами с энергией 4,5 MeV. При этом образуется радиоактивный изотоп фтора F^{18} . Была проделана работа по уничтожению радиоактивного фона, в результате которой были найдены условия определения продуктов, содержащих O^{18} после экспозиции водорослей в H_2O^{18} , и экстракции продуктов хроматографирования и последующего перенесения композиции на танталовую пластину, на которой и происходит активация. Метод превосходит по чувствительности масс-спектрометрию, позволяя определить до 0,1 μO^{18} продукта при инкубировании водорослей в 20% H_2O^{18} . Было показано, что тяжелый кислород накапливается при фотосинтезе в первую очередь в фосфорсодержащих сахарах: монофосфатах, дифосфатах и фосфоглицеринной кислоте. Однако до сих пор не удалось найти промежуточных продуктов «перед» выделением молекулярного кислорода.

Повышение точности масс-спектрометрической техники позволило использовать ее для регистрации естественных от-

клонений в изотопном составе кислорода и учета газообмена (поглощения CO_2 , выделения O_2). А. П. Виноградов с сотрудниками (1959) уточнил изотопный состав кислорода, выделяющегося при фотосинтезе *Elodea canadensis* и диатомовых водорослей. Было установлено влияние дыхания на изотопный состав кислорода фотосинтеза. Это явление, объясняющееся преимущественным поглощением легкого изотопа кислорода O^{16} при дыхании, было в общем случае изучено Долом с сотрудниками (Lane, Dole, 1956). Виноградов и Кутюрин (1959) предполагают, что разница между изотопным составом кислорода фотосинтеза и кислородом воды, которая в опытах достигала 10—20% в сторону утяжеления кислорода фотосинтеза изотопом O^{18} , может быть объяснена этим эффектом.

Итак, применение изотопа C^{14} позволило установить общую картину пути углерода при фотосинтезе; однако применение изотопов водорода и кислорода для изучения промежуточных продуктов фотоокисления воды пока еще не привело к получению принципиальных результатов. Остается открытым важнейший вопрос фотосинтеза — механизм выделения молекулярного кислорода. Очевидно, промежуточные продукты окисления воды обладают чрезвычайно малой длительностью жизни и стадия образования молекулярного кислорода идет с чрезвычайной быстротой; имеются лишь некоторые данные об участии марганца в системе этих реакций (Kessler, 1957).

* *
* *

Обширный экспериментальный материал, полученный при изучении первичных процессов фотосинтеза за последние годы, привел к дальнейшему обоснованию следующей общей картины процесса.

В результате поглощения кванта света пигментной системой растения происходит первичный фотофизический акт — образование возбужденных состояний с различной длительностью жизни и появление неспаренных электронов, вероятно, за счет обратимого восприятия или отдачи электрона возбужденными молекулами хлорофилла и другими компонентами цепи фотосинтетического переноса электрона.

В первичном фотохимическом процессе энергия возбуждения преобразуется в потенциальную химическую энергию первичных фотопродуктов. Наиболее вероятно, что первичный фотопроецесс заключается в поднятии «вверх» (в энергетическом смысле) электрона (водорода) от молекул-доноров к молекулам-акцепторам. При этом возбужденный светом хлорофилл может играть роль промежуточного переносчика электрона (водорода), претерпевая обратимое фотохимическое окисление — восстановление.

Пока неясно, участвует ли молекула воды в первичном фотохимическом процессе или в последующих темновых стадиях. До сих пор не удалось найти промежуточных продуктов фотоокисления воды. Хлорофилл может передать электрон (водород) от молекулы-донора к молекуле-акцептору до уровня восстановленных пиридиннуклеотидов, тогда как обратные реакции первичных фотопродуктов могут быть связаны с образованием богатых энергией фосфорных эфиров. В этих процессах участвуют ферменты хлоропластов.

В результате фотохимических реакций, сопряженных с темновыми стадиями, накапливаются более долго живущие промежуточные продукты, «запасающие» энергию света — восстановленные пиридиннуклеотиды и богатые энергией фосфорные эфиры, потребляемые в дальнейших биохимических реакциях восстановления углекислоты.

Ассимиляция углекислоты при фотосинтезе является многоступенчатым энзиматическим циклическим процессом, при котором регенерируется соединение, первично связывающее углекислоту. Этот цикл тесно связан с другими путями обмена веществ растения — дыханием, усвоением азота и т. д.

Эти положения являются лишь наброском наиболее вероятной и распространенной рабочей гипотезы; окончательное установление механизма фотосинтеза потребует больших усилий.

ЛИТЕРАТУРА

- Ашкинази М. С., Данин Б. Я. ДАН СССР, 1951, 80. Ашкинази М. С., Герасимова И. П., Данин Б. Я. ДАН СССР, 1955, 102. Белавцева Е. М., Воробьева Л. М., Красновский А. А. Биофизика, 1959, № 4. Белл Л. Н. ДАН СССР, 1956, 107; 1957, 113. Белл Л. Н., Чмора С. Н. Физиол. раст., 1959, 6. Бойченко Е. А., Захарова Н. И. Биохимия, 1956, 21; Физиол. раст., 1959, 6. Брин Г. П., Красновский А. А. Биохимия, 1957, 22; 1959, 24. Бубнов Н. Н., Красновский А. А., Умрихина А. В., Цепалов В. Ф., Шляпинтох В. Я. Биофизика, 1960, 5. Буцко С. С., Данин Б. Я. ДАН УССР, 1958, 11; Журн. общ. химии, 1958, 28. Вартаньян А. Т., Карпович И. А. Журн. физ. химии, 1958, 32. Виноградов А. П., Кутюрин В. М., Улубекова М. В., Задорожный И. К. ДАН СССР, 1959, 125. Войновская К. К., Красновский А. А. Биохимия, 1953, 18. Воробьева Л. М., Красновский А. А. Биохимия, 1956, 21; 1958, 23. Воскресенская Н. П., Зак Е. Г. ДАН СССР, 1957, 114. Вострилова Н. В., Дулова В. И. ДАН УзССР, 1958, 5. Годнев Т. Н., Акулович Н. К. Сб. «Реф. н.-и. работ Ин-та биол. АН БССР за 1955 г.». Минск, 1956; ДАН СССР, 1958, 120. Годнев Т. Н., Осипова О. П. ДАН СССР, 1947, 57; Изв. АН БССР, 1948, 1. Годнев Т. Н., Терентьев В. М., Пармон К. Н. Изв. АН БССР, 1949, 1, № 93. Годнев Т. Н., Шлык А. А. Сб. «Международ. конф. по мирному использованию атомной энергии». Женева, 1955. Годнев Т. Н., Шлык А. А., Лыхнович Я. Р. Физиол. раст., 1957, 4. Гуринович Г. П., Ермоленко И. Н., Севченко А. Н., Соловьев К. Н. Сб. «Оптика и спектроскопия», т. 3. М., Изд-во АН СССР, 1957; Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Гюббенет Е. Р., Бажанова Н. В., ДАН СССР, 1955, 105. Данин Б. Я., Ашкинази М. С. Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Ди-

лунг И. И. Укр. хим. журн., 1958, 24. Дмитриевский О. Д., Ермолаев В. Л., Теренин А. Н. ДАН СССР, 1957, 114. Доман Н. Г. ДАН СССР, 1952, 85; Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Доман Н. Г., Красновский А. А., Романова А. К., Воробьева Л. М. Физиол. раст., 1961, 8, вып. 3. Евстигнеев В. Б. Журн. физ. химии, 1958, 32. Евстигнеев В. Б., Гаврилова В. А. ДАН СССР, 1953, 91, 92; 1954, 66, 98; 1955, 103; Биофизика, 1959, № 4; 1960, № 5; 1961, № 6. Евстигнеев В. Б., Теренин А. Н. ДАН СССР, 1951, 81. Заленский О. В., Семихатова О. А., Вознесенский В. Л. Методы применения радиоактивного углерода C^{14} для изучения фотосинтеза. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1955. Ивановский Д. И. О физическом состоянии хлорофилла в живых листьях. Варшава, 1913. Качан А. А., Даин Б. Я. ДАН СССР, 1951, 80. Колесников П. А. Усп. совр. биол., 1959, 47. Конев С. В. Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Кособуцкая Л. М., Красновский А. А. Биохимия, 1953, 18; 1954, 19. Кравцов Л. А., Грузинский В. В. ДАН СССР, 1957, 1. Красновский А. А. ДАН СССР, 1947, 58; 1948, 60; 61; Биофизика, 1959, № 4; Усп. химии, 1960, 29. Красновский А. А., Брин Г. П. ДАН СССР, 1949, 67; 1954, 95. Красновский А. А., Быстрова М. И. Биохимия, 1960, 25. Красновский А. А., Быстрова М. И., Сорокина А. Д. ДАН СССР, 1961, 6. Красновский А. А., Войновская К. К. ДАН СССР, 1951, 81; Биофизика, 1956, № 1. Красновский А. А., Войновская К. К., Кособуцкая Л. М. ДАН СССР, 1952, 85. Красновский А. А., Воробьева Л. М., Пакшина Е. В. Физиол. раст., 1957, 4. Красновский А. А., Дроздова Н. Н., Пакшина Е. В. Биохимия, 1960, 25. Красновский А. А., Ерохин Ю. Е., Федорович И. Б. ДАН СССР, 1960, 134. Красновский А. А., Кособуцкая Л. М. ДАН СССР, 1952, 85; 1953, 91. Красновский А. А., Кособуцкая Л. М., Войновская К. К. ДАН СССР, 1953, 92. Красновский А. А., Нестеровская Е. А., Гольденберг А. Б. Биофизика, 1956, № 1. Красновский А. А., Пакшина Е. В. ДАН СССР, 1959, 127; 1960, 135. Кутюрин В. М. ДАН СССР, 1956, 106; Физиол. раст., 1960, 7. Литвин Ф. Ф., Владимиров Ю. А., Красновский А. А. Усп. физ. наук, 1960, 71, № 1. Литвин Ф. Ф., Красновский А. А. ДАН СССР, 1957, 117; 1958, 120. Литвин Ф. Ф., Красновский А. А., Рихирева Г. Т. ДАН СССР, 1959, 127; 1960, 135. Любименко В. Н. Фотосинтез и хемосинтез в растительном мире. М., Сельхозгиз, 1935. Любименко В. Н., Бриллиант В. А. Окраска растений. М., Госиздат, 1924. Маслоva Т. Г., Сапожников Д. И. II Всес. конф. по фотосинтезу. Тез. докл. М., Изд-во АН СССР, 1957. Монтеверде Н. А., Любименко В. Н. Изв. АН СССР, 1911, 5. Ничипорович А. А. Докл. сов. ученых на междунар. конф. по мирному использованию атомной энергии. М., Изд-во АН СССР, 1955. Осипова О. П. ДАН СССР, 1947, 57; Физиол. раст., 1957, 4; 1960, 7. Осипова О. П., Тимофеева И. В. ДАН СССР, 1950, 74. Пуцейко Е. К. ДАН СССР, 1956, 124. Рабинович Е. Фотосинтез, тт. I—III, М., ИЛ, 1951—1959. Сапожников Д. И., Бажанова Н. В. ДАН СССР, 1958, 120. Сапожников Д. И., Красновская Т. А., Маевская А. Н. ДАН СССР, 1957, 113. Сапожников Д. И., Черноморский С. А. Физиол. раст., 1960, 7. Сисакян Н. М. Ферментативная активность протоплазмных структур. «Баховские чтения», V. М., Изд-во АН СССР, 1951; Изв. АН СССР, сер. биол., 1956, 5. Сисакян Н. М., Красновский А. А., Михайлова Е. С., Брин Г. П. Биохимия, 1953, 18; 1959, 24. Сисакян Н. М., Чамова К. Г. ДАН СССР, 1943, 18; 1949, 67. Теренин А. Н. Фотохимия красителей. М., Изд-во АН СССР, 1946; Усп. физ. наук, 1951, 43; Радиотехника и электроника, 1956, 1; Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959; Журн. Всес. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева, 1960, 5. Теренин А. Н., Ермолаев В. Л. ДАН СССР, 1952, 85; Усп. физ. наук, 1956, 58. Теренин А. Н., Карякин А. В., Любомуд-

ров Е. Б., Дмитриевский О. Д., Сушинский П. Э. Сб. «Оптика и спектроскопия», т. 1. М., Изд-во АН СССР, 1956. Тимирязев К. А. Избр. соч., тт. 1, II. М., Сельхозгиз, 1937. Тумерман Л. А. ДАН СССР, 1957, 117. Турчин Ф. В., Гуминская М. А., Плышевская Е. Г. Физиол. раст., 1955, 2. Улубекова М. В. ДАН СССР, 1957, 112; Сб. «Пробл. фотосинтеза», М., Изд-во АН СССР, 1959. Шапошников В. Н., Кондратьева Е. Н., Федоров В. Д. Микробиология, 1958, 27. Шлык А. А. Метод меченых атомов в изучении биосинтеза хлорофилла. Минск, 1956; ДАН БССР, 1957, 1. Шлык А. А., Калер В. Л., Подчуфарова Г. М. ДАН СССР, 1960, 133. Шлык А. А., Ляхнович И. П., Калер В. Л., Липская Г. А. ДАН БССР, 1958, 2. Arnold V. W., Clayton R. K. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 1960, 46. Arnold W., Maylay H. K. Brookhaven Symp. in Biol., 1959, № 11. Arnold W., Meek E. S. Arch. Biochem. a. Biophys., 1956, 60. Arnold W. A., Sherwood H. K. Proc. Nat. Acad. Sci., 1957, 43; J. Phys. Chem., 1959, 63. Arnon D. I. Nature, 1951, 167; Brookhaven Symp. in Biol., 1959, № 11. Arnon D. J., Allen M. B., Whatley F. R. Nature, 1954, 174. Arthur W. E., Strehler B. L. Arch. Biochem. a. Biophys., 1957, 70. Bannister T. T. Dissertation Abstr., 1959a, 19, № 10; Plant Physiol., 1959b, 34. Bassham J. A., Calvin M. The path of carbon in photosynthesis. N. Y., 1957. Becker R. S., Kasha M. J. Amer. Chem. Soc., 1955, 77. Bergeron J. A. Brookhaven Symp. in Biol., 1959, № 11. Bishop N. I. Proc. Nat. Acad. USA, 1958, 44; Brookhaven Symp. in Biol., 1959, № 11. Bogorad L., Pires G., Swift H., McIlrath J. A. Brookhaven Symp. in Biol., 1959, № 11. Brill C. Biochim. et Biophys. Acta, 1958, 29. Brody S. S. Science, 1958, 128; J. Am. Chem. Soc., 1960, 82. Brody S. S., Brody M. Arch. Biochem. a. Biophys., 1959, 82. Brody S. S., Newell G., Caster T. J. Phys. Chem., 1960, 64. Brody S. S., Rabinowitch E. Science, 1957, 125. Brown J. S., French C. S. Plant Physiol., 1959, 34. Calvin M. Brookhaven Symp. in Biol., 1959, № 11. Calvin M., Sogo P. B. Science, 1957, 125. Chance E., Nishimura N. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 1960, 46. Clendenning K. A. Ann. Rev. Plant Physiol., 1957, 8. Coleman I. W., Holt A. S., Rabinowitch E. Science, 1956, 123. Coleman I. W., Rabinowitch E. J. Phys. Chem., 1959, 63. Commoner B., Heise J. J., Lippicott B. B., Norberg R. E., Passonneau J. V., Townsend J. Science, 1957, 126. Commoner B., Heise J. J. a. Townsend J. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 1956, 42. Doman N. G. Proc. Int. Bot. Congr. 9-th Congr., Montreal, Canada, 1958, 94. Donnay G. Arch. Biochem. a. Biophys., 1959, 80. Duysens L. N. M. Nature, 1951, 168; Sciens, 1954, 120. Duysens L. N. M. Pes. in Photosynthesis, 164. Int. Sci., Publ. Inc., N. Y., 1957. Duysens L. N. M. a. Ames J. Biochim. et Biophys. Acta, 1957, 24. Emerson R. Ann. Rev. Plant Physiol., 1958, 9. Emerson R., Chalmers R., Cederstrand C. Proc. Nat. Acad. Sci., 1957, 43. Emerson R. L., Staffer J. F. a. Umbreit W. W. Amer. J. Bot., 1944, 31. Fogelsrom-Finemann I., Holm-Hansen O., Tolbert M. B., Calvin M. Int. J. Appl. Radiat. a. Isotopes, 1957, 2. Franck J. Res. in Photosynthesis, 142. Int. Sci. Publ. Inc., N. Y., 1957; Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 1958, 44. Franck J., Livingston R. J. Chem. Phys., 1941, 9. French C. S. J. Gen. Physiol., 1940, 23; Handb. der Pflanzenphysiol. Springer-Verlag, Berlin—Göttingen—Heidelberg, 1960, 5, T. 1; Brookhaven Symp. in Biol., 1959, № 11. French C. S., Church A. B. Carnegie Inst. Wash. Year-Book, 1954—1955, 54. French C. S., Elliott R. F. Carnegie Inst. Wash. Year-Book, 1957—1958, 57. French C. S., Huang H. S. Carnegie Inst. Wash. Year-Book, 1956—1957, 56. French C. S., Young V. K. J. Gen. Physiol., 1952, 35. Frenkel A. W. J. Biol. Chem., 1956, 222; J. Amer. Chem. Soc., 1958, 80; Ann. Rev. Plant Physiol., 1959, 10. Fujumori E., Livingston R. Nature, 1957, 180. Fuller R. C. Proc. Int. Bot. Congr. 9-th Congr., Montreal, Canada, 1959, 125. Caffron H., Rosenberg J. Naturwiss., 1955, 42. Goedheer J. C. Optical properties and in vivo orien-

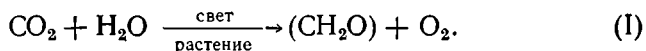
tation of photosynthetic pigments. Doctoral thesis, Univ. of Utrecht, 1957; Carnegie Inst. Wash. Year-Book, 1957—1958, 57; Biochim. et Biophys. Acta, 1958, 27. Good N., Hill R. Arch. Biochem. a. Biophys., 1955, 57. Govindjee, Rabinowitch E. Science, 1960, No 132. Hendrich W. Roczniki chemii, 1958, 32. Hill R. Adv. in Enzymol., 1951, 12. Hill R., Walker D. A. Plant Physiol., 1959, 34. Holt A. S. Res. in Photosynthesis, 37. Int. Sci. Publ. Inc., N. Y., 1957. Holt A. S., Jacobs E. E. Amer. J. Bot., 1954, 41. Jacobs E. E., Holt A. S., Kromhout R., Rabinowitch E. Arch. Biochem. a. Biophys., 1957, 72. Jacobs E. E., Holt A. S., Rabinowitch E. J. Chem. Phys., 1954, 22. Jacobs E. E., Vatter A. E., Holt A. S. Arch. Biochem. a. Biophys., 1954, 53. Jagendorf A. T. Brookhaven Symp. in Biol., 1959, № 11. Jagendorf A. T., Avron M. J. Biol. Chem., 1958, 231. Kamen M. D. Res. in Photosynthesis, 149. Int. Sci. Publ. Inc., N. Y., 1957. Kandler O. Ztschr. Naturforsch., 1950, 56. Katz E., Wassink E. C. Enzymol., 1939, 7. Kessler E. Res. in Photosynthesis, 243. Int. Sci. Publ. Inc., N. Y., 1957. Kok B. Biochim. et Biophys. Acta, 1956, 22; Plant Physiol., 1959, 34. Komen J. G. Biochim. et Biophys. Acta, 1956, 22. Krasnovsky A. A. Ann. Rev. Plant. Physiol., 1960, 11. Lane G. A., Dole M. Science, 1956, No. 123. Larsen H. Kgl. Norske Videnskab. Selskabs, Forh. Skrifter, 1953, 1. Latimer P. Plant Physiol., 1959, № 34. Latimer P., Rabinowitch E. Res. in Photosynthesis, 100. Int. Sci. Publ. Inc., N. J. 1957. Latimer P., Smith J. H. C. Carnegie Inst. Wash. Year-Book, 1957—1958, 57. Lewis G. N., Kasha M. J. Amer. Chem. Soc., 1944, 66. Linschitz H., Abrahamson E. W. Res. in Photosynthesis, 31. Int. Sci. Publ. Inc., N. Y., 1957. Linschitz H., Rennert J. Nature, 1952, 169. Linschitz H., Weissman S. I. Arch. Biochem. a. Biophys., 1957, 67. Livingston R. J. Phys. Chem., 1941, 45; 1948, 52; Res. in Photosynthesis, 3. Int. Sci. Publ. Inc., N. Y., 1957. Livingston R., Pariser R. J. Amer. Chem. Soc., 1948, 70. Livingston R., Pugh A. C. P. Nature, 1960, 186. Livingston R., Ryan V. J. Amer. Chem. Soc., 1953, 75. Löffler J. E. Carnegie Inst. Wash. Year-Book, 1954—1955, 54. Lynch V. H., French C. S. Carnegie Inst. Wash. Year-Book, 1954—1955, 54; Arch. Biochem. a. Biophys., 1957, 70. Metzner H., Simon H., Metzner B. Ztschr. Naturforsch., 1958, 136. Moses V., Calvin M. Biochim. et Biophys. Acta, 1958, 28. Myers J. a. French C. S. Carnegie Inst. Wash. Year-Book, 1958—1959, 58. Nelson R. C. J. Chem. Phys., 1957, 27. Nichiporovich A. A. Proc. Int. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy № 12. Geneva, 1955. Nichiporovich A. A., Andreyeva T. F., Voskresenskaya N. P. Nesgovorova L. A., Novitsky U. Y. Proc. UNESCO. Int. Conf., Paris, 1957. Nichiporovich A. A., Voskresenskaya N. P. Proc. Int. Bot. Congr. 9-th Congr., Montreal, Canada, 1959. Norris T. H., Ruben S. a. Allen M. B. J. Amer. Chem. Soc., 1942, 64. Olson R. A., Engel E. K. Brookhaven Symp. in Biol., 1959, № 11. Oster G. Res. in Photosynthesis, 50. Int. Sci. Publ. Inc., N. Y., 1957. Porret D., Rabinowitch E. Nature, 1937, 140. Rabinowitch E. J. Phys. Chem., 1957, 61. Rabinowitch E., Jacobs E. E., Holt A. S., Kromhout R. Ztschr. Physik, 1952, 133. Rabinowitch E., Weiss J. Proc. Roy. Soc., 1937, 162. Rackow B., König H. Ztschr. Elektrochem., 1958, 62. Ruben S. J. Amer. Chem. Soc., 1943, 65. Sager R. Brookhaven Symp. in Biol., 1959, № 11. San Pietro A., Lang H. M. Science, 1956, 124; J. Biol. Chem., 1958, 231. Shibata K. J. Biochem (Tokyo), 1957, 44. Sironval C., Kandler O. Biochim. et Biophys. Acta, 1958, 29. Smith J. H. C. Plant Physiol., 1954, 29. Brookhaven Symp. in Biol., 1959, № 11. Smith J. H. C., Benitez A. Carnegie Inst. Wash. Year-Book, 1952—1953, 52. Smith L., Chance B. Ann. Rev. Plant Physiol., 1958, 9. Smith J. H. C., French C. S. Carnegie Inst. Wash. Year-Book, 1957—1958, 57. Smith J. H. C., Kupke D. W. Nature, 1956, 178. Sogo P. B., Jost M., Calvin M. Ra-

diol. Res., 1959, 1. Sogo P. B., Pon N. G., Calvin M. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 1957, 43. Stanier R. J. Brookhaven Symp. in Biol., 1959, N. 11. Strehler B. L., Arnold W. J. Gen. Physiol., 1951, 34. Strehler B. L. Lynch V. Arch. Biochem. a. Biophys., 1957, 70. Stupp R., Kuhn H. Helv. chim. Acta, 1952, 35. Sysakjan N. M. Adv. in Enzymol., 1958, 20. Szwarc M. J. Polymer Sci., 1955, 16. Takashima S. Nature, 1952, 169. Tamiko-oh-Hama, Miyachi S. Biochim. et Biophys. Acta, 1959, 34. Tamiko-oh-Hama, Miyachi S., Teruya H. Proc. Int. Bot. Congr. 9-th Congr., Montreal, Canada, 1959. Terenin A. N. Acta physico-chimica, V.R.S.S., 1943, 18; Discus. of Faraday Soc., 1959. Tollin G., Calvin M. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 1957, 43. Tollin G., Fujumori E., Calvin M. Nature, 1958, 181; Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 1958, 44. Tolmach L. Nature, 1951, 167. Trurnit H. J., Colmano G. Biochim. et Biophys. Acta, 1959, 31. Vermeulen D., Wassink E. C., Reman H. Enzymologia, 1937, 4. Vernon L. P., Hobbs M. O. Arch. Biochem. a. Biophys., 1957, 72. Vernon L. P., Ihnen E. D. Biochim. et Biophys. Acta, 1957, 24. Virgin H. I. Physiol. Plantarum, 1960, 13. Virgin N. V. Physiol. Plantarum, 1955, 8. Vishniac W. Proc. Int. Bot. Congr. 9-th Congr., Montreal, Canada, 1959. Vishniac W., Ochoa S. Nature, 1951, 167; J. Biol. Chem., 1952, 195. Vishniac W., Rose J. A. Nature, 1958, 182. Warburg O. Naturwiss., 1955, 42. Warburg O., Krippahe G., Schröder W. Ztschr. Naturforsch., 1955, 106. Wassink E. C., Katz E., Dorrenstein R. Enzymologia, 1942, 10. Wassink E. C., Wintermans I. F., Tjia I. E. Proc. Acad. Sci., Amsterdam, 1949, 52; 1951, 54. Weigl J. W. J. Amer. Chem. Soc., 1952, 75. Weiss J. Trans. Faraday Soc., 1936, 32; Biochim. et Biophys. Acta, 1957, 25; 1958, 29. Wettstein, D. Brookhaven Symp. in Biol., 1959, N. 11. Willstätter R., Stoll A. Untersuchungen über chlorophyll. Berlin, 1913. Witt H. T. Ztschr. Electrochem., 1955, 59; Res. in Photosynthesis, 75. Int. Sci. Publ. Inc., N. Y., 1957. Witt H. T., Moraw R., Müller A. Ztschr. Naturforsch., 1958, 13b. Wolf J., Price L. Arch. Biochem. a. Biophys., 1957, 72. Wolken J. J. Brookhaven Symp. in Biol., 1959, N. 11. Wolken J. J., Mellon A. D. Biochim. et Biophys. Acta, 1957, 25. Yocum C. S., Blinks L. R. J. Gen. Physiol., 1958, 41. Zill L. P., Colmano G., Trurnit H. J. Science, 1958, 128.

БИОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ФОТОСИНТЕЗА

Фотосинтез представляет собой сложный процесс, при котором зеленые растения превращают световую энергию в химическую, запасая в виде разнообразных органических соединений. Изучение природы этого процесса требует знаний, поступающих с обширного фронта науки от физики до биологии включительно и особенно с мало разработанных ее участков — смежных областей наук.

Хотя фотосинтез обычно называют процессом, но в действительности он представляет собой физиологическую функцию, осуществляемую растительными организмами при определенных условиях. Однако непосредственную основу этой функции составляет система строго координированных биохимических процессов, тесно связанных со всем обменом веществ растения. Эта система процессов обычно схематически выражается следующим общим уравнением:



Приведенное уравнение представляет собой суммарную окислительно-восстановительную реакцию, в результате которой один из исходных продуктов — углекислота — восстанавливается, в то время как другой продукт — вода — окисляется.

Такую точку зрения на фотосинтез как на сопряженный окислительно-восстановительный процесс впервые выдвинул А. Н. Бах еще в 1893 г., и теперь она общепринята. Еще ранее, в 1874 г., К. А. Тимирязев высказал предположение о химических окислительно-восстановительных превращениях хлорофилла при фотосинтезе, которое нашло полное подтверждение и развитие в исследованиях советских ученых А. Н. Теренина (1951), А. А. Красновского (1960) и В. Б. Евстигнеева (1956). Сопряженный окислительно-восстанови-

тельный характер фотосинтеза становится еще более очевидным при детальном рассмотрении отдельных звеньев в цепи реакций, составляющих этот процесс.

С известной степенью условности фотосинтез можно представить разделенным на следующие основные стадии.

1. Поглощение квантов света пигментной системой растений.

2. Фотобиохимические цепи реакций, ведущие к преобразованию поглощенной световой энергии в химическую в форме таких соединений, как АТФ и восстановленных фосфолипидинуклеотидов, являющихся физиологически легко доступной «валютой» клеточной энергетики.

3. Использование химической энергии соединений, образовавшихся с участием фотохимических реакций, для фиксации и восстановления углекислоты или на другие процессы.

4. Вторичные синтезы органических веществ за счет прямых продуктов восстановительного углеродного цикла, включающихся в различные процессы обмена веществ.

Первая и вторая из этих стадий подробно рассмотрены в предыдущей главе, посвященной вопросам фотохимии фотосинтеза. Две последние стадии, которые в основном включают энзиматические процессы, связанные с ассимиляцией углерода, рассматриваются в этой главе.

Необходимо, однако, отметить, что в фотосинтезирующем организме фотохимические реакции непосредственно связаны с энзиматическими и должны рассматриваться также и в биохимическом аспекте. Поэтому в этой главе могут рассматриваться и некоторые вопросы, относящиеся ко второй из указанных стадий.

СООТНОШЕНИЕ СВЕТОВОЙ И ТЕМНОВОЙ ФАЗ ФОТОСИНТЕЗА

Блекман (Blackman, 1905) заметил, что за известными пределами насыщения фотосинтез нельзя ускорить ни дальнейшим усилением света, ни повышением концентрации CO_2 . В этих условиях скорость фотосинтеза лимитируется зависящим от температуры темновым процессом, получившим название «реакции Блекмана».

Изменяя условия прерывистого освещения, Эмерсон и Арнольд (Emerson, Arnold, 1932) определили продолжительность световой и темновой фаз фотосинтеза. Оказалось, что при чередовании промежутков света продолжительностью примерно 0,00001 сек и темноты продолжительностью от 0,04 сек (для 25°C) до 0,4 сек (для 1°) выход фотосинтеза на единицу поглощенной энергии света во много раз более эффективен, чем при непрерывном освещении. Очевидно, та-

кой короткой вспышки достаточно для поглощения квантов света и осуществления быстрых фотохимических реакций. В более продолжительный темновой период, следующий за вспышкой, ферментные системы используют образовавшиеся фотопродукты и успевают освободиться для переработки новых порций.

Ясно, что изложенные представления имеют довольно схематический характер, так как в реальном процессе фотосинтеза взаимосвязаны многие последовательные и параллельные цепи реакций, о механизме которых известно еще очень мало.

Известно, что в фотосинтезирующем организме осуществляются различные фотохимические реакции. Но большинство из них к процессу фотосинтеза, по-видимому, имеют косвенное отношение. Примером такой побочной фотохимической реакции может служить образование хлорофилла из протохлорофилла. Основной же процесс фотосинтеза не вполне согласуется с обычным представлением об одной фотохимической реакции, лежащей в его основе. Существуют указания, что фотосинтез определяется двумя различными фотохимическими реакциями. Френч и Фок (French, Fork, 1961) получили убедительные данные, которые говорят о наличии двух первичных фотохимических реакций, осуществляемых в процессе фотосинтеза различными пигментными системами красных водорослей. Эти данные были подтверждены другими исследователями. Таким образом, представления о двух самостоятельных фотохимических реакциях, определяющих процесс фотосинтеза, получили общее признание.

О темновых реакциях фотосинтеза следует сказать, что термин «реакция Блекмана» хотя иногда еще и встречается в литературе, но под ним понимают совокупность всех энзиматических темновых реакций, сопряженных с фотохимическими превращениями, образующих много разветвленных цепей.

В настоящее время отдельные цепи реакций фотосинтеза удалось вычленить и изучить. Важнейшими среди них являются: а) фотоокисление воды и выделение кислорода; б) фотосинтетическое фосфорилирование; в) фиксация и восстановление углекислоты.

ПРОДУКТЫ АССИМИЛЯЦИИ CO_2 ПРИ ФОТОСИНТЕЗЕ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОНЯТИЯ И КЛАССИФИКАЦИЯ ПРОДУКТОВ ФОТОСИНТЕЗА

Фотосинтез является одной из основных жизненных функций растительного организма. В конечном итоге из углекислоты и воды с участием других элементов минерального пи-

тания образуются разнообразные органические вещества тела растения. Ясно, что не все органические вещества, входящие в состав растения, являются непосредственными продуктами фотосинтеза. Следует отметить, что понятие «продукт фотосинтеза» содержит неизбежную условность. Это объясняется прежде всего тем, что фотосинтез представляет собой чрезвычайно сложную систему процессов, включающую разветвленные цепи многих реакций. Продукты, возникающие в результате каждой из этих реакций, в том числе фотохимических, безусловно могут рассматриваться как продукты фотосинтеза. В их число будут входить не только первичные, промежуточные и конечные продукты ассимиляции углекислоты, но и продукты фотохимических превращений хлорофилла, фотодиссоциации воды, фотофосфорилирования и других процессов.

Поскольку фотосинтез теснейшим образом связан с дыханием, обменом азота, фосфора, серы и другими процессами обмена веществ, то многообразные органические соединения, образующиеся в результате этих процессов, в большей или меньшей мере могут также рассматриваться как продукты фотосинтеза.

Чаще всего под продуктами фотосинтеза подразумевают продукты ассимиляции углекислоты. Однако и здесь необходимо иметь в виду, что есть разные виды фиксации CO_2 : световая и темновая.

Световая, или фотосинтетическая, фиксация CO_2 — это интенсивный процесс поглощения углекислоты, идущий в результате темновых реакций фотосинтеза с образованием обычных его продуктов. Фотосинтетическая фиксация CO_2 у растений может продолжаться в течение нескольких секунд или даже минут и после выключения света. Этот ранее замеченный факт был дополнен важным наблюдением Бенсона и Кальвина (Benson, Calvin, 1950), установившими, что продукты фиксации меченой углекислоты, образующиеся в темноте после предварительного освещения растений, близки по своему составу тем продуктам, которые образуются при освещении.

После выключения света соотношение между реакциями резко изменяется, пока не будет достигнута согласованность, характерная для процессов, происходящих в темноте. В соответствии с этим выключение света быстро сказывается как на количестве поглощенного CO_2 , так и на качестве образующихся продуктов.

Темновое поглощение углекислоты, осуществляемое не только листьями, но и другими органами растений, обычно идет со скоростью в 10, 100 и даже в 1000 раз меньшей, чем фотосинтетическая фиксация CO_2 . По составу образующихся продуктов темновая фиксация углекислоты сильно отличает-

ся от световой. Темновая фиксация CO_2 осуществляется главным образом через реакцию β -карбоксилирования и ведет к образованию продуктов, связанных с дыхательным циклом Кребса (Krebs, Johnson, 1937).

Существует мнение, что под продуктами фотосинтеза следует понимать те продукты, которые образуются в результате ассимиляции CO_2 в хлоропластах. Такое определение также не может считаться вполне удовлетворительным потому, что, во-первых, у некоторых фотосинтезирующих организмов, например у сине-зеленых водорослей, нет хлоропластов (Thomas, Minnaert, Elbers, 1956). Во-вторых, часть продуктов фотосинтеза, образующихся в хлоропластах, может быстро выходить из них. Наконец, сама по себе одна лишь локализация продукта не может служить исчерпывающим критерием, характеризующим его происхождение, так как в любом месте клетки наряду с процессами ассимиляции идут процессы диссимиляции и одни и те же вещества могут быть результатом различных процессов.

Таким образом, дать исчерпывающее определение продуктам фотосинтеза очень трудно. В самом общем виде можно сказать, что продуктами фотосинтеза являются те вещества, которые синтезируются в клетке за счет химической энергии и превращения соединений, образовавшихся в результате фотохимических реакций. Но к такому определению всегда необходимо дополнительное пояснение и конкретизация.

ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ КОЭФФИЦИЕНТ

Говоря о продуктах фотосинтеза, обычно имеют в виду прямые продукты ассимиляции углерода, образование которых непосредственно связано с процессом фотосинтеза. Поскольку состав продуктов зависит от баланса веществ, участвующих в реакциях, а классическим проявлением фотосинтеза всегда считалось поглощение CO_2 и выделение кислорода, то нет ничего удивительного в том, что на основе количественной оценки газообмена делали многочисленные попытки охарактеризовать природу продуктов фотосинтеза. Эти попытки сводились к определению истинного отношения количества выделяющегося кислорода к количеству поглощенной углекислоты у различных растений, т. е. к определению коэффициента фотосинтеза:

$$Q_{\text{ф}} = \frac{\Delta \text{O}_2}{-\Delta \text{CO}_2}. \quad (\text{II})$$

Полученные результаты старались сопоставить с данными химического анализа прироста органического вещества за время опыта. Разумеется, что при определении величины

фотосинтетического коэффициента необходимо учитывать дыхание и влияние индукционного периода фотосинтеза. Эти обстоятельства делают определение истинного коэффициента фотосинтеза не таким легким, как может показаться вначале. В подавляющем большинстве опытов коэффициент фотосинтеза был равен единице или был очень близок к единице. Однако детальный анализ литературных данных, проведенный В. О. Таусоном (1950), убедительно показал, что фотосинтетический коэффициент у целого ряда растительных организмов существенно отклоняется от единицы и вообще не является величиной постоянной даже для одного и того же растения.

В самом деле, фотосинтетический коэффициент может служить лишь показателем, характеризующим средний элементарный состав веществ, синтезируемых растением. Тот факт, что в большинстве случаев значение коэффициента равняется единице, свидетельствует об образовании углеводов, являющихся главной составной частью тела растения, или других веществ, элементарный химический состав которых удовлетворяет общему уравнению реакции фотосинтеза (I).

Таким образом, фотосинтетический коэффициент может до некоторой степени характеризовать процесс фотосинтеза, но мало что дает для выяснения природы образующихся продуктов.

НОВЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ХИМИЗМА ФОТОСИНТЕЗА

За последние 20 лет в наших представлениях о фотосинтезе произошел коренной перелом. Этот перелом обусловлен бурным развитием биохимии и тесно связан с широким использованием метода меченых атомов, хроматографии, электрофореза и других современных методов исследования. Пожалуй, наиболее крупные успехи в развитии биохимии фотосинтеза, связанные с применением этих методов, были достигнуты в исследовании пути ассимиляции углерода.

Кратко познакомимся с сущностью важнейших из этих методов.

Метод меченых атомов¹. В основе метода меченых атомов лежит взаимозаменяемость изотопов, поскольку их химические свойства определяются строением электронной оболочки атомов, одинаковой у различных изотопов данного элемента.

¹ Обстоятельное изложение основных приемов изотопной методики в биохимических исследованиях можно найти в монографии Аронова (Aronoff, 1959), а также в брошюре О. В. Заленского, О. А. Семихатовой и В. Л. Вознесенского (1955).

Различия в атомном весе изотопов могут оказывать влияние лишь на скорость реакций. Поскольку биохимические процессы состоят из многих элементарных реакций, указанные различия будут суммироваться, являясь причиной так называемой «изотопной дискриминации», т. е. преимущественного включения одного изотопа по сравнению с другим. Для таких изотопов, как C^{11} , C^{12} , C^{13} , C^{14} , или O^{16} , O^{17} , O^{18} , у которых относительная разница атомных весов невелика, «изотопная дискриминация» на результатах биохимических опытов практически не сказывается.

Для изотопов водорода H, D и T, у которых относительная разница атомных весов очень резкая, «изотопная дискриминация» будет огромной, и поэтому к результатам опытов, полученным с помощью этих изотопов, нужно относиться с большой осторожностью. Помимо «изотопной дискриминации» при использовании методики меченых атомов необходимо также учитывать возможность других изотопных эффектов, в частности возможные реакции изотопного обмена.

Рубен, Хассид и Камен (Ruben, Hassid, Kamen, 1939) первыми применили технику меченых атомов для исследования химизма ассимиляции углерода. После экспозиции листьев ячменя в присутствии $C^{11}O_2$ они нашли радиоактивность в углеводах. Фотосинтетические опыты с применением радиоактивного углерода C^{11} носили ориентировочный характер и, несмотря на исключительно высокую чувствительность метода, были связаны с большими трудностями, так как период полураспада этого изотопа равен всего лишь 22 мин.

Спустя несколько лет был получен исключительно удобный для биохимических исследований долго живущий радиоактивный изотоп углерода C^{14} . Началась своего рода «изотопная горячка», когда исследователи с помощью нового метода стремились ставить разведочные опыты в самых различных направлениях. Почти каждое хорошо продуманное исследование давало новые, принципиально важные и часто неожиданные результаты. Метод позволял шаг за шагом уверенно продвигаться вперед, выясняя внутренний механизм сложнейших биохимических процессов. В первые годы распространения изотопного метода не обошлось, конечно, без чрезмерных увлечений, когда недостаточно обоснованное применение этого метода приводило к еще менее обоснованным выводам.

Сама техника постановки фотосинтетических экспериментов с помощью метода меченых атомов несложная.

Исследуемый объект фотосинтезирует в среде, содержащей C^*O_2 , $NaHC^*O_3$, H^*_2O , CO^*_2 или любое другое меченое соединение. В подобных опытах вполне возможно также комбинированное использование разных изотопов. Продолжи-

тельность экспозиции и другие условия эксперимента определяются тщательно разработанным планом. На всем протяжении опыта для объекта должны быть обеспечены нормальные физиологические условия. После экспозиции растения фиксируют, разрушая ферменты, и материал подвергают различным приемам химического анализа.

Способ фиксации материала имеет важнейшее значение, так как жесткие воздействия могут разрушить лабильные промежуточные продукты и вызвать перераспределение изотопа, т. е. артефакт. В зависимости от цели опыта материал можно фиксировать горячим способом, погружая в кипящий спирт, воду, или холодным, используя жидкий азот, охлажденный спирт, ацетон и другие растворители.

В ходе аналитической процедуры с помощью изотопного счетчика определяют содержание изотопа в выделенных фракциях и индивидуальных веществах. Заключительной стадией является математическая обработка полученных данных, которая также несложна, но имеет свою специфику.

Приборы и приспособления для проведения фотосинтетических опытов с помощью метода меченых атомов разнообразны. Существенное значение имеет устройство прибора для экспозиции. Например, Кальвин с сотрудниками, работая с фотосинтезирующими зелеными водорослями, обычно вводил изотопный раствор $\text{NaHC}^{14}\text{O}_3$ в суспензию водорослей, которая течет по стеклянному змеевику. Продолжительность экспозиции можно варьировать, изменяя расстояние по трубке змеевика от места введения изотопа до приемника, в котором фиксируется вытекающий материал (рис. 44).

При работе с высшими растениями очень удобно устройство, которым пользовался Н. Г. Доман (1958). Отрезанный лист растения немедленно помещался в тонкую сеточку (держатель) и быстро вводился в плавающую над ртутью стеклянную камеру, содержащую C^{14}O_2 в воздухе (рис. 45). В камере лист определенное время продолжал фотосинтез, после чего фиксировался быстрым погружением в жидкий азот или в какой-либо сильно охлажденный растворитель. С помощью такой камеры можно легко осуществлять короткие секундные экспозиции в условиях, весьма близких к условиям стационарного фотосинтеза, и изучать последовательность вхождения изотопа в различные соединения.

Метод хроматографии¹. В биохимии наибольшее распространение получил метод распределительной хроматографии на бумаге. Эта форма метода была предложена Кенсденом,

¹ Теоретические основы и практическое использование метода изложены в ряде специальных монографий (Шемякин, Мицеловский, Романов, 1955; Block, Lestrade, Zweig, 1954; Hais, Mecek, 1959) и в многочисленных обзорах.

Гордоном и Мартином в 1944 г. для разделения и определения аминокислот. Однако за очень короткое время было показано, что метод не только вполне пригоден для определения многих других классов соединений, но позволяет осуществить практически полное разделение любой смеси веществ; для определения достаточно ничтожно малого количества материала. По этим причинам метод хроматографии на бумаге оказался незаменимым при исследовании промежуточных продуктов фотосинтеза.

Разделение веществ при помощи распределительной хроматографии на бумаге основано на различии значений коэффициентов распределения разделяемых веществ между двумя несмешивающимися жидкими фазами. Одной из жидких фаз обыч-

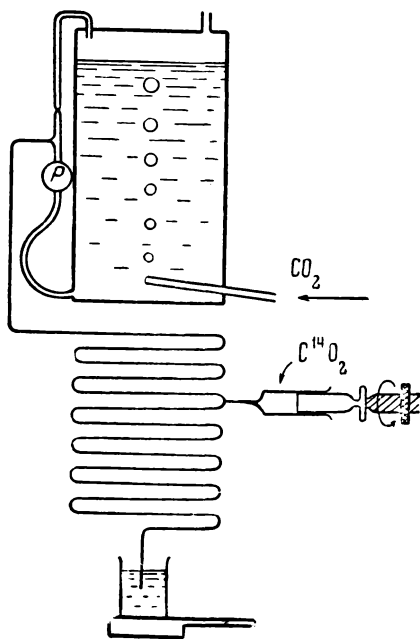


Рис. 44. Схема установки для опытов с водорослями

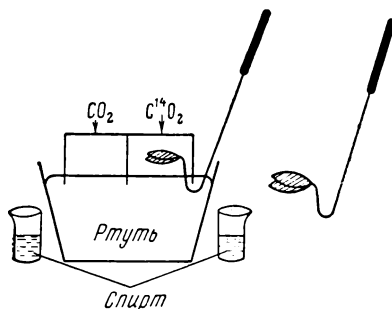


Рис. 45. Схема установки для опытов с листьями

но является вода, другой — органический растворитель, например фенол, бутанол и т. д. Обе фазы взаимонасыщены.

Так как фильтровальная бумага прочно удерживает большое количество воды, то такая бумага, помещенная в хроматографическую камеру, насыщенную парами воды и растворителя, представляет неподвижную водную фазу. Органический растворитель, протекая по фильтровальной бумаге, как по фитилю, является подвижной фазой.

Разделяемую смесь веществ в растворе наносят в виде пятнышка на фильтровальную бумагу вблизи ее края. При проявлении хроматограммы подвижная фаза, т. е. растворитель, медленно продвигается по бумаге, постепенно увлекая разделяемые вещества. Коэффициенты распределения веще-

ства между водой и растворителем различны. Они определяются свойствами и структурой веществ. Поэтому продвижение каждого вещества по бумаге будет строго закономерно. Чем ниже значение коэффициента распределения, т. е. чем хуже вещество растворяется в водной фазе, тем лучше оно растворяется в органическом растворителе и дальше продвигается по бумаге.

Отношение расстояния, на которое продвинулись вещества, к расстоянию, пройденному растворителем, или так называемый коэффициент R_f , является хроматографической характеристикой, по которой ориентировочно можно идентифицировать вещество.

После проявления хроматограммы ее высушивают для работы по дальнейшей идентификации разделенных веществ. Но заметить вещество на хроматограмме можно лишь тогда, если оно в какой-то степени окрашено. Чтобы обнаружить разделенные вещества, хроматограмму обычно опрыскивают раствором специального индикатора, который дает качественную цветную реакцию, обнаруживающую искомое вещество в виде пятна. Например, органические кислоты можно обнаружить, опрыскивая хроматограмму раствором бромфенол-блау, аминокислоты — при помощи нингидрина и т. д.

Н. Г. Доманом (1955) разработана специальная методика, которая путем последовательного опрыскивания индикаторами позволяет обнаруживать на одной хроматограмме соединения различных классов, что особенно удобно при исследовании продуктов фотосинтеза.

Описанным выше способом получают так называемые одномерные хроматограммы, в которых разделенные вещества последовательно располагаются в направлении движения растворителя по линии. Если же анализируемую смесь нанести в угол листа фильтровальной бумаги и после проявления хроматограммы в одном растворителе через нее в перпендикулярном направлении пропустить второй растворитель, то пятна веществ будут распределены уже по площади листа бумаги. В этом случае получается двухмерная хроматограмма. На таких хроматограммах можно гораздо лучше разделять вещества, чем на одномерных. Для двухмерных хроматограмм обычно подбирают такие системы растворителей, которые существенно отличаются друг от друга. Например, в первом направлении пропускают нейтральную систему растворителей: фенол — вода, а во втором — кислую систему растворителей: бутанол — уксусная кислота — вода и т. д.

Радиохроматографический метод. Хроматографический метод анализа, позволяющий сравнительно просто осуществить полное разделение принципиально любой смеси веществ, приобретает новые широкие возможности при его сочетании с методом радиоактивных индикаторов. Комбинированное

применение этих методов в биохимии особенно перспективно при исследовании закономерностей обмена веществ, в частности при исследовании фотосинтеза растений. Известно, что то или иное биохимическое превращение веществ в организме происходит не по одному механизму, а осуществляется разнообразными путями в зависимости от условий. Эта особенность биохимических превращений предъявляет новое требование к методике исследований, которое заключается в не-

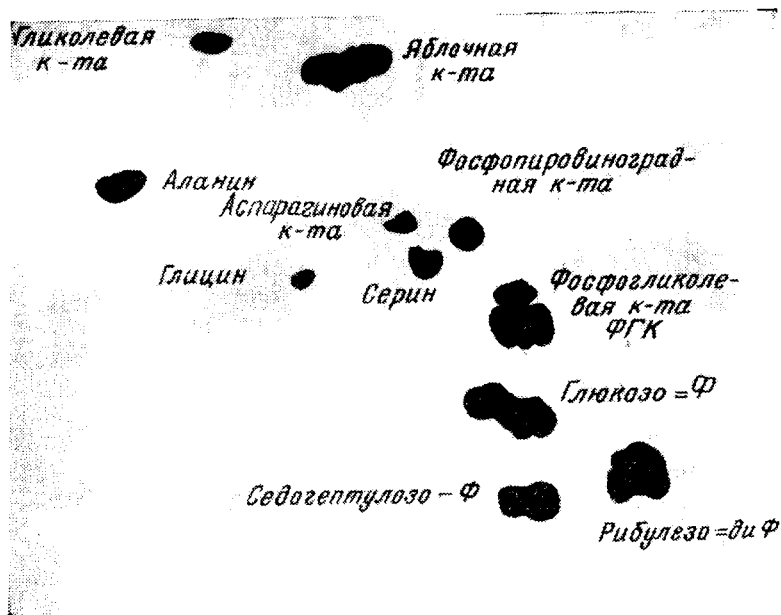


Рис. 46. Типичная радиоавтограмма продуктов фотосинтеза по Кальвину

обходимости учета всей совокупности веществ системы, а не какой-либо одной их группы. Если при фотосинтезе использовался радиоактивный изотоп углерода C^{14} , то существенная часть задачи исследователя сводится к обнаружению всех образовавшихся меченых продуктов. Это лучше всего можно сделать при помощи радиоавтографии, которая выполняется следующим образом.

Смесь веществ, в которой содержатся радиоактивные продукты фотосинтеза, тщательно разделяют на бумажной хроматограмме. Затем хроматограмму в темноте накрывают рентгеновской пленкой и помещают в кассету, плотно прижимая. Контакт продолжается несколько дней или дольше в зависимости от степени радиоактивности пятен на хромато-

граммах. За время контакта радиоактивное излучение разлагает хлористое серебро рентгеновской пленки. После проявления пленки получается радиоавтограф с изображением черных пятен, которые по положению и интенсивности соответствуют радиоактивным пятнам на хроматограмме (рис. 46).

Обозначенные на хроматограмме радиоактивные пятна могут быть вырезаны и экстрагированы для идентификации веществ различными химическими методами. Одним из простых приемов идентификации является перехроматографирование исследуемого вещества совместно с предполагаемым веществом (свидетелем). Разумеется, что совпадение веществ при перехроматографировании еще не может считаться за окончательную идентификацию.

ФИКСАЦИЯ И ВОССТАНОВЛЕНИЕ CO_2 ПРИ ФОТОСИНТЕЗЕ

ФОСФОГЛИЦЕРИНОВАЯ КИСЛОТА — ПЕРВЫЙ СТОЙКИЙ ПРОДУКТ ФОТОСИНТЕЗА

Уже первые исследования фотосинтеза комбинированным методом меченых атомов и хроматографии, начатые Кальвином с сотрудниками в 1948 г., дали важные результаты, показавшие, что за сравнительно короткое время фотосинтетической ассимиляции C^{14}O_2 зелеными водорослями (1 мин и меньше) радиоактивный углерод входит в большое число самых разнообразных соединений. Эти результаты указывали на теснейшую связь фотосинтеза с другими процессами обмена веществ в растительных организмах. Среди обнаруженных соединений было много органических соединений фосфора, сахара, аминокислоты, кислоты и пр. При сокращении времени экспозиции до нескольких секунд количество меченых соединений уменьшалось, а относительная радиоактивность преобладала в фосфорных эфирах сахаров и особенно в фосфоглицериновой кислоте. Так, например, при фотосинтезе зеленой водоросли *Scenedesmus* в течение 5 сек 87% всей радиоактивности было найдено в фосфоглицериновой кислоте, 10% — в фосфопировиноградной и 3% — в яблочной кислотах.

Экстраполяция к нулевому времени показывала возрастание относительной радиоактивности фосфоглицериновой кислоты. Однако она никогда не составляла 100%. На основании результатов этих опытов Кальвин с сотрудниками пришел к заключению, что фосфоглицериновая кислота является первым видимым продуктом фотоассимиляции CO_2 . Этот вывод первоначально хотя и находился в противоречии с данными многих авторов, но после был подтвержден результатами подавляющего большинства исследователей. Можно было

предполагать, что указанные противоречия в основном объясняются различиями в условиях опытов и объектах исследований. Но до тех пор, пока авторы оперировали данными разрозненных опытов, в которых доминировала радиоактивность того или иного продукта, а кинетика процесса была изучена очень мало, ничего нельзя было сказать о том, насколько расхождения результатов закономерны.

ЕДИНСТВО И ОСОБЕННОСТИ ПУТИ АССИМИЛЯЦИИ УГЛЕРОДА РАЗЛИЧНЫМИ ТИПАМИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ

При изучении фотосинтеза изотопной методикой прежде всего возник вопрос, как происходит ассимиляция углекислоты: одним и тем же путем у всех фотосинтезирующих организмов или же разными путями (включая первый продукт фиксации CO_2)? Ведь в течение нескольких лет использования этой методики для исследования продуктов фотосинтеза данные о фосфоглицериновой кислоте как первом продукте фотосинтеза ограничивались лишь несколькими объектами, среди которых были одноклеточные водоросли *Chlorella*, *Scenedesmus* и ячмень. Опыты с листьями сои при секундных экспозициях привели Аронова (Аропов, 1951) к выводу, что первым продуктом фотосинтеза является свободная глицериновая кислота, образующаяся независимо от 2-, 3- и дифосфоглицериновых кислот. Л. А. Незговорова (1951) в результате своих исследований ассимиляции также пришла к заключению, что разные растения осуществляют ассимиляцию CO_2 различными путями.

Возникал и другой вопрос: образуется ли в качестве ближайшего продукта фотосинтеза один универсальный продукт (например, сахар), одинаковый у всех растений, который, преобразуясь в результате вторичных синтезов, дает разнообразие веществ, характерное для каждого вида растений, или же ближайшими продуктами фотосинтеза являются различные вещества?

До недавнего времени преобладала точка зрения, согласно которой фотосинтез рассматривался лишь как источник универсального строительного материала — углеводов, из которого затем строятся все другие вещества. Однако еще В. В. Сапожниковым (1894) и Ф. Н. Крашенинниковым (1901) высказывалось экспериментально обоснованное предположение, что в процессе фотосинтеза наряду с углеводами образуются и другие продукты, например белки.

Применение метода меченых атомов в исследовании ассимиляции углекислоты подтверждало предположение о разнообразии продуктов фотосинтеза. Кроме уже отмеченных работ большую роль в этом отношении имели исследования А. А. Ничипоровича и его сотрудников (1958), которые рас-

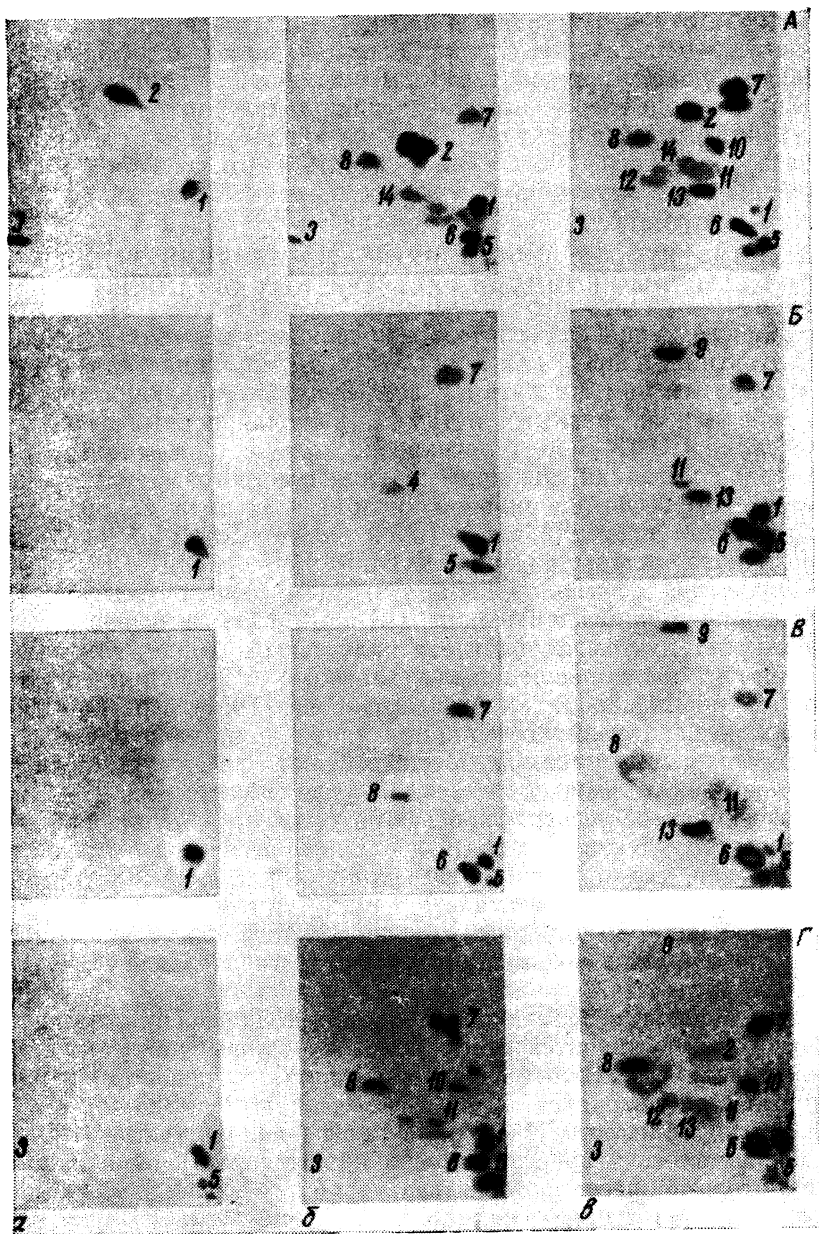


Рис. 47. Радиоавтографы продуктов фотосинтеза, полученные в опытах с листьями различных растений, А — фасоль; Б — бегония; В — сахарная свекла; Г — табак (экспозиции: а — 1 сек, б — 10 сек, в — 30 сек):

1 — фосфоглицериновая кислота, 2 — глицериновая кислота, 3 — неизвестное вещество, идущее с фронтом фенол-вода, 4 — триозофосфат, 5 — область дифосфатов, 6 — монофосфаты, 7 — яблочная кислота, 8 — аланин, 9 — янтарная кислота, 10 — аспарагиновая кислота, 11 — глюкоза, 12 — фруктоза, 13 — сахароза, 14 — серин

сма тривали разнокачественность продуктов фотосинтеза в физиологическом и биохимическом аспектах.

Но наиболее прямым доказательством образования тех или иных продуктов в процессе фотосинтеза, дающим исчерпывающий ответ на оба поставленных выше вопроса, является последовательное выделение меченых веществ по мере ассимиляции $C^{14}O_2$ различными фотосинтезирующими организмами. Именно такой подход был в основе работы Н. Г. Домана, А. М. Кузина, Я. В. Мамуля и Р. И. Худяковой (1952), которые провели сравнительные исследования динамики образования продуктов фотосинтеза при экспозициях от 1 до 300 сек. Чтобы получить более четкую картину последовательности образования продуктов фотосинтеза, поглощение листьями меченого CO_2 продолжалось лишь около 1 сек, после чего листья мгновенно переносили в другую камеру с эквивалентным содержанием немеченой углекислоты, в которой продолжалась экспозиция.

В результате исследования 17 видов растений из 12 семейств был сделан совершенно определенный вывод, что при фотосинтезе не должно быть многообразия путей ассимиляции CO_2 . В то же время наряду с единством основных этапов ассимиляции углерода уже в самом начале его сказывается специфика обмена веществ растения.

Как показали Н. Г. Доман, Л. Н. Хаджи-Мурат и С. Е. Демина (1958), уже первый наблюдаемый продукт фотосинтеза — фосфоглицериновая кислота — быстро превращается в том или ином направлении, зависящем от типа обмена веществ данного растения (рис. 47). К подобному же выводу о единстве основных этапов пути ассимиляции углерода в филогенезе пришли Норрис, Норрис и Кальвин (L. Norris, R. Norris, Calvin, 1955), изучавшие продукты кратковременного фотосинтеза $C^{14}O_2$ у девяти видов растений.

К настоящему времени накопилось большое количество данных в пользу признания единства пути ассимиляции у самых разнообразных фотосинтезирующих организмов. Однако это не означает, что в природе в принципе не может существовать другого пути. Наоборот, исключительное разнообразие форм живой природы, резко отличающихся по своей физиологии и условиям существования, делает такое предположение вероятным, а изучение пути ассимиляции углерода у разных типов организмов весьма перспективным.

АССИМИЛЯЦИИ УГЛЕРОДА КАК ЦИКЛИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС

Применение изотопов для биохимических исследований не только позволяет обнаружить вхождение атомов изотопа в те или иные вещества, но и дает возможность выяснить распределение этих атомов внутри молекул соединения.

Чтобы установить распределение меченых атомов внутри молекул, соединения подвергают последовательному разложению, отщепляя один углеродный атом за другим.

Разложение меченой фосфоглицериновой кислоты, полученной в опытах Кальвина, Бассема и Бенсона (Calvin, Bassham, Benson, 1950), показало, что при кратковременном фотосинтезе наибольшее количество изотопа находится в карбоксильной группе. При увеличении экспозиции распределение изотопа становится более равномерным. Например, фосфоглицериновая кислота, выделенная из ячменя после 15-секундного фотосинтеза в присутствии $C^{14}O_2$, содержала в карбоксильных атомах углерода 49% радиоактивности, в α -положении — 25% и в β -положении — 26%. Разложение углеродного скелета гексозы, полученной в этом же опыте, показало, что средние 3-й и 4-й атомы содержали 52% изотопа, 2-й и 5-й — 25%, а 1-й и 6-й — 24%. Нетрудно заметить, что углеродная цепочка гексозы как бы составлена из двух цепочек фосфоглицериновой кислоты, которые соединены между собой карбоксильными атомами углерода.

Таким образом, изучение распределения атомов изотопа в молекулах ранних продуктов фотосинтеза показало, что меченый углерод фиксируемой углекислоты вначале полностью содержится в карбоксильной группе фосфоглицериновой кислоты. Невольно возникает мысль о том, что в процессе фотосинтеза фосфоглицериновая кислота восстанавливается до триоз, которые посредством альдольной конденсации образуют гексозы. Быстрое перемещение метки в α - и β -положения фосфоглицериновой кислоты служит несомненным доказательством того, что фотосинтез включает в себя циклический процесс, в котором углеродный скелет акцептора составляется заново в конце каждого цикла из углеродных атомов «свеже поглощенного» CO_2 .

Это обновление происходит очень быстро. Проводя секундную экспозицию фотосинтезирующих листьев фасоли в камере с меченым CO_2 , а затем перемещая эти листья в аналогичную камеру с немеченым CO_2 , Н. Г. Доман (1958) наблюдал, что фосфоглицериновая кислота исчезала исключительно быстро, а затем уже через 5 сек частично появлялась вновь. При этом радиоактивность из карбоксила фосфоглицериновой кислоты более чем наполовину переходила в другие ее атомы. Все эти данные говорят о том, что при фотосинтезе фосфоглицериновая кислота быстро проходит какой-то «небольшой» цикл, участвуя в регенерации акцептора CO_2 .

АКЦЕПТОР CO_2

Поскольку CO_2 при фотосинтезе присоединяется к акцептору, образуя карбоксильную группу фосфоглицериновой кислоты, было вполне логично предположить, что этим ак-

цептором является двухуглеродное соединение. Естественно, что по этой причине делались многочисленные попытки отыскать такой акцептор. Так, Фагер (Fager, 1954) в присутствии хлоропластов, содержащих карбоксилирующий фермент, безуспешно испытывал в качестве акцепторов винилфосфат, фосфогликолевую кислоту, фосфогликольальдегид. Столь же безуспешными были испытания других низкомолекулярных соединений, содержащих фосфор. Необходимо было лучше изучить фосфорные соединения, образующиеся в процессе фотосинтеза, так как среди них, вероятно, мог находиться акцептор CO_2 .

Бенсон, Бассем и Кальвин (Benson, Bassham, Calvin, 1951) и Бенсон (Benson, 1951) выделили и изучили два новых фосфорилированных соединения, метившихся за несколько секунд фотосинтеза и постоянно появляющихся на радиоавтографах. Одно из них представляло собой дифосфат пятиуглеродного сахара рибулезы, известной только как кристаллизирующийся синтетический сахар. Другое соединение оказалось монофосфатом семиуглеродного сахара седогептулезы, ранее найденной только в суккулентах, таких, как *Sedum spectabile*. Первое соединение, т. е. дифосфат рибулезы, и оказалось акцептором, реагирующим с CO_2 при фотосинтезе.

Выяснить это помогли следующие наблюдения. В опытах Кальвина и Массини (Calvin, Massini, 1952) зеленые водоросли фотосинтезировали в стационарных условиях при насыщении резервуара промежуточных продуктов радиоактивным углеродом. После выключения света установившееся равновесие нарушалось ввиду того, что в темноте блокируется восстановление фосфоглицериновой кислоты. При этом одновременно с повышением концентрации фосфоглицериновой кислоты резко упала концентрация рибулезодифосфата и триозофосфата (рис. 48). Возникло предположение, что образование рибулезодифосфата как-то связано с наличием триозофосфата. В другом опыте, проводившемся в лаборатории Кальвина в аналогичных стационарных условиях фотосинтеза, давление меченого CO_2 внезапно упало с 1 до 0,003%. Этим была блокирована стадия карбоксилирования и поэтому концентрация рибулезодифосфата резко повысилась, тогда как зависящая от карбоксилирования концентрация фосфоглицериновой кислоты снизилась (рис. 49).

Свойства рибулезодифосфата как акцептора CO_2 были окончательно доказаны после воспроизведения реакции его карбоксилирования в бесклеточной системе. Рибулезодифосфат реагировал с CO_2 , образуя две молекулы фосфоглицериновой кислоты в присутствии экстракта из листьев шпината (Weissbach, Smyrniotis, Horecker, 1954) или из клеток *Chlorella* (Qyale, Fuller, Benson, Calvin, 1954). По-видимому,

реакция фиксации углекислоты на рибулезодифosphate с образованием фосфоглицериновой кислоты может быть изображена следующим образом:

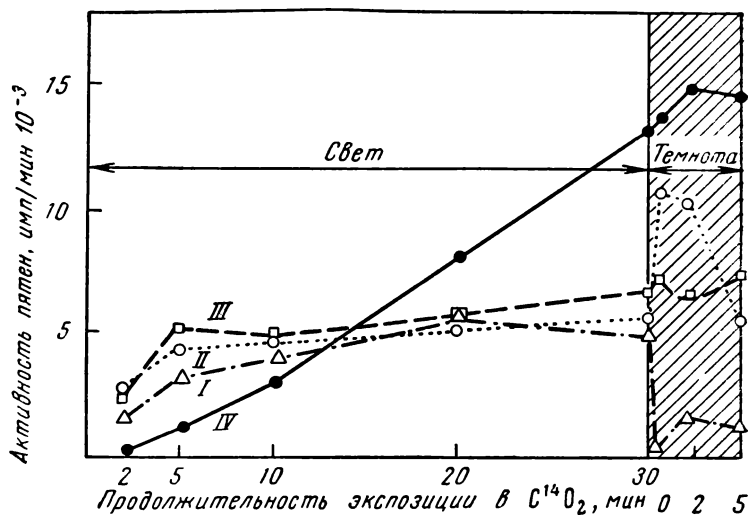
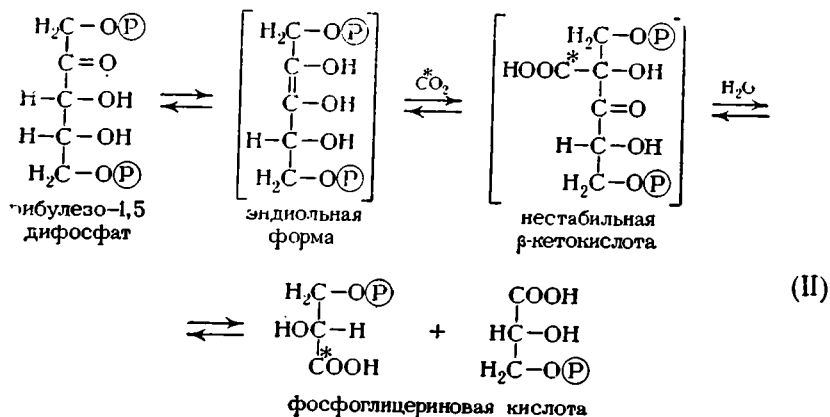


Рис. 48. Изменение во времени радиоактивности некоторых промежуточных продуктов у *Scenedesmus* в процессе фотосинтеза и после прекращения освещения:

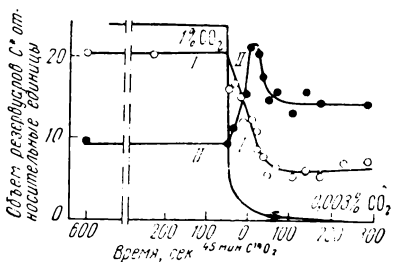
I — дифосфаты; II — ФКГ; III — монофосфаты; IV — сахара

Рассматривая рибулезодифосфат как акцептор CO_2 , следует отметить, что его структура не позволяет замыкаться на кислородный мостик, в отличие от ряда других фосфорных эфиров сахаров, например фруктозодифосфата. Поэтому

в рибулезодифосфате карбонильная группа сохраняется свободной, благодаря чему он может хорошо энолизироваться и присоединять к двойной связи CO_2 . Образующаяся нестойкая β -кетокислота гидролизуется, давая две молекулы фосфоглицериновой кислоты, которая и обнаруживается в эксперимен-

Рис. 49. Влияние внезапного уменьшения концентрации CO_2 с 1 до $3 \cdot 10^{-3} \%$ на содержание меченых соединений в клетках *Scenedesmus*:

I — ФКГ; II — РДФ

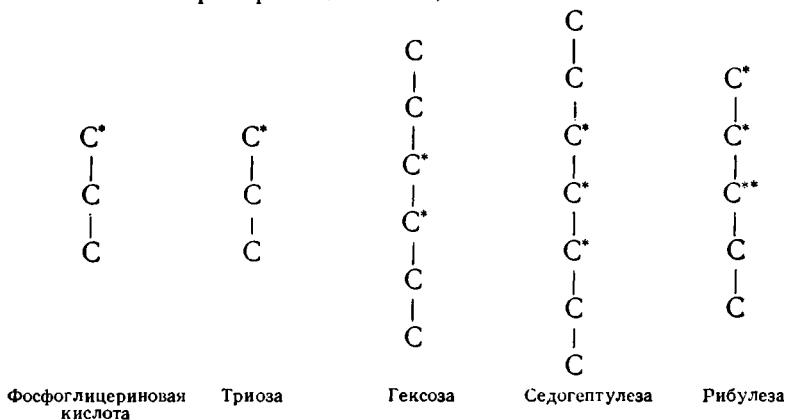


тах. Изменение свободной энергии этой реакции ΔF , выведенное еще весьма приблизительно, оценивается 7 ккал/моль, что указывает на большую эффективность этой реакции по сравнению с другими реакциями карбоксилирования.

ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЙ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ ЦИКЛ

Выяснение пути регенерации акцептора CO_2 — рибулезодифосфата — требовало прежде всего огромной и кропотливой работы по деградации целого ряда соединений, образующихся в течение первых немногих секунд фотосинтеза. Последовательное разложение этих соединений позволило бы установить распределение метки в структуре их молекул, а это, в свою очередь, помогло бы выяснить генетическую связь между ними.

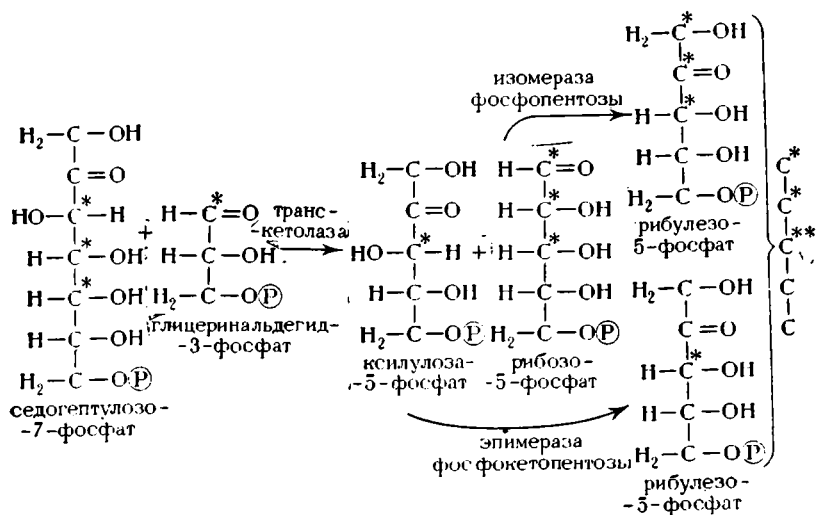
Результаты среднего распределения меченых атомов углерода C^{14} в ранних углеводных продуктах фотосинтеза, полученные в лаборатории Кальвина, показаны ниже.



Показанное распределение метки является характерным для момента возникновения этих соединений. Конечно, со временем все они становятся мечеными C^{14} приблизительно равномерно. Легко заметить при этом, что между первыми тремя соединениями существует простая структурная связь. Фосфоглицериновая кислота восстанавливается в триозу без изменения углеродного скелета, две триозы, конденсируясь, дают структуру гексозы. Однако между 5-, 6- и 7-углеродными соединениями непосредственная структурная связь отсутствует. Ни в одном из этих соединений, кроме гексозы, нет такого распределения метки, которое можно было бы объяснить включением существенно неизменной цепи другого соединения. К этому можно добавить, что и пространственная структура рибулезы и седогептулезы имеет малое родство к структуре гексозы.

Тщательные кинетические исследования образования меченых веществ при фотосинтезе показали, что после появления триозы одновременно образуется несколько соединений углеродной природы. Это наводило на мысль о нескольких взаимосвязанных и перекрещивающихся путях их образования.

Но полную ясность взаимосвязи происхождения различных видов моноз внесло открытие транскетолазной ферментативной системы, сделанное в лаборатории Хореккера (Horecker, 1953). Эта широко распространенная в природе система осуществляет перенос двухуглеродного фрагмента от фосфорилированной кетозы к фосфорилированной альдозе. С помощью транскетолазных реакций легко объясняется характер распределения метки в углеродных скелетах рибулезы, седогептулезы и других моноз.



Так, например, происхождение меченого рибулезофосфата объясняется следующим образом. В результате транскетолазной реакции между седогептулезофосфатом и триозофосфатом образуются два пентозофосфата — ксилулезофосфат и рибозофосфат, каждый из которых под действием соответствующего фермента превращается в рибулезофосфат.

Подобным образом можно объяснить и происхождение меченой седогептулезы. Трансположение ее 3-го и 4-го атомов указывает на то, что она, возможно, образовалась путем альдольной конденсации диоксиацетонфосфата с эритрозо-4-фосфатом. Последний, как доказали Реккер и его сотрудники (Racker и др., 1954), может образоваться лишь в результате расщепления гексозы на четырех- и двухуглеродные фрагменты.

Выяснив в основных чертах взаимоотношения между фосфатами некоторых сахаров, образующимися во время фотосинтеза, можно рассмотреть схему всего фотосинтетического цикла (рис. 50), какой она представлена Бассемом и Кальвином (Bassham, Calvin, 1957).

Мы видели, что к открытию фотосинтетического цикла привели, с одной стороны, тщательный химический и изотопный анализ, с другой — вариации экспозиций и различных условий фотосинтеза.

В схеме даются структурные формулы реагирующих соединений, указаны пути реакций и ферменты. Каждая из реакций цикла была осуществлена изолированно в растворе. Таким образом, выяснен путь фиксации и восстановления углекислоты, также доказана быстрая регенерация акцептора CO_2 .

В представленной схеме для простоты указан лишь один выход углерода из цикла — в сахарозу. Это — основной путь ассимиляции углерода растительными организмами при фотосинтезе. В действительности же все эти промежуточные продукты связаны и с другими процессами, участвуя в которых они также могут обменивать углерод. На какой-то стадии фотосинтеза образующиеся продукты разделяются на две части, одна из которых превращается в более устойчивые ассимилянты, а другая — вновь участвует в образовании акцептора CO_2 .

Первичные нестойкие продукты фиксации углекислоты

Реакция карбоксилирования рибулезодифосфата (III) является главными входными воротами для ассимилируемого углерода. Поэтому изучение ее имеет важное значение для понимания фотосинтеза и возможного управления этим процессом.

В последние годы в литературе появились данные о свойствах предполагаемого предшественника фосфоглицериновой

кислоты — дифосфате β-кетокислоты. Мозесом и Кальвином (Moses, Calvin, 1958) при сравнительно мягких условиях были выделены два мало стойких продукта фотосинтеза, один из которых предварительно идентифицирован ими как дифосфат β-кетокислоты, а другой — более стойкий продукт — как ее γ-изомер. Хотя не удалось показать физиологической активности этих соединений, но выделение их явилось новым аргументом, подтверждающим существование фотосинтетического цикла. В то же время был поставлен под некоторое сомнение центральный член цикла — фосfogлицериновая кислота, ввиду того что со стороны ряда исследователей (Kandler, 1957; Metzner, 1958; Бойченко, Саенко, 1959) появились сведения о том, что при холодной фиксации материала вместо горячей, которая обычно применялась, или же в присутствии таких веществ, как NH_2OH (Metzner, 1958) и HCN (Kandler, 1957), фосfogлицериновая кислота обнаружилась в значительно меньшем количестве. Вместо нее находили другие меченые соединения. Некоторые трудности для объяснения пути углерода в фотосинтезе через фосfogлицериновую кислоту представляет факт не полной симметричности метки образующихся гексоз, установленный Гиббсом и Кандлером (Gibbs, Kandler, 1957).

Ясно, что факт образования другого вещества вместо фосfogлицериновой кислоты в условиях, допускающих иногда воздействие сильных химических реагентов в качестве энзиматических ингибиторов, констатированный Кандлером и Лизенкоттером (Kandler, Liesenkötter, 1961), ни в какой мере еще не решает вопроса о том, является ли фосfogлицериновая кислота промежуточным продуктом фотосинтеза или нет. Для решения такого вопроса нужно прямое доказательство. Такого рода доказательство было получено Н. Г. Доманом, М. Я. Школьник и З. А. Терентьевой (1961), которые, используя низкую температуру и другие мягкие условия на всех стадиях обработки материала, выделили нестойкий продукт фиксации CO_2 на рибулесодифосфате и убедительно показали, что в результате нормального фотосинтеза листьев он в основном метаболизирует через фосfogлицериновую кислоту.

Что касается несимметричности распределения изотопа в молекулах гексоз, которая состоит в том, что четвертый углеродный атом образующейся гексозы несколько сильнее метится, чем третий, то этот факт можно удовлетворительно объяснить неполным равновесием между возникающими фосфотриозами (Bassham, Calvin, 1957). Фосфодиаоксиацетон, образующийся позднее фосfogлицериальдегида, должен иметь более разбавленную метку, в результате чего третий атом гексозы будет помечен слабее четвертого.

Другое возможное объяснение асимметричности метки в образующейся гексозе выдвинуто Гиббсом и Кандлером

(1957). Авторы полагают, что при нормальном фотосинтезе имеет место непосредственное восстановление продукта карбоксилирования рибулезодифосфата в гексозы, а не через фосфоглицериновую кислоту. Однако конкретный механизм такого превращения они не обсуждают.

Следует отметить, что при самых коротких экспозициях листьев в присутствии $C^{14}O_2$ радиоактивность обычно обнаруживается не только в фосфоглицериновой кислоте, а и в других продуктах, например в яблочной кислоте, в фосфорных эфирах сахаров.

Возможность превращения продукта карбоксилирования рибулезодифосфата в обход фосфоглицериновой кислоты предполагалась или обосновывалась рядом авторов. Более убедительно это показано в работе Бассема и Кирк (Bassham, Kirk, 1960). Согласно данным этих исследователей, продукт карбоксилирования рибулезодифосфата на свету в неповрежденных клетках распадается с образованием молекул фосфоглицериновой кислоты и фосфотриозы. В темноте же или вне клеток реакция протекает с образованием двух молекул фосфоглицериновой кислоты.

В поисках самых ранних продуктов фотосинтеза Н. Г. Доманом (1952) обнаружена и затем исследована (Доман, 1958) стадия нестойкого связывания меченой углекислоты, предшествующая образованию стойких продуктов фотосинтеза листьями высших растений. Сначала это явление рассматривалось в аспекте скорости поглощения двуокиси углерода. Было определено, что в условиях, близких к стационарному фотосинтезу, за 1 сек нестойко связывается 10—20% $C^{14}O_2$ по отношению ко всему меченому углероду, поглощенному за это время. При горячей фиксации материала образующиеся лабильные продукты разрушаются с выделением CO_2 .

Было показано, что быстрое нестойкое связывание CO_2 зависит от ряда факторов и в общем напоминает химическую адсорбцию. Способность к нестойкому связыванию CO_2 эффективно снижается некоторыми ингибиторами, в частности $(CN)_2$. Убитые листья не обнаруживают быстрого лабильного связывания углекислоты, следовательно, это не является простым ее растворением или буферным связыванием. Углекислота, связанная лабильно в темноте, быстро превращается в обычные продукты фотосинтеза в условиях освещения. Согласно исследованиям Л. А. Незговоровой (1953), лист в темноте за большее время лабильно может связывать большее количество углекислоты и использовать затем ее при фотосинтезе. Нестойкое связывание CO_2 наблюдали Метцнер и другие исследователи (Metzner, 1958) у одноклеточных зеленых водорослей, хотя впоследствии точность этих данных была подвергнута сомнению (Kasprzyk, Calvin, 1959). Указанное явление также очень напоминает обнаруженное

Е. А. Бойченко (1950) нестойкое связывание углекислоты хлоропластами в условиях работы открытого ею фермента гидрогеназы.

Можно думать, что быстрое нестойкое связывание CO_2 листом, предшествующее ассимиляции углекислоты, отражает одну из сторон условий работы карбоксилирующего фермента при недостатке рибулезодифосфата. Хорошо известно, что нормальный фотосинтез может осуществляться только при известной концентрации CO_2 , которая должна быть выше минимального предела ($\sim 0,008\%$). Более низкое содержание CO_2 в среде ведет к прекращению фотосинтеза. Этот факт указывает на то, что первая стадия фиксации CO_2 является обратимой.

Ферментные системы восстановительного фотосинтетического цикла

Как уже упоминалось выше, каждая реакция, входящая в углеродный восстановительный фотосинтетический цикл, была осуществлена изолированно в растворе. Более того, Раккер (Racker, 1955) осуществил синтез углеводов из CO_2 и воды при наличии аденозинтрифосфата, восстановленного дифосфопиридиннуклеотида, системы очищенных ферментов и каталитических количеств рибулезодифосфата. Этим была доказана практическая возможность искусственного воспроизведения сложного биохимического синтеза, осуществляемого в природе. Но, хотя биохимические реакции, проводимые в искусственных условиях, не имеют принципиального отличия от реакций, протекающих в естественных условиях, все же первые обычно являются лишь бледными копиями вторых, так как в подавляющем большинстве случаев мы не знаем всех факторов и необходимой полноты условий, сопровождающих биохимические реакции в клетке.

Карбоксилаза рибулезодифосфата, или карбоксидисмутаза. Фагер (Fager, 1952, 1954) первым показал, что бесклеточный экстракт или препарат из листьев может катализировать присоединение C^{14}O_2 к неизвестному акцептору, возникающему при освещении зеленых клеток, с образованием фосфоглицериновой кислоты. Энзиматическое карбоксилирование рибулезодифосфата первыми осуществили Квейл и сотрудники (Quayle и др., 1954) с помощью бесклеточного экстракта, полученного из *Chlorella*. Эти авторы дали ферменту название «карбоксидисмутаза». Вскоре Вейсбах и Хореккер (Weissbach, Horecker, 1955) получили из листьев шпината очищенный препарат, с помощью которого им удалось провести стехиометрическую реакцию получения фосфоглицериновой кислоты путем присоединения CO_2 к рибулезодифосфату. Вейсбах, Хореккер и Гурвитц (Weissbach, Horecker, Hurwitz,

1956), а также и другие исследователи изучали свойства высоко очищенного препарата карбоксилазы рибулезодифосфата, выделенного из листьев шпината.

Предполагается, что молекулярный вес фермента равен приблизительно 300 000. Фермент содержится в хлоропластах. Содержание его в листьях шпината довольно высоко и составляет от 5 до 10% растворимого белка листьев. Фермент не вполне устойчив при хранении и медленно снижает активность даже в условиях низкой температуры. Оптимальная активность карбоксилазы рибулезодифосфата наблюдается при pH-8. В нейтральной среде препарат фермента быстро теряет свою активность. Очищенный фермент неактивен в отсутствие ионов Ni^{++} и Mg^{++} , которые частично могут быть заменены гораздо менее эффективными ионами Co^{++} , Mn^{++} , Fe^{++} .

Кроме указанных ионов двухвалентных металлов для нормальной работы фермента необходимо присутствие соединений, содержащих сульфгидрильные группы (глутатион, цистеин). Карбоксилаза рибулезодифосфата чувствительна к п-хлор-ртути-бензоату, $HgCl_2$; действие ее подавляется также цианидом, фосфатными и мышьяковыми ионами. Фермент также чувствителен к кислороду, под действием которого его активность подавляется, но может быть восстановлена вновь прибавлением цистеина.

Карбоксилаза рибулезодифосфата обладает высокой степенью специфичности к субстрату—рибулезодифосфату. Данных, говорящих в пользу того, что фермент может работать обратимо, получено не было. Изучая условия реакции, Вейсбах (Weissbach и др., 1956) установил, что в присутствии фермента рибулезодифосфат, меченный по углероду в первом положении, реагирует с CO_2 , образуя фосфоглицериновую кислоту, меченную в β -положении, как это и следовало ожидать.

Было высчитано, что на 1 моль фермента образуется 1500 молей фосфоглицериновой кислоты. Такая активность карбоксилирующего фермента недостаточна по сравнению со скоростью ассимиляции CO_2 , наблюдаемой при нормальном фотосинтезе. На этом основании рядом авторов высказывается предположение о том, что для обеспечения надлежащей скорости фотосинтеза вступающая в реакцию углекислота должна находиться в каком-то активированном состоянии. Интересно, что для реакции *in vitro* требуется относительно высокая концентрация углекислоты.

Киназа фосфоглицериновой кислоты. Для восстановления фосфоглицериновой кислоты должна быть предварительно фосфорилирована, как это следует из того, что эта часть реакций фотосинтетического цикла представляет собой обращение гликолитического пути распада углеводов. Для этой реакции необходимы АТФ и фермент киназа фосфоглицери-

новой кислоты. Такой фермент был выделен из семян гороха (Axelrod, Bandurski, 1953).

Дегидрогеназа триозофосфата. Для восстановления дифосфоглицериновой кислоты в триозофосфат необходим фермент дегидрогеназа триозофосфата. Наличие этого фермента в растительных тканях было неоднократно доказано. В качестве кофактора для работы фермента необходимы фосфопириннуклеотиды.

Изомераза триозофосфата. Этот фермент превращает часть глицеринальдегидфосфата в диоксиацетонфосфат. Весьма активная изомераза триозофосфата была обнаружена в экстракте из семян гороха.

Альдолаза. С помощью альдолазы осуществляется альдозная конденсация глицеринальдегидфосфата и диоксиацетонфосфата с образованием фруктозодифосфата. Кроме этого, в фотосинтетическом восстановительном цикле альдолаза катализирует образование дифосфата седогептулезы. Эта реакция была продемонстрирована при инкубации смеси растворов диоксиацетонфосфата и D-эритрозофосфата совместно с альдолазой, выделенной из гороха (Hough, Jones, 1953).

Фосфатаза. Высокоочищенный препарат фосфатазы, катализирующей образование фруктозо-6-фосфата из фруктозо-1,6-дифосфата и седогептулезо-7-фосфата из седогептулезо-1,7-дифосфата, был получен из листьев шпината. Фермент не отщеплял фосфор у монофосфатов сахаров.

Транскетолаза. Этот сравнительно недавно открытый фермент (Horecker, Smyrniotis, Klenow; 1953; Racker, Naba, Leder, 1954) весьма широко распространен в растительном и животном мире. Транскетолаза осуществляет перенос двухуглеродного фрагмента гликолевого альдегида от кетозомонофосфата к альдозомонофосфату. В фотосинтетическом восстановительном цикле транскетолаза катализирует образование рибозо-5-фосфата, ксилулозо-5-фосфата и эритрозо-4-фосфата.

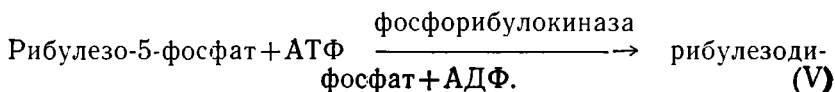
Трансальдолаза. Хотя этот фермент не указан в схеме фотосинтетического цикла, тем не менее его участие в превращениях сахаров несомненно. Трансальдолаза переносит первые 3 углеродных атома кетозомонофосфата к альдозофосфату (Horecker, Smyrniotis, 1953). Например, трансальдолаза может перенести трехуглеродный фрагмент от гексозомонофосфата к эритрозомонофосфату с образованием седогептулезофосфата.

Фосфорибозоизомераза. Фосфорибозоизомераза катализирует взаимопревращение рибозо-5-фосфата и рибулезо-5-фосфата. Высокоактивный фермент был выделен из шпината (Hurwitz, Weissbach, Horecker, Smyrniotis, 1956). Недостаточно хорошо очищенный препарат фермента карбоксидисмутазы, получаемой из хлоропластов шпината, обычно содержит в качестве примеси фосфорибоизомеразу, а также фосфопен-

токиназу. Такой препарат может катализировать реакцию карбоксилирования рибулезодифосфата, если вместо последнего в раствор вносятся рибозо-5-фосфат и АТФ.

Фосфокетопентозэпимераза. Этот фермент обеспечивает взаимное превращение ксилулозо-5-фосфата и рибулезо-5-фосфата, изомеризуя третий углеродный атом в молекуле пентозы.

Фосфорибулокиназа. Как уже упоминалось, фермент фосфорибулокиназа в большом количестве содержится в хлоропластах шпината и может быть получен из них. Этот фермент катализирует завершающую реакцию фотосинтетического цикла — регенерацию акцептора CO_2 — рибулезодифосфата, который образуется в результате фосфорилирования рибулезо-5-фосфата при участии АТФ.



Энергетические и химические условия работы восстановительного фотосинтетического цикла

Рассматривая реакции восстановительного фотосинтетического цикла, можно определить энергетические и химические условия, необходимые для его функционирования.

В самом начале цикла при восстановлении одной молекулы фосfogлицириновой кислоты до фосfogлициринового альдегида необходима одна молекула восстановленного ТПН, дающая 2 эквивалента восстановителя (т. е. 2 электрона), и одна молекула АТФ при образовании дифосfogлицириновой кислоты, которое предшествует реакции восстановления.

Так как на одну молекулу ассимилируемого CO_2 после его присоединения к рибулезодифосфату должно быть восстановлено 2 образующихся молекулы фосfogлицириновой кислоты, проведенный расчет удваивается. Таким образом, на начальном этапе цикла необходимы 2 молекулы восстановленной ТПН или 4 электрона и 2 молекулы АТФ. Далее на протяжении всех преобразований сахаров, происходящих на одном уровне, дополнительного потребления энергии не потребуется вплоть до образования рибулезо-5-фосфата включительно. Здесь на конечном этапе фотосинтетического цикла необходима еще одна молекула АТФ для образования акцептора CO_2 — рибулезо-1-5-дифосфата.

Таким образом, на каждую входящую в цикл молекулу CO_2 , которая восстанавливается до уровня окисленности углеводов, требуется 2 молекулы ТПН- H_2 или 4 электрона и 3 молекулы АТФ. К этому сводится полная затрата энергии при восстановлении молекулы CO_2 в цикле. Конечно, это не исчерпывает всех энергетических потребностей в процессе

фотосинтеза, удовлетворяемых за счет электромагнитной энергии света.

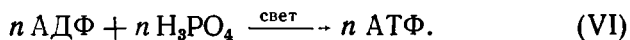
Исследования Кандлера (Kandler, 1957) показали, что при фотосинтезе не наблюдается стехиометрического соотношения между превращениями АТФ и ассимиляцией CO_2 , существование которого предполагается исходя из реакции углеродного восстановительного цикла. Это несоответствие указывает на то, что превращения АТФ при фотосинтезе не определяются и не могут определяться только лишь потребностями, необходимыми для функционирования восстановительного углеродного цикла. Они связаны и с другими процессами, поскольку фотосинтез представляет собой весьма сложную координированную систему процессов.

ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ

Непрерывное поступление донора энергии АТФ и донора водорода типа ТПН- H_2 наряду с регенерацией акцептора CO_2 и наличием соответствующей системы ферментов является необходимым и достаточным условием для осуществления фиксации и восстановления углекислоты. Это установлено рядом исследований и, в частности, уже упоминавшейся работой Реккера (Racker, 1955), в которой осуществлен синтез углеводов при указанных условиях в бесклеточной системе.

Основным источником АТФ и ТПН- H_2 при фотосинтезе является процесс фотосинтетического фосфорилирования. Идея о возможном преобразовании световой энергии, поглощенной пигментной системой клетки, в химическую энергию в форме макроэргических фосфорных соединений возникла уже давно.

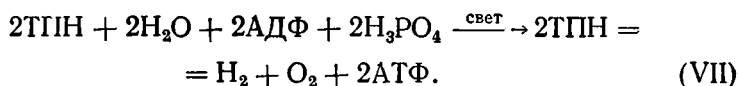
Эту заманчивую идею развивали и пытались обосновать экспериментально Фоглер и Умбрейт (Vogler, Umbreit, 1943), Рубен (Ruben, 1943), Эмерсон с сотрудниками (Emerson и др., 1944), Вассинг с сотрудниками (Wassing и др., 1949, 1951) и др. В 1954 г. Арнон, Аллен и Уотли (Arnon, Allen, Whatley, 1954) установили факт образования АТФ при освещении суспензии хлоропластов и выразили реакцию следующим уравнением:



Эта реакция, единственным продуктом которой является АТФ, лежит в основе превращения света в химическую энергию при фотосинтезе.

В отличие от окислительного фосфорилирования, когда АТФ образуется за счет свободной энергии, освобождающейся в процессе переноса электронов от дыхательного субстрата к молекулярному кислороду, в данной реакции фотосинтетического фосфорилирования АТФ образуется без потре-

ния добавленного извне донора или акцептора электронов. Арнон (Arnon, 1959) полагает, что в энергию фосфатных связей превращается посредством сопряженных энзиматических систем энергия активированных светом электронов, при прохождении ими замкнутой цепи фотосинтетического переноса электронов. Отсюда реакция, выраженная уравнением (VI), названа циклическим фотофосфорилированием, в отличие от второй реакции фотофосфорилирования, обнаруженной Арноном, Уотли и Аллен (Arnon, Whatley, Allen, 1958) позднее и названной ими нециклическим фотофосфорилированием, которое выражается следующим уравнением:



Как видно из приведенного уравнения, при нециклическом фотофосфорилировании только часть трансформируемой световой энергии используется для образования АТФ; остальная же часть ее расходуется на образование восстановителя — ТПН-Н₂ и на выделение кислорода.

Быстрое восстановление ТПН осуществляется с помощью специфического фермента — фотосинтетической редуктазы, пиридиннуклеотида, который был обнаружен, выделен и очищен Сан-Пьетро и Лангом (San Pietro, Lang, 1956, 1958).

В присутствии освещенных хлоропластов препарат фермента катализирует восстановление ТПН, но не восстанавливает ДПН. Сан-Пьетро (San Pietro, 1961) выделил другой фермент — трансгидрогеназу, и показал, что дополнительное включение этого фермента в систему *редуктаза — освещенные хлоропласты* — является условием, при котором восстанавливается также и ДПН. Кроме этого, в присутствии трансгидрогеназы пиридиннуклеотида и фотосинтетической редуктазы несколько увеличивается и скорость восстановления ТПН.

Фотосинтетическая редуктаза является одним из важнейших компонентов в комплексе энзиматических систем, непосредственно участвующих в фотосинтезе. Гиббс и Блэк (Gibbs, Black, 1961) установили, что фотосинтетическая редуктаза легко вымывается во время приготовления суспензий изолированных хлоропластов по методике, применяемой в настоящее время. Существенная потеря редуктазы является одной из главных причин низкой скорости фотосинтетической фиксации СО₂ у хлоропластов по сравнению с неповрежденными клетками, так как при добавлении препарата очищенной редуктазы к суспензии хлоропластов скорость фиксации ими СО₂ увеличивается в 6—7 раз.

При рассмотрении условий катализа реакции фотовосстановления пиридиннуклеотидов уместно вспомнить, что А. А. Красновский и Г. П. Брин (1949) указали на возмож-

ность такой реакции, осуществив сенсibiliзировавшее хлорофиллом восстановление ДПН в водном растворе пиридина.

Выше было показано, что в качестве условия ассимиляции углерода в фотосинтетическом цикле Кальвина необходимо обеспечить 3 молекулы АТФ и 2 молекулы ТПН-Н₂ на каждую восстанавливаемую молекулу СО₂.

Теперь, рассматривая уравнение реакций (VI и VII), мы видим, что для ассимиляции СО₂ необходимо участие как циклического, так и нециклического фотофосфорилирования. От соотношения этих двух процессов несомненно будут зависеть фиксация и восстановление СО₂. Будет зависеть характер образующихся продуктов фотосинтеза.

Нельзя, конечно, думать, что функция АТФ или восстановленных фосфопиридиннуклеотидов, образующихся в результате фотохимических реакций, ограничивается участием этих соединений в ассимиляции углерода через восстановительный цикл. Эти соединения могут, вероятно, использоваться при любых внутренних потребностях в них клетки.

Хотя фотосинтетическое фосфорилирование открыто недавно и еще сравнительно мало изучено, нет никаких сомнений в том, что этот процесс осуществляется во всех фотосинтезирующих клетках. После того как факт светового образования АТФ был подтвержден в работах ряда лабораторий (Avron, Jagendorf, 1957; Bishop, 1958; Hill, Waker, 1959; Krogmann, Vennesland, 1959), Уотли с соавторами (Whatley, Allen, Trebst, Arnon, 1960) убедительно показал, что циклическое и нециклическое фотофосфорилирование осуществляется в хлоропластах самых различных видов растений, а Френкель (Frenkel, 1954) и другие исследователи (Williams, 1956) продемонстрировали процессы фотофосфорилирования также в бесклеточных препаратах фотосинтезирующих бактерий и водорослей.

Процесс фотосинтетического фосфорилирования имеет общие черты с процессом окислительного фосфорилирования. Основным результатом обоих процессов является образование богатых энергией фосфорорганических соединений типа АТФ. Аналогичны и даже в некоторых моментах, возможно, идентичны в обоих процессах также реакции фосфорилирования, сопряженные с переносом электронов.

Вместе с тем, как показывает само название, фотофосфорилирование отличается от окислительного фосфорилирования целым рядом важнейших особенностей. Основное отличие состоит в том, что в процессе фотосинтетического фосфорилирования АТФ образуется за счет энергии света, тогда как при окислительном фосфорилировании АТФ образуется за счет аккумуляции свободной энергии, освобождающейся в процессе переноса электронов от субстрата дыхания к кислороду. Интенсивность фотосинтетического фосфорилирования зави-

сит от освещенности и непосредственно не зависит от содержания кислорода в среде, в то время как окислительное фосфорилирование сопряжено с окислением соответствующего субстрата и зависит от концентрации кислорода.

Фотосинтетическое фосфорилирование в типичном случае происходит в хлоропластах, в которых можно обнаружить лишь весьма слабо выраженное дыхание. В отличие от этого, реакции окислительного фосфорилирования в основном локализованы в митохондриях, в которых также сосредоточены окислительные ферменты клетки.

После общей характеристики фотосинтетического фосфорилирования рассмотрим его некоторые детали.

ЦИКЛИЧЕСКОЕ ФОТОФОСФОРИЛИРОВАНИЕ

Как отмечалось выше, основной особенностью циклического фотофосфорилирования является то, что АТФ образуется за счет энергии света, без поглощения какого-либо донора и акцептора электронов, добавляемых извне.

Механизм циклического фотофосфорилирования изучен еще очень мало. Процесс должен начинаться с образования под воздействием света эндогенного донора и акцептора электронов. От донора электроны переходят к акцептору по цепи передачи электронов. Перенос электронов в различных звеньях цепи сопряжен с энзиматическими реакциями фосфорилирования.

Скорость циклического фотофосфорилирования сильно возрастает под действием ряда физиологических и нефизиологических кофакторов, представляющих собой окислительно-восстановительные системы, переносящие электроны. К числу таких физиологических факторов относятся флавиномононуклеотид, витамин К₃, аскорбиновая кислота. Примером нефизиологического кофактора является феназинметасульфат.

Согласно представлениям Арнона (Arnon, 1961) молекула хлорофилла после поглощения кванта света освобождает электрон, обладающий высоким энергетическим потенциалом. Теряя электрон, молекула хлорофилла уже становится его акцептором и затем компенсирует электронный дефицит за счет цитохрома, который окисляется. Освобожденный молекулой хлорофилла электрон, обладающий большой энергией, проходит по всей цепи фотосинтетического переноса электронов, достигая в конце концов окисленного цитохрома. Помимо хлорофилла и цитохрома, как конечных звеньев этой цепи, она, вероятно, включает рибофлавиномонофосфат, витамин К или физиологически близкие им соединения и другие вещества.

На различных ступенях переноса электрона его энергия в сопряженных энзиматических реакциях преобразуется в энергию фосфатной связи АТФ (рис. 51).

Некоторые нефизиологические кофакторы, например фен-азинметасульфат, при высокой интенсивности света катализируют циклическое фотофосфорилирование как в хлоропластах (Jagendorf, Avron, 1958), так и в хромофорах (Newton, Kamen, 1957) более эффективно, чем физиологические факторы. По-видимому, их действие сводится к замене нормального физиологического пути переноса избытка электронов искусственным «сокращенным путем». Наоборот, при низкой интенсивности света физиологические кофакторы значительно эффективнее нефизиологических, так как они, вероятно, обеспечивают включение большего количества фосфорилирующих цепей.

Приведенные сведения, касающиеся механизма циклического фотофосфорилирования, не могут претендовать на вполне установленные положения возникающей теории, так как вопрос находится еще в стадии экспериментальной разработки. В настоящее время речь идет о схематических набросках более или менее обоснованной гипотезы.

В отличие от гипотезы Арнона, представления А. А. Красновского (1960) в отношении циклического и нециклического фосфорилирования основываются на хорошо известных свойствах обратимого фотовосстановления хлорофилла. Многочисленные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что возбужденная поглощенным квантом света молекула хлорофилла в результате первичного фотохимического акта воспринимает (а не освобождает!) электрон от молекулы какого-то донора.

Вопрос о природе донора электрона (водорода) в настоящее время не выяснен. Важно то, что этот электрон в результате цепной передачи в конце концов отрывается от молекулы воды. В обратной реакции хлорофилл освобождает активированный электрон, который направляется по фотосинтетической цепи переноса электронов. Движение электрона по цепи биохимических переносчиков, в которую включены различные окислительно-восстановительные системы, сопряжено с реакциями фосфорилирования АДФ, с образованием АТФ.

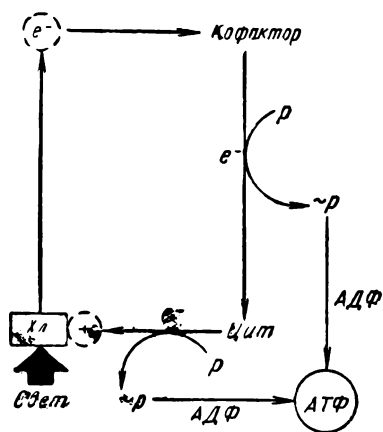


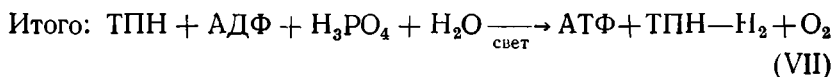
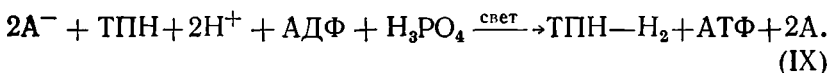
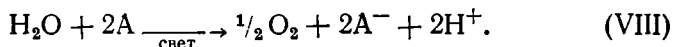
Рис. 51. Схема циклического фотофосфорилирования по Арнону

Таким образом, отличия двух рассмотренных гипотез сводятся лишь к различному толкованию сущности первичной фотохимической реакции пигмента и не относятся к самому процессу фотофосфорилирования.

НЕЦИКЛИЧЕСКОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ

При нециклическом фосфорилировании образование АТФ сопровождается восстановлением внесенного извне акцептора электронов ТПН (VII).

Как предполагает Арнон, электрон, освобожденный в результате фотохимического акта, присоединяется к ТПН, который одновременно получает H^+ от воды для образования восстановленного пиридиннуклеотида. Потеря электрона молекулой хлорофилла восполняется посредством цитохрома электронами от OH^- . В результате ферментативных реакций, сопряженных с переносом электрона между цитохромом и хлорофиллом, как и при циклическом фотофосфорилировании, образуется АТФ. Одновременно происходит выделение кислорода, который является побочным продуктом, образующимся при использовании воды ($-OH^-$) в качестве донора электрона. В пользу такого объяснения выделения кислорода говорят опыты Лосада и сотрудников (1961), которым при помощи восстановленного (A^-) и окисленного (A) индофенола удалось разделить процесс нециклического фотофосфорилирования на две отдельные фотохимические реакции:



В том случае, когда участие воды в качестве донора электронов блокировано (Vernon, Zaugg, 1960) и вместо нее донором электрона является восстановленный индофенол, освещенные хлоропласты образуют АТФ и восстанавливают ТПН без выделения кислорода.

Недавние опыты Арнона показали, что эффективность монохроматического света в красной области в отношении образования АТФ и восстановления ТПН существенно отличается от эффективности выделения кислорода. Это свидетельствует в пользу того, что данные реакции являются различными световыми реакциями.

По-видимому, нециклическое фотофосфорилирование является результатом суммирования двух фотохимических ре-

акций: первичной реакции фотофосфорилирования, которая сопряжена с восстановлением пиридиннуклеотидов, и вспомогательной реакции фотоокисления воды (рис. 52). В предполагаемой схеме промежуточный продукт *A* является одновременно акцептором электронов в первой реакции и донором во второй световой реакции. Природа этих промежуточных

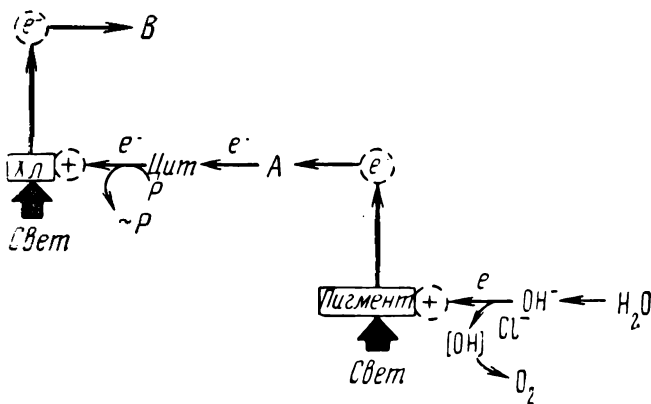


Рис. 52. Схема нециклического фотофосфорилирования по Арнону

продуктов еще не установлена. Продукт *B* является акцептором электронов типа ТПН.

Таким образом, фотосинтетическое фосфорилирование представляет собой основной процесс, в котором энергия света превращается в химическую энергию. В результате этого процесса образуются АТФ и восстановленные фосфопиридиннуклеотиды, которые затем обеспечивают функционирование углеродного восстановительного цикла и последующие многочисленные синтезы в клетке.

КИСЛОРОДНЫЙ ОБМЕН ПРИ ФОТОСИНТЕЗЕ

В процессе фотосинтеза кислород поступает в растение с углекислотой и водой, а выделяется в свободном виде. Выделяющийся кислород является следствием световой реакции, поэтому выяснение его происхождения особенно важно.

ВЫДЕЛЕНИЕ КИСЛОРОДА

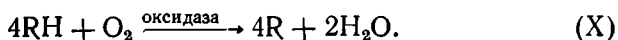
В 1941 г. А. П. Виноградов и Р. В. Тейс (1941), а также Рубен с сотрудниками (1941) с помощью изотопа кислорода O^{18} установили, что выделяющийся при фотосинтезе кислород происходит из воды, а не из углекислоты, как считалось по прежней теории. Подобные опыты проводили и другие исследователи.

дователи, причем Йосида с сотрудниками (Josida и др., 1942) допускали возможность частичного происхождения кислорода из поглощенной углекислоты, а Браун и Френкель (Brown, Frenkel, 1953) справедливо указывали на возможность изотопного обмена между CO_2 и H_2O при проведении подобных опытов, что сказывается на точности их результатов.

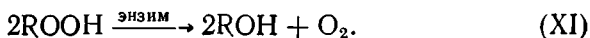
Хотя полностью исключить указанную возможность изотопного обмена, по-видимому, очень трудно, за несомненное происхождение фотосинтетического кислорода из воды говорит и тот факт, что при реакции Хилла (Hill, 1939) изолированные хлоропласты выделяют кислород при освещении без поглощения CO_2 .

В отношении механизма фотосинтетического выделения кислорода в настоящее время определенных сведений очень мало. Следует отметить близкую связь реакции фотоокисления воды с активностью пигментного комплекса. Например, способность к выделению кислорода сохраняется и в отмытых хлоропластах, потерявших способность к фиксации углекислоты или фотофосфорилированию. Известно, что хлоропласты способны выделять кислород после их замораживания и даже после их экстракции растворителями липоидов.

До сих пор не удалось выделить промежуточных продуктов этой реакции. Долго обсуждался и до сих пор окончательно не решен вопрос о том, образуется ли на пути выделения кислорода пероксид или же он происходит по типу обратной реакции действия действия оксидазы без промежуточного образования перекисей:



В случае образования пероксидов кислород мог бы выделяться при действии фермента, подобного каталазе:



Против вероятности такой реакции при фотосинтезе говорят соображения, связанные с некоторыми термодинамическими трудностями ее реализации. Особенно убедительный аргумент против участия каталазы или каталазоподобного фермента (хотя это не одно и то же!) привел Гаффрон (Gaffron, 1937). Ему удалось получить штамм одноклеточной водоросли *Scenedesmus*, в которой с помощью цианида полностью подавлялась каталаза без сколько-нибудь заметного уменьшения фотосинтетической активности.

Ягендорф и Вильдман (Jagendorf, Wildman, 1954) нашли, что очищенные хлоропласты совсем не обладают каталазной активностью, но активно выделяют кислород в реакции Хилла.

С другой стороны, фотосинтетическое выделение кислорода высоко чувствительно к гидроксиламину, который является ядом каталазы (Shibata, Jakushiji, 1933).

ИНГИБИТОРЫ И КОФАКТОРЫ ВЫДЕЛЕНИЯ O₂

То или иное отношение к различным ядам может дать существенную характеристику реакции. Ингибирование фотосинтетического выделения кислорода гидроксиламином наглядно продемонстрировал Гаффрон (Gaffron, 1942), который нашел, что этот яд полностью тормозит фотосинтез у *Scenedesmus* и почти не уменьшает фоторедукции. Аналогичное, притом весьма эффективное, влияние на фотосинтез оказывает гербицид дихлорфенилдиметилмочевина, который активен уже при ничтожно малой концентрации — $3 \cdot 10^{-6}$ (Bishop, 1958).

Сильное тормозящее действие на систему выделения фотосинтетического кислорода оказывают и такие яды, как о-фенантролин, фтиокол, сероводород. Все эти ингибиторы относятся к различным классам химических соединений, но имеют то общее свойство, что образуют комплексы или труднорастворимые соединения с тяжелыми металлами. Это дает основание предполагать участие каких-то тяжелых металлов в фотосинтетическом выделении кислорода в качестве кофакторов. Оказалось, что таким металлом является марганец. Герретсен (Garretsen, 1950) первый указал на резкие изменения потенциала, характерные для образования пероксидов, наблюдаемые при освещении суспензии хлоропластов в присутствии марганца. Герретсен считает, что в этом случае также образуется система Mn^{++}/Mn^{+++} .

Ряд наблюдений других исследователей (Pirson, Tichy, Wilhelmi, 1952; Kenten, Mann, 1955) позволил провести аналогию между недостатком марганца и характером действия ингибиторов на выделение кислорода хлоропластами.

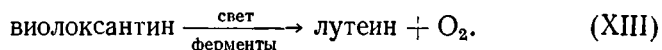
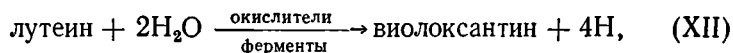
Кесслер и сотрудники (Kessler, 1955, 1957) проводили сравнительные исследования по влиянию недостатка марганца на фотосинтез и фоторедукцию. Они отметили, что и в этом случае недостаток марганца ведет к таким же явлениям, какие наблюдались при отравлении указанными выше ингибиторами, а именно: фотосинтез тормозится, но фоторедукция не уменьшается.

Полагают, что действие ядов основано на блокировании ими марганца, который, по-видимому, принимает участие в образовании пероксида из первичного продукта фотоокисления.

Высказывались предположения, что в процессе фотосинтетического выделения кислорода участвуют каротиноиды. В подтверждение такого предположения приводили опыты.

показывающие, что при освещении наблюдается усиленное включение кислорода в каротиноиды фотосинтезирующего объекта. Результаты такого рода опытов, в том числе полученные с помощью изотопа O^{18} (Dorough, Calvin, 1951), не могут еще рассматриваться как однозначное доказательство участия каротиноидов в переносе кислорода, так как для этого должны быть выделены промежуточные продукты и доказана последовательность их образования. Но полученные данные привлекли внимание исследователей и побудили их к новым экспериментам.

Большой интерес представляют работы Д. И. Сапожникова и сотрудников (1957, 1958) по изменению соотношения основных каротиноидов в хлоропластах листьев при действии света. Применяв метод быстрой фиксации материала при низкой температуре и выделив с помощью хроматографии индивидуальные пигменты, авторы нашли, что под действием света происходит переход виолоксантина в лутеин. (Как известно, лутеин имеет 2 атома кислорода, а виолоксантин 4, из которых 2 имеют эпоксидный характер.) Предполагается, что этот переход является одной из реакций переноса кислорода, выделяющегося в процессе фотосинтеза:



Весьма вероятно участие в переносе кислорода, найденного в хлоропластах (Hill, Scarisbrick, 1951), цитохрома *f*, имеющего сильные окислительные свойства. Было показано (Lundegårdh, 1954), что на свету в листьях происходит обратимое окисление цитохрома *f*.

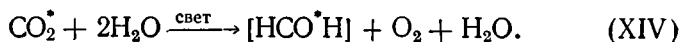
Оказалось, что цитохром такого типа находится в составе водорослей и самых различных фотосинтезирующих бактерий.

Поскольку фотосинтезирующие бактерии, в отличие от растений, не выделяют свободный кислород, вероятная роль цитохрома *f* заключается в удалении окисленных фотопродуктов (ОН) посредством обратимых реакций (Kamen, Verpop, 1954, 1955).

Вполне возможно также участие витамина К в фотосинтетическом выделении кислорода. Бишоп (Bishop, 19586) обнаружил, что хлоропласты, инактивированные обработкой петролевым эфиром, восстанавливают свою способность к выделению кислорода в реакции Хилла после прибавления витамина К.

ПОСТУПЛЕНИЕ КИСЛОРОДА В ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИИ ОРГАНИЗМ

А. П. Виноградов (1947) на основании своих фотосинтетических опытов с применением изотопа кислорода O^{18} выдвинул следующее уравнение:



Согласно этому уравнению и на основании анализа реакций углеродного фотосинтетического восстановительного цикла можно ожидать, что в составе продуктов фотосинтеза должен оставаться кислород углекислоты.

В работе Р. В. Тейс (1950) изотопному анализу был подвергнут кислород естественных растительных продуктов: клетчатки, глюкозы и т. д. Результаты работы подтвердили правильность уравнения Виноградова и показали, что кислород углекислоты переходит в продукты фотосинтеза.

Изотопный состав кислорода клеток зеленых водорослей *Scenedesmus* при фотосинтезе и фоторедукции изучала М. В. Улубекова (1957, 1959). Ее опыты показали отсутствие существенных различий в составе кислорода сухих органических остатков клеток, образующихся в обоих процессах.

Необходимо иметь в виду, что изотопный состав кислорода некоторых органических соединений одного и того же организма может изменяться в зависимости от биохимического происхождения.

Если рассматривать изотопный состав кислорода углеводов фотосинтетического происхождения, то окажется, что он соответствует кислороду углекислоты. Если же углеводы имеют вторичное происхождение (темновой синтез), то изотопный состав их кислорода будет ближе к изотопному составу воды (Вартапетян, 1956).

В области изучения фотосинтетического обмена кислорода биохимия еще далека от тех успехов, которых она достигла в исследованиях пути ассимиляции углерода. Помимо быстрых превращений фотохимических продуктов кислорода причиной медленного прогресса в изучении кислородного обмена является отсутствие радиоактивного изотопа кислорода, с помощью которого можно было бы широко применять радиохроматографический метод, подобно тому, как это имеет место в отношении углерода C^{14} .

В связи с этим следует отметить интересное исследование, проведенное в лаборатории Кальвина (Fogelstrom-Fineman, Holm-Nansen, Tolbert, Calvin, 1957). Изотоп кислорода O^{18} в препаратах, полученных после экспозиции водорослей в обогащенной им воде, превращался путем бомбардировки протонами в циклотроне в радиоактивный изотоп F^{18} . Этот очень сложный в методическом отношении опыт, проведен-

ный впервые, позволил обнаружить на радиоавтограмме, что O^{18} входит в продукты ассимиляции углеродного фотосинтетического цикла, но метаболитов на пути выделения кислорода обнаружить не удалось.

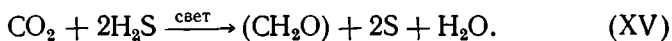
В Советском Союзе подобная методика в настоящее время успешно применяется для выяснения роли каротиноидов в процессе фотосинтеза (Сапожников, 1961).

ОСНОВНЫЕ ОСОБЕННОСТИ БАКТЕРИАЛЬНОГО ФОТОСИНТЕЗА (ФОТОРЕДУКЦИИ)

Важнейшим признаком бактериального фотосинтеза, отличающим его от фотосинтеза зеленых растений, является отсутствие выделения кислорода.

Такой тип фотохимической ассимиляции углерода по предложению Д. И. Сапожникова (1937) и Гаффрона (Gaffron, 1939) часто называют фоторедукцией. Микроорганизмы, осуществляющие этот тип ассимиляции углерода, составляют группу фотоавтотрофных бактерий. Характерными и наиболее распространенными представителями этой группы являются зеленые и пурпурные серобактерии, которые обитают в водоемах, содержащих серу, и обычно нуждаются в анаэробных условиях.

Выдающееся значение для понимания бактериального фотосинтеза имели экспериментальные исследования Ван-Ниля (Van Niel, 1936, 1944), который предложил для суммарного выражения бактериального фотосинтеза следующее уравнение:



Это уравнение выражает процесс в самом общем и схематическом виде и недостаточно соответствует действительности. Некоторое несоответствие прежде всего состоит в том, что продукты бактериального фотосинтеза, обозначаемые символом CH_2O , обычно не являются углеводами, как это характерно для растений. Средний состав веществ тела бактерий отвечает более высокой степени восстановленности и соответствует примерно уровню уксусного альдегида, а не формальдегида.

Форма бактериального фотосинтеза возникла на Земле гораздо раньше нормального фотосинтеза, в результате распространения которого в атмосфере появился свободный кислород. Эпоха возникновения и развития бактериального фотосинтеза характеризовалась сильно восстановительными условиями среды, связанными главным образом с повышенным содержанием в ней сероводорода. Ясно выраженные черты приспособленности к древним условиям сохранились у некоторых представителей низших растений.

Одним из характерных признаков такой приспособленности к восстановительным условиям среды является способность многих видов водорослей переходить под влиянием этих условий от фотосинтеза к фоторедукции, т. е. менять тип обмена веществ.

Например, одноклеточные зеленые водоросли *Scenedesmus* особенно склонны к проявлениям подобной адаптации по отношению к молекулярному водороду. Адаптация зеленых водорослей, открытая и обстоятельно изученная Гаффроном (Gaffron, 1939, 1940), заключается в том, что под влиянием анаэробных условий водоросли постепенно меняют обмен веществ, переходя к той или иной форме фоторедукции. Процесс адаптации обратим.

Биохимической основой этого интересного феномена является, по-видимому, восстановление активности фермента типа гидрогеназы и следующая за этим перестройка работы ряда других ферментных систем.

После того как была обнаружена неспособность фотосинтезирующих бактерий к выделению кислорода, казалось почти очевидным предположение, что в этом случае донором водорода для восстановления углекислоты является не вода, а такие вещества, как H_2S . Это предположение и было отражено в суммарном уравнении Ван-Ниля (XV). Однако факт обратимой адаптации различных видов водорослей к фотовосстановлению углекислоты при использовании молекулярного водорода, а также постоянство квантового расхода при нормальном фотосинтезе и фоторедукции убедительно говорят за то, что вода является постоянным участником всех известных типов фотосинтетических процессов в клетке. Именно из воды в конечном счете образуется пара агентов: окислитель и восстановитель, к которым приводит поглощение света во всех фотосинтезирующих организмах. Неспособность бактерий к фотосинтетическому выделению кислорода может быть объяснена отсутствием ферментной системы, необходимой для завершающего превращения первичных окисленных продуктов в свободный кислород. В этом превращении, по-видимому, участвует марганец, недостаток которого, как мы видели, сильно снижает фотосинтез, но не действует на фоторедукцию. В связи с этим следует отметить, что потребность в ионах марганца у фоторедуцирующих бактерий обычно в сотни раз меньше, чем у фотосинтезирующих водорослей.

Фотосинтетическое фосфорилирование при бактериальном фотосинтезе также имеет место, но отличительной чертой этого процесса также является то, что он сопряжен с восстановлением ДПН, а не ТПН, как у высших растений (Арноп, 1961).

В лаборатории Арнона (Losada, Trebst, Ogata, Arnon, 1960) показано, что в случае фотоассимиляции ацетата бак-

териями *Chromatium* фотофосфорилирование сводится лишь к образованию АТФ и вообще не связано с восстановлением пиридиннуклеотидов.

Этот интересный пример замечателен и тем, что здесь рассматривается наиболее примитивный тип фотосинтеза, который протекает не только без выделения кислорода, но и без поглощения CO_2 , а роль света в основном сводится к образованию АТФ. Подобный фотогетеротрофный тип фотосинтеза, вероятно, имел распространение на ранних стадиях эволюции, когда атмосфера имела восстановленный характер и было достаточно органических веществ.

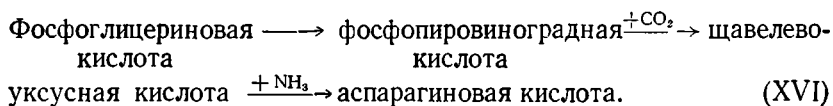
Возможно, что некоторые черты этого типа обмена сохранились в качестве «пережитка» даже у высших растений. В пользу такого предположения говорят результаты недавней работы Н. Г. Домана, А. К. Романовой и З. А. Терентьевой (1961), в которой показано, что растения с помощью фотосинтетического аппарата могут усваивать из атмосферы пары некоторых летучих органических соединений.

Одна из важных особенностей бактериального фотосинтеза состоит в том, что бактерии в процессе ассимиляции не делают значительных запасов каких-либо веществ, подобно растениям, обычно накапливающим в большом количестве углеводы, а иногда и другие соединения. Ассимиляция бактерий в первую очередь направлена на удовлетворение потребностей их конструктивного обмена. Поэтому состав ближайших продуктов ассимиляции углерода при бактериальном фотосинтезе больше соответствует составу бактериальных тел. Учитывая это обстоятельство, а также исключительное разнообразие форм микромира с их резкими различиями в биохимии, физиологии и условиях жизни, можно заранее предвидеть, что путь ассимиляции углерода у каждого вида бактерий будет отличаться большими особенностями уже на первом его этапе (Шапошников, 1959).

Это положение полностью подтвердилось, несмотря на то, что имеется сравнительно небольшое число исследований о пути ассимиляции углерода у фотосинтезирующих бактерий, выполненных с помощью метода меченых атомов.

Этими исследованиями установлено, что ассимиляция углерода фотосинтезирующими бактериями в основном осуществляется с участием фотосинтетического восстановительного цикла, который у бактерий выражен обычно не в такой типичной форме, как у высших растений. В ряде случаев среди ранних продуктов ассимиляции фосфоглицириновая кислота и фосфаты сахаров, которые теснейшим образом связаны с синтезом углеводов, у бактерий не доминируют. Так, например, по данным Фулера (Fuller, 1959), фотосинтезирующие бактерии *Chromatium* прежде всего накапливают аспа-

рагиновую кислоту, которая образуется по следующей схеме реакций:



Бактерии *Rhodospseudomonas capsulatus* в первые минуты фиксации C^{14}O_2 образуют фосфоглицериновую и яблочную кислоты, затем интенсивно метаются аминокислоты (Storpani, Fuller, Calvin, 1955).

Фотосинтез реликтовых бактерий *Phodospseudomonas jssatchenkoi* связан с очень ранним образованием глутаминовой кислоты (Доман, Романова, Терентьева, 1962).

Таким образом, для фотосинтеза бактерий характерно, что он направлен главным образом на образование основных ингредиентов белков — аминокислот — и отличается значительным разнообразием путей ассимиляции углерода.

ХЛОРОПЛАСТЫ КАК СИСТЕМЫ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИЕ ФОТОСИНТЕЗ

После того как в ряде лабораторий была продемонстрирована способность изолированных хлоропластов выделять кислород с реагентами Хилла (Hill, 1939), фиксировать меченую углекислоту (Бойченко, 1950; Tolmach, 1951; Vishniac, Ochoa, 1951; Арноп, 1951) и осуществлять фотосинтетическое фосфорилирование (Арноп, 1961), стало ясно, что хлоропласты представляют собой системы, способные осуществлять полный фотосинтез.

В настоящее время во многих лабораториях с помощью суспензий изолированных хлоропластов проводится изучение полного фотосинтеза, интенсивность которого в лучшем случае пока не превышает нескольких процентов по отношению к интенсивности нормально фотосинтезирующих организмов. Однако возможно, что интенсивность фотосинтеза в искусственной системе при соответствующих условиях может даже превзойти количественные показатели фотосинтеза целых организмов. Например, как указывалось выше (Gibbs, Black, 1961), добавление препарата фотосинтетической редуктазы пиридиннуклеотидов к суспензии хлоропластов увеличивало скорость ассимиляции ими CO_2 в 6—7 раз.

Структура и состав хлоропластов как органелл, специально приспособленных к выполнению функции фотосинтеза растительным организмом, весьма интенсивно изучаются в различных аспектах, что отражено в соответствующей литературе.

Биохимические свойства и особенности хлоропластов исследуют Н. М. Сисакян и его сотрудники (Сисакян, 1951, 1959). Ими установлено, что в хлоропластах сконцентрировано большое количество разнообразных ферментных систем, многие из которых локализованы только в этих пластидах.

Уже было отмечено, что в хлоропластах в большом количестве содержатся карбоксилаза рибулезодифосфата, фотосинтетическая редуктаза и другие ферменты, связанные с фотосинтетическим восстановительным циклом. Ясно также, что в них содержатся ферментные системы, катализирующие реакции фотосинтетического фосфорилирования и выделения кислорода. Было доказано не только наличие многих белковых компонентов, входящих в эти системы, но и постоянное присутствие соответствующих коэнзимов, среди которых аденозиннуклеотиды (АДФ, АТФ), пиридиннуклеотиды (ГПН, ДПН), флавиннуклеотиды, цитохромы (*f*, *c*), витамин К или другие хиноны и другие соединения.

Кроме отмеченных ферментных систем, имеющих как будто более непосредственное отношение к процессам фотосинтеза, в хлоропластах содержатся комплексы энзимов, осуществляющие синтез пептидной связи, липидов, высокомолекулярных углеводов, пигментов и превращения нуклеиновых кислот и других соединений.

Работа этих систем строго координирована, и их состояние изменяется в зависимости от развития организма.

Таким образом, хлоропласты обладают полиэнзиматическими функциями. Эти данные свидетельствуют о том, что деятельность хлоропластов, по-видимому, имеет многогранный характер и не ограничивается тем, что им принадлежит центральная роль в выполнении фотосинтетической функции. С другой стороны, функцию фотосинтеза нельзя рассматривать вне связи с общим обменом веществ клетки.

Хотя хлоропласты способны к полному фотосинтезу, но образуемые ими продукты не могут быть вполне тождественными тем продуктам, которые образуются в неповрежденных клетках. Правда, в силу очень больших количественных различий невозможно найти удовлетворительный критерий для сравнительной оценки качественного состава продуктов, образуемых хлоропластами и целыми клетками. Тот факт, что в целых клетках фиксация CO_2 обычно происходит в 50—100 раз интенсивнее, чем в изолированных хлоропластах, прежде всего наводит на мысль, что это различие обусловлено влиянием цитоплазмы. Конечно, это положение нельзя считать единственной причиной пониженной фотосинтетической активности изолированных хлоропластов, которая в большой степени зависит и от методики их выделения.

По новейшим данным Джеймса (James, 1956) и ряда других авторов, большая часть реакций окисления, в особенно-

сти реакций трикарбонового цикла, происходит в цитоплазме и локализована главным образом в структурах митохондриального типа. Что же касается реакций β -карбоксилирования, то по крайней мере важнейшие из них интенсивно протекают также и в хлоропластах. Наряду с образованием фосфорных эфиров сахаров и свободных углеводов в хлоропластах синтезируются кислоты, аминокислоты и другие продукты. Значительная часть фосфоглицериновой кислоты в хлоропластах используется для преобразования в фосфоэнолпировиноградную кислоту, которая затем через β -карбоксилирование образует щавелевоуксусную кислоту. Последняя обычно тут же расходуется на синтез яблочной кислоты, аспарагиновой кислоты и прочих соединений. Эти же реакции происходят и в цитоплазме, в которой в основном локализованы катализаторы трикарбонового цикла, окислительного фосфорилирования, а также имеются другие необходимые ферменты.

Есть основания считать, что значительная часть фотосинтетических продуктов образуется в поверхностном слое хлоропластов и быстро переходит в цитоплазму, где они вовлекаются в окислительные процессы дыхания. Постепенно выходят в цитоплазму и конечные продукты фотосинтеза, попадая в происходящий отток ассимилятов.

Как показали многочисленные работы Моиза и его сотрудников (Moise, 1961), реакции трикарбонового дыхательного цикла служат не только источником энергии, но и различных соединений, непрерывно используемых в синтезах. В частности, трикарбоновый цикл может быть поставщиком ацетильных групп, потребляемых в синтезе липидов и пигментов в хлоропластах.

Нет ни необходимости, ни возможности рассматривать здесь роль цитоплазмы в процессе фотосинтеза более детально. Только что приведенный пример участия цитоплазмы в построении фотосинтетического аппарата хлоропластов и другие данные, указывающие на теснейшую функциональную взаимосвязь между ними, подчеркивают значение организации клетки как единого целого.

ПУТИ АССИМИЛЯЦИИ УГЛЕРОДА ПРИ ФОТОСИНТЕЗЕ

ВЗАИМОСВЯЗЬ ТЕМНОВОГО И ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО УСВОЕНИЯ УГЛЕКИСЛОТЫ

Как уже упоминалось выше, растения могут поглощать некоторое количество углекислоты и в темноте, причем у некоторых растений, например у суккулентов, это количество может быть весьма значительным.

Темновая фиксация углекислоты осуществляется в основном не на рибулезодифосфате, а через иные реакции карбоксилирования. Как показали многочисленные исследования, наиболее важным в количественном отношении является β -карбоксилирование фосфоэнолпировиноградной кислоты.

В работах лаборатории Кальвина (Benson, Calvin, 1950), Моиза и его сотрудников (Champigny, 1960; Moyses, 1959, 1961), Н. Г. Домана (1956) и др. с помощью меченых атомов показано, что при темновом поглощении углекислоты образуется ряд веществ, связанных с циклом ди- и трикарбоновых кислот, среди которых яблочная, янтарная, фумаровая, лимонная, α -кетоглутаровая кислоты, аспарагиновая и глутаминовая аминокислоты, аланин, серин и ряд других веществ. Доминируют обычно яблочная и аспарагиновая кислоты.

При изучении динамики продуктов темнового поглощения CO_2 листьями фасоли Н. Г. Доманом (1956) радиохроматографически было обнаружено существование нескольких самостоятельных видов этого поглощения, идущих с очень слабой интенсивностью. Кроме реакции карбоксилирования пировиноградной кислоты Вуда—Веркмана известно карбоксилирование α -кетоглутаровой кислоты Очоа; может иметь место и карбоксилирование γ -аминомасляной кислоты, обнаруженное при фотосинтезе Варбургом и его сотрудниками (Warburg и др., 1958). Возможны и другие реакции карбоксилирования. Хотя многие из этих реакций подавляются на свету вследствие конкуренций за CO_2 , интенсивность других в известных пределах возрастает.

Возрастает интенсивность восстановительного карбоксилирования пировиноградной кислоты вследствие накопления этого вещества в процессе фотосинтеза при слабом освещении. Линко с сотрудниками (Linko, и др., 1957) было отмечено возрастание на свету синтеза цитруллина через орнитиновый цикл.

Углекислота, поглощенная в темноте в больших количествах листьями таких растений, как суккуленты, входит в состав их органических кислот. При освещении углерод этих кислот в основном переходит в состав углеводов.

На основании опытов с мечеными атомами, проведенных Моизом (Moyse, 1959) и его сотрудниками, и данных других авторов можно полагать, что это превращение органических кислот в углеводы происходит на свету путем глубокого окисления кислот. При этом, вероятно, на синтез углеводов используется углерод лишь в составе CO_2 .

Все эти результаты указывают на глубокую внутреннюю связь между темновой фиксацией CO_2 и фотосинтезом.

Давно известно, что удобрение растений карбонатами в целом ряде случаев значительно увеличивает урожай. А. Л. Курсанов, А. М. Кузин, Я. В. Мамуль (1951) с помощью метода меченых атомов наглядно показали, что углекислота, поступающая в растение через корни, усваивается в листьях в процессе фотосинтеза с образованием углеводов и других продуктов.

А. Л. Курсановым, Н. Н. Крюковой и их сотрудниками (1952, 1953) было обнаружено, что углекислота, поступающая в растения с почвенным раствором, не просто увлекается транспирационным током, а уже в корнях вступает в реакции карбоксилирования, присоединяясь главным образом к пировиноградной кислоте с образованием яблочной кислоты. Активно включаясь в метаболизм, меченый углерод, вошедший в корни, быстро достигает листьев растения. В листьях основное количество кислот декарбоксилируется, освобождая меченую углекислоту. В темноте подавляющая часть этой углекислоты уходит в атмосферу. На свету же эта углекислота может усваиваться с образованием обычных продуктов фотосинтеза.

Вопрос об усвоении углекислоты, поступающей через корни, изложен здесь весьма кратко и схематически. Ясно, что этот процесс и его результаты в сильной степени зависят от различных условий.

После работ А. Л. Курсанова, Н. Н. Крюковой и их сотрудников по корневому питанию растений углекислотой, открывших новый тип быстрого передвижения углекислоты и ее ассимиляцию, и исследований А. М. Кузина и сотрудников (1952), обнаруживших интенсивное усвоение изолированными корнями CO_2 из газов почвы, едва ли можно сомневаться в том, что поглощение углекислоты корнями растений является физиологически необходимым процессом. Этот процесс, в частности, является необходимым звеном в обмене органических кислот корня, так как приводит к синтезу дикарбоновых кислот, которые, в свою очередь, участвуют в процессе поглощения минеральных элементов.

Что касается более непосредственного участия углекислоты в процессе формирования продуктов фотосинтеза, то, как указывалось выше, здесь все зависит от многих условий и в первую очередь, вероятно, от обеспеченности углекислотой нормально функционирующего растения.

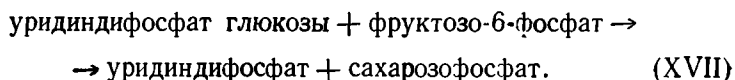
ПУТЬ УГЛЕРОДА В УГЛЕВОДЫ

Цикл Кальвина (Bassham, Calvin, 1957), являющийся основным путем ассимиляции углекислоты растениями, в более узком смысле можно было бы назвать углеводным фотосин-

тетическим циклом, так как в нем не только осуществляются разнообразные превращения простейших углеводов, но и формируется их непрерывный поток в качестве важнейшей продукции фотосинтеза.

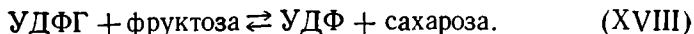
При анализе материала краткосрочных фотосинтетических опытов с одноклеточными зелеными водорослями Кальвин и Бенсон (Calvin, Benson, 1949) отметили, что из свободных сахаров, присутствовавших в экстракте, на радиоавтограммах обозначалась только сахароза. Примерно то же самое наблюдали некоторые авторы в опытах с листьями высших растений (Туркина, 1959). На основании этих наблюдений исследователи сделали вывод о том, что при фотосинтезе первой из свободных сахаров образуется сахароза и что в результате ее гидролиза накапливаются монозы.

Эти представления получили веское подкрепление (Vishanap, 1953) после открытия фосфорного эфира сахарозы, рассматриваемого как промежуточный продукт ее синтеза, образующийся в результате следующей реакции:



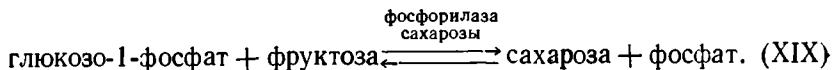
Соединения, участвующие в этой реакции, в процессе фотосинтеза очень быстро приобретают метку по углеводным радикалам.

Однако известны биосинтезы сахарозы и с участием свободных моноз. Типичным примером такого синтеза служит следующая реакция:



Эта реакция совместно с предыдущей реакцией (XVII) была осуществлена Лелуаром и Кардини (Leloir, Cardini, 1953) с помощью фермента, выделенного из проростков пшеницы. Она была показана и на других объектах, например, в системе диализованного экстракта гороха (Turner, 1954).

Другой путь синтеза сахарозы, осуществленный *in vitro* с помощью энзиматической системы бактериального происхождения, сводится к реакции между глюкозо-1-фосфатом и свободной фруктозой:



Указанную реакцию, несмотря на многочисленные попытки, не удалось пока убедительно показать в высших растениях, если не считать единичных сообщений об этом (Shukla, Prabhu, 1959).

Необходимо отметить, что положение равновесия в этой реакции очень сдвинуто в сторону гидролиза в противоположность реакции (XVIII) с участием УДФГ, в которой положение равновесия благоприятствует синтезу сахарозы.

Таким образом, идентифицированный Лелуаром и его сотрудниками новый весьма распространенный коэнзим УДФГ может с помощью соответствующих белковых компонентов переносить глюкозу на фруктозу или на фруктозо-6-фосфат с образованием сахарозы или сахарозофосфата.

Трудно полностью отрицать возможность синтеза сахарозы посредством инвертазы, особенно после того как недавно было показано, что этот фермент может переносить фруктозный компонент не только на воду, но и на меченую свободную глюкозу.

По-видимому, образование сахарозы является ведущим синтезом при фотосинтетическом образовании углеводов. По данным М. В. Туркиной (1959), сахароза значительно доминирует над другими свободными углеводами, образующимися в листьях в течение нескольких минут фотосинтеза. Автор приходит к выводу, что характер углеводного обмена у разных видов растений начинает формироваться в основном после образования сахарозы и на ее основе. Представляется наиболее вероятным, что образование сахарозы в процессе фотосинтеза происходит главным образом с участием УДФГ. Если это так, то для регенерации УДФ, реагирующего с глюкозой, необходимо дополнительное потребление АТФ, которое обеспечивается, вероятно, непосредственно за счет процесса фотосинтетического фосфорилирования.

Наряду с признанием выдающегося значения синтеза сахарозы для растения ни в какой мере нельзя недооценивать важнейшей биохимической или физиологической роли других углеводов, так же как и многих прочих веществ. Хорошо известно, что синтез крахмала на свету происходит очень быстро и большей частью непосредственно в хлоропластах. Механизм синтеза крахмала в листьях на свету еще недостаточно изучен. По-видимому, он осуществляется главным образом посредством фосфорилазы из глюкозо-1-фосфата. Вместе с тем Витторио, Кротков и Рид (Vittorio, Krotkov, Reed, 1954) показали, что в листьях табака крахмал из C^{14} -глюкозо-1-фосфата почти не образуется, в то время как из меченой углекислоты он образуется весьма интенсивно.

Необходимо особенно подчеркнуть, что легко могут происходить взаимные превращения углеводов. Причем эти превращения, как и первичные синтезы, в большинстве случаев осуществляются несколькими путями.

Известно, что при введении в листья меченой глюкозы, фруктозы или даже седогептулезы метка обнаруживается и в других углеводах и особенно в сахарозе. При этом обе по-

ловины сахарозы быстро приобретают одинаковую метку независимо от того, какая из моноз вводилась в листья. Это положение, в соответствии с некоторыми из реакций синтеза сахарозы, указывает на то, что свободные монозы в хлоропластах могут возникать и раньше сахарозы. В других же местах они могут накапливаться вследствие гидролиза сахарозы. К этому следует добавить, что всегда необходимо учи-

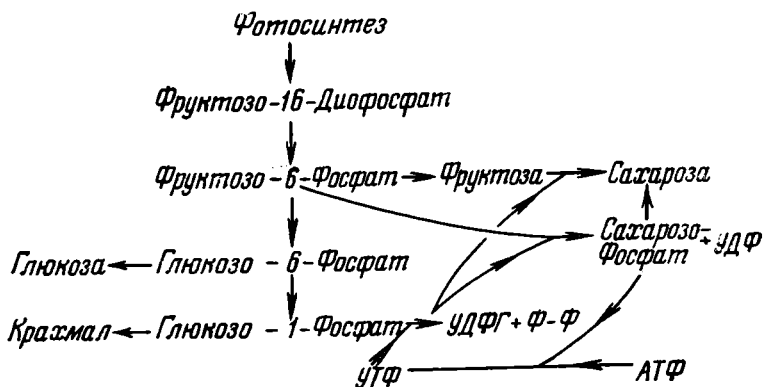


Рис. 53. Схема образования сахарозы

тывать особенности обмена веществ различных растений и связанные с этим различия путей биосинтеза веществ.

Путь углерода в углеводы в процессе фотосинтеза в основных чертах изображен на рис. 53. Чтобы не усложнять схему, на ней не отображены многие из вероятных реакций взаимопревращений, о которых упоминалось в тексте.

СИНТЕЗ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ

Одной из особенностей обмена веществ растительного организма является его способность к значительному накоплению органических кислот, обычно во много раз превышающему их содержание в животном организме. Уже один этот факт сам по себе наводит на мысль о том, что указанная особенность растительного организма может быть связана с фотосинтезом.

Действительно, разветвление пути ассимиляции углерода от фосфоглицериновой кислоты дает начало боковой цепи реакций, которая через пировиноградную кислоту ведет к синтезу целого ряда органических кислот и аминокислот.

Важнейшее значение, по крайней мере в количественном отношении, имеет образование яблочной кислоты. Она может образоваться путем β -карбоксилирования фосфоэнлопировиноградной и свободной пировиноградной кислот как непо-

средственно путем восстановительного карбоксилирования, так и через восстановление щавелевоуксусной кислоты. Кроме того, яблочная кислота может синтезироваться путем конденсирующей реакции с участием ацетил-КоА и глиоксильевой кислоты. Последняя довольно быстро образуется в процессе фотосинтеза при окислении гликолевой кислоты, происхождение которой, по-видимому, тесно связано с фотосинтетическим циклом, в ходе которого имеет место массовое образование и перенос фрагментов гликолевого альдегида.

Цикл ди- и трикарбонатных кислот, с которым связаны уже рассмотренные кислоты, дает начало образованию и ряда других кислот.

Синтез органических кислот в хлоропластах и цитоплазме на свету и в темноте осуществляется на основе различных процессов, но во многих случаях он является результатом одних и тех же реакций. Это, например, подтверждается тем фактом, что яблочная кислота, полученная после кратковременного поглощения $C^{14}O_2$ листьями суккулентов на свету и в темноте, в обоих случаях имеет близкое распределение радиоактивности: примерно $1/3$ C^{14} в первом атоме кислоты и $2/3$ — в четвертом.

Образование кислот в сильной степени зависит от ряда условий. При не слишком ярком освещении увеличивается образование фосфоэнолпировиноградной кислоты, вследствие чего усиливается реакция ее β -карбоксилирования, ведущая к синтезу ряда кислот (Champigny, 1960). Как установила Н. П. Воскресенская (1956), коротковолновый свет способствует большему образованию кислот. Усиленный синтез кислот наблюдается в условиях повышенной концентрации кислорода (Moyses, 1959).

Фотосинтез оказывает влияние и на вторичный синтез кислот, так как углеводы, накапливающиеся в результате этого процесса, подвергаются затем окислительному распаду. Это может сопровождаться не только накоплением кислот, образующихся при глубоком окислении углеводов, но и кислот первичного окисления сахаров (Солдатенков, Мазурова, 1956).

СИНТЕЗ АМИНОКИСЛОТ И БЕЛКОВ

Работами Т. Ф. Андреевой и сотрудников (1959), Шампиньи (Champigny, 1960), В. А. Чеснокова с сотрудниками (1959) и других исследователей с полной определенностью установлено, что свет усиливает синтез аминокислот и белков. Это усиление в первую очередь связано с накоплением кетокислот, которые, как мы видели, могут образоваться непосредственно при фотосинтетической ассимиляции углекислоты или при окислении основных продуктов фотосинтеза — углеводов.

Среди ранних продуктов, возникших за 15 сек фотосинтеза листьев сои, Вернон и Аронов (Vernon, Aronoff, 1950) нашли аланин, серин и глицин. Быстрое образование этих аминокислот может происходить путем переаминирования или непосредственного аминирования соответствующих кетокислот: пировиноградной, оксипировиноградной и глиоксилевой. Очень рано в растениях во многих случаях образуется аспарагиновая кислота. Как указывалось выше, у ряда фотосинтезирующих бактерий аспарагиновая и глутаминовая кислоты обычно оказываются наиболее сильно помеченными в течение нескольких секунд фотоассимиляции $C^{14}O_2$. С появлением аминокислот быстро синтезируются и белки. С другой стороны, фотосинтез сопровождается накоплением восстановленных форм ТПН и ДПН, которые могут участвовать в аминировании кетокислот аммиаком, а также в восстановлении нитратов.

Вопросы образования аминокислот в растениях путем непосредственного аминирования кетокислот и переаминирования подробно разрабатываются в лаборатории В. Л. Кретовича и рассмотрены в его обзоре (Кретович, 1961).

СИНТЕЗ ЖИРОВ, ЛИПИДОВ И ПИГМЕНТОВ

Эти соединения локализованы главным образом в хлоропластах и составляют более трети их сухого веса. Вместе с белками они обеспечивают возможность образования ориентированных структур хлоропластов и активно участвуют в обмене веществ при фотосинтезе.

Вопросам фотосинтетического образования указанных соединений посвящены интересные исследования Бенсона (Benson, 1961), Н. М. Сисакяна (1959), А. А. Шлыка (1959), Фога (Fogg, 1956).

Липиды хлоропластов при ассимиляции $C^{14}O_2$ довольно быстро приобретают метку. Основой для построения их молекул являются главным образом двухуглеродные ацетильные фрагменты и трехуглеродные глицериновые. Первые могут быть, вероятно, получены при взаимодействии пировиноградной кислоты с КоА, в результате которого образуется ацетил КоА, или путем превращения в активную ацетильную группу двухуглеродных фрагментов, возникающих при расщеплении молекул сахаров. Глицериновые же группировки могут получаться при восстановлении фосфотриоз.

Бенсон (Benson, 1961) показал, что в процессе фотосинтеза меченый углерод быстро включается в фосфолипиды, углеводолипиды и серолипиды. На основании своих исследований он предполагает, что сульфоллипиды могут участвовать в одном из вариантов синтеза гексоз в хлоропластах.

СВЯЗЬ ФОТОСИНТЕЗА С ДРУГИМИ ПРОЦЕССАМИ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ

Как отмечалось во введении, при рассмотрении фотосинтеза в биохимическом аспекте необходимо учитывать взаимосвязь всех сторон обмена веществ. Однако в пределах статьи невозможно претендовать на более или менее полное изложение даже основ существующей взаимосвязи между теми или иными биохимическими процессами, особенно если сущность ее еще твердо не установлена. Поэтому здесь мы вынуждены касаться только некоторых основных положений взаимосвязи фотосинтеза с отдельными процессами обмена веществ, ограничиваясь иногда только краткими указаниями.

Большое влияние на фотосинтез, в том числе на путь ассимиляции CO_2 , оказывают различные внешние и внутренние условия фотосинтеза, особенно такие, как интенсивность и качество света (Воскресенская, 1956; Чернавина, 1959; Воскресенская, Гришина, 1958), температура, водоснабжение (Гарчевский, 1958), минеральное питание (Ваклинова, Доман, 1959). Влияние некоторых условий частично исследовалось в биохимическом аспекте. Наиболее всесторонне эти вопросы исследуются А. А. Ничипоровичем и его сотрудниками (1958).

Хотя влияние различных условий на фотосинтез тесно связано с различными процессами обмена веществ, но эти вопросы подробнее рассматриваются далее.

Взаимосвязь фотосинтеза и дыхания

Эти два важнейших процесса жизнедеятельности растений по многим биохимическим показателям являются противоположными (Колесников, 1959).

Установлен целый ряд фактов, показывающих участие в фотосинтезе многих промежуточных продуктов и ферментов, которые участвуют и в процессе дыхания. Несомненно, что характер и степень взаимосвязи этих процессов будут находить отражение в концентрации участвующих в них веществ. Однако сущность и механизм этой взаимосвязи еще не выяснены, несмотря на большое количество исследований, посвященных этим вопросам. Даже в таких принципиальных вопросах, как вопрос о том, усиливается или подавляется дыхание при фотосинтезе, имеют место противоречивые заключения. Ответы на эти вопросы можно ожидать прежде всего из опытов с применением изотопной методики. Для выяснения этих вопросов Браун (Brown, 1959) использовал различные изотопы: C^{12} , C^{14} , O^{16} , O^{18} . Особенностью методики Брауна является то, что он в стационарных условиях эксперимента имел возможность непрерывно следить за изменением количества различных изотопов, измеряемого масс-спектрографом, в котором производился опыт. В противоположность прежним

своим выводам о независимости фотосинтеза и дыхания Браун считает, что эта независимость весьма относительна. Между данными двумя процессами существует сложное взаимодействие, характер которого зависит от многих факторов. К этим факторам относятся температура, интенсивность освещения, продолжительность предварительного затемнения и наличия запаса ассимилятов, способность к реакции Мелера (Mehler) и т. д.

В отношении взаимосвязи фотосинтеза и дыхания по линии использования не только конечных, но и промежуточных продуктов одного процесса в другом уже указывалось (Mouze, 1961), что дыхательный цикл служит поставщиком продуктов, потребляемых в разнообразных синтезах. Показано также, что в естественных условиях образующиеся промежуточные продукты фотосинтеза могут тут же интенсивно использоваться в процессе дыхания, покрывая в основном потребность в субстратах дыхания на свету (Доман, 1959). Хотя фотосинтез, выраженный суммарной реакцией, формально представляет собой обращение дыхания, в действительности он не является таковым. В то же время многие его реакции, будучи вполне обратимыми, по существу выражают противоположный характер этих двух параллельно идущих процессов, степень слияния которых определяется пространственными факторами. С этой точки зрения нельзя без специального исследования каждой элементарной реакции правильно оценить факт уменьшения на свету концентрации какого-либо вещества в листьях, например лимонной кислоты, и сделать однозначный вывод, что фотосинтез тормозит дыхательный цикл ди- и трикарбоновых кислот.

Известно, что вещества, участвующие в любом биохимическом процессе, имеющем циклический характер, вступают в многочисленные реакции и помимо данного цикла. Это неизбежно ведет к тому, что превращение веществ на различных участках цикла происходит неравномерно и существенно нарушает условия обратимости в целом. По-видимому, вследствие этого на свету имеет место часто наблюдающееся ослабление включения углерода в лимонную кислоту. С другой стороны, на свету обычно усиливается образование яблочной кислоты через реакцию β -карбоксилирования пировиноградной кислоты.

Ввиду особенностей обмена веществ у различных видов растений при общности многих характерных черт взаимосвязи обоих процессов имеют место конкретные различия в выражении этой связи, нередко приводящие к противоречивым заключениям. Рассматривая процессы ассимиляции и диссимиляции в единстве, нельзя в пределах нормальной жизнедеятельности не признать необходимым усиление одного процесса при интенсификации другого. Однако это усиление весь-

ма неравномерно в различных звеньях и качественно выражается по-разному, что и обуславливает сдвиги в общей направленности процессов обмена веществ.

Необходимо иметь в виду и то, что дыхательный процесс может идти разными путями с преимущественным использованием систем, наиболее приспособленных к данным условиям (Рубин, Арциховская, Соколова, Иванова, 1952).

Связь фотосинтеза с азотным обменом

Характер взаимосвязи этих процессов существенно отличается у различных видов фотосинтезирующих организмов. Давно известно, что сине-зеленые водоросли способны к сопряженной фотосинтетической фиксации CO_2 и молекулярного азота. Недавно обнаружено, что эта способность в какой-то мере присуща и пурпурным бактериям (Kamen, 1953).

Относительно механизма сопряжения указанных процессов известно еще очень мало. По данным Фога (Fogg, 1956), фотосинтетическое выделение сине-зелеными водорослями кислорода резко увеличивается в присутствии N_2 и CO_2 по сравнению с выделением кислорода в атмосфере аргона.

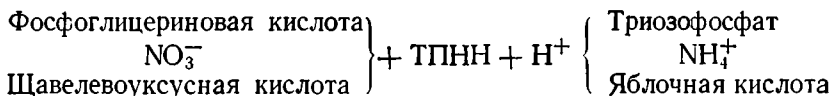
Характер азотного питания непосредственно влияет на состав продуктов фотосинтеза. С. Г. Ваклинова и Н. Г. Доман (1959) отметили некоторые закономерности влияния окисленной (NO_3^-) и восстановленной (NH_4^+) форм азота на путь ассимиляции углерода. Это влияние сказывается очень быстро и в значительной степени определяется непосредственным действием различных ионов. При азотной подкормке кукурузы и фасоли, особенно в аммиачной форме, в листьях обоих растений наблюдалось увеличение свободных аминокислот. В динамике образования индивидуальных веществ, меченных по углероду, наблюдаются существенные различия между кукурузой и фасолью, которые выражаются в усилении синтеза глицина у кукурузы и аланина — у фасоли.

Помимо непосредственного действия тех или иных ионов, содержащих азот, на продукты ассимиляции CO_2 характер азотного питания влияет на формирование самого фотосинтетического аппарата и на интенсивность фотосинтеза.

В литературе отмечалось, что различные дозы азотного удобрения вызывают количественные и качественные изменения в составе белков хлоропластов и способствуют накоплению хлорофилла. Б. А. Рубин и С. Г. Ваклинова (1958), исследуя механизм указанной зависимости, показали, что под действием нитратов сдвигается окислительно-восстановительный режим тканей в сторону усиления окислительных процессов. Под влиянием нитратов увеличивается относительное содержание хлорофилла *b* и активность полифенолоксидазы. На аммиачном фоне наблюдается возрастание активности ка-

талазы и пероксидазы и увеличивается относительное содержание хлорофилла *a*.

Механизм влияния различных содержащих азот ионов на ассимиляцию CO_2 выражается и в том, что NO_3^- и CO_2 могут конкурировать за восстановительные агенты, образующиеся в процессе фотосинтеза (Moyses, 1959). Подобные конкурентные отношения за восстановленные пиридиннуклеотиды могут иметь место и между NO_3^- и NH_4^+ , а также между рядом других соединений. Некоторые из этих конкурентных отношений могут быть выражены следующей схемой (Champigny, 1960):



Связь фотосинтеза с фосфорным обменом

Теснейшая связь между этими процессами продемонстрировалась на протяжении почти всей статьи. Эта связь заключается прежде всего в фотосинтетическом фосфорилировании и в образовании серии фосфорорганических эфиров, возникающих на первой же стадии ассимиляции углерода. О роли фосфора в прочих синтетических процессах, связанных с преобразованием уловленной энергии света в форме различных химических соединений, говорить не приходится, так как эта роль определяется общебиохимическим значением фосфора.

ОБЩАЯ СХЕМА БИОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ФОТОСИНТЕЗЕ

Рассматривая процесс фотосинтеза, мы постоянно подчеркивали сложный, взаимозависимый и чрезвычайно гибкий характер цепей реакций, составляющих этот процесс. Это исключает возможность вполне удовлетворительного представления процесса в графическом изображении. На рис. 54 сделана попытка схематически представить общий путь ассимиляции углерода.

Рассматривая схему, необходимо прежде всего отметить, что вместе с единством основных черт этого пути у различных организмов всегда ясно выражается и его специфичность, связанная с особенностями общего обмена веществ.

Специфика обмена веществ организмов и влияние различных условий отражаются на пути и скорости ассимиляции углерода с самого начала. Первый стойкий продукт ассимиляции углерода — фосфоглицериновая кислота (а частично, может быть, и ее предшественник) — как минимум превращается с восстановлением, окислением, дефосфорилированием. Но в основном это превращение идет по восстановительному фотосинтетическому циклу.

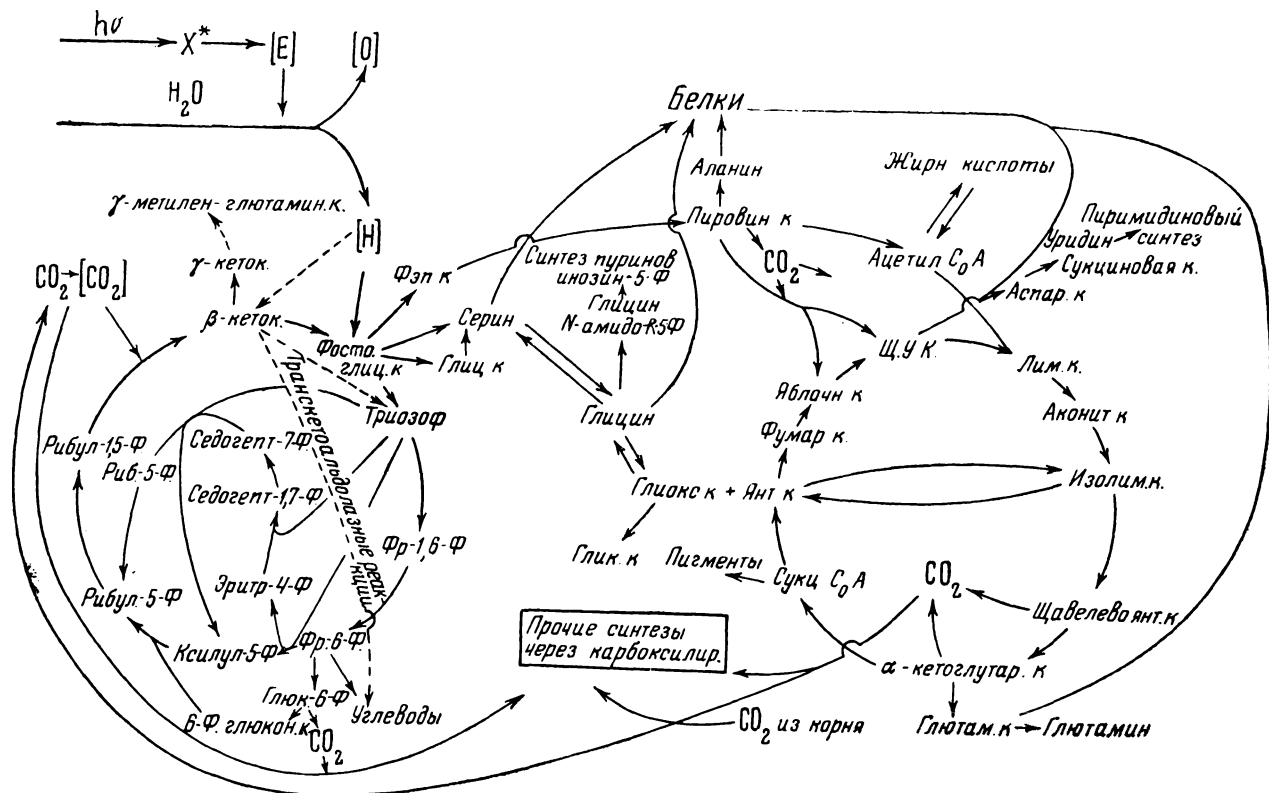


Рис. 54. Общая схема фотосинтеза

Помимо карбоксилирования рибулезодифосфата могут иметь место другие реакции карбоксилирования, идущие с заметной или даже с незначительной скоростью. В биохимии уже известно несколько десятков таких реакций. Многие из них были упомянуты выше. Несомненно, что наряду с частичным подавлением этих реакций благодаря конкуренции CO_2 некоторые из них усиливаются ввиду накопления соответствующих акцепторов, образующихся при фотосинтезе, и, в свою очередь, сами влияют на фотосинтез.

Таким образом, с основным руслом ассимиляции углерода через восстановительный фотосинтетический цикл связывается синтез многих физиологических веществ путем различных реакций карбоксилирования, сливаясь в едином процессе обмена веществ, лежащем в основе всех жизненных явлений.

ЛИТЕРАТУРА

- Андреева Т. Ф., Нальборчик Э. Я., Тихомиров М. В. Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Арнон Д. И. V Междунар. биохим. конгр., М., Изд-во АН СССР, 1961. Аронов С. Изотопные методы в биохимии. М., ИЛ, 1959. Бах А. Н. Сборник трудов по химии и биохимии. М., Изд-во АН СССР, 1950. Бенсон А. А. V Междунар. биохим. конгр., М., Изд-во АН СССР, 1961. Блок Р., Лестранг Р., Цвейг Г. Хроматография на бумаге. М., ИЛ, 1954. Бойченко Е. А. Автореф. докт. дисс. М., 1950. Бойченко Е. А., Саенко Г. Н. Физиол. раст., 1959, 6. Ваклинова С. Г. и Доман Н. Г. Българска Академия на науките, 1959, 8. № 11. Вартапетян Б. Б. Автореф. канд. дисс. М., 1956. Виноградов А. П. Изв. АН СССР, 1947, 3. Виноградов А. П., Тейс Р. В. ДАН СССР, 1941, 33. Воскресенская Н. П. Физиол. раст., 1956, 3. Воскресенская Н. П., Гришина Г. С. Физиол. раст., 1958, 5. Гибе М., Блек С. V Междунар. биохим. конгр., Симп. Изд-во АН СССР, 1961. Джеймс В. О. Дыхание растений. М., ИЛ, 1956. Доман Н. Г. ДАН СССР, 1952, 85; Тр. Комиссии по аналитич. химии, 1955, 6, (9); Биохимия, 1956, 21; Сб. «Физиол. раст., агрохим. и почвовед.», М., Изд-во АН СССР, 1958, 5; Биохимия, 1959, 24; Доман Н. Г. и Ваклинова С. Г. ДАН СССР, 1958, 122. Доман Н. Г., Кузин А. М., Мамуль Я. В. и Худякова Р. И. ДАН СССР, 1952, 86. Доман Н. Г., Романова А. К. и Терентьева З. А. ДАН СССР, 1961, 138; Микробиология, 1962, 31. Доман Н. Г., Хаджи-Мурат Л. Н., Демина С. Е. ДАН СССР, 1958, 122. Доман Н. Г., Школьник М. Я., Терентьева З. А. V Междунар. биохим. конгр., Симп. ...М., Изд-во АН СССР, 1961. Евстигнеев В. Б. Автореф. докт. дисс. М., 1956. Заленский О. В., Семихатова О. А., Вознесенский В. Л. Методы применения радиоактивного углерода C^{14} для изучения фотосинтеза. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1955. Колесников П. А. Усп. совр. биол., 1959, 47. Красновский А. А. Усп. химии, 1960, № 29. Красновский А. А., Брин Г. П. ДАН СССР, 1949, 67; 1950, 73. Крашенинников Ф. Н. Усвоение солнечной энергии растением. М., 1901. Кретович В. Л. Сб. «Баховские чтения», XVI. М., Изд-во АН СССР, 1961. Кузин А. М., Меренцова В. И., Мамуль Я. В. ДАН СССР, 1952, 85. Курсанов А. Л., Крюкова Н. Н., Вартапетян Б. Б. ДАН СССР, 1952, 85. Курсанов А. Л., Крюкова Н. Н., Выскребенцева А. И. Биохимия, 1953, 10. Курсанов А. Л., Крюкова Н. Н. и Пушкарева М. И. ДАН СССР, 1953, 88. Курсанов А. Л., Кузин А. М., Мамуль Я. В. ДАН СССР, 1951, 79. Моиз А. Физиол.

раст. 1959, 6; I Междунар. биохим. конгр., М., Изд-во АН СССР, 1961. Незговорова Л. А. ДАН СССР, 1951, 79; 1953, 92. Рубин Б. А., Арциховская Е. В., Соколова В. Е., Иванова Т. М. ДАН СССР, 1952, 85. Рубин Б. А., Ваклинова С. Г. ДАН СССР, 1958, 119. Сапожников В. В. Белки и углеводы зеленых листьев как продукт ассимиляции. Томск, 1894; Сапожников Д. И. Биохимия, 1937, 2; V Междунар. биохим. конгр., М., Изд-во АН СССР, 1961. Сапожников Д. И., Баженова Н. В. ДАН СССР, 1958, 120. Сапожников Д. И., Красовская Т. А., Маевская А. Н. ДАН СССР, 1957, 113. Сисакян Н. М. Ферментная активность протоплазмных структур. М., Изд-во АН СССР, 1951; Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Солдатенков С. В., Мазурова Т. А. Биохимия, 1956, 21. Тарчевский И. А. Уч. зап. Казанск. ун-та, 1958, 118. Таусон В. О. О продуктах фото- и хемосинтеза. Основные положения растительной биоэнергетики. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1950. Тейс Р. В. ДАН СССР, 1950, 72. Теренин А. Н. «Баховские чтения», VI. М., Изд-во АН СССР, 1951. Тимирязев К. А. Соч., т. II. М., Сельхозгиз, 1937. Туркина М. В. Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Улубекова М. В. ДАН СССР, 1957, 112; Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Фрэнч К., Форк Д. V Междунар. биохим. Чернавина И. А. Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Чесноков В. А., Баскакова А. А., Белозерова Л. С. и Мамушкина Н. С. Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Шапошников В. Н. Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Шемякин Ф. М., Мицеловский Э. С. и Романов Д. В. Хроматографический анализ. М., Госхимиздат, 1955. Шлык А. А. Метод меченых атомов в изучении биосинтеза хлорофилла. Минск, 1956. Arnon D. I. Nature, 1951, 167; 1959, 184; Arnon D., Whatley F., Allen M. Science, 1958, 127. Arnon D. I., Allen M. B. a. Whatley F. R. Nature, 1954, 174. Aronoff S. Arch. Biochem. a. Biophys., 1951, 32. Avron M., Jagendorf A. T. Nature, 1957, 179. Axelrod B., Bandurski R. S., J. Biol. Chem., 1953, 204. Bassham J. A., Calvin M. The Path of Carbon in Photosynthesis. New Jersey, 1957. Bassham J. A., Kirk M. Biochim. et Biophys. Acta, 1960, 43. Benson A. A. J. Amer. Chem. Soc., 1951, 73. Benson A. A., Bassham J. A., Calvin M. J. Amer. Chem. Soc., 1951, 73. Benson A. A., Bassham J. A., Calvin M., Goodale J. C., Haas V. A., Stepka W. J. Amer. Chem. Soc., 1950, 72, № 4. Benson A. A., Calvin M. Ann. Rev. Plant. Physiol., 1950, 1. Bishop N. Biochim. et Biophys. Acta, 1958a, 27; Proc. Nat. Acad. Sci., 1958b, 44. Blackman F. F. Ann. Bot., 1905, 19. Brown A. H., Frenkel A. W. Ann. Rev. Plant. Physiol., 1953, 4. Brown A. H., Weis D. Plant Physiol., 1959, 34. Buchanan J. G. Arch. Biochem., 1953, 44. Calvin M., Bassham J. A., Benson A. A. Federat. Proc., 1950, 9. Calvin M., Benson A. Science, 1949, 109. Calvin M., Massini P. Experimentia, 1952, 8. Champigny M. L. Theses. Le grade de docteur es sciences naturelles. Paris, 1960. Consden R., Gordon A. H., Martin A. J. P. Biochem. J., 1944, 38. Dorough G. D., Calvin M. J. Amer. Chem. Soc., 1951, 73. Emerson R., Arnold W. J. Gen. Physiol., 1932a, 15; 1932b, 16. Emerson R. L., Stauffer J. F., Umbreit W. W. Amer. J. Bot., 1944, 31. Fager E. W. Arch. Biochem. a. Biophys., 1952a, 37; 1952b, 41; Biochem J., 1954, 57. Fogelstrom-G. Fineman I., Holm-Hansen O., Tolbert B. M., Calvin M. Int. J. Appl. Radiat. a. Isotopes, 1957, 2. Fogg G. E. Ann. Rev. Plant. Physiol., 1956a, 7; Ann. Bot., 1956b, 20. Frenkel A. J. Amer. Chem. Soc., 1954, 76. Fuller R. S. Proc. Ninth. Int. Bot. Congr., 1959, 2. Gaffron H. Biochem. Ztschr., 1937, 292; Nature, 1939, 143; Amer. J. Bot., 1940, 27; J. Gen. Physiol., 1942, 26. Gerretsen F. C. Plant a. Soil., 1950, 2. Gibbs M., Kandler O. Proc. Nat. Acad. Sci., 1957, 43. Horecker B. L., Smyrniotis P. Z. J. Amer. Chem. Soc., 1953, 75. Horecker B. L., Smyrniotis P. Z.,

Klenow H. J. Biol. Chem., 1953, 205. Hill R. Proc. Roy. Soc., 1939, 127. Hill R., Scarisbrick R. New Phytol., 1951, 50. Hill R., Waker D. A. Plant Physiol., 1959, 34. Hough L., Jones J. K. N. J. Chem. Soc., 1953. Hurwitz J., Weissbach A., Horecker B. L., Smyrniotis P. Z. J. Biol. Chem., 1956, 218. Jagendorf A. T., Avron M. J. Biol. Chem., 1958, 231. Jagendorf A. T., Wildman S. G. Plant Physiol., 1954, 29. Jakoby W. G., Brummond D. O., Ochoa S. J. Biol. Chem., 1956, 218. Josida T., Morita N., Tamyu H., Nakayama H., Huzisige H. Acta Phytochim. (Tokyo), 1942, 13. Kamen M. D. Sci. Amer., 1953, 188. Kamen M. D., Vernon L. P. J. Biol. Chem., 1954, 211; Biochim. et Biophys. Acta, 1955, 17, № 10. Kandler O. Ztschr. Naturforsch., 1957, 12; Naturwiss., 1957, 44. Kasprzyk Z., Calvin M. Proc. Nat. Acad. Sci., 1959, 45. Kenten R. H., Mann P. J. Biochem. J., 1955, 61. Kessler E. Arch. Biochem., 1955, 59. Kessler E., Arthur W., Brugger J. E. Arch. Biochem., 1957, 71. Krasnovsky A. A. Ann. Rev. Plant Physiol., 1960, 11. Krebs H. A., Johnson W. A. Enzymologia, 1937, No. 4. Krogmann D. W., Vennesland B. J. Biol. Chem., 1959, 234. Leloir L. F., Cardini C. E. J. Amer. Chem. Soc., 1953, 75. Linko P., Holm-Hausen O., Bassham J. A., Calvin M. J. Expt. Bot., 1957, 8. Losada M., Trebst A. V., Ogata S., Arnon L. I. Nature, 1960, 185. Lundegårdh H. Physiol. Plantarum, 1954, 7. Metzner H. Biol. Ztbl., 1958, 77. Metzner H., Metzner B. a. Calvin M. Arch. Biochem. a. Biophys., 1958, 74. Mortimer D. C. Naturwiss., 1958, 45. Moses U., Calvin M. Proc. Nat. Acad. Sci., 1958, 44. Newton J. W., Kamen M. D. Biochim. et Biophys. Acta, 1957, 25. Nichiporovich A. A., Andreyeva T. F., Voskresenskaya N. P., Nesgovorova L. A., Novitsky U. Y. Various Wayz of transformation of Carbon Assimilated by Plants in the process of photosynthesis Radioisotops in Scientific Researcb, № 4. Pergamon Press, London — N. Y. — Paris, 1958. Norris L., Norris R. E., Calvin M., J. Expt. Bot., 1955, 6. Pirson A., Tichy C., Wilhelm G. Planta, 1952, 40. Qyale J. R., Fuller R. C., Benson A. A., Calvin M. J. Amer. Chem. Soc., 1954, 76. Racker E. Nature, 1955, 175. Racker E. G., de la Haba., Leder L. G. Arch. Biochem. a. Biophys., 1954, 48. Ruben S. J. Amer. Chem. Soc., 1943, 65. Ruben S., Hassid W. Z., Kamen M. D. J. Amer. Chem. Soc., 1939, 61. Ruben S., Randall M., Kamen M., Hyde J. Z. J. Amer. Chem. Soc., 1941, 63. San Pietro A., Lang H. M. Science, 1956, 124; J. Biol. Chem., 1958, 231. Shibata K., Jakushiji Naturwiss., 1933, 46. Stepka W., Benson A. A., Calvin M. Science, 1948 108. Stoppani A. O., Fuller R. C., Calvin M. J. Bacteriol., 1955, 69. Thomas J. B., Minnaer T. K., Elbers P. F., Acta Bot. Neerl., 1956, 5. Tolmach L. J. Arch. Biophys., 1951, 33. Turner J. F. Nature, 1954, 174. Van Niel C. B. Arch. Mikrobiol., 1936, 7; Bacteriol. Rev., 1944, 8. Vernon L. P., Aronoff S. Arch. Biochem., 1950, 29. Vernon L. P., Zaugg W. S. J. Biol. Chem., 1960, 235. Vishniac W., Ochoa S. Nature, 1951, 167. Vittorio P. V., Krotkov G., Reed G. B. Canad. J. Bot., 1954, 32. Vogler K. G., Umbreit W. W. J. Gen Physiol., 1943, 26. Warburg O., Klotzsch H., Krippahl L. G. J. Naturforsch., 1958, 128. Wassing E. C., Tjia J. E., Wintermans J. F. Proc. Koninkl. Ned. Acad. Wetenschap., 1949, 52. Wassing E. C., Wintermans J. F., Tjia J. E. Proc. Koninkl. Ned. Akad. Wetenschap., 1951, 54. Weissbach A., Horecker B. L. Federat. Proc., 1955, 14. Weissbach A., Horecker B. L., Hurwitz J. J. Biol. Chem., 1956, 218. Weissbach A., Smyrniotis P. Z., Horesker B. L. J. Amer. Chem. Soc., 1954, 76. Wessels J. S. Biochim. et Biophys. Acta, 1957, 25. Whatley F. R., Allen M. B., Trebst A. V., Arnon D. L. Plant Physiol., 1960, 35. Williams A. M. Biochim. et Biophys. Acta, 1956, 19.

ФИЗИОЛОГИЯ ФОТОСИНТЕЗА

ЭВОЛЮЦИЯ ФОТОСИНТЕЗА

Фотосинтез — синтетический процесс, совершающийся в зеленых органах растения при непосредственном участии света, в результате которого из углекислоты и воды образуются органические вещества. Необычайная сложность процесса фотосинтеза, состоящего из нескольких фотохимических реакций и большого количества ферментативных процессов, указывает на постепенное развитие и совершенствование фотосинтеза в процессе длительной эволюции организмов. Согласно общепризнанной теории (Опарин, 1957, 1960; Кальвин, 1957), жизнь возникла на Земле в результате эволюции абиогенно образованных органических веществ. Путем длительного и односторонне направленного процесса постепенного усложнения из органических веществ формировались коллоидальные структуры (коацерваты), находившиеся в постоянном взаимодействии с окружающей внешней средой; из них возникли первичные живые существа. Эти организмы были гетеротрофами и нуждались в готовых органических соединениях для построения своего тела. Из-за отсутствия молекулярного кислорода на земной поверхности в этот период основным источником энергии для этих организмов являлись окислительно-восстановительные реакции — реакции переноса водорода (электрона).

Позднее, в процессе отбора и приспособления к новым условиям жизни, возникли автотрофные организмы, для которых углекислота является единственным источником углерода (они не нуждаются в готовых органических веществах и могут жить на минеральной среде).

Необходимо отметить, что способностью усваивать углекислоту обладали в слабой степени уже и гетеротрофные организмы. Первые указания на это были получены русским

ученым А. Ф. Лебедевым (1921). Он показал, что плесневой грибок (*Aspergillus niger*) усваивает углекислоту. В настоящее время общепризнанно, что реакции фиксации и восстановления CO_2 свойственны всем живым клеткам (Работнова, 1946; Селибер, 1942; Werkman, Wood, 1942; Werkmann, 1938). Гетеротрофное усвоение углекислоты осуществляется благодаря обратимости каталитического действия карбоксилаза.

Как указывает А. И. Опарин, гетеротрофная фиксация, не имеющая большого значения для первичных живых существ, послужила основой для дальнейшей эволюции организмов при переходе к автотрофному типу питания. Сравнительное изучение различных типов автотрофного обмена у существующих организмов дает возможность наметить пути возникновения и развития наиболее совершенной формы усвоения CO_2 , каким является фотосинтез высших растений.

Д. И. Сапожников (1939, 1951) считает, что первичными автотрофами были организмы, восстанавливающие углекислоту за счет химической энергии, полученной из минеральных веществ в анаэробных условиях. Такой процесс, в отличие от хемосинтеза, происходящего в аэробных условиях, Д. И. Сапожников предлагает называть хеморедукцией. Существование хеморедукторов как наиболее примитивных автотрофов вполне вероятно.

Среди современных организмов известна группа сульфатредуцирующих микробов *Sporovibrio* (*Microspira desulfuricans*), которые осуществляют восстановление сульфатов до сероводорода. Эта реакция является источником энергии при усвоении CO_2 . Для ее осуществления организм потребляет разнообразные органические вещества: спирты, углеводы, кислоты, жиры, парафин. Такой тип обмена не является еще вполне автотрофным. Однако известны некоторые штаммы сульфатредуцирующих бактерий (Сорокин, 1954; Stephenson, Stickland, 1931; Wight, Starkey, 1945), у которых вместо органических веществ при восстановлении сульфата используется молекулярный водород. Эти организмы являются уже хеморедукторами. Примером такого типа обмена может служить также водородсерная бактерия, открытая А. Д. Пельшем в 1936 г., которая осуществляет хеморедукцию угольной кислоты в анаэробных условиях за счет энергии, получаемой при восстановлении серы до сероводорода.

Таким образом, хеморедукция — это процесс биогенного новообразования органического вещества за счет химической энергии минеральных веществ, происходящий в анаэробных условиях.

Однако самым мощным, неисчерпаемым источником энергии является солнечная радиация. Понятно, какое исключительное преимущество в борьбе за существование приобрели организмы, способные использовать солнечную энергию для

синтеза органических веществ. Появление фототрофных организмов, благодаря которым на Земле возникла возможность использовать дополнительный источник энергии, явилось переломным моментом в развитии жизни на Земле.

Способность фототрофных организмов использовать в своем обмене солнечную энергию неразрывно связана с появлением у них соответствующей пигментной системы. А. И. Опарин (1957) считает, что роль пигментов-фотосенсибилизаторов могли бы выполнять у первичных организмов порфирины. Порфирины и их металлопроизводные, по мнению А. И. Опарина (1960), могли возникнуть абиогенно, путем органохимического синтеза; поэтому организмы могли получить их в готовом виде из окружающей среды. Порфирины, таким образом, являются одним из наиболее древних компонентов живой материи, что подтверждается исключительно широким распространением этих веществ в живой природе.

На основании работ М. Ненцкого (1897) известно, что в основе химического строения таких важнейших пигментов животного и растительного царств, как гем и хлорофилл, лежат порфирины. Металлопроизводные порфирина, в частности железопорфирины, являются простетическими группами разнообразных ферментов и найдены почти во всех организмах. В результате присоединения белка к порфириновым комплексам возникли ферменты, обладающие по сравнению с неорганическими катализаторами значительно большей активностью и специфичностью действия.

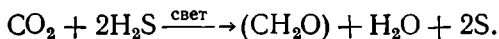
Наиболее древними ферментами такого рода могли быть гидрогеназа и цитохромы. Реакции, катализируемые железопорфириновыми ферментами, имели темновой характер. Обладая многообразными каталитическими свойствами, эти комплексы фотохимически мало активны. В начальный период существования жизни, при обилии органических соединений во внешней среде, свет как источник энергии не имел большого значения для организмов. Но в дальнейшем (при недостатке органических веществ) организмы, способные использовать находящиеся в них порфирины не только в качестве катализаторов темновых реакций, но и в качестве фотосенсибилизаторов, приобрели большие преимущества в борьбе за существование. Однако железосодержащие порфирины представляли собой соединения, недостаточно совершенно использующие световую энергию. Решающим моментом в возникновении фототрофности, по-видимому, явилась замена атома железа в порфириновом комплексе на магний. Mg-комплексы порфиринов, в отличие от железопорфиринов, обладают высокой фотохимической активностью. В результате образования таких фотосенсибилизаторов организмы приобрели способность к абсорбции и превращению энергии

колебаний видимого участка электромагнитного спектра в потенциальную химическую энергию органических веществ. Сочетание вновь возникших фотохимических реакций с уже имевшимися ранее восстановительными ферментативными процессами привело к возникновению фототрофного типа обмена веществ.

Первые организмы, использующие в своем обмене энергию света, должны были быть еще очень просто организованными анаэробными организмами. В качестве донаторов водорода при фотохимическом восстановлении углекислоты они могли использовать наиболее доступные им неорганические вещества, такие, как сероводород, молекулярный водород и др. Еще в 1933 г. В. Н. Любименко высказывал предположение о том, что эволюция от хемотрофных организмов к современному фотосинтезу могла идти через промежуточные формы обмена, подобные обмену современных пурпурных серобактерий и зеленых серобактерий. Эти представления позднее были развиты Д. И. Сапожниковым. Действительно, ныне существующие пурпурные серобактерии (Thiorhodaceae) и зеленые серобактерии (Chlorobacteriaceae) являются примером наиболее простого способа усвоения углекислоты фототрофами. Эти организмы восстанавливают угольную кислоту на свету, причем процесс не сопровождается выделением кислорода (Engelman, 1888; Molisch, 1907; Van Niel, 1931). В связи с этим такой процесс фотовосстановления углекислоты в отличие от фотосинтеза получил название бактериального фотосинтеза, или фоторедукции (Сапожников, 1937; Gaffron, 1939).

Пигментная система этих организмов состоит из бактериохлорофилла (пурпурные серобактерии), бактериовиридина (зеленые серобактерии) и каротиноидов. Оба зеленых пигмента несколько отличаются от хлорофилла высших растений (Гюббенет, 1951; Рабинович, 1951). Бактериохлорофилл является по сравнению с хлорофиллом более восстановленным порфирином, «главный» максимум поглощения его лежит в близкой инфракрасной области спектра.

Ван-Ниль (1959) рассматривает восстановление углекислоты пурпурными и зелеными бактериями как сопряженный окислительно-восстановительный процесс, идущий при участии световой энергии. Процесс идет согласно уравнению



При этом CO_2 — акцептор водорода — восстанавливается до $\text{CH}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O}$ с одновременным окислением донатора водорода (H_2S).

По мнению Ван-Нилья, основная фотохимическая реакция, так же как и при фотосинтезе зеленых растений, приводит к фотолизу воды ($\text{HON} \rightarrow \text{H} + \text{OH}$). При этом водород исполь-

зуется для восстановления CO_2 , а исходный донатор водорода (H_2S у пурпурных бактерий) реагирует с OH -радикалами, окисляясь в этом процессе до серы. У бактерий еще отсутствует специальный механизм, существующий у высших фотосинтезирующих растений, благодаря которому кислород воды освобождается в молекулярной форме.

Понимание бактериального фотосинтеза, данное Ван-Нилем, вполне вероятно (Шапошников, 1960; Гаффрон 1961; Frenkel, 1961). Эта точка зрения подкрепляется имеющимися экспериментальными данными. Так, твердо установлено, что квантовый расход при фотосинтезе высших растений и фоторедукции бактерий одинаков (Larsen, Vocum, Van Niel, 1952). Гаффрон (Gaffron, 1944) показал, что некоторые водоросли при инкубировании их в атмосфере водорода способны переходить от обычного типа фотосинтетического восстановления углекислоты к фоторедукции, характерной для пурпурных бактерий. Восстановление углекислоты в данном случае идет при участии фермента гидрогеназы, деятельность которого активируется в восстановительных условиях. В присутствии кислорода и при усиленном освещении активность гидрогеназы падает, и водоросль вновь возвращается к обычному обмену — фотосинтезу с выделением кислорода.

Это явление обратимой адаптации водорослей (зеленых, синих, красных и бурых) к восстановлению углекислоты при использовании водорода и факт постоянного квантового расхода становятся понятными, если считать, что в основе фотосинтеза и фоторедукции лежит одна и та же реакция — фотоокисление воды.

Исходя из этих положений, мы можем себе представить, что эволюция организмов при переходе от бактериального фотосинтеза к фотосинтезу высших растений шла по пути изменения и совершенствования ферментативных, темновых реакций, а не фотохимического процесса. Основное усложнение фотосинтеза по сравнению с фоторедукцией состояло в приобретении дополнительных ферментативных систем типа пероксидазы или каталазы, благодаря которым высшие растения приобрели способность устранять окисленные фотопродукты путем выделения свободного кислорода.

Однако вполне возможно, что эволюция от фоторедукции к фотосинтезу современных организмов шла иным путем. Можно думать, что бактерии, осуществляющие восстановление углекислоты, не способны еще к фотолизу такого трудно окисляемого вещества, как вода. Поэтому донором водорода для восстановления углекислоты у них является не вода, а другие вещества, например H_2 , H_2S . А. А. Красновский (1957) считает, что бактерии при фоторедукции CO_2 используют электрон молекулы донатора-сероводорода и протон (водородный ион) воды.

При такой точке зрения усложнение фотохимического механизма фотосинтеза является основным ведущим фактором эволюции этого процесса. Арнон (Арнон, 1961) считает, что эволюция фотосинтеза состоит в изменении и совершенствовании путей и механизмов фотосинтетического фосфорилирования.

Примером наиболее примитивного фотосинтеза, по его мнению, является процесс анаэробного циклического фосфорилирования, обнаруженный (Losada, Trebst, Арнон, 1960) при фотоассимиляции ацетата *Chromatium*. Этот процесс идет без выделения кислорода и без восстановления CO_2 , но биохимический синтез осуществляется за счет световой энергии, преобразованной клеткой в энергию АТФ.

Следующая ступень усложнения процесса фотосинтеза связана с восстановлением углекислоты. Основное использование световой энергии и в данном случае связано с образованием АТФ путем циклического фосфорилирования. Восстановителем углекислоты вначале служит молекулярный водород окружающей атмосферы.

Далее фотосинтетические клетки приобретают способность использовать в качестве доноров водорода более окисленные вещества, такие, как янтарная кислота, тиосульфат, сероводород. Световая энергия используется уже в двух направлениях, за счет нее образуются АТФ путем циклического фосфорилирования и НАДФ, H_2 в процессе нециклического фосфорилирования. При использовании донора водорода, отличного от воды, не происходит выделения кислорода.

Вода (OH^-) становится донором электронов только с появлением фотосинтеза высших растений. Использование воды становится возможным благодаря возникновению вспомогательной фотохимической реакции, при которой электроны воды (OH^-) поднимаются до потенциала, близкого к потенциалу доноров электронов при бактериальном фотосинтезе, а затем используются во второй фотохимической реакции—реакции фотофосфорилирования, общей для растений и бактерий.

Имеющиеся в настоящее время экспериментальные данные о фоторедукции углекислоты у пурпурных бактерий не позволяют еще окончательно решить вопрос о механизме этого процесса. Решение этого вопроса требует дальнейших исследований. Изучение существующих фотосинтезирующих организмов позволяет предполагать, что промежуточные формы организмов между серобактериями и высшими растениями были близки к сине-зеленым водорослям. Сине-зеленые водоросли, так же как и серобактерии, не имеют еще хлоропластов и, попадая в анаэробные условия, осуществляют фоторедукцию углекислоты, вместе с тем в обычных усло-

Характеристика этапов		Тип обмена веществ	Основная реакция, характеризующая тип обмена веществ	Условия среды и их изменения
Аэробноз	фототрофность	фотосинтез первичные фотосинтетика	$6\text{CO}_2 + 12\text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{хл}} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{H}_2\text{O} + 6\text{O}_2$	Появление жизни на суше. Постепенное увеличение концентрации кислорода. Появление молекулярного кислорода. Появление окисленного иона железа.
		фоторедукция сернопурпурные и серно-зеленые бактерии	$12\text{CO}_2 + 12\text{H}_2\text{O} + 6\text{H}_2\text{S} + \text{свет} \rightarrow 2\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{H}_2\text{SO}_4$	Постепенное создание условий для возникновения аэробноза. Удаление H_2S из атмосферы.
Анаэробноз	хемотрофность	хеморедукция сульфатредуцирующие и водородосерные бактерии	1) $\text{H}_2\text{SO}_4 + 4\text{H}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{S} + 4\text{H}_2\text{O} + \text{Q}$ $\text{Q} + m\text{CO}_2 + n\text{H}_2 \rightarrow (\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6)_x$ 2) $\text{S} + \text{H}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{S} + \text{Q}$ $\text{Q} + m\text{CO}_2 + n\text{H}_2 \rightarrow (\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6)_x$	Появление пигментов. Появление света на поверхности Земли и исчезновение «вечной темноты». Уменьшение количества свободной CO_2 . Накопление сероводорода.
		гетеротрофное усвоение CO_2 имеет универсальный характер	$8\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 48\text{H}_2\text{O} \rightarrow 48\text{CO}_2 + 96\text{H}_2 + \text{Q}$ $\text{Q} + 6\text{CO}_2 + 12\text{H}_2 = \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{H}_2\text{O}$	Возникновение круговорота углерода. Продолжающееся увеличение концентрации CO_2 . Вовлечение CO_2 в обмен веществ. Накопление сульфатов.
	гетеротрофность	первичный тип обмена веществ первичные гетеротрофы	$m\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow n\text{CO}_2 + x\text{H}_2$	Накопление CO_2 Появление H_2
становление жизни			коацерватная стадия	возникновение обмена веществ
отсутствие жизни			усложнение строения соединений углерода	абиогенное возникновение наиболее сложных органических соединений

виях они способны производить обычный фотосинтез с выделением кислорода.

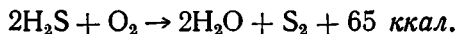
Гаффрон (Gaiffon, 1944) наблюдал такой переход от фотосинтеза к фоторедукции углекислоты, как уже указывалось выше, у некоторых современных зеленых водорослей, например у *Scenedesmus*.

Подводя итог рассмотренному материалу, мы приводим схему эволюции типов обмена веществ, разработанную Д. И. Сапожниковым (1959). Схема показывает основные пути развития типов обмена веществ и возможные пути возникновения фотосинтеза (рис. 55).

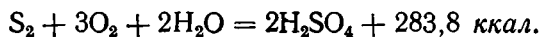
Излагая имеющиеся данные об эволюции фотосинтеза, мы не остановились на обширной группе автотрофных организмов, какими являются хемосинтетики. Хемосинтетики, как мы увидим дальше, не являются примитивными организмами, а, наоборот, обладают сложной организацией. Кроме того, они аэробы (в начальный период развития Земли на ее поверхности не было молекулярного кислорода). Эти данные не позволяют признать их пионерами жизни на Земле (взгляд, который ранее был широко распространен) (Winogradsky, 1891; Osborn, 1918; Любименко, 1933; Омелянский, 1922). Наиболее правильно считать хемосинтетиков самостоятельной линией развития организмов, происходящей от начальных гетеротрофных организмов. Появление их связано с созданием на Земле более окисленных условий.

Группа хемосинтетиков, объединенная на основе общего свойства — способности использовать химическую энергию восстановленных неорганических соединений и энергию молекулярного кислорода для восстановления углекислоты, очень разнообразна. Различия связаны с приспособленностью отдельных групп организмов-хемосинтетиков к строго определенным веществам, которые они окисляют. Среди современных хемосинтетиков известны нитрифицирующие бактерии, бесцветные серобактерии, водородные бактерии, бактерии, окисляющие соли железа и марганца, и др. (Стефенсон, 1951; Лис, 1958; Gibbs, Schiff, 1960; Рабинович, 1951).

Изучая нитчатую серобактерию *Beggiatoa*, С. Н. Виноградский в 1887 г. впервые обосновал существование хемоавтотрофных организмов. Он установил, что важнейшим жизненным процессом этих организмов является окисление сероводорода, протекающее по такому уравнению:



Образующаяся в результате этого окисления сера откладывается в виде блестящих капелек в теле серобактерий. При недостатке сероводорода сера подвергается дальнейшему окислению:

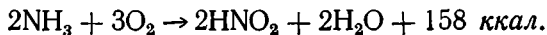


Энергия окисления серы используется для восстановления углекислоты и построения органического вещества.

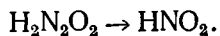
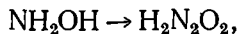
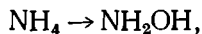
Другая группа серобактерий, откладывающих серу вне клеток (тионовые бактерии, *Thiobacillus*), осуществляет восстановление углекислоты за счет окисления серы до серной кислоты. Эти бактерии широко распространены в природе и интенсивно развиваются в местах скопления сероводорода. Всюду, где сероводород граничит с окислительными условиями, происходит развитие тионовых или серных бактерий. Эти бактерии являются единственными микроорганизмами, окисляющими сероводород в горячих (термальных) источниках (Родина, 1945; Кузнецов, 1955; Ляликова, 1959; Starkey, 1956). Все бактерии, входящие в эту группу, являются строгими автотрофами и аэробами.

Фоглер и Умбрайт (Vogler, Umbreit, 1942) показали, что серные бактерии *Thiobacillus thiooxidans* способны аккумулировать энергию окисления серы в виде богатых энергией фосфатных связей (АТФ). Энергия окисления, запасенная в этих связях, используется в дальнейшем для усвоения углекислоты, даже после того, когда окисление серы закончено.

В 1890 г. С. Н. Виноградским были открыты очень своеобразные хемосинтетики — нитрифицирующие бактерии, получающие энергию, необходимую им для синтеза органических соединений, путем окисления аммиака и азотистой кислоты. Выделить эти организмы долго не удавалось, что было связано с их неспособностью расти на обычной среде, содержащей органические вещества. Только после длительной работы с применением специальной методики Виноградскому удалось получить чистую культуру нитрификаторов. Нитрификация осуществляется двумя организмами, жизнедеятельность которых всегда протекает в тесном взаимодействии. Это *Nitrosomonas*, который живет за счет окисления аммиака в нитриты, и *Nitrobacter*, окисляющий далее азотистую кислоту в азотную. Суммарно уравнения реакций можно выразить следующим образом:

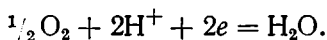
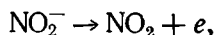


Реакции окисления протекают последовательно через ряд ступеней, что облегчает использование энергии окисления на синтетические процессы. Клуйвер и Донкер (Kluyver, Donker, 1926) предложили следующую схему для первой фазы нитрификации:



Г. Лис (1958), Е. Л. Рубан (1961) и другие исследователи (Jensen, 1950; Alleem, Alexander, 1958) действительно подтвердили, что гидроксилламин является промежуточным продуктом окисления аммиака. В отношении гипонитрита определенных экспериментальных данных нет и можно лишь предполагать его образование в процессе окисления аммиака.

Вторую стадию нитрификации — окисление нитрита — можно себе представить как дегидрирование иона нитрита, к которому присоединена молекула воды: $\text{H}_2\text{ONO}_2^- = \text{NO}_3^- + 2(\text{H})$, или как перенос двух электронов при участии металлсодержащих ферментов:



Фермент, окисляющий нитрит у *Nitrobacter*, — цитохромная система (Заварзин, 1958; Рубан, 1961). Нитрифицирующие бактерии чрезвычайно широко распространены в природе: в почвах, в пресных и соленых водоемах, в иле. Залежи селитры в Чили и Средней Азии являются результатом деятельности этих микроорганизмов. Минерализуя аммиак, они способствуют очистке сточных вод. Их деятельность оказывает громадное влияние на плодородие почвы, так как в почве все процессы окисления аммиака до нитратов осуществляются нитрифицирующими бактериями.

К микробам, способным использовать химическую энергию для синтеза органического вещества, относятся также железобактерии (Разумов, 1957), водородные бактерии (Беляева, 1951).

Мы видим, таким образом, что хемосинтетики очень разнообразны. Они способны использовать для получения энергии различные окислительные реакции, причем окисляемый субстрат является весьма специфичным для каждого микроорганизма. Это заставляет предполагать, что хемосинтетики обладают специфическими ферментами и механизмом окисления.

Исследованиями последних лет было подтверждено наличие у хемосинтетиков ферментных систем, участвующих в окислении специфического субстрата. Были также обнаружены дыхательные ферменты и энзимы, принимающие участие в процессах фосфорилирования (Van Niel, 1954).

Хемосинтетики с большой интенсивностью проводят окисление специфических неорганических субстратов и освобождают при этом значительные количества свободной энергии. Эффективность использования свободной энергии различными

хемосинтетиками, по литературным данным, невелика и составляет чаще всего 6—7%. Процент использования энергии выше у молодых, чем у старых культур. Н. Н. Ляликова (1959) для молодых культур *Thiobac. ferrooxidans* нашла 30% использования свободной энергии. У Фоглера (Vogler, 1942) в кратковременных опытах с *Thiobac. thiooxidans* процент использования энергии был равен 50.

Энергетические реакции хемосинтетиков, за редким исключением, представляют собой цепь последовательных реакций, благодаря чему создаются условия для использования энергии этих реакций в синтетических процессах. При этом фосфорорганические соединения служат аккумуляторами и переносчиками энергии. Правда, участие фосфорорганических соединений в обмене хемосинтетиков доказано пока еще только для серных и водородных бактерий (Vogler, 1942; Беляева, 1951; Сорокин, 1954; Umbreit, 1954), для нитрифицирующих бактерий экспериментальные данные отсутствуют.

Процесс восстановления CO_2 при хемосинтезе, по-видимому, близок к превращениям углерода при фотосинтезе. Так, первый продукт связывания CO_2 — трифосфоглицериновая кислота была обнаружена при использовании C^{14}O_2 у бактерий рода *Thiobacillus* (Vishnias, 1952), у водородных бактерий (Bergman и др., 1958). На этом основании фотосинтетический цикл Кальвина (Кальвин, Бассем, 1956) был распространен и на процесс редукации CO_2 при хемосинтезе.

Однако заключение о полном сходстве путей фиксации CO_2 при фото- и хемосинтезе следует пока считать преждевременным (Доман, Романова, 1959; Романова, Доман, 1960).

ЗАВИСИМОСТЬ ФОТОСИНТЕЗА ОТ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ

Фотосинтез — это один из основных процессов жизнедеятельности зеленого растения. Как было показано выше, он создавался исторически в длительном процессе эволюции. При этом развитие физических и химических процессов, лежащих в его основе, осуществлялось при постоянном взаимодействии со всем обменом веществ организма при непрерывном влиянии разнообразных внешних факторов. В результате этого процесс фотосинтеза приобрел характерные черты приспособленности к разным условиям среды, к влиянию внутренних факторов, характеризующих физиологическое состояние растения.

Воздействия внешних условий, при которых протекает ассимиляция углекислоты, могут не только повышать или снижать интенсивность и продуктивность процесса, но также изменяют характер образуемых продуктов, их использование иногда даже приводит к изменению химизма фотосинте-

за. Помимо воздействия внешних условий в период усвоения углекислоты установлен также факт последействия на фотосинтез главнейших факторов внешней среды: света, температуры, концентрации углекислоты.

Факты свидетельствуют о глубокой зависимости механизма фотосинтеза, его фотохимических и темновых реакций от всей жизнедеятельности растения (Бриллиант, 1949; За-ленский, 1954, 1955; Костычев, Берг, 1930; Костычев, Кардо-Сьсоева, 1930; Любименко, 1935; Ничипорович, 1955; Harder, 1921, 1933; Тиховская, 1960; Сэлэджану, 1962). Фотосинтез, таким образом, не является автономным процессом; он регулируется растением в целом и сам влияет на другие физиологические функции растения. Поэтому для понимания фотосинтеза как физиологического процесса необходимо не только установить закономерности, характеризующие превращения энергии и вещества при усвоении света зеленым листом, но также проанализировать особенности этого процесса в различных экологических условиях. Главным способом изучения фотосинтеза — как его механизма, так и биологических особенностей — является выяснение зависимости процесса от различных внешних и внутренних факторов, а также познание взаимосвязи фотосинтеза с другими процессами жизнедеятельности растения.

ИНТЕНСИВНОСТЬ СВЕТА

Среди внешних факторов свет является основным условием для осуществления фотосинтеза, поэтому естественно, что изучению влияния на фотосинтез света, его интенсивности и спектрального состава уделялось много внимания.

Исследования ученых (Тимирязев, 1889; Reinke, 1883; Warburg, 1919; Harder, 1921) позволили установить общую закономерность зависимости фотосинтеза от интенсивности света (рис. 56).

Существует некоторая минимальная интенсивность света, при которой возможен фотосинтез. Эта интенсивность света очень мала, свет керосиновой лампы (Фаминцын, 1880) или вечерней зари уже достаточен для начала фотосинтеза некоторых растений.

При увеличении интенсивности света (до $\frac{1}{3}$ от полного солнечного освещения) скорость фотосинтеза увеличивается, затем усиление фотосинтеза все более и более отстает от величины освещенности и при высоких интенсивностях света ($250\,000 \text{ эрг} \cdot \text{см}^2 \cdot \text{сек}$) световые кривые становятся параллельны оси абсцисс, т. е. наступает световое насыщение фотосинтеза. Дальнейшее значительное увеличение интенсивности света приводит к снижению скорости фотосинтеза (Любименко, 1905, 1909, 1910, 1935; Monfort, Neydel, 1928; Reinke, 1884;

Кок, 1956). Нисходящая часть световой кривой связана, по-видимому, с разрушением фотосинтетического аппарата, с инактивацией его ферментативного комплекса.

Такое нарушение работы фотосинтетического аппарата при интенсивностях света выше насыщающих может происходить в результате вредного действия фотоокисления. При нормальном фотосинтезе фотоокисление практически отсутствует. В условиях насыщения светом создается избыток возбужденных молекул хлорофилла, энергия которых не может быть полностью употреблена на процесс усвоения CO_2 , а используется на фотоокисление и другие неспецифические фотореакции. Возможно, что фотоокислению подвергается карбоксилаза, в результате чего фотосинтез сначала снижается, а затем полностью прекращается.

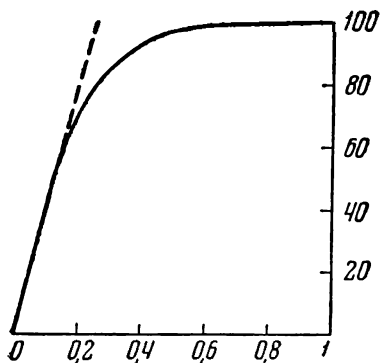


Рис. 56. Зависимость скорости фотосинтеза от интенсивности света. На оси абсцисс — интенсивность света в долях от полного солнечного освещения; на оси ординат — скорость фотосинтеза в процентах от максимальной величины (по Тимирязеву, 1889)

Многочисленные примеры световых кривых даны в монографии Е. Рабиновича (Рабинович, 1953). Типичная световая кривая состоит из линейного участка и прямой параллельной оси абсцисс, соответствующей интенсивностям света, при которых свет не является фактором, ограничивающим основную фотохимическую реакцию фотосинтеза. Наклон линейной части кривой, характеризующий скорость фотохимического процесса, а также абсолютная величина светового насыщения могут значительно изменяться в зависимости от условий. При этом одна группа факторов (температура, концентрация CO_2 , количество энзимов, возраст листа, адаптация к сильному или слабому свету) влияет главным образом на процесс усвоения углекислоты и вызывает снижение насыщающих скоростей фотосинтеза. Другая группа факторов (содержание хлорофилла, отсутствие марганца и др.), влияющих на фотохимический процесс, ведущий к выделению кислорода, изменяет первоначальный подъем световой кривой. На рис. 57 приведены световые кривые, хорошо иллюстрирующие изменения уровня светового насыщения фотосинтеза в зависимости от концентрации углекислоты и температуры (Gaastra, 1959).

Мы видим, что при высоком содержании углекислоты по-

ложительное действие света на фотосинтез сказывается при всех взятых в опыте интенсивностях света, и светового насыщения не наблюдается. При нормальной концентрации углекислоты (0,03%) свет усиливает процесс только в пределах низких интенсивностей. При дальнейшем увеличении освещенности устанавливается световое насыщение. Кроме

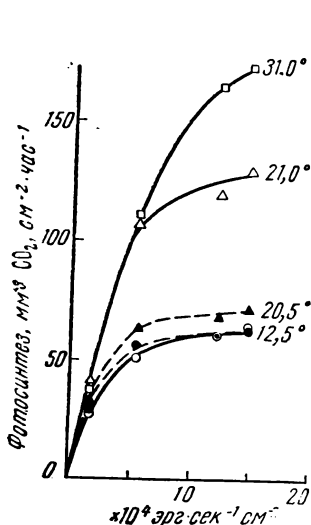


Рис. 57. Зависимость скорости фотосинтеза томата от интенсивности света при различном содержании углекислоты и различной температуре. Пунктирная линия — нормальная концентрация CO₂ (0,03%); сплошная линия — повышенная концентрация CO₂ (по Gaastra, 1959)

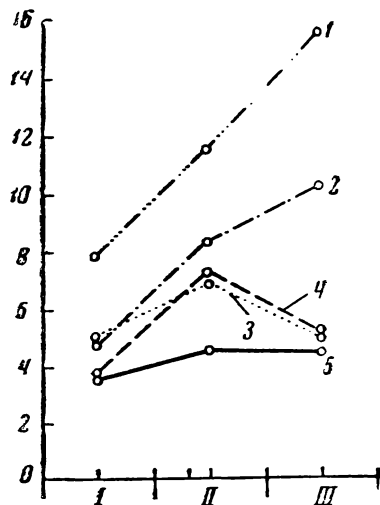


Рис. 58. Зависимость фотосинтеза от интенсивности света у светолюбивых и теневыносливых древесных пород; на ординатах — объемы CO₂, разложенного 1 г листьев, в час в см³

1 — *Robinta*, 2 — *Larix*, 3 — *Fagus*, 4 — *Taxus* (листья взрослые), 5 — *Taxus* (листья молодые). I — яркий диффузный свет; II — лучи солнца (наклонные); III — лучи солнца (перпендикулярные). Ординаты представляют объемы CO₂, разложенной 1 г листьев в час в см³

того, при концентрации углекислоты в 0,03% световые кривые фотосинтеза почти не зависят от температуры, тогда как при высоком ее содержании для достижения светового насыщения требуется (в зависимости от температуры) различная интенсивность света.

Помимо концентрации CO₂ и температуры на форму световых кривых очень существенное влияние оказывает адаптация растений к сильному или слабому свету.

В. Н. Любименко (1910) показал, что у светолюбивых пород — лиственницы и белой акации — фотосинтез возрастает с увеличением интенсивности света вплоть до полного солнечного освещения; у тенелюбивых растений — бука и тис-

са — уже при наклонно-падающих лучах достигается максимум фотосинтеза и при дальнейшем повышении освещения усвоение углекислоты снижается (рис. 58).

Световые кривые для светолюбивых и тенелюбивых растений значительно отличаются друг от друга как по значению насыщающей интенсивности света, так и по крутизне первоначального подъема. Листья теневых растений по сравнению с листьями светолюбивых растений содержат больше хлорофилла, благодаря этому теневыносливые растения поглощают свет более эффективно. Этим объясняется более резкий начальный подъем световой кривой. Экспериментальные данные показали, что у теневых растений максимальная интенсивность фотосинтеза ниже, чем у светолюбивых растений, что, очевидно, связано с уменьшением количества одного из катализаторов. Более низкий фотосинтез теневых растений в сочетании с резким начальным подъемом световой кривой приводит к быстрому насыщению световых кривых.

Линейный участок световой кривой у большинства растений обычно лежит в довольно широких пределах интенсивностей света ($5\text{--}15 \cdot 10^3 \text{ эрг/см}^2 \text{ сек}$), в некоторых случаях подъем продолжается до $50\text{--}100 \cdot 10^3 \text{ эрг/см}^2 \text{ сек}$.

Световое насыщение фотосинтеза достигается при интенсивностях света в $75\text{--}100 \cdot 10^3 \text{ эрг/см}^2 \text{ сек}$, у светолюбивых растений при $300\text{--}350 \cdot 10^3 \text{ эрг/см}^2 \text{ сек}$ (Boysen-Jensen, 1919; Smith, 1938; Gabrielsen, 1940; Ничипорович, 1955). У многих сельскохозяйственных растений плато насыщения лежит в области $85\text{--}220 \cdot 10^3 \text{ эрг/см}^2 \text{ сек}$ (Charman, Loomis, 1953; Wit, 1959; Строганова, 1959).

Растительные организмы в природных условиях встречаются с самыми различными условиями освещения, подвергаясь действию как прямых солнечных лучей, так и действию рассеянного света. Многочисленные измерения Л. А. Иванова (1928), проведенные при помощи сконструированного им фитоактинометра, позволили установить большие изменения доли физиологической радиации в разных условиях освещения. Так, в прямых солнечных лучах содержание физиологической радиации в среднем составляет 35% от всей энергии луча. В дневные часы физиологическая радиация мало меняется в зависимости от высоты стояния солнца, а при высотах солнца ниже 20° она быстро падает из-за относительного увеличения инфракрасных лучей, мало поглощаемых хлорофиллом.

Рассеянный свет, интенсивность которого составляет около $\frac{1}{3}$ прямой солнечной радиации, по своему составу более благоприятен для растения, чем прямой солнечный свет, так как на долю физиологических лучей в нем приходится от 50 до 90%. Следовательно, хлорофилл поглощает рассеянный свет почти полностью.

Л. А. Иванов (1946) отмечает определенную связь абсорбционных свойств хлорофилла с особенностями естественного освещения.

При освещении растения прямыми лучами полуденного солнца хлорофилл благодаря своей зеленой окраске пропускает наиболее интенсивные в это время желто-зеленые лучи и этим защищает хлоропласт от перегрева. При освещении рассеянным светом, интенсивность которого мала, хлорофилл поглощает тем больший процент энергии, чем слабее освещение. Такая зависимость ясно указывает на приспособительный характер зеленой окраски хлорофилла, который наиболее удачно выполняет роль поглотителя солнечной энергии для фотосинтеза, избегая в то же время поглощения избытка этой энергии (Stahl, 1909).

На большую приспособленность оптических свойств листьев к солнечной радиации, обуславливающую оптимальное поглощение и рациональное использование лучистой энергии, указывают А. Ф. Клешнин (1960) и И. А. Шultzгин (1960). Согласно их данным, поглощение лучистой энергии листьями растений в физиологической области спектра (400—720 мкм) относительно постоянно для подавляющего большинства видов растений и составляет около 80%. Постоянство поглощения физиологической радиации обусловлено главным образом избыточным содержанием хлорофилла (Клешнин).

В природных условиях фотосинтетическая деятельность растений совершается в меняющихся условиях освещения. Несмотря на огромное количество световой энергии, которое получает растительность от Солнца, часто фотосинтез ограничивается световым фактором. Только растения открытых мест встречают достаточно высокую напряженность света. Но и в данном случае лишь листья верхних ярусов находятся в благоприятных условиях освещения, остальные листья затеняются и нередко получают недостаточное количество света, так как интенсивность света, прошедшего через лист, снижается в 4—10 раз. Растения в густых насаждениях, под пологом леса, в ущельях и пещерах гор, в глубине вод получают свет очень слабой интенсивности.

В зависимости от условий произрастания отдельные группы растений приспособлены к различной интенсивности света.

Одним из способов, находящимся в распоряжении растения для приспособления к разным условиям освещения, является создание наиболее целесообразной для данных условий анатомической структуры. Однако было бы ошибкой считать, что анатомическая структура является единственным средством приспособления к разным условиям освещения. В настоящее время существует достаточно данных, показы-

вающих приспособительный характер как самого хода процесса ассимиляции, так и свойств пигментной системы к тем или иным условиям освещения.

В. Н. Любименко и другие исследователи указывали на различия светолюбивых и тенелюбивых растений как в отношении структуры их листьев, так и в отношении свойств фотосинтетического аппарата. Так, листья тенелюбивых растений тоньше, их хлоропласты крупнее и содержат больше хлорофилла (табл. 8).

Таблица 8

Содержание хлорофилла в листьях светолюбивых и теневыносливых растений (по В. Н. Любименко)

Светолюбивые растения	Хлорофилл, мг на 100 г сырого веса	Теневыносливые растения	Хлорофилл, мг на 100 г сырого веса
Сосна		Тисс	
<i>Pinus silvestris</i>	30,5	<i>Taxus baccata</i>	35,0
Акация		Липа	
<i>Robinia pseudacacia</i>	51,8	<i>Tilia parvifolia</i>	82,4
Береза		Бук	
<i>Betula alba</i>	62,2	<i>Fagus silvatica</i>	100,0

Адаптация к условиям освещения проявляется не только в увеличении общего содержания хлорофилла, но также в изменении соотношения пигментов пластид. Теневые листья, получающие рассеянный свет, более богатый коротковолновыми лучами, содержат больше хлорофилла *b* (см. табл. 9). Хлорофилл *b*, в отличие от хлорофилла *a*, сильнее поглощает лучи именно в этой части спектра — около 460 мк (Любименко, 1909; 1910; Willstätter, Stoll, 1913; Seybold, Egle, 1937, 1938, 1939; Гюббенет, 1951). Как видно из данных табл. 9, теневые листья наряду с увеличением хлорофилла *b* ха-

Таблица 9

Содержание зеленых и желтых пигментов (% на сухой вес) у световых и теневых листьев (Willstätter, Stoll, 1913)

	Хлорофилл <i>a</i>	Хлорофилл <i>b</i>	Отношение хлорофилла <i>a</i> : <i>b</i>	Каротин (с)	Ксантофилл (х)	(х) : (с) по весу	(с) + (х) по весу
<i>Sambucus nigra</i>							
световые листья	0,58	0,22	2,6	0,052	0,095	1,8	5,4
теневые листья	0,79	0,39	2,0	0,038	0,118	3,1	7,5
<i>Platanus acerifolia</i>							
световые листья	0,53	0,15	3,5	0,043	0,092	2,1	4,6
теневые листья	0,85	0,27	3,2	0,051	0,125	2,5	6,3

рактируются преобладанием ксантофилла среди желтых пигментов, а также увеличением в пигментной системе зеленых пигментов.

Большинство зеленых водорослей обладает, как и тенелюбивые растения, повышенным содержанием хлорофилла *б*, отношение хлорофилла *а* к хлорофиллу *б* составляет у них 1,4 (Seybold, Egle, 1937, 1938). Альпийские же растения, являющиеся крайне светолюбивыми, имеют среднее отношение хлорофилла *а* к хлорофиллу *б* 5,5, тогда как обычно отношение хлорофилла *а* и *б* равно 3.

Многочисленные физиологические исследования показали, что теневыносливые растения обладают, в отличие от светолюбивых форм, более низкими компенсационными точками; максимальные значения фотосинтеза у них достигаются при меньших значениях освещенности. Падение скорости усвоения CO_2 начинается также при более низкой интенсивности света, не достигающей полного дневного освещения. Эти свойства теневых растений очень хорошо охарактеризованы Л. А. Ивановым (1946). В табл. 10 приведены соответствующие данные из его работы.

Так как в таблице даны величины кажущейся ассимиляции, значения, близкие к нулю, соответствуют световым компенсационным точкам. У теневыносливых растений — ель, пихта, клен, липа — компенсационные точки лежат при меньшей интенсивности света, чем у светолюбивых пород, таких, как сосна, лиственница, дуб, ива, береза. Из данных второй

Таблица 10

Количество поглощенной CO_2 мг на 1 г сырого веса листьев (хвои) в 1 час при 18—22° С (по Л. А. Иванову)

Освещение в процентах от полного солнечного света	1%	30%	100%
	Теневые листья	Световые листья	
<i>Хвойные</i>			
Светолюбивые сосна	—0,08*	2,1	3,3
лиственница	—0,06	3,1	4,1
Теневыносливые ель	—0,06	1,6	1,7
пихта	0,13	3,4	2,6
<i>Лиственные</i>			
Светолюбивые дуб	—0,12	2,5	4,1
ива	0,03	4,2	8,0
береза	0,18	6,0	9,4
Теневыносливые клен	0,54	4,9	5,0
липа	0,69	6,3	8,3

* Знак минус перед цифрами указывает на выделение CO_2 .

и третьей граф таблицы видно, что у теневыносливых форм при интенсивности света, равной 30% прямого солнечного света, уже достигнута максимальная величина фотосинтеза и дальнейшее повышение интенсивности света не только не усиливает, но даже снижает усвоение углекислоты. У светолюбивых пород интенсивность фотосинтеза возрастает вплоть до полного дневного освещения.

Аналогичные результаты для древесных пород получены другими учеными (Kramer, Decker, 1944). Имеются литературные данные, указывающие на зависимость величины компенсационных пунктов от целого ряда внешних воздействий и внутреннего состояния растений (Воскресенская, 1955; Lieth, 1960; Ormrod, 1961; Кислякова, 1958).

Приспособленность к интенсивности света наблюдается как у сухопутных (Boysen-Jensen, 1919; Иванов, Коссович, 1930; Stalfelt, 1921; Любименко, 1905, 1909, 1910), так и у водных растений (Любименко, 1935; Рихтер, 1914; Harder, 1923). Из-за сильного поглощения света водой водные растения по сравнению с сухопутными растениями развиваются при более слабом освещении. В зависимости от глубины обитания среди водорослей наблюдаются виды светолюбивые (мелководные) и тенелюбивые (глубоководные).

Световой фактор играет очень большую роль в создании высоких урожаев сельскохозяйственных культур. Свет — основное условие фотосинтеза, а фотосинтез в свою очередь является процессом, лежащим в основе образования урожая растения. Поэтому снижение освещенности растений, вызывающее уменьшение интенсивности фотосинтеза, в конечном итоге в ряде случаев является причиной снижения урожая (Ничипорович, 1954). Растения посевов редко получают свет в избытке или в количестве, насыщающем фотосинтез. Слабая освещенность посевов создается главным образом из-за самозатенения растений (особенно при слишком загущенных посевах) в ранние утренние и вечерние часы, когда количество световой энергии, проникающей в глубь травостоя, может снижаться до компенсационного пункта (Ничипорович, 1954; Строгонова, 1959).

Недостаток освещения наблюдается также при искусственном выращивании растений в теплицах в осенне-зимние месяцы. В тепличных условиях световой режим является легко контролируемым фактором, и благодаря применению искусственного освещения мы можем создавать необходимое для растения освещение. В условиях посева, где мы не можем регулировать количество поступающей световой энергии, наши усилия при получении высоких урожаев должны быть направлены прежде всего на создание условий для максимального поглощения солнечной энергии посевом, на повышение коэффициента использования энергии на фотосинтез.

Этот чрезвычайно интересный и важный в практическом отношении вопрос о взаимосвязи светового фактора, фотосинтеза и урожая растений будет рассмотрен в специальной главе.

СПЕКТРАЛЬНЫЙ СОСТАВ СВЕТА

Вопрос о влиянии лучей разной длины волны на фотосинтез давно привлекал внимание исследователей (Senebier, 1788; Daubeny, 1836). Применяя метод цветных светофильтров, исследователи пытались определить влияние разных лучей на фотосинтез. Впоследствии были проведены более подробные исследования (Draper, 1844; Sachs, 1864; Pfeffer, 1871). В результате опытов ученые пришли к заключению о том, что максимум фотосинтеза приходится на желтые лучи, обладающие для нашего глаза наибольшей световой яркостью, но плохо поглощаемые листом.

Против такого представления, отрицающего по существу приложимость закона сохранения энергии к фотосинтезу, выступил К. А. Тимирязев. Преодолев методические ошибки своих предшественников благодаря применению разработанного им точного и чувствительного метода микроанализа газов, Тимирязев провел безупречные, точные исследования зависимости интенсивности фотосинтеза от длины волны падающего света. Блестящие опыты Тимирязева показали, что фотосинтез лучше всего идет не в желтых лучах, а в красных и синих, наиболее хорошо поглощаемых хлорофиллом.

Установленная К. А. Тимирязевым зависимость интенсивности фотосинтеза в спектре от степени поглощения лучей хлорофиллом была получена впоследствии также в опытах других ученых (Engelmann, 1883, 1884; Reinke, 1883—1884; Hoover, 1937 и др.) и в настоящее время не подлежит сомнению.

Зеленые растения, как указывал Тимирязев, замечательно приспособлены к условиям среды, к характеру солнечной радиации. Они обладают способностью благодаря оптическим свойствам хлорофилла поглощать энергию солнечной радиации главным образом в той области, в которой она представлена наиболее богато; и именно те лучи, которые являются наиболее эффективными в фотохимическом отношении. По данным К. А. Тимирязева, если принять количество поглощенной листом световой энергии и интенсивность фотосинтеза в красных лучах за 100, в синих лучах поглощение энергии будет 70, а интенсивность фотосинтеза — 54.

Точка зрения К. А. Тимирязева о преимущественном значении красных лучей для фотосинтеза нашла себе полное объяснение на основе новых воззрений на природу света и его участие в фотохимических реакциях.

Согласно квантовой теории света, одна калория красного света ввиду значительно меньшей величины квантов, свойственных красным лучам по сравнению с сине-фиолетовыми, содержит в полтора раза больше квантов, чем калория сине-фиолетовых лучей. Поэтому на основе закона эквивалентности Эйнштейна красный свет является более эффективным для фотосинтеза.

Исследования ученых (Warburg, Negelein, 1922; Briggs, 1929; Gabrielsen, 1935; Hoover, 1937) полностью подтвердили применимость этих положений к фотосинтезу. Эти ученые определили величину фотосинтеза, полученного в различных участках спектра, выравненных по количеству энергии. Как и следовало ожидать исходя из квантовой теории света, эта величина оказалась различной для лучей разной длины волны: она увеличивалась с возрастанием длины волны. Однако понижение квантового выхода при переходе от красных лучей к синим оказалось более значительным, чем можно было ожидать, что связано с поглощением лучей в этой области спектра каротиноидами. Полученные данные указывают на участие каротиноидов в фотосинтезе, но их эффективность значительно меньше, чем эффективность хлорофилла.

У некоторых растений уменьшение квантового выхода фотосинтеза в сине-фиолетовых лучах объясняется поглощением света пигментами, не участвующими в фотосинтезе, такими, как антоцианины, флавоны (Burns, 1942).

Были проведены подробные исследования квантового выхода зеленых и окрашенных водорослей в зависимости от длины волны (Emerson, Lewis, 1941; Dutton, Manning, 1941). Исследования Эмерсона и Люиса (1943) показали, что квантовый выход фотосинтеза приблизительно одинаков между 580 и 685 *мк*, ниже 580 *мк* он заметно снижается, достигает минимума при 490 *мк* и затем вновь повышается (рис. 59). Потеря производительности в зеленых, синих и фиолетовых областях спектра совпадает (как уже указывалось выше) с областью спектра, в которой свет помимо хлорофилла поглощается каротиноидами. При длинах волн выше 680 *мк* наблюдается резкое падение квантового выхода.

Согласно представлениям фотохимии, световой квант производит один и тот же химический эффект (или никакого) независимо от энергии кванта. На основании этого можно было ожидать, что спектр действия фотосинтеза, полученный исследователями, совпадает со спектром поглощения хлорофилла. Однако сравнение спектра действия и спектра поглощения хлореллы показывало, что кривые заметно расходятся выше 690 *мк* и ниже 570 *мк*.

Расхождение квантованного спектра действия фотосинтеза (измерения проводились при низких интенсивностях света в разбавленной суспензии) со спектром поглощения

энергии света указывает на неодинаковое действие квантов различной длины волны на фотосинтез. Влияние длины волны на фотосинтез объясняется прежде всего следующими обстоятельствами: существованием нескольких возбужденных электронных состояний хлорофилла, сложностью пигментной системы растения. В настоящее время известно, что хлорофилл *a* представлен различными формами (Красновский, Воробьева, Пакшина, 1957; Белавцева, Воробьева, Красновский, 1959; Rabinowitch, Govindjee, 1961; Френч, Форк, 1961;

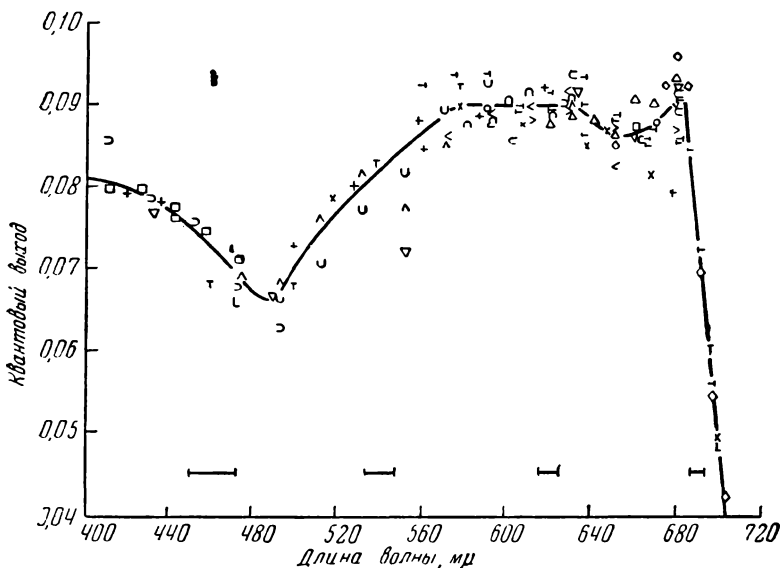


Рис. 59. Квантовый выход фотосинтеза *Chlorella* как функция длины волны. Точки, полученные в 19 различных опытах, обозначены различными символами. Половина ширины использованной полосы спектра показана горизонтальной линией в соответствующем участке спектра (по Emerson, Lewis, 1943)

Литвин, 1965), каждая из которых обладает характерным максимумом поглощения в красной области спектра и, вероятно, ответственна за осуществление определенной фотохимической реакции. Помимо хлорофилла растение содержит большую группу «сопровождающих пигментов», которые, как показали работы последних лет, также участвуют в процессе фотосинтеза. Предполагается, что «сопутствующие пигменты» не только увеличивают общее поглощение лучистой энергии, но и осуществляют специфические фотореакции (French, 1961). Поэтому при изучении влияния длины волны света на фотосинтез надо прежде всего определить роль различных пигментов при сенсibilизации и исследовать соотношение между длиной волны и фотосинтезом для каждого пигмента.

Рассматривая кривую квантового выхода (см. рис. 59), мы указывали, что помимо спада кривой в области спектра ниже 570 *мкм*, объясняющегося участием каротиноидов, авторы наблюдали резкое снижение квантового выхода фотосинтеза при поглощении растением света с длиной волны 680—700 *мкм*, соответствующей длинноволновому спаду красной полосы поглощения растений.

Эмерсон и Люис показали, что эффективность данного участка спектра можно повысить добавлением света более короткой волны в 650 *мкм* (второй эффект Эмерсона). Существуют различные взгляды, объясняющие эти явления (Emerson, 1958; Franck, 1958; French, 1961; Белл, 1962). Еще нельзя окончательно сказать, какое объяснение окажется верным. Однако имеющиеся экспериментальные данные позволяют считать вполне возможным вывод, сделанный на основе эффекта Эмерсона. Согласно этому выводу, первичный фотохимический процесс фотосинтеза состоит из двух ступеней, в осуществлении которых принимает участие не только хлорофилл, но и «сопутствующие пигменты».

Интересны в этой связи недавние наблюдения Мак-Леода (Mc. Lead, 1961), изучавшего спектры действия фотосинтеза при насыщающих интенсивностях света. В этих опытах скорость фотосинтеза ограничивалась темновыми реакциями и не зависела от интенсивности света и его спектрального состава. Спектр действия фотосинтеза, измеренный при насыщающих интенсивностях света, должен был дать прямую, параллельную оси абсцисс линию для участков спектра, эффективных в фотосинтезе. Однако такая кривая не была получена. Квантовый выход при 650 *мкм* был выше, чем при 680 *мкм*, что так же, как и эффект Эмерсона, указывает на возможность существования по крайней мере двух фотохимических реакций, осуществляемых различными пигментами.

По мнению Френча (French, 1961), в результате этих реакций образуются различные продукты, взаимодействием которых можно объяснить эффект Эмерсона, спектры действия фотосинтеза, полученные Мак-Леодом при насыщающих интенсивностях света, факт наличия различной интенсивности дыхания после освещения лучами с длиной волны 650 и 700 *мкм* и некоторые другие наблюдения. В настоящее время участие в фотосинтезе двух фотохимических реакций считается общепринятым.

Наряду с изучением спектров действия фотосинтеза при исследовании зависимости интенсивности фотосинтеза от качества света большой интерес представляют световые кривые в монохроматическом свете.

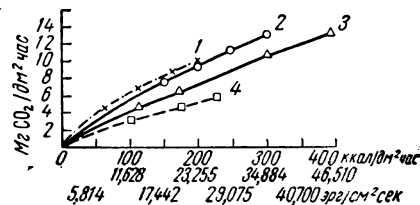
Экспериментальных данных в этой области очень немного. Габриэльсен (1935, 1940) получил в монохроматическом свете световые кривые фотосинтеза для белой горчицы и крас-

нолистных разновидностей сливы и лещины: при освещенности ниже насыщающей интенсивность фотосинтеза была максимальной в красной и минимальной в синей и зеленой частях спектра; в области светового насыщения максимальные скорости фотосинтеза для разных длин волн совпадали.

Большой интерес представляют световые кривые, полученные Н. Н. Протасовой в 1962 г. для растений салата (*Lactuca sativa*) и красной свеклы (*Beta vulgaris*) на свету различного спектрального состава (рис. 60—62). Растения выращивались при свете той длины волны, при которой в дальнейшем проводились определения фотосинтеза. Такая постановка опыта позволяла устранить возможные изменения в ходе световых кривых, вызываемые переносом растений с бе-

Рис. 60. Зависимость интенсивности фотосинтеза листьев салата (*Lactuca sativa*) от интенсивности света различных люминесцентных ламп:

1 — лампы красного света, 2 — лампы белого света, 3 — лампы синего света, 4 — лампы зеленого света (по Протасовой, 1962)



лого света в условия освещения светом определенной длины волны. Результаты опытов представлены на рис. 60.

Мы видим (см. рис. 60), что красные лучи являются наиболее эффективными по сравнению с лучами белого, синего и зеленого света. При выравнивании освещенности по числу падающих или поглощенных квантов кривые для красного, синего и белого света практически совпадают; кривая для зеленого света во всех случаях лежит значительно ниже (рис. 61, 62).

Действие качества света на фотосинтез не ограничивается его влиянием на интенсивность процесса; спектральный состав света изменяет также качественную сторону фотосинтеза.

Изучению этого вопроса посвящено много работ (Воскресенская, 1952, 1953, 1956; Cayle, Emerson, 1957; Hauschild, Nelson, Krotkov, 1962). Не все полученные результаты согласуются друг с другом. Однако на основании имеющихся данных можно считать твердо установленным, что качество света влияет не на первичную фотохимическую реакцию, а на дальнейшее превращение первичного промежуточного продукта. В результате воздействия лучей той или иной длины волны изменяется направленность процесса фотосинтеза. Коротковолновый свет способствует образованию в процессе фотосинтеза аминокислот, белков, тогда как освещение длинно-

волновым светом усиливает образование углеводов (Воскресенская, 1953).

Реакция растений на спектральный состав света в отношении образования углеводов и азотистых веществ при фотосинтезе не зависит от длительности экспозиции, систематического положения исследуемого объекта и его физиологического состояния (Воскресенская, 1953; Воскресенская и Гришина, 1956).

Опыты с применением радиоактивного углерода C^{14} показали, что качественный состав аминокислот и органических

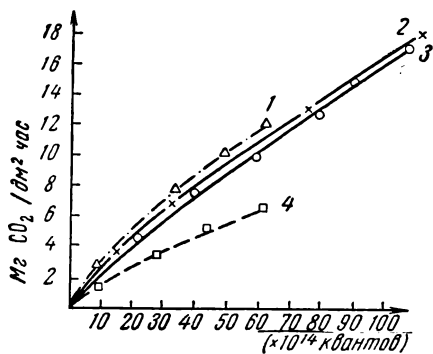


Рис. 61. Зависимость интенсивности фотосинтеза красной свеклы (*Beta vulgaris*) от числа падающих квантов света.

Люминесцентные лампы: 1 — красного света, 2 — синего света, 3 — белого света, 4 — зеленого света (по Протасовой, 1962)

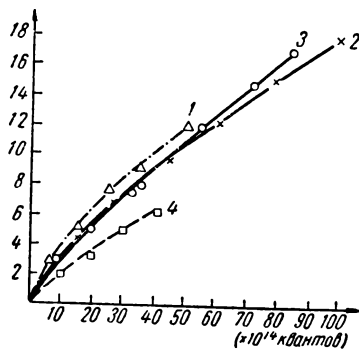


Рис. 62. Зависимость интенсивности фотосинтеза красной свеклы (*Beta vulgaris*) от числа поглощенных квантов света.

Люминесцентные лампы: 1 — красного света, 2 — синего света, 3 — белого света, 4 — зеленого света (по Протасовой, 1962)

кислот одинаков для красного и синего света (Воскресенская, 1956). Однако количественные соотношения аминокислот различны на синем и красном свете, что указывает на изменения под влиянием различного спектрального состава света не только скорости образования аминокислот, но и направленности их синтеза (Hauschild, Nelson, Krotkov, 1962; Андреева, Коржева, 1964).

Не исключена и возможность образования при воздействии красного и синего света различных веществ. В настоящее время показано, что синий свет способствует образованию в листе при фотосинтезе физиологически активных веществ, активирующих рост каллусов в культуре тканей из корней моркови. На красном свете образование подобных веществ либо задерживается, либо возникают их антагонисты (Бутенко, Ничипорович, Протасова, 1961). Авторы предполагают, что за наблюдаемый эффект ответственны вещества азотного и нуклеинового обмена.

В природной обстановке спектральный состав света подвергается резким изменениям только в водной среде. Водные растения на разных глубинах обитания испытывают действие света различного спектрального состава. Для наземных растений не приходится отмечать столь больших различий в качестве света. Правда, и эти растения в течение дня и в зависимости от времени года получают свет различного спектрального состава. Наиболее существенно изменение спектрального состава света для листьев растений нижних ярусов. Нижние листья, особенно в загущенных посевах, получают «фильтрованный» свет, обогащенный коротковолновыми лучами. Изменения в качестве прямого солнечного света, вызываемые его поглощением атмосферой, зависят от высоты стояния солнца и содержания водяных паров в атмосфере; эти изменения оказываются сравнительно небольшими. При освещении растения рассеянным светом различия в спектральном составе солнечного света более значительны, но и они очень малы по сравнению с изменениями спектрального состава света в глубине водных толщ. Поэтому среди наземных растений нет ярких проявлений хроматической адаптации, наблюдаемой у водорослей (Engelman, 1883; Гайдуков, 1903; Рихтер, 1914).

Однако и у высших наземных растений, несмотря на отсутствие специализированных пигментных систем, существует своеобразная хроматическая адаптация. Она проявляется в изменении анатомии, морфологии, обмена веществ растений (Клешнин, 1954; Воскресенская, 1952; Чернавина, 1959), в увеличении содержания у теневых растений хлорофилла *b*, сильнее поглощающего коротковолновые лучи, которыми богат рассеянный свет. Световая адаптация выражается также в изменении интенсивности фотосинтеза и его качественной направленности. Как показал В. Н. Любименко (1923), теневыносливые растения лучше используют при фотосинтезе синие лучи.

Аналогичные данные получены Н. П. Воскресенской (1955) при изучении световых кривых фотосинтеза на красном и синем свете у светолюбивых и теневыносливых растений.

У всех растений в коротковолновых лучах компенсационные пункты фотосинтеза лежат при более высоких интенсивностях света, чем в длинноволновых. Различия в положении компенсационных пунктов особенно велики для светолюбивых

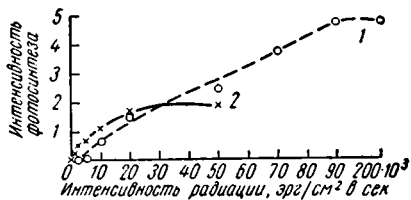


Рис. 63. Фотосинтез *Aspidistra* в коротковолновых (1) и длинноволновых (2) лучах в мг $\text{CO}_2/\text{дм}^2\text{час}$ (по Воскресенской, 1959)

растений. Интенсивность фотосинтеза у этих растений ниже на синем свете (при выравнивании света по количеству квантов физиологически активной радиации). У теневыносливых растений (аспидистры и плюща) различия в фотосинтезе на красном и синем свете, наблюдаемые при низкой интенсивности света, при увеличении освещенности выравниваются и фотосинтез становится практически одинаковым на красном и синем свете. При дальнейшем повышении интенсивности красного света устанавливается плато (при 20 тыс. $\text{эрг}/\text{см}^2 \text{сек}$ для аспидистры). В синих лучах световое насыщение наступает при 90 тыс. $\text{эрг}/\text{см}^2 \text{сек}$, величина фотосинтеза для плато в синих лучах значительно больше (рис. 63). Лучшее использование синих лучей теневыносливыми растениями является результатом филогенетической приспособленности этих растений к свету, наиболее богатому сине-зелеными лучами. На характер восприятия светового режима растением оказывают существенное значение помимо филогенетической природы растения условия внешней среды в течение индивидуального развития (Воскресенская, 1955), а также состояние растения (Данилов, 1935, 1936).

УГЛЕКИСЛОТА

Углекислота воздуха является источником углерода для фотосинтеза, и ее концентрация обуславливает скорость процесса. Зависимость скорости ассимиляции от содержания углекислоты, так же как и ее зависимость от действия света, выражается логарифмической кривой.

Наименьшая концентрация углекислоты, при которой начинается фотосинтез, 0,008—0,01% (Чесноков, Базырина, 1932; Reinau, 1927; Gabrielsen, 1949; Gaastra, 1959). При повышении содержания углекислоты интенсивность фотосинтеза сначала пропорционально увеличивается, затем возрастание замедляется и наступает насыщение фотосинтеза углекислотой. При очень высокой концентрации углекислоты скорость процесса снижается.

В зависимости от интенсивности света, температуры и ряда других условий насыщающая концентрация углекислоты, а также абсолютные величины фотосинтеза меняются (Harder, 1921; Lundegordh, 1921; Smith, 1938; Бриллиант, 1949; Gaastra, 1959; Пономарева, 1960).

Насыщающая концентрация углекислоты (при оптимальных условиях освещения и температуры), как показали многочисленные литературные данные, колеблется у различных растений в довольно широких пределах — от 0,06 до 0,4% CO_2 (Lundegordh, 1921; Hoover, Johnston, Brackett, 1933; Singh, Lal, 1935; Thimann, 1951; Чесноков и Степанова, 1955; Пономарева, 1960). Концентрация CO_2 в атмосферном воз-

духе, таким образом, в большинстве случаев недостаточна для того, чтобы обеспечить насыщение фотосинтеза, т. е. его максимальную потенциальную интенсивность. По данным Пономаревой, величина насыщающей концентрации CO_2 не связана с систематическим положением и экологией растений. Среди растений с одинаковым значением этого показателя можно встретить представителей, сильно отличающихся по систематическому положению: папоротникообразных, голосеменных и виды из семейств покрытосеменных. Растения, различные по экологии, например теневые и светолюбивые, могут иметь одинаковую величину насыщающей концентрации углекислоты. Эта величина не зависит также от возраста растения и постоянна для взрослых листьев данного вида растения (Пономарева, 1960).

Существенным показателем, характеризующим зависимость фотосинтеза от углекислоты, является максимальная величина фотосинтеза, достигаемая при оптимальных условиях освещения, температуры и концентрации углекислоты. Эта величина, колеблющаяся обычно от 50—55 до 2 мг $\text{CO}_2/\text{дм}^2$ в час, неодинакова у различных видов растений и изменяется с возрастом растения и листа. Вследствие постоянного взаимодействия факторов, определяющих величину фотосинтеза, максимальные значения фотосинтеза при оптимальном содержании углекислоты значительно изменяются в зависимости от интенсивности света и температуры. На рис. 64 изображена зависимость фотосинтеза от концентрации CO_2 у *Acacia dealbata* при различной интенсивности света (при оптимальной температуре).

Рис. 64 показывает, что интенсивность освещения не влияет на величину насыщающей концентрации CO_2 , но очень резко изменяет максимальную интенсивность фотосинтеза.

В природных условиях содержание углекислого газа в воздухе, как показали прямые определения, подвержено колебаниям (Lundegordh, 1924). Наиболее богат углекислотой припочвенный слой воздуха, где концентрация углекислоты может достигать до 0,3—0,5%. Большое содержание углекислоты наблюдается во влажных тропических лесах — 0,1—0,2%; в посевах в периоды интенсивного фотосинтеза ее количество может быть резко снижено. Однако в среднем содержание углекислоты в воздухе колеблется около 0,03 объемных процента.

Несмотря на низкое содержание углекислоты в воздухе, как показали исследования С. П. Костычева с сотрудниками и В. А. Чеснокова (Костычев и др., 1926, 1928; Костычев, Берг, 1930; Костычев, Кардо-Сысоева, 1930; Чесноков, Базырина, 1932; Чесноков, 1955), фотосинтез в природной обстановке при условии достаточно быстрого обмена воздуха протекает достаточно интенсивно — 40—50 мг CO_2 на 1 $\text{дц}^2/\text{час}$

и выше. Эти данные свидетельствуют о большой приспособленности растений к использованию небольших количеств CO_2 , которые имеются в атмосфере.

На рис. 65 показано, что кривые фотосинтеза достигают значительных величин при концентрации CO_2 , близкой к ее обычному содержанию в воздухе. Однако при дальнейшем

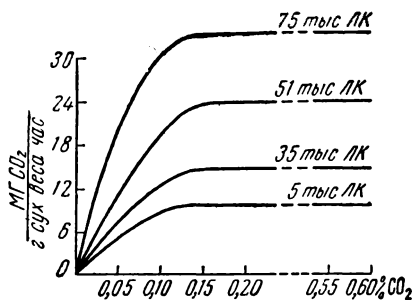


Рис. 64. Зависимость фотосинтеза от концентрации углекислоты у *Acacia dealbata* (по Пономаревой, 1960)

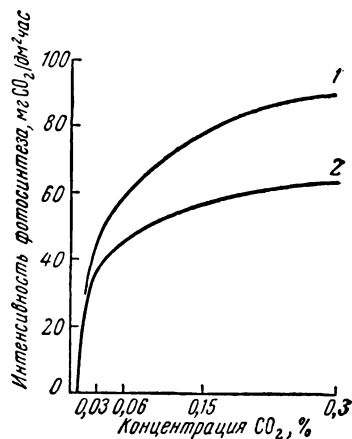


Рис. 65. Зависимость фотосинтеза от концентрации CO_2 . 1 — тыква, 2 — бобы (по Чеснокову, 1955)

добавлению углекислоты фотосинтез продолжает увеличиваться (примерно в 1,5—3 раза). Способность растения увеличивать интенсивность фотосинтеза при повышении концентрации CO_2 в воздухе выше обычного является основой для применения воздушного удобрения растений (Константинов, 1950; Чесноков и Степанова, 1955).

Этот прием нашел широкое применение при выращивании растений в закрытом грунте — в парниках, теплицах. Он особенно эффективен в период плодоношения растений. Опыты, проведенные в открытом грунте, также показывают возможность благоприятного действия воздушного удобрения на урожай¹.

ТЕМПЕРАТУРА

В настоящее время твердо установлено, что фотосинтез включает в себя не только световые (фотохимические), но и

¹ В данном случае первоочередной задачей является устранение дневного дефицита CO_2 в травостое растений, а не повышение общего содержания CO_2 в воздухе.

не требующие света ферментативные (темновые) реакции. Для темновых реакций величина температурного коэффициента Q_{10} довольно значительна и достигает 2—3; для фотохимических реакций Q_{10} равен 1,1—1,4.

Для фотосинтеза величина Q_{10} в ряде случаев достигает 2—3 (Blackman, Matthaei, 1905). Высокое значение температурного коэффициента для процесса, являющегося в своей основе фотохимической реакцией, указывает на наличие в нем темновых реакций.

На рис. 66 показана зависимость скорости фотосинтеза от температуры.

Фотосинтез при повышении температуры быстро увеличивается, обычно достигая максимума при 25—30° С. При дальнейшем увеличении температуры процесс резко задерживается, и кривая быстро падает до нуля. Влияние температуры зависит от продолжительности ее действия. При повышении температуры до 24° С интенсивность фотосинтеза увеличивается и остается постоянной в течение длительного времени. При более высоких температурах фотосинтез быстро снижается во времени, и тем скорее, чем выше температура. Нисходящие кривые являются результатом инактивирующего действия высокой температуры на фотосинтетический аппарат.

При изучении влияния температуры на фотосинтез надо учитывать, что температура листа (хлоропласта) зависит не только от температуры окружающего воздуха. Она представляет собой результат поглощения лучистой энергии, испарения воды и теплоотдачи.

По данным А. Ф. К्लешнина (1954), температура листьев находится в прямой зависимости от интегральной интенсивности излучения и определяется оптической плотностью листа, обусловленной содержанием воды и пигментов. Температура листа пропорциональна содержанию воды и обратно пропорциональна интенсивности транспирации. При увеличении количества пигментов листа возрастает поглощение лучистой энергии, а следовательно, и его температура.

По данным многих исследователей, температура листа и воздуха отличается очень мало. в то же время некоторые ав-

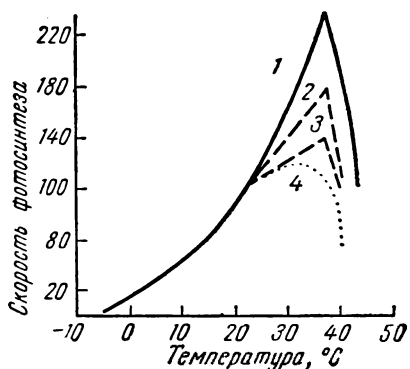


Рис. 66. Влияние температуры и продолжительности ее действия на интенсивность фотосинтеза:

1 — продолжительность действия температуры 1 час, 2 — 2 час, 3 — 3 час, 4 — 4 час (по Блэкман и Маттей, 1905)

торы находят, что внутренняя температура листьев на прямом солнечном свете поднимается на 10—20° выше температуры окружающего воздуха (Blackman, Matthaei, 1905; Карманов, 1951).

У растений различных климатических зон наблюдается приспособленность фотосинтеза к температурному оптимуму и максимуму (Рабинович, 1959). Литературные данные о нижнем температурном пределе фотосинтеза довольно разнообразны; однако совершенно несомненно, что величина наиболее низкой температуры, обеспечивающей фотосинтез, неодинакова для различных растений. Для сосны и ели эта температура равна — 0,5—15°C; у растений арктической, альпийской и умеренной зон фотосинтез прекращается при температуре немного ниже точки замерзания, а у тропических растений уже при температурах от 4 до 8°C; субтропических и водных растений — при 0 или при 2°C. У теплолюбивых растений угнетение фотосинтеза наступает уже при 3—5°C.

Оптимальные температуры для фотосинтеза растений умеренного климата располагаются при 25—30°C. У наземных растений, приспособленных к жизни при низких температурах, оптимум лежит значительно ниже, между 8 и 15°C, а у термофильных водорослей и тропических пустынных растений значительно выше — при температуре не ниже 40°.

Максимальная температура, при которой фотосинтез прекращается, хотя растение остается еще живым, также неодинакова у различных растений: для некоторых адаптированных к холоду растений даже такая сравнительно низкая температура, как 12°C, уже оказывает вредное влияние. Вместе с тем теплолюбивые растения способны к синтезу органических веществ даже при 50°C и выдерживают температуру 80—90°C. Примером таких организмов являются некоторые водоросли, серные бактерии, обитающие в горячих источниках. Растения пустынь, нагреваемые прямым солнечным светом, обнаруживают фотосинтез при 58°C.

Данные Хардера (Hardeg, 1924) показывают, что кроме такой филогенетической температурной адаптации имеет место индивидуальная приспособленность аппарата фотосинтеза. Культивируя одни и те же водные растения в течение трех месяцев при низкой температуре (4—8°C) и в тепле (20°C), Хардер получил растения, совершенно различно реагирующие на температуру. Растения, выращенные при пониженной температуре, обнаружили на слабом свете более высокую энергию фотосинтеза при 8°C, чем при 18°C, в то же время водоросли, культивируемые в тепле, показали обратное отношение к температуре. При ярком свете интенсивность фотосинтеза при подобном изменении температуры увеличивалась в обоих случаях, но масштаб изменений был гораздо больше у растений, адаптированных к теплу. Растения, адап-

тированные к низким температурам, по данным Хардера, более продуктивны, при этом дыхание у них не ниже, чем у термофильных организмов.

Известны многочисленные примеры адаптации растений к температурным условиям (Stalfelt, 1937, 1938; Самыгин, 1955; Незговоров, 1956; Тиховская, 1960; Кислякова, 1958; Есипова, 1959; Ogmrod, 1961), показывающие, что характер изменений фотосинтеза после действия температуры зависит от физиологического состояния растения, длительности воздействия, температурных пределов, в которых осуществляется воздействие, и других условий.

Влияние температуры, кроме того, не ограничивается изменением скорости ассимиляции, оно вызывает также существенные изменения в метаболизме и передвижении углерода, поглощенного в процессе фотосинтеза (Заленский, 1955; Незговорова, 1959).

ВОДА

При действии почвенной и атмосферной засухи накопление сухого вещества в растениях снижается. На основании этого факта уже давно считали, что фотосинтез зависит от оводненности ассимилирующих органов. Зависимость усвоения углекислоты от водного фактора очень сложная. Значение воды для фотосинтеза не ограничивается прямым участием ее в реакциях фотосинтеза. Имеются еще и косвенные связи между потребностью в воде и процессом фотосинтеза. Они более существенны, чем значение воды как исходного материала для построения органического вещества, так как для осуществления этой функции вода обычно находится в избытке, и ее роль в этом направлении проявляется только в случае резкого обезвоживания ассимилирующей клетки. Вода нужна растению главным образом для покрытия расхода на испарение с тем, чтобы ткани не подсыхали, не перегревались. От оводненности ткани зависит также степень открытия устьиц; ширина устьичной щели, в свою очередь, может определять поступление углекислоты в ассимилирующие органы. Явления, вызываемые недостатком воды, такие, как перегрев листа, снижение поступления углекислоты, изменения коллоидального состояния протоплазмы, безусловно должны влиять на интенсивность фотосинтеза.

Действительно, как показали исследования действия обезвоживания на фотосинтез (Ильин, 1923; Бриллиант, 1925; Алексеев, 1935), уменьшение содержания воды в ассимилирующей ткани от состояния полного насыщения влечет за собой большее или меньшее снижение интенсивности фотосинтеза. На рис. 67 представлены кривые изменения энергии фотосинтеза при потере воды листом. Фотосинтез достигает мак-

симальной величины при водном дефиците от 5 до 20% от полного насыщения, при дефиците от 40 до 60% резко снижается и падает до нуля.

Благоприятное влияние небольшого обезвоживания наблюдается лишь при высоких интенсивностях света. Это интересное явление Д. А. Сабинин (1955) рассматривает как выражение адаптированности фотосинтетического аппарата к обычным условиям фотосинтеза, так как листья наземных растений, как правило, находятся в состоянии водного дефицита. На приспособленность ассимилирующих органов наземных растений к различным условиям водного режима указывает существование групп растений, по-разному реагирующих на обезвоживание: ксерофитов, мезофитов и гигрофитов.

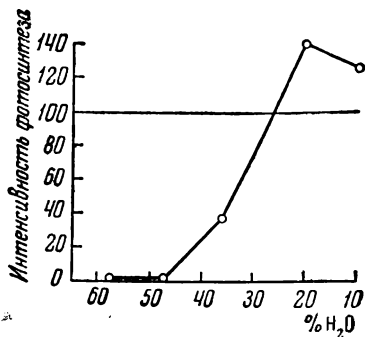


Рис. 67. Зависимость фотосинтеза от содержания воды в листе. На оси абсцисс — потеря воды листом в процентах от сырого веса; на оси ординат — интенсивность фотосинтеза опытного листа в процентах от контроля (по Бриллиант, 1925)

Величина ассимиляции углерода при недостаточном водоснабжении, по мнению А. М. Алексеева (1948, 1957), определяется количеством коллоидно связанной воды в листьях растений и степенью гидратации клеточных коллоидов.

По данным В. А. Бриллиант (1925, 1943) и других исследователей (Алексеев, 1935; Данилов, 1938; Петин, 1938), зависимость фотосинтеза от подсушивания листьев меняется у одного и того же вида растения в разные периоды его развития. Большое влияние на интенсивность фотосинтеза при обезвоживании оказывают предшествующая световая подготовка растения, быстрота и

продолжительность обезвоживания ассимиляционной ткани, предыдущий водный режим растения.

Эти данные указывают на то, что решающее значение для фотосинтеза имеет не только само обезвоживание ассимиляционной ткани, но также влияние недостатка воды на физиологическое состояние растительной клетки. Изменение состояния клетки обуславливает явление последствия обезвоживания, которое может продолжаться еще значительное время после того, когда растения перешли в условия достаточного водоснабжения.

Для сельскохозяйственной практики большое значение имеет вопрос обратимости изменений интенсивности фотосинтеза, вызываемых засухой, так как этот признак характеризует засухоустойчивость растений.

Обратимость изменений фотосинтеза, вызванных обезвоживанием, неодинакова у растений разных экологических типов и зависит от фазы развития растения во время засухи.

Изменение водного режима листьев при почвенной и атмосферной засухе не только снижает интенсивность фотосинтеза, но также вызывает перераспределение продуктов, образующихся в процессе фотосинтеза. Во время засухи наблюдается усиленное образование осмотически активных продуктов — сахаров и аминокислот, и резкое снижение образования высокомолекулярных продуктов фотосинтеза, особенно белков (Незговорова, 1957; Тарчевский, 1959).

МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ

Минеральное питание и фотосинтез — две стороны единого процесса питания растения. Важнейшие элементы минерального питания — азот, сера, фосфор и магний — необходимы для построения аппарата фотосинтеза; другие элементы — железо, калий, хлор, не входящие в состав хлоропластов, оказывают сильное влияние на накопление хлорофилла, а следовательно, и на фотосинтез. Такие элементы минерального питания, как азот, калий, фосфор, железо, цинк, медь, оказывают непосредственное влияние на интенсивность фотосинтеза. Действие минеральных веществ объясняется их воздействием на клеточные коллоиды, проницаемость протоплазмы, деятельность ферментов, участвующих в фотосинтезе.

Наибольший интерес представляют данные о влиянии на фотосинтез азота, калия, фосфора — элементов минерального питания, широко применяемых в качестве удобрения. Положительное действие этих элементов на количество и качество урожая твердо установлено, но значение их для фотосинтеза оставалось долгое время неясным.

В первых исследованиях, проведенных в этом направлении, было установлено благоприятное воздействие элементов минерального питания (азота, калия, фосфора) на фотосинтез. Но оставалось невыясненным, является ли этот эффект результатом непосредственного воздействия минерального элемента на фотосинтез или следствием его влияния на всю жизнедеятельность растения.

В более поздних работах изучалось непосредственное влияние данного элемента на усвоение углекислоты. Так, было установлено, что недостаток азота снижает, а высокие дозы азота повышают интенсивность ассимиляции (Баславская и др., 1954, 1959; Головки, 1936; Устенко, 1941).

Действие азота на фотосинтез объясняется прежде всего его влиянием на формирование фотосинтетического аппарата. Являясь составной частью белка и хлорофилла, азот усиливает синтез этих соединений, обеспечивает более полное ис-

пользование ассимилятов и, следовательно, способствует лучшему их образованию.

Изучение влияния калия на фотосинтез показало, что калийное питание изменяет интенсивность фотосинтеза. Оптимальная концентрация калия может быть различна в зависимости от вида растения, его возраста и обеспеченности растения азотом. Недостаток калия ведет к снижению фотосинтеза, дополнительная доза вновь повышает ассимилирующую способность листа.

Как впервые показал Пирсон (Pirson, 1937, 1940), добавление калия к клеткам *Chlorella*, выращенным в среде, лишенной калия, вызывает моментальное увеличение скорости фотосинтеза. Это увеличение происходит и на слабом и на сильном свете и может быть вызвано не только солями калия, но также солями рубидия и цезия. Автор объясняет это действие калия изменениями в коллоидном состоянии протоплазмы.

В зависимости от концентрации калия изменяется не только процесс фотосинтеза, но также накопление хлорофилла, углеводов, синтез белка (Бриллиант, 1925; Бриллиант, Белова, 1938; Воскресенская, 1948; Щербakov, 1938). Можно прийти к заключению, что действие калия на эти процессы косвенное и, по-видимому, связано с его действием на состояние клеточных коллоидов.

Вопрос о влиянии фосфора на фотосинтез представляет большой интерес в связи с его исключительно большой ролью в жизнедеятельности организмов. Фосфор входит в состав ряда фосфорилированных соединений, принимающих участие в процессах фиксации и восстановления углекислоты, и многих промежуточных продуктов фотосинтеза; при участии неорганического фосфата образуются в процессе фотосинтеза богатые энергией фосфорорганические соединения.

Несмотря на значительную роль фосфора в процессе фотосинтеза, вопрос о его влиянии на усвоение углекислоты долгое время оставался неясным. Одни исследователи не обнаруживали его влияния на интенсивность фотосинтеза (Андреева, 1948; Gregory, Richards, 1929; Van Hille, 1938), другие устанавливали положительное действие фосфора на усвоение углекислоты (Устенко, 1941; Эйдельман, 1930; Дорохов, 1957).

Специальные исследования, проведенные в последние годы с водными растениями (Баславская, Кислякова, 1954; Баславская и др., 1955; Pirson, Tichy, Wilhelmu, 1952), показали, что фосфор повышает интенсивность фотосинтеза. Повышение ассимиляционной деятельности не связано с изменениями в содержании хлорофилла.

По данным С. С. Баславской (1959), фосфор оказывает положительное действие как на темновые, так и на световые реакции фотосинтеза.

При оценке значения азотных, фосфорных и калийных удобрений на урожай сельскохозяйственных культур помимо их влияния на интенсивность процесса фотосинтеза необходимо учитывать действие этих элементов на общую продуктивность растения. Эти вопросы подробно разобраны в работах Л. М. Дорохова (1949, 1957), Л. Г. Добрунова (1950, 1959), Г. П. Устенко и Н. И. Приезжева (1961).

Помимо азота, калия и фосфора на интенсивность фотосинтеза оказывают действие другие элементы минерального питания. Например, резкое снижение ассимиляции происходит при недостатке магния и железа, так как отсутствие или низкое содержание этих элементов вызывает хлороз растений (Briggs, 1922; Fleischer, 1934).

В ряде работ установлено, что повышенная концентрация хлора и натрия в питательной среде снижает фотосинтез (Благовещенский, Баславская, 1936; Жданова, 1944). Есть указания, что недостаток в почве некоторых микроэлементов, цинка и особенно меди, сильно снижает ассимиляцию углекислоты (Абуталыбов, Самедова, 1959; Заблуда, 1938; Островская, Починок, Дорохов, 1959). Опрыскивание листьев слабыми растворами солей микроэлементов значительно повышает фотосинтез (Рихтер, Васильева, 1941).

Приведенные данные подтверждают наличие сложной, меняющей свой характер под влиянием ряда условий, зависимости между минеральным питанием растения и фотосинтезом.

Как было отмечено выше, освещенность, водный режим, температура влияют не только на интенсивность процесса усвоения углекислоты, но и на состав образующихся продуктов.

Уже в конце XIX и начале XX столетия было высказано предположение о том, что углеводы не являются единственными продуктами фотосинтеза, наряду с ними образуются и другие соединения, в частности белки (В. Сапожников, 1894; Таусон, 1947; Сабинин, 1955).

С применением радиоактивного углерода C^{14} и стабильного азота N^{15} представления о разнообразии продуктов фотосинтеза были подтверждены убедительными экспериментальными данными и получили дальнейшее развитие.

В настоящее время показано, что в процессе фотосинтеза наряду с главными продуктами фотосинтеза — углеводами — образуются органические кислоты, аминокислоты, белки (Ничипорович, 1961).

Наибольшего внимания среди неуглеводных продуктов фотосинтеза заслуживают азотистые продукты; их образование в процессе фотосинтеза подтверждено многочисленными фактами. Опытами с радиоактивным углеродом C^{14} показано непосредственное поступление радиоактивного углерода в белки при фотосинтезе листа; при коротких экспозициях C^{14}

обнаруживается в ряде аминокислот, при этом их количество увеличивается при дальнейшем ходе фотосинтеза. Обнаружена способность изолированных хлоропластов образовывать белок при инкубации с ди- и трипептидами (Сисакян, Филиппович, 1955). Образование белка в зеленом листе на свету локализовано в хлоропластах, а не в плазме.

При введении в лист солей азота с N^{15} и при выдерживании таких листьев в атмосфере с радиоактивной углекислотой на свету наблюдается сильное обогащение белков хлоропластов C^{14} и N^{15} (Андреева, 1955).

Изучение образования аминокислот и белка при фотосинтезе и в его отсутствие — в темноте (Андреева, 1961) показало, что в результате процесса фотосинтеза изменяется скорость образования отдельных аминокислот, вследствие этого количественные соотношения аминокислот, образованных на свету и в темноте, различны. На свету при наличии процесса фотосинтеза главная активность C^{14} сосредоточивается в серине, глицине, аланине и сложных аминокислотах: тирозине, валине, метионине, фенилаланине, лейцине, в то время как в темноте при питании листа глюкозой почти вся активность C^{14} обнаруживается в глютаминовой кислоте и аланине.

Изменения в составе аминокислот влияют на синтез и обновление белка листа. Наибольшей активностью C^{14} в белке обладают серин, глицин, аланин и кислоты ароматического ряда, т. е. те аминокислоты белка, которые наиболее активны и в составе свободных аминокислот.

При формировании хлоропластов в процессе зеленения этиолированных листьев в белке хлоропластов увеличивается содержание аминокислот, характерных для фотосинтеза: аминокислот с разветвленной и кольчатой структурой — фенилаланин, тирозин, лейцины, а также глицин (Осипова, 1960).

Распределение ассимилированного углерода среди различных первичных продуктов фотосинтеза зависит от возраста вида растения, его физиологического состояния, а также от ряда внешних воздействий: освещения, водного режима, температуры, азотного питания, длины дня.

Усиленный синтез органических кислот, аминокислот и белка наблюдается у молодых растений. По мере старения растений включение C^{14} в эти соединения уменьшается и усиливается образование углеводов (крахмала и сахарозы).

На характер изменений в соотношении продуктов фотосинтеза, вызываемых воздействием различного освещения, водного режима, температуры, уже указывалось выше.

Недавно было показано (Новицкий, 1962; Мокроносов, Логвина, 1962) влияние длинного и короткого дня на соотношение образующихся при фотосинтезе продуктов. Так, благоприятный фотопериод — короткий день для картофеля и периллы и длинный день для салата — способствует образова-

нию углеводов (крахмал, сахароза); при неблагоприятном длинном дне для картофеля и периллы и на коротком дне для салата усиливается синтез органических кислот и аминокислот.

Существует, по-видимому, целый ряд причин, объясняющих возникновение разнообразия продуктов фотосинтеза (Ничипорович, 1961).

В настоящее время установлено, что фотохимическая стадия фотосинтеза, в которой в результате окислительно-восстановительных реакций энергия света запасается в виде химической энергии, состоит из циклического и нециклического фосфорилирования. Циклический процесс транспорта электрона, сопряженный с синтезом АТФ, осуществляется за счет одной основной фотохимической реакции, сенсibiliзируемой хлорофиллом *a*. Для осуществления нециклического процесса необходима вторая фотохимическая реакция, которая происходит при участии дополнительного пигмента. В этом процессе образуются АТФ и восстановленный никотинамидадениндинуклеотидфосфат. Для восстановления углекислоты необходимо участие как циклического, так и нециклического фосфорилирования. Возможно, что от соотношения этих процессов зависит не только фиксация и восстановление углекислоты, но также и характер образующихся продуктов.

Можно предполагать, что разнокачественность продуктов фотосинтеза возникает и на более поздних этапах процесса вследствие различных превращений единого первичного продукта усвоения углекислоты. Известно, что в хлоропластах находятся окислительно-восстановительные системы (например, цитохромные), которые могут активировать окисление активных восстановителей фотосинтеза и восстановление таких окислителей, как нитраты, нитриты, сульфаты, кислород и др. В результате этих дополнительных фотохимических реакций может происходить изменение окислительно-восстановительного режима клетки. В определенных условиях наблюдается усиление окислительных процессов, вследствие чего основной восстановительный цикл углерода, идущий до образования углеводов, замедляется. Превращение первичного продукта усвоения углекислоты — фосфоглицериновой кислоты (или полиоксикислоты) по пути, направленному на образование органических кислот и аминокислот, в этих условиях усиливается. Таким путем соотношение образующихся при фотосинтезе продуктов изменяется в сторону усиленного образования азотистых продуктов, синтез углеводов снижается.

В настоящее время имеются работы, указывающие на усиление окислительных процессов под влиянием синего света (Рубин, Чернавина, Михеева, 1955; Чернавина, 1959; Воскресенская, 1959; Воскресенская и Гришина, 1961), при пи-

тании растения нитратным азотом (Рубин, Ваклинова, 1958), т. е. как раз при таких воздействиях, которые усиливают образование азотистых продуктов при фотосинтезе.

Причиной изменения состава продуктов может являться также неодинаковое снабжение растения углеродом и азотом, особенно нитратным. Последний, подвергаясь фотосинтетическому восстановлению, тормозит превращение фосфоглицериновой кислоты до углеводов, усиливает тем самым образование органических кислот и аминокислот.

Изменения в составе продуктов оказывают разнообразные и специфические влияния на ход жизнедеятельности растений (Ничипорович, 1961).

ЛИТЕРАТУРА

- Абуталыбов М. Г., Самедова А. Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Алексеев А. М. Бот. ж., 1935, 20, № 3; Уч. зап. Казанск. ун-та, 1941, 101, № 1; Водный режим растения и влияние на него засухи. Казань, 1948. Алексеев А. М., Гусев Н. А. Влияние минерального питания на водный режим растений. М., Изд-во АН СССР, 1957. Андреева Т. Ф. Тр. Ин-та физиол. раст. АН СССР, 4, вып. 1. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1948; ДАН СССР, 1955, 102, № 165; Физиол. раст., 1956, 3, вып. 157. Андреева Т. Ф., Коржева Г. Ф. Физиол. раст., 1961, 8; 1964, 11. Андреева Т. Ф., Нальборчик Э. Я. ДАН СССР, 1957, 114, № 662. Андреева Т. Ф., Нальборчик Э. Я., Тихомиров М. В. Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Андреева Т. Ф., Плышевская Е. Г. ДАН СССР, 1952, 87. Арнон Д. И. V Международный биохим. конгр., Симп. VI. М., Изд-во АН СССР, 1961. Базырина Е. Н., Чесноков В. А. Изв. АН СССР, 1931. Баславская С. С., Кислякова Т. Е. ДАН СССР, 1954, 98. Баславская С. С., Кобленц-Мишке О. И., Удалова Л. А. Тр. Ин-та физиол. раст. АН СССР, 10. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1955. Баславская С. С., Буркина З. С., Феофарова Н. Б. Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Баславская С. С., Маркарова Е. Н. Физиол. раст., 1959, 6, вып. 2. Бассем Дж. А., Кальвин М. V Международный биохим. конгр., Симп. VI. М., Изд-во АН СССР, 1961. Белавцева Е. В., Воробьева Л. М., Красновский А. А. Биофизика, 1959, № 4. Белл Л. Н. Сб. «Биофизика», т. VII. М., Изд-во АН СССР, 1962. Беляева М. И. Физиология и экология водородных бактерий. М., Изд-во АН СССР, 1951. Благовещенский А. В., Баславская С. С. Бюл. Моск. Об-ва испыт. прир., отд. биол., 1936, 45. Бриллиант В. А. Изв. Главн. бот. сада, АН СССР, 1925, 24, № 1; Тр. Бот. ин-та АН СССР, сер. IV. Эксп. бот., № 2. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1936; Сов. бот., 1940, № 4; ДАН СССР, 1943, 41; Фотосинтез как процесс жизнедеятельности растения. М., Изд-во АН СССР, 1949. Бриллиант В. А., Белова Т. А. Тр. Бот. ин-та АН СССР, сер. IV. Эксп. бот., № 3. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1938. Бриллиант В. А., Чрелашвили М. Н. Тр. Бот. ин-та АН СССР, сер. IV. Эксп. бот., № 5. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1941. Бутенко Р. Г., Ничипорович А. А., Протасова Н. Н. Физиол. раст., 1961, 8, вып. 2. Ваклинова С. Г., Доман Н. Г., Рубин Б. А. Физиол. раст., 1958, 5. Ван-Ниль К. Фотосинтезирующие бактерии—ключ к пониманию фотосинтеза у зеленых растений. М., ИЛ, 1959. Воскресенская Н. П. ДАН СССР, 1948, 59; 1950, 62; 1952, 86, № 2; 1953, 93; Тр. Ин-та физиол. раст. АН СССР, 8, 10. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1953; 1955; Физиол. раст., 1956, 3; Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Воскресенская Н. П., Гришина Г. С. ДАН СССР,

1956, 106; Физиол. раст., 1958, 5; 1961, 8; 1962, 9. Гаффон Г. V Междунар. биохим. конгр., Симп. III и VI. М., Изд-во АН СССР, 1961. Гайдук Н. М. Зап. Бот. сада. СПб. ун-та, 1903, вып. 22. Головки Д. М. Химизац. соц. земледел., 1936, № 12. Гюббенет Е. Р. Растение и хлорофилл. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1951. Данилов А. Н. Сов. бот., 1935, № 4; Арх. биол. наук, 1936, 43; Тр. Бот. ин-та АН СССР, сер. IV, Эксп. бот., № 3. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1938. Добрунов Л. Г. Тр. Ин-та физиол. раст. АН СССР, 7, вып. 1. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1950; Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Доман Н. Г. Биохимия, 1957, 22. Доман Н. Г., Ваклинова С. Г. ДАН СССР, 1958, 122. Доман Н. Г., Кузин А. М., Мамуль Я. В., Худякова Р. Н. ДАН СССР, 1952, 86. Доман Н. Г., Романова А. К. ДАН СССР, 1959, 128. Доман Н. Г., Хаджи-Мурат Л. Н., Демина С. Е. ДАН СССР, 1958, 122. Дорохов Л. М. Тр. Кишиневск. с.-х. ин-та, вып. 1. Кишинев, 1949; Минеральное питание как фактор повышения продуктивности сельскохозяйственных растений. Фрунзе, 1957. Есипова И. В. Физиол. раст., 1959, 6. Жданова Л. П. ДАН СССР, 1944, 45. Заблуда Г. В. Тр. Чувашск. с.-х. ин-та раст., вып. 1. Чебоксары, 1938. Заварзин Г. А. Возбудители второй фазы нитрификации. М., Изд-во АН СССР, 1958. Заленский О. В. Вопр. бот., 1954, 1; Бот. журн., 1955а, 40; Сессия АН СССР по мирному использованию атомной энергии. М., Изд-во АН СССР, 1955б. Иванов Л. А. Тр. по прикл. бот., генет. и селекции, 1928, 18, № 5; «Тимирязевские чтения», 5. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1946. Иванов Л. А., Коссович Н. Л. Журн. Русск. бот. об-ва, 1930, 15. Кальвин М. Сб. «Возникновение жизни на Земле». М., Изд-во АН СССР, 1957. Кальвин М., Бассем Д. Сб. «Применение радиоактивных изотопов в пром-сти, мед. и сельск. хоз-ве». М., Изд-во АН СССР, 1956. Карманов В. Г. ДАН СССР, 1951, 77. Кислякова Т. Е. Физиол. раст., 1958, 5. Клешнин А. Ф. Растение и свет. М., Изд-во АН СССР, 1954; Автореф. докт. дисс. Л., 1960. Комиссаров Д. А. Тр. Ин-та физиол. раст. АН СССР, 1, вып. 2. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1937. Кондратьева Е. Н. Микробиология, 1961, 30, вып. 2. Константинов Н. М. Влияние углекислоты на рост и развитие растений. М., Сельхозгиз, 1950. Костычев С. П., Берг В. А. Изв. АН СССР, 1930. Костычев С. П., Кардо-Сысоева Е. К. Изв. АН СССР, сер. VI, 1930. Красноярский А. А. Сб. «Возникновение жизни на Земле». М., Изд-во АН СССР, 1957; V Междунар. биохим. конгр., Симп. VI. М., Изд-во АН СССР, 1961. Красноярский А. А., Воробьева Л. М., Пакшина Е. В. Физиол. раст., 1957, 4. Кузнецов С. И. Тр. Ин-та микробиологии АН СССР, вып. 1. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1955; Лебедев А. Ф. Изв. Донского ун-та, 1921, вып. 1. Левшин А. М. Экспериментально-цитологическое исследование взрослых листьев автотрофных растений в связи с вопросом о природе хондриозом. Саратов, 1917. Лис Г. Биохимия автотрофных бактерий. М., ИЛ, 1958. Любименко В. Н. Лесн. ж., 1905, № 8—9; Тр. по лесн. опытн. делу, 1909, 1; Тр. Об-ва естествоисп., отд. бот., 1910, 41, вып. 1—2; Изв. Научн. ин-та им. Лесгафта, 1926, 12; Природа, 1933, № 5—6; Фотосинтез и хемосинтез в растительном мире. М.—Л., Сельхозгиз, 1935. Ляликowa Н. Н. Физиология и экология *Thiobacillus ferrooxidans* в связи с его ролью в окислении сульфидных руд. М., Изд-во АН СССР, 1959. Моиз А. Физиол. раст., 1956, 6. Мокронос А. Т., Логвина М. Г. Физиол. раст., 1962, 9. Мосолов И. В. и Александровская В. ДАН СССР, 1954, 96. Незговорова Л. А. ДАН СССР, 1951, 79; 1952, 85; Физиол. раст., 1956, 3; 1957, 4; 1959, 6. Ненцкий М. Арх. биол., 1897, № 5. Ничипорович А. А. Физиол. раст. 1954, 1; Световое и углеродное питание растений (фотосинтез). М., Изд-во АН СССР, 1955а; Докл., представленные СССР на Междунар. конф. по мирному использованию атомной энергии. М., Изд-во АН СССР, 1955б; V Междунар. биохим. конгр., Симп. VI. М., Изд-во АН СССР, 1961. Новицкий Ю. И. Автореф. канд. дисс. М., 1962. Оканенко А. С., Починок Х. Н. Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Омелян-

ский В. А. Основы микробиологии. СПб., 1922. Опарин А. И. Возникновение жизни на Земле. М., Изд-во АН СССР, 1957; Жизнь, ее природа, происхождение и развитие. М., Изд-во АН СССР, 1960. Осипова О. П. Физиол. раст., 1960, 7. Осипова О. П., Тимофеева И. В. ДАН СССР, 1951, 80. Осницкая Л. К. Микробиология, 1958, 27, вып. 6. Островская Л. К., Починок Х. Н., Дорохов Б. Л. Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Пельш А. Д. Тр. соляной лаб. Всесоюз. ин-та галлургии, 5. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1936. Петин Н. С. ДАН СССР, 1938а, 18, № 1; 1938б, 18; Физиология орошаемой пшеницы. М., Изд-во АН СССР, 1959. Пиневич В. В., Чередниченко Р. П. Тр. Петергофск. биол. ин-та ЛГУ, 1960, 18. Пономарева М. М. Тр. Бот. ин-та АН СССР, сер. 4, вып. 14. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1960. Работнова И. Л. Усп. совр. биол., 1946, 22, вып. 1. Рабинович Е. Фотосинтез, т. 1, 2, 3. М., ИЛ, 1951, 1953, 1959. Разумов А. С. Микробиология, 1957, 26. Рихтер А. А. Изв. Рос. АН, 1912, 6; 1914, 8. Рихтер А. А., Васильева Н. Г. ДАН СССР, 1941, 30. Родина А. Г. Микробиология, 1945, 14, вып. 6. Романова А. К., Доман Н. Г. Микробиология, 1960, 29, вып. 5. Рубан Е. Л. Физиология и биохимия нитрифицирующих микроорганизмов. М., Изд-во АН СССР, 1961. Рубин Б. А., Вакинова С. Г. ДАН СССР, 1958, 119. Рубин Б. А., Чернавина И. А., Михеева А. В. ДАН СССР, 1955, 105. Сабинин Д. А. Физиологические основы питания растений. М., Изд-во АН СССР, 1955. Самыгин Г. А. Физиол. раст., 1955, 2. Сапожников В. В. Белки и углеводы зеленых листьев как продукты ассимиляции. Томск, 1894. Сапожников Д. А. Биохимия, 1937, 2. Сапожников Д. И. Сов. бот., 1939, № 6—7; Тр. Бот. ин-та АН СССР, сер. IV, вып. 8. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1951а; Микробиология, 1951б, 30, вып. 5; Сб. «Возникновение жизни на Земле». М., Изд-во АН СССР, 1957; Эксп. бот., сер. IV, 1959, вып. 13. Селибер Г. Л. Природа, 1942, № 5—6. Сисакян Н. М. Ферментативная активность протоплазмальных структур. М., Изд-во АН СССР, 1951; Сб. «Возникновение жизни на Земле». М., Изд-во АН СССР, 1957. Сисакян Н. М., Филиппович И. И. ДАН СССР, 1955, 102. Сорокин Ю. И. Тр. Ин-та микробиологии АН СССР, 3. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1954. Стефенсон М. Метаболизм бактерий. М., ИЛ, 1951. Строгонова Л. Е. Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Сэлэджану Н. Физиол. раст., 1962, 8. Тагеева С. В. Уч. зап. Саратовск. ун-та, 1941, 15, вып. 6. Тарчевский И. А. Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Таусон В. О. Изв. АН СССР, сер. биол., 1947, № 3. Тимирязев К. А. Собр. соч. т. II. М., Сельхозгиз, 1937. Тиховская З. П. Бот. ж., 1960, 45. Устенко Г. П. ДАН СССР, 1941, 32. Устенко Г. П., Приезжев Н. И. Тез. докл. конф. по минеральному питанию. М., Изд-во АН СССР, 1961. Фаминцын А. С. Действие интенсивности света на разложение углекислоты растениями. Bull. de l' Acad. des Sci. St.-Pet., 1880, 26. Филиппова Л. А. Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Френч К. С., Фокс Д. К. V Междунар. биохим. конгр., Симп. VI. М., Изд-во АН СССР, 1961. Чесноков В. А. Тр. Ин-та физиол. раст. АН СССР, 10. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1955. Чесноков В. А., Базырина Е. Н. Тр. Ленингр. Об-ва естествоисп., 1932, 61, вып. 3—4. Чесноков В. А., Степанова А. М. Удобрение растений углекислым газом. Изд-во ЛГУ, 1955. Чернавина И. А. Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Чрелашвили М. Н. Тр. Бот. ин-та АН СССР, 5. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1941. Шапошников В. Н. Физиология обмена веществ в связи с эволюцией функций. М., Изд-во АН СССР, 1960. Школьник М. Я., Грешищева В. Н. Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Шульгин И. А. Автореф. канд. дисс. Л., 1960. Щербаков А. П. Изв. АН СССР, сер. биол., 1938, № 2. Эйдельман З. М. Научн. агрономич. журн., 1930, № 5—6. A. I. Leem I., Alexander M. J. Vact., 1958, 76, No. 5. Arnon D. J. Symp. on Light a. Life. Baltimore, John Hopkins Press, 1961. Bergman F.,

Towne J., Burris R. J. *Biol. Chem.*, 1958, **230**, № 1. Blackman F. F. *Proc. Roy. Soc.*, 1905, **76**. Boysen-Jensen P. *Bot. Tidskr.*, 1919, **36**. Briggs G. E. *Proc. Roy. Soc.*, 1922, **94**; 1929, **105**. Burns R. *Amer. J. Bot.*, 1942, **29**. Cayle T., Emerson R. *Nature*, 1957, **179**. Chapman H. W., Loomis W. E. *Plant Phys.*, 1953, **28**. Daubeny Chr. *Phil. Trans. Roy. Soc., London*, 1836. Draper J. W. *Philosoph. Mag.*, Ser. 3, 1944, **25**. Dutton H. I., Manning W. M. *Amer. J. Bot.*, 1941, **88**. Emerson R., Lewis C. M. *Amer. J. Bot.*, 1941, **28**; 1943, **30**; *Science*, 1958, **127**. Engelmann Th. W. *Bot. Ztschr.*, 1883, **1**; 1184, **42**; 1888, **46**. Fleisher W. J. *Gen. Physiol.*, 1934, **18**. Franck J. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1958, **44**. French C. S. *Symp. on Light a. Life*. Baltimore, John Hopkins Press, 1961. Frenkel A. W. *Symp. on Light a. Life*. Baltimore, John Hopkins Press, 1961. Fogg G. E. *Ann. Bot.*, 1956, **20**. Gaastra P. *Med. Landbouwhogeschool. Wageningen*, 1959, **59**, № 13. Gabrielsen E. K. *Planta*, 1935, **23**; *Dansk. Bot. Ark.*, 1940, **10**; *Nature*, 1949, **163**. Gaffron H. *Nature*, 1939, **143**; *Amer. J. Bot.*, 1940, **27**; *Biol. Rev.*, 1944, **19**; *Plant Physiol.*, 1960, **1**. Gassner G., Goeze G. *Ber. Bot. Ges.*, 1932, **50a**; *Bot. Ztschr.*, 1934, **27**. Gibbs M. a. Schiff J. A. *Plant Physiol.*, 1960, **1**. Gregory F. G., Richards F. J. *Ann. Bot.*, 1929, **43**. Hansen H. C. *Physiol. Plantarum*, 1959, **12**. Harder R. *Jharb. Wiss. Bot.*, 1921, **60**; *Ber. Dtsch. Bot. Ges.*, 1923, **41**; *J. harb. Wiss. Bot.*, 1924, **64**; *Planta*, 1933, **20**. Hauschild A. H. W., Nelson C. D., Krotkov G. *Canad. J. Bot.*, 1962, **40**. Hauschild A. H. W., Nelson C. D., Krotkov G. *Canad. J. Bot.*, 1962, **40**. Hoover W. H. *Smithsonian Inst. Pub. Misc. Collect.*, 1937, **95**, № 21. Hoover W. H., Johnston E. S., Brackett F. S. *Smithsonian Inst. Pub. Misc. Collect.*, 1933, **87**. Iljin W. S. *Flora*, 1923, **16**. Jensen H. *Nature*, 1950, **165**. Jumelle H. *Rev. Gen. Bot.*, 1892, **4**. Klyver A. a. Donker H. *Chem. der Zelle Gewebe*, 1926, **13**. Kok B. *Biochim et Biophys. Acta*, 1956, **21**. Kostytsckew S., Kudriavzewe M., Moissejewa W. u. Smirnowa M. *Planta*, 1926, **1**. Kostytsckew S., Bazyrina K., Tschesnokow W. *Planta*, 1928, **5**. Kramer P. J., Decker J. P. *Plant Physiol.*, 1944, **19**. Larsen H., Vocum C. S., Van Niel C. B. *J. Gen. Physiol.*, 1952, **36**. Losada M., Trebst A. V., Arnon D. I. *J. Biol. Chem.*, 1960, **235**. Lieth H. *Planta*, 1960, **54**. Lubimenko W. N. *Comp. Rend. A. S. Sci.*, 1923, **176**. Lundegardh H. *Bot. Tidskr.*, 1921, **15**; *Kreislauf der Kohlensäure in der Natur*. Jena, 1924; *Die Nährstoffaufnahme der Pflanze*. Jena, 1932. Mc Lead G. C. *Plant Physiol.*, 1961, **36**. Molisch H. *Die Purpurbacterien nach neuen Untersuchungen*. Fischer, Jena, 1907. Monfort C., Neydel K. *Jharb. Wiss. Bot.*, 1928, **68**. Mortimer D. *Canad. J. Bot.*, 1960, **38**. Muller D., Latsen. *Planta*, 1935, **23**. Nichiporovich A. A., Andreyeva T. F., Woskresenckaya N. P., Nezgovorova L. A., Novitsky U. Y. *Radioisotopes in Sci. Res.*, IV. Bergamon Press, London, 1958. Norris L., Norris R. E., Calvim M. J. *Expt. Bot.*, 1955, **6**. Ormrod D. P. *Agr. J.*, 1961, **53**. Osborn H. *The origin and evolution of life*. London, 1918. Pfeffer W. *Arbeiten Bot. Inst. Würzb.*, 1871, **1**. Pirson A. *Ztschr. Bot.*, 1937, **31**; *Ernähr d. Pflanz.*, 1940, **36**; *Fortschr. Bot.*, 1957, **19**. Pirson A., Tichy C., Wilhelm G. *Planta*, 1952, **40**. Rabinowitch E. *Govindjee. Symp. on Light a. Life*. Baltimore, John Hopkins Press, 1961. Racusen D. M., Aronoff S. *Arch. Biochem. a. Biophys.*, 1954, **51**. Reinau E. *Practische Kohlensäuredüngung*. Berlin, 1927. Reinke J. *Bot. Ztg.*, 1883, № 42—44; 1884, № 1—4. Sachs J. *Bot. Ztg.*, 1864. Seybold A., Eggle K. *Planta*, 1937, **26**; *Jhrb. Wiss. Bot.*, 1938, **86**; *Bot. Arch.*, 1939, **40**. № 4. Senebier J. *Experiences sur l'action de la lumiere solaire dans la vegetation*. Geneva, 1788. Singh B. N., Lal K. M. *Plant. Physiol.*, 1935, **10**. Smith E. L. *J. Gen. Physiol.*, 1933, **22**. Stahl E. *Zur Biologie des Chlorophylls*. Jena, 1909. Stalfelt M. G. *Meddel. fr. Statens Skogsförsöksanst.* Stockh., 1921, **18**; *Planta*, 1937, **27**; 1938, **29**. Starkey R. *Industr. a. Eng. Chem.*, 1956, **48**, № 9. Stephenson M., Stickland L. *Biochem. J.*, 1931, **25**. Thimann K. *Proc. Amer. Soc. of Arts a. Science*, 1951, **79**. Tre-

gunna E. B., Krotkov G., Nelson C. D. *Canad. J. Bot.*, 1962, **40**. Ulrich. *Bot. Ztschr.*, 1924, **16**. Umbreit W. J. *Bacteriol.*, 1954, **67**. Van Hille J. *Rec. Trav. Bot. Neerl.*, 1938, **35**. Van Niel C. B. *Arch. Microbiol.*, 1931, **3**; *Adv. Enzymol.*, 1941, **1**; *Ann. Rev. Microbiol.*, 1954, **8**. Vernon L. P., Aronoff S. *Arch. Biochem.*, 1950, **29**. Vishniac W. J. *Bacteriolog.*, 1952, **64**. Vogler K. J. *Gen. Physiol.*, 1942, **26**. Vogler K., Umbreit W. J. *Gen. Physiol.*, 1942, **26**. Warburg O. *Biochem. Ztschr.*, 1919, **100**. Warburg O., Negelein E. *Ztschr. phys. Chem.*, 1922, **102**. Wassink E. G., Richardson S. D. *Acta Bot. Neerb.*, 1956, **5**, № 3. Werkman C. H., Wood H. G. *Adv. in Enzymol.*, 1942, **2**. Willstätter R., Stoll A. *Untersuchungen über das Chlorophyll*. Springer, Berlin, 1913; *Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure*. Springer, Berlin, 1918. Wight K., Starkey R. J. *Bacteriol.*, 1945, **5**. Wit C. T. *Netherl. J. Agr. Sci.*, 1959, **7**, № 2. Wood H. G., Werkman C. H. *Biochem. J.*, 1938, **32**. Winogradsky S. N. *Bot. Ztg.*, 1887, **46**; *Ann. Inst. Pasteur*, 1890, **1**, № 4; 1891, **IV**, № 4.

ПУТИ УПРАВЛЕНИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬЮ РАСТЕНИЙ С ЦЕЛЬЮ ПОВЫШЕНИЯ ИХ ПРОДУКТИВНОСТИ

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРИНЦИПОВ И МЕХАНИЗМОВ ФОТОСИНТЕЗА В ИСКУССТВЕННЫХ СИСТЕМАХ

Цель изучения природы и механизмов процесса фотосинтеза — воспроизведение и использование его принципов и реакций в искусственных промышленных системах и, что самое главное, разработка путей и способов повышения фотосинтетической продуктивности растений.

Само собой разумеется, что не следует стремиться воспроизводить процесс фотосинтеза в искусственных системах буквально и во всей его полноте и получать за счет искусственного фотосинтеза те же полноценные и разнообразные пищевые продукты или технические материалы, которые дают нам растения. Искусственный фотосинтез не обеспечит человека той разнообразной и полноценной пищей, которую человек получает от растений и животных. Однако вполне мыслимо получать за счет искусственного фотосинтеза индивидуальные вещества как пищевые, так и другого назначения, например аминокислоты, белки, компоненты жиров, физиологически активные вещества, целый ряд технических полимеров и т. д.

Такие синтезы будут осуществляться по примеру естественного фотосинтеза за счет присутствующего везде сырья, углекислого газа, азота воздуха, воды, некоторых минеральных солей, и за счет колоссального и неиссякаемого источника энергии — солнечной радиации.

Какие же особенности и принципы процесса фотосинтеза представляют особый интерес для использования в будущих искусственных системах?

Одна из них — возможность вовлечения в серию фотохимических реакций оптически недеятельных веществ. В есте-

ственном фотосинтезе превращениям за счет энергии солнечной радиации подвергаются оптически прозрачные для света соединения: углекислый газ, вода, нитриты, нитраты, сульфаты и т. д. Осуществляется это в результате сопряженного действия оптически активных сенсibilизаторов (хлорофилл и др.), первично поглощающих энергию солнечной радиации, и различных катализаторов, в частности ферментов, использующих ее на разнообразные химические превращения с прочным запасанием ее в химических связях образуемых органических веществ. Если будут раскрыты механизмы этих систем, то в результате подбора оптически активных веществ и разнообразных катализаторов можно будет проводить любые химические реакции и синтезы любых веществ за счет энергии солнечной радиации.

Другая замечательная особенность фотосинтеза, которую в дальнейшем можно будет воспроизводить в искусственных системах,— это структурная и пространственная организация фотосинтетического аппарата, которая дает ему возможность совершать реакции, ведущие к устойчивому запасанию потенциальной энергии. При этом коэффициенты полезного действия фотосинтеза (соотношения между поглощаемой и запасаемой энергией) очень велики и могут достигать 30%. Одно из условий столь высокой эффективности заключается в том, что световая энергия поглощается квантами и избирательно направляется на превращения ограниченного числа определенных веществ, вовлекаемых в фотосинтез, без побочных затрат на вещества всей реакционной среды, как это бывает в химических синтезах.

Овладение подобными принципами химических превращений естественного фотосинтеза несомненно обогатит химическую технологию громадными дополнительными возможностями. Однако наиболее важным последствием изучения процесса фотосинтеза будет возможность управлять фотосинтетической деятельностью растительных организмов, которая по своим масштабам грандиозна, но по формам далеко не такая, чтобы полностью удовлетворить нужды человека.

Фотосинтез зеленых растений — единственный первоисточник пищи человека. Вся растительность земного шара создает ежегодно около 120 млрд. т органических веществ. Для нормального питания современного человечества нужно около 1 млрд. т сухих веществ пищевых продуктов. Однако и при таком отношении проблема пищевых ресурсов является одной из наиболее острых проблем современного человечества. Это обусловлено как социальными, так и техническими причинами, но главным образом тем, что человек еще недостаточно реорганизует и рационально использует фотосинтетическую функцию зеленых растений.

За миллиарды лет, с того времени, когда они появились на Земле, зеленые растения, заселившие воды и сушу, внесли в состояние нашей планеты коренные изменения.

В ранние периоды распространения фотосинтезирующих растений в баланс органических веществ превалировали процессы новообразования. В результате этого атмосфера постепенно обеднялась углекислотой и обогащалась свободным кислородом. На поверхности Земли все в большей и большей степени увеличивалось количество органических веществ, которые в течение длительного времени превращались в каменный уголь, нефть, горючие газы, торф, почвенный гумус, ил и т. д. По мере накопления массы органических веществ на Земле стали усиленно развиваться гетеротрофные организмы, питающиеся только готовыми органическими веществами.

Человек появился на Земле в числе наиболее поздних представителей гетеротрофных организмов, и его жизнь, так же как и жизнь всех других гетеротрофных организмов, целиком зависит от фотосинтеза растений: он получает пищу только от растений непосредственно, либо через посредство животных (в виде мяса, яиц, молока). Прогресс в развитии человека осуществился только в результате грандиозного по масштабам вмешательства человека в фотосинтетическую деятельность растений земного шара.

Водные и наземные растения естественной флоры ежегодно образуют около 110 млрд. *т* органических веществ. Но они мало продуктивны как источник пищи, и человек для питания использует в год всего около 80 млн. *т*. Человек нашел, улучшил, размножил и возделывает специальные пищевые и кормовые растения на площади около 2,5 млрд. *га* (около 17% поверхности материков, не считая Антарктиды). Общая продукция биомассы этих растений составляет примерно 10 млрд. *т*. Но человек получает из них в виде растительной или животной пищи около 500 млн. *т*, т. е. удовлетворяет около 80% своих потребностей.

Если бы человек не произвел столь грандиозного по масштабам вмешательства в фотосинтетическую деятельность растений, не изменил состава и качества растительности, а питался бы только за счет продукции дикорастущей флоры, то он не мог бы достигнуть современного прогресса и уровня его развития не превышал бы уровня каменного века. Однако, несмотря на грандиозную по размерам работу человека в этом направлении, она не удовлетворяет в настоящее время всех его потребностей: половина населения земного шара не имеет полноценного питания, а одна треть — голодает.

Отсюда ясно, что человек должен повышать продуктивность растений путем реорганизации растительного мира

и наилучшего управления фотосинтетической деятельностью растений на более высоком уровне знаний природы процесса фотосинтеза.

Из сказанного ясно, что усилия должны быть направлены как на расширение площадей под культурной, так и на повышение урожайности и продуктивности растений. Первый путь является более ясным по своему значению, второй — более сложным и более специфичным. Дальнейшее изложение вопроса будет относиться именно к последнему.

ФОТОСИНТЕЗ КАК ОСНОВНОЙ ПРОЦЕСС ПИТАНИЯ ЗЕЛЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Зеленые растения по типу питания относятся к автотрофным организмам, т. е. сами создают в процессе фотосинтеза необходимые для жизни органические вещества из полностью минерализованных соединений углерода, азота, серы и других элементов. Это их характернейшая и важнейшая особенность.

В процессе фотосинтеза растения усваивают из внешней среды весь углерод, составляющий примерно 42—45% веса их сухой массы, и создают все органические вещества, составляющие 90—95% сухого веса урожая. В процессе фотосинтеза растения усваивают из потоков солнечной радиации и запасают во вновь образуемых органических веществах всю энергию, которая в дальнейшем является движущей силой всех жизненных процессов не только у зеленых растений, но вообще у всех представителей живого мира (за исключением небольшой группы автотрофов хемосинтетиков).

Ведущее значение фотосинтеза в ходе формирования урожая можно иллюстрировать и следующими данными. В период наиболее интенсивного роста суточные приросты общей сухой массы на гектар посевов составляют в среднем 80—150 кг, а в лучших случаях достигают 300 и даже 500 кг. При этом в течение суток через корни растения усваивают в виде ионов примерно 1—2 кг азота, 0,25—0,5 кг фосфора, 2—4 кг калия и 2—4 кг других элементов — в сумме 5—10,5 кг минеральных веществ. В то же время растения усваивают в течение дня из воздуха через листья 150—300 и даже 1000 кг углекислого газа, т. е. количество, которое соответствует содержанию CO_2 над гектаром в слое воздуха высотой 30—200 м.

Не менее ярко ведущая роль фотосинтеза в создании урожая выявляется при оценке их конечных результатов. Так, например, среднему урожаю корней сахарной свеклы в 250—300 ц/га соответствует общий урожай сухой массы растений примерно в 80—100 ц, т. е. 8—10 т.

При создании такого урожая растения за время вегетационного периода должны усвоить около 100—150 кг азота, 25—30 кг фосфора, 110—160 кг калия и около 4200 кг углеро-

да. Последнее достигается тем, что в процессе фотосинтеза растения за время вегетационного периода усваивают около 20 т углекислого газа (что соответствует содержанию CO_2 в слое воздуха высотой в 4 км над гектаром). В урожае аккумулируется в результате фотосинтеза около 40 млн. ккал энергии.

Однако решающая роль фотосинтеза в формировании урожая не умаляет значения и других видов питания растений: азотного, фосфорного, калийного и др.

Растение — целостный организм, и осуществление одной функции его питания ни в какой степени не заменяет и не исключает другой.

Но в большинстве случаев именно условия минерального корневого питания или водоснабжения оказываются в минимуме; их изменение путем обработки почвы, поливов, внесения удобрений является наиболее эффективным и доступным средством воздействия на формирование урожая (следовательно, на их размеры и качество).

Однако эффект всех остальных видов питания ценен и возможен только в той мере, в какой они поддерживают основную функцию растений — фотосинтез — и содействуют его осуществлению.

Элементы минерального питания не могли бы использоваться, если бы растения не образовывали в процессе фотосинтеза органических веществ и не запасали в них энергию.

Имея все это в виду, можно уточнить представление об основной сущности, цели и задачах земледелия: земледелие представляет собой систему использования основной функции зеленых растений — фотосинтеза.

Все мероприятия системы земледелия направлены на то, чтобы суммарная работа фотосинтетического аппарата растений была наиболее продуктивной.

УРОЖАЙ КАК РЕЗУЛЬТАТ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА РАСТЕНИЙ

Выяснению связей между деятельностью фотосинтетического аппарата растений и урожаями посвящено много работ. Первоначально усилия исследователей были направлены на то, чтобы установить заранее предполагаемую положительную связь между размерами урожая и интенсивностью фотосинтеза растений, т. е. количествами CO_2 , усваиваемой единицей площади листа (обычно 1 дм²) в единицу времени. Выяснилось, что зависимость между фотосинтезом растений и урожаями гораздо более сложна.

В более поздних работах исследователи (Boysen-Jensen, 1932; Иванов, 1941; Ничипорович, 1955, 1956; группа работников Ротамстедской станции в Англии: Blackman, Rutter.

1948; Blackman, Wilson, 1951; Watson, 1952) стали принимать во внимание другие важные факторы и условия фотосинтетической деятельности растений: размер фотосинтетического аппарата (площадь листьев), интенсивность и продолжительность его работы, отношение между процессами новообразования и расходом органических веществ и т. д.

Значение этих факторов и условия ниже показаны на основании работ автора настоящей главы (Ничипорович, 1955, 1956; Ничипорович, Строгонова, Чмора, Власова, 1961).

Хозяйственный урожай ($Y_{\text{хоз}}$) представляет часть биологического урожая ($Y_{\text{биол}} = \text{вес общей сухой биомассы}$).

В нормальных условиях размеры хозяйственных урожаев находятся в тесной связи и зависимости от урожаев биологических. Что касается биологических урожаев, то они представляют сумму суточных приростов (C) сухой массы на гектаре посева в течение вегетационного периода в n дней:

$$Y_{\text{биол}} = (C \sum_{1,2,3,\dots,n}). \quad (I)$$

Иллюстрируем это на примере хода формирования урожая кукурузы по данным, полученным М. П. Власовой.

Рост биологического урожая за период вегетации изображен на рис. 68. Разница между весом за данный и предшествующие дни дает суточный привес C урожая на 1 га. Сезонный ход изменения этих показателей также изображен на рис. 68. Суммируя суточные привесы (кривая 2), получаем величину $Y_{\text{биол}}$. Графически это суммирование можно производить, определив ограниченную ось абсцисс и кривой 2 площадь (Pc) в квадратных сантиметрах и помножив полученную величину на масштабные данные графика (число дней в линейном сантиметре по оси абсцисс и число килограммов по оси ординат). В данном случае (рис. 68а) это будет 20×50 ; $Pc = 17 \text{ см}^2$ и $Y_{\text{биол}} = 70 \text{ ц/га}$.

Обычно размеры суточных привесов сухой массы урожая варьируют от нуля (в начале и конце вегетационного периода, а также при неблагоприятных условиях) до 150—300 и даже 500 кг/га (в периоды наибольшего развития листьев и в наиболее благоприятные для фотосинтеза дни и периоды вегетации).

Так как 90—95% сухой массы урожаев образуется в процессе фотосинтеза, то размеры суточных приростов урожая должны определяться величинами площади листьев и продуктивностью их фотосинтеза.

В посевах, находящихся в различных условиях, площадь листьев может нарастать с разной быстротой и достигать разных максимальных размеров. Кроме того, благодаря различной длине вегетационного периода у разных растений период работы листьев может быть различным (длина вегетационного периода разных полевых растений 75—150 дней).

Естественно, что посевы различных растений будут иметь неодинаковые возможности для накопления сухой массы урожая. Приблизительно различия посевов в этом отношении можно условно характеризовать понятием «фотосинтетический потенциал посева» (« M^2-C »). Этот показатель может быть получен путем суммирования величин площади листьев в $m^2/га$ за каждые сутки в течение всего вегетационного периода (см. рис. 68).

Показатель « M^2-C » аналогичен, например, показателю «человеко-дни» и говорит о сумме условных единиц работы,



Рис. 68. Динамика процессов, определяющих ход накопления сухой массы урожая кукурузы в течение вегетационного периода.

Слева: 1 — накопление общей сухой массы урожая ($U_{\text{биол}} = 70 \text{ ц/га}$), 2 — суточные приросты ($C \text{ кг/га}$); справа вверху: рост площади листьев (M), ф. п. — фотосинтетический потенциал посева (2 млн. $m^2/\text{день}$); внизу: чистая продуктивность фотосинтеза ($\Phi_{\text{ч.пр}}$) в граммах сухой биомассы на квадратный метр листьев в сутки в течение вегетационного периода

затраченных на выполнение того или иного процесса (в данном случае углеродное питание), без количественной оценки самих единиц работы. Графически показатель « M^2-C » можно получить путем определения площади (cm^2), ограниченной на чертеже кривой, характеризующей площадь листьев, и осью абсцисс, и умножением полученных величин на масштабные данные. Суммарные количества условных единиц работы фотосинтетического аппарата за вегетационный период в данном рассматриваемом нами случае оказались равными 2 млн. « M^2-C ». Эти показатели варьируют у разных растений, культивируемых в умеренной зоне в пределах от 0,5 до 5 млн. « M^2-C ».

Уже из этого можно составить представление о том, что размеры фотосинтетического потенциала в посевах являют-

ся одним из решающих факторов, определяющих размеры урожая.

Однако это не единственный показатель, определяющий размеры урожая. Важное значение имеет также продуктивность фотосинтетической работы каждого квадратного метра площади листьев. Она в посевах также может варьировать очень сильно. Так, например, в хороших условиях 1 м^2 листьев растений в посеве может усвоить до 4 г (даже 6 г) CO_2 в час, а в худших — доли грамма или даже расходовать органические вещества на усиленное дыхание.

Обычно интенсивность фотосинтетической работы листьев растений в посевах характеризуется показателями чистой продуктивности фотосинтеза, т. е. показателями количества общей сухой биомассы, образованной растениями в течение суток в расчете на 1 м^2 листьев, работавших в течение этого дня. Среднюю продуктивность работы листьев за весь вегетационный период можно охарактеризовать, деля показатель веса общего биологического урожая в граммах (в примере, изображенном на рис. 68, он соответствует 70 ц , или $7\,000\,000 \text{ г}$) на показатель фотосинтетического потенциала посева, характеризующегося числом « $\text{м}^2 \cdot \text{с}$ » (в описываемом случае 2 млн. м^2 — сутки).

Таким образом, в описанном посеве кукурузы средняя чистая продуктивность фотосинтеза листьев характеризуется величиной $3,5 \text{ г}$ сухого вещества на 1 м^2 в сутки.

Этот показатель является также важной слагающей величиной формирования урожая и может варьировать в течение вегетационного периода от 0 и даже отрицательных величин до 15 — 18 г/м^2 в сутки.

Показатели чистой продуктивности фотосинтеза ($\Phi_{\text{ч.пр}}$) определяются в отдельные промежутки времени путем деления привеса биомассы урожая ($B_2 - B_1$) за промежуток времени T (обычно 5 — 10 дней) на среднюю площадь листьев:

$$\frac{(L_1 + L_2)}{2}$$

Таким образом,

$$\Phi_{\text{ч.пр}} = \frac{B_2 - B_1}{\frac{1}{2}(L_1 + L_2) \cdot T} \quad (\text{II})$$

Вполне естественно, что чистая продуктивность фотосинтеза в г/м^2 в сутки должна прежде всего зависеть от усваиваемого в процессе фотосинтеза количества CO_2 в г/м^2 в день. Обозначим этот показатель как Φ_{CO_2} . Этот показатель является производным дневного хода интенсивности фотосинтеза (Φ), один из примеров которого показан на рис. 69.

Суммируя дневное усвоение CO_2 путем определения площади, ограниченной дневной кривой интенсивности фотосин-

теза и осью абсцисс и перемножением показателя на масштабные данные, получают значение показания Φ_{CO_2} . В случае, изображенном на рис. 69, он равен $26,3 \text{ г } CO_2/m^2 \text{ в день}$.

Однако между показателями Φ_{CO_2} и $\Phi_{ч.пр}$ (чистой продуктивностью) нет постоянных и неизменных отношений. Если бы прямыми продуктами фотосинтеза были углеводы и у растений не было бы трат на дыхание, то при усвоении в процессе фотосинтеза каждого грамма или килограмма CO_2 вес сухой биомассы увеличился бы на $0,62—0,68$ (в среднем $0,64$) г или кг, что вытекает из обычного уравнения фотосинтеза:



$$\text{весовые отношения: } 1 + 0,41 \rightarrow 0,68 + 0,73.$$

Однако в процессе фотосинтеза образуются не только углеводы, но и другие продукты. Кроме того, значительное количество органических веществ, образованных в процессе фотосинтеза, растения тратят на дыхание как днем так и ночью, на экзосмос через корни и т. д.

В жаркое время траты веществ на дыхание могут быть очень значительны, а при сочетании высоких температур с засухой могут превосходить фотосинтез. В этом случае даже при наличии фотосинтеза общий привес сухой биомассы может составлять даже отрицательную величину. Таким образом, отношение величин дневного усвоения CO_2 и суточных привесов биомассы у растений может быть самым разнообразным. Это отношение мы называем коэффициентом эффективности фотосинтеза ($K_{эф}$). Физический смысл этого коэффициента заключается в том, что он показывает, какое количество сухой биомассы образуется растением в течение суток при усвоении в течение дня $1 \text{ кг } CO_2$.

В хороших условиях значение $K_{эф}$ может приближаться к $0,5$, в неблагоприятные периоды падать до нуля или равняться отрицательным величинам. Наиболее часто встречающиеся показатели соответствуют $0,3—0,5$.

Итак, мы можем выразить размеры суточного привеса урожая на 1 га как произведение дневного усвоения CO_2

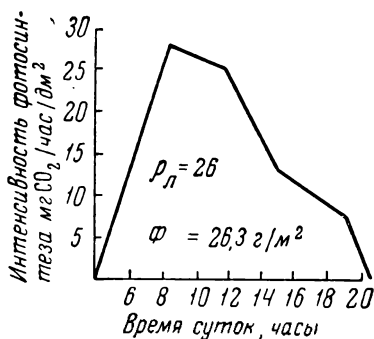


Рис. 69. Дневной ход интенсивности фотосинтеза кукурузы. $P_{л}$ — площадь, очерченная кривой и осью абсцисс; Φ — суточное усвоение CO_2 в $г/м^2$ в день

(Φ_{CO_2}), коэффициента эффективности фотосинтеза ($K_{\text{эф}}$) и показателя площади листьев (L):

$$C = \frac{\Phi_{\text{CO}_2} \times F_{\text{эф}} \times L}{1000} = \text{кг/га сутки}, \quad (\text{III})$$

а размеры биологических урожаев растений с длиной вегетационного периода в n дней — как сумму соответствующих показателей:

$$Y_{\text{биол}} = \frac{\Sigma (\Phi_{\text{CO}_2} \times K_{\text{эф}} \times L)_{1, 2, \dots, n}}{100\,000} \text{ ц/га}. \quad (\text{IV})$$

Такова количественная зависимость биологических урожаев в посевах от размеров и работы фотосинтетического аппарата. Мы определили только количественную сторону участия фотосинтеза в формировании урожая. Но формирование урожая — процесс не только количественный, но и качественный. В нем все время изменяются питание, соотношение между различными его видами, использование веществ, образуемых в процессе питания на рост. Сначала преобладают рост и формирование вегетативных органов, а затем запасующих и репродуктивных, которые в большинстве случаев и составляют хозяйственно ценную часть урожая. Соотношения в ходе и формирования органов растения могут сильно изменяться. При интенсивном общем росте и при большой массе биологического урожая можно получить и очень высокие, и низкие, и даже ничтожные хозяйственные урожаи. Поэтому важно, чтобы в соответствующие периоды роста распределение образуемых и накапливаемых питательных веществ и ассимилятов было наиболее благоприятным для сформированного не только общего биологического, но и хозяйственного урожая.

Отношение веса веществ, используемых на образование хозяйственной части урожая, к весу $Y_{\text{биол}}$ обозначим коэффициентом $K_{\text{хоз}}$ и назовем его коэффициентом хозяйственной эффективности фотосинтеза.

В конечном итоге общее выражение зависимости размеров хозяйственного урожая от фотосинтетической деятельности растений выразится уравнением

$$Y_{\text{хоз}} = \frac{\Sigma (\Phi_{\text{CO}_2} \times L \times K_{\text{эф}} \times K_{\text{хоз}})_{1, 2, \dots, n}}{100\,000} \text{ ц/га}. \quad (\text{V})$$

Итак, мы получили выражение урожаев, из которого видно, что наивысшие урожаи могут быть получены при следующих оптимальных условиях.

Наилучшем ходе роста размеров фотосинтетического аппарата — площади листьев (L).

Наибольшем времени (n) активной работы фотосинтетического аппарата в течение каждых суток и в течение вегетационного периода, т. е. при наиболее высоких значениях показателей фотосинтетических потенциалов посевов (« m^2-c »).

Наиболее высоких величинах интенсивности фотосинтеза (Φ) и сумм дневного усвоения (Φ_{CO_2}), а также наиболее высоких коэффициентах эффективности фотосинтеза ($K_{эф}$).

Как следствие предшествующего,— при наиболее высокой чистой продуктивности фотосинтеза ($\Phi_{ч.лр.}$) и наиболее высоких суточных приростах сухого вещества (C).

При наиболее высоких коэффициентах хозяйственной эффективности фотосинтеза ($K_{хоз}$).

Все агротехнические мероприятия, включая применение удобрений, поливов и т. д., должны быть направлены на поддержание оптимального хода указанных процессов и наивысшего значения показателей $K_{эф}$ и $K_{хоз}$.

СОЛНЕЧНАЯ РАДИАЦИЯ КАК ФАКТОР ФОТОСИНТЕЗА

Чтобы повысить фотосинтетическую продуктивность растений, необходимо знать потенциальную производительность процесса фотосинтеза и теоретически возможные коэффициенты использования энергии солнечной радиации. Сопоставляя их с фактически получаемыми показателями, можно судить об уровне работ в деле повышения урожая в данное время, о перспективах и путях его повышения. Чтобы решать эти вопросы, прежде всего необходимо оценить состояние основного фактора продуктивности растений — энергии солнечной радиации, движущей силы процесса фотосинтеза. Состояние других факторов, определяющих продуктивность фотосинтеза: минерального питания, водного режима и даже условий снабжения углекислым газом — можно изменять и регулировать.

В деле повышения фотосинтетической активности и свойств культивируемых растений можно рассчитывать на большой прогресс в результате выведения высокопродуктивных сортов. И если оценивать перспективы повышения фотосинтетической продуктивности растений по этим признакам, то мы не имеем основания ставить для нее каких-нибудь пределов.

Другое дело — фактор света. Можно считать, что если бы можно было достичь такой продуктивности растений, которая соответствовала бы теоретически возможному коэффициенту использования энергии солнечной радиации на фотосинтез, то дальнейшее увеличение урожайности и продуктивности растений на основе использования энергии солнечной радиации было бы уже невозможно.

Однако современные показатели продуктивности растений далеки от этого уровня, и нет основания считать, что в будущем наступит предел возможности ее увеличения. Даже если такой предел наступит, то к тому времени человек будет располагать другими видами энергии, в частности энергией внутриатомной, которую он, вероятно, сможет на-

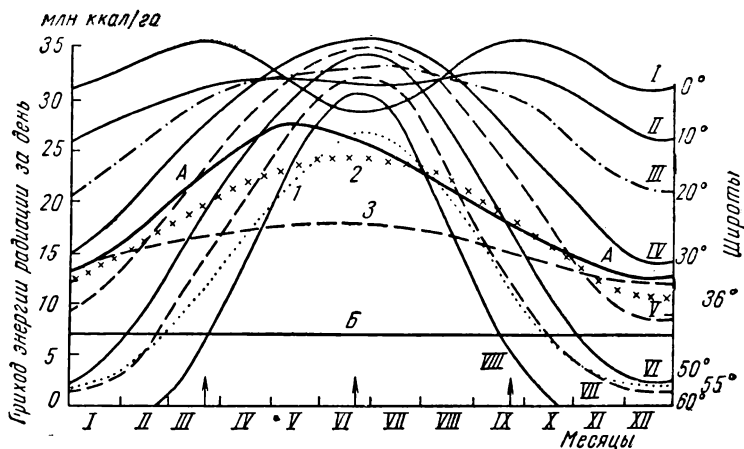


Рис. 70. Возможные годовые ходы суточных количеств фотосинтетически активной энергии солнечной радиации на различных географических широтах.

I—VIII—для атмосферы с прозрачностью 0,8; *1, 2*—для реальной атмосферы (Москва и Токио). Количества радиации на кривых *I—VIII* ниже линии *Б* недостаточны для нормального фотосинтеза и роста растений. Суточные приходы радиации на кривых *V—VIII* ниже линии *А* сочетаются с низкими температурами, что делает эту радиацию также неактивной для нормального фотосинтеза. Кривая *3* для кривых *1* и *2* аналогична кривой *А* для кривых *I—VIII*

править на искусственные синтезы дополнительных количеств пищевых веществ.

На рис. 70 приведены данные суточных количеств фотосинтетически активной солнечной радиации, падающей на площадь в 1 га в течение года, для разных географических широт¹. В данном случае учтена только фотосинтетически активная часть энергии радиации с длиной волны в пределах

¹ Необходимо указать, что прямые учеты фотосинтетически активной радиации еще крайне немногочисленны. Поэтому кривые *I—VIII* составлены на основании расчетных данных суточных приходов суммарной радиации для солнечных дней при прозрачности атмосферы, равной 0,8. Эти показатели умножены на коэффициент 0,5 (средняя доля энергии фотосинтетически активных лучей $\lambda = 380 - 720$ мик, в общем суммарном потоке солнечной радиации); см. А. И. Воейков (1948); К. Я. Кондратьев. (1954); С. И. Костин и Т. В. Покровская (1953).

от 380 до 720 мк. Однако не всю обозначенную на графике радиацию можно считать пригодной для обеспечения фотосинтеза растений, необходимого для получения урожаев. Так, например, участки кривых, лежащие ниже линии *Б*, соответствуют тем периодам времени на соответствующих широтах, где суточные количества энергии солнечной радиации недостаточны для обеспечения питания и роста растений. Участки кривых, лежащие ниже линии *А*, соответствуют тем периодам времени, когда солнечный свет хотя и достаточен, но сочетается с низкими температурами, не дающими возможности рассчитывать на достаточно активный рост растений. Таким образом, эта часть энергии обесценена для фотосинтеза неподходящим термическим режимом.

Во многих случаях и та энергия солнечной радиации, которая обозначена участками кривых, расположенными

выше линии *А*, также не может считаться полноценной для продуктивного фотосинтеза и обеспечения высокой урожайности растений, так как частично она падает на территории, недостаточно обеспеченные или полностью не обеспеченные влагой (пустыни, полупустыни, степи).

Однако это препятствие может быть в той или иной мере преодолено, и для расчетов мы можем принять эту энергию как возможную для использования в фотосинтезе. В табл. 11 приведены данные, характеризующие приходы фотосинтетически активной радиации на разных широтах.

Для зоны тропиков возможные сезонные количества энергии выражаются величинами примерно 10—7 млрд. ккал/га, для зоны субтропиков — 7—5 млрд. и для умеренной зоны — 4—1,0 млрд. ккал/га.

Оценим возможную энергетическую эффективность фотосинтеза растений для случаев наиболее высокой зарегистрированной урожайности различных растений или ценозов в

Таблица 11
Суммарные приходы фотосинтетически активной радиации за время возможной вегетации

Географическая широта, градусы	Φ AP млрд. ккал/га, сезон
70	2 —1,0
60	3,5—2,0
50	5,0—3,5
40	6,0—4,5
30	9,0—6,0
20	} 10,0—9,0
10	
0	

Реальные суточные количества фотосинтетически активной радиации оказываются значительно более низкими. Это может быть иллюстрировано двумя кривыми реальных наблюдений для Москвы (кривая 1, Небольсин, 1949) и для Токио (кривая 2, Kanazawa, Fujita, Juhaga, Sasa, 1958). Кривая 3 аналогична кривой *А*, но только для кривых 1 и 2.

различных географических зонах. Имеются указания, что годовой прирост биомассы влажных тропических лесов составляет 60 т/га. Биологические урожаи сахарного тростника, культивируемого в зоне субтропиков и тропиков, достигают 40 т/га при длине вегетационного периода в 210—240 дней. Урожай биомассы кукурузы, а также свеклы в субтропиках и в южной части умеренной зоны достигают 20—30 т/га; высокие урожаи картофеля в средней части умеренной зоны составляют 15 т/га. Если принять калорийность биомассы, создаваемой растениями, равной 4000 ккал/га, то при таких урожаях коэффициенты использования солнечной радиации, приходящей на Землю в разных широтах за время возможной вегетации, соответствуют всего 2—3,0% (табл. 12).

Т а б л и ц а 12

**Коэффициенты использования энергии солнечной радиации
в случаях высоких зарегистрированных урожаев**

Ценоз или посев	Средний приход энергии за вегетационный период, млрд. ккал/га	Сезонное накопление		Коэффициент использования, %
		биомассы, т/га	энергии, млн. ккал/га	
Тропические леса (0—20°)	10	60	240	2,5
Сахарный тростник (10—25°)	8	40	150	1,9
Кукуруза, сахарная свекла (40—50°)	4	20—25	84	2,0
Картофель (50—55°) . .	3	15	60	2,0

Однако приведенные в табл. 12 коэффициенты характеризуют высокие урожаи. В подавляющем же большинстве случаев коэффициенты использования солнечной энергии в урожаях составляют всего 0,5—1%. Обусловлено это многими причинами: недостаточной обеспеченностью посевов влагой, минеральным питанием, тем, что фактические периоды вегетации во многих случаях оказываются более короткими, чем длина потенциально возможных вегетационных периодов, и, наконец, еще несовершенством техники и недостаточным умением создавать посевы, способные использовать энергию Солнца на фотосинтез с теоретически возможными коэффициентами полезного действия.

Каковы же теоретически возможные коэффициенты полезного действия?

Представление об этом можно получить, зная, сколько энергии солнечной радиации может поглотить за время веге-

тационного периода наиболее совершенный по структуре и ходу развития посев или ценоз и с каким коэффициентом полезного действия он может использовать поглощенную энергию на фотосинтез, т. е. превращать ее в энергию химических связей вновь создаваемых органических веществ.

Что касается первого условия, то, как показано в ряде работ, поглощение энергии света ценозами находится в тесной зависимости от размеров площади листьев (рис. 71). В период смыкания и наибольшего развития площади листьев посевы могут поглощать 70—80% падающей на них фотосинтетической активной энергии солнечной радиации, а леса — 90%. Мы не будем говорить о лесах и сосредоточим свое внимание на посевах. Отметим, что полноценные посевы

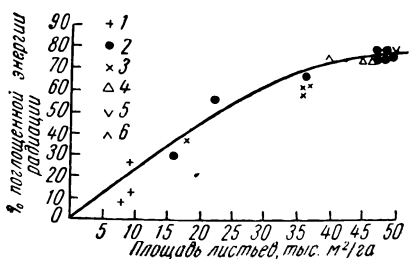


Рис. 71. Процентные количества фотосинтетически активной радиации, поглощаемой посевами сельскохозяйственных культур в зависимости от размеров площади листьев:

1 — свекла, 2 — кукуруза, 3 — подсолнечник, 4 — пшеница, 5 — клевер + тимофевка, 6 — вико-овсяная смесь

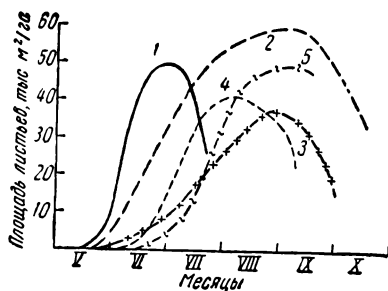


Рис. 72. Примеры роста площади листьев разных сельскохозяйственных растений в течение вегетационного периода:

1 — яровая пшеница (Москва), 2 — кукуруза (Волгоград), 3 — сахарная свекла (Курск), 4 — картофель (Москва), 5 — кукуруза (Москва)

способны поглощать 70—80% падающей на них энергии солнечной радиации временно или сравнительно непродолжительно. Большая часть времени приходится на периоды появления всходов и их последующего роста, когда общая площадь листьев еще невелика, посевы не сомкнулись и доля поглощаемой энергии низка (рис. 72). Во многих случаях площадь листьев даже в периоды наивысшего ее развития оказывается незначительной. Уменьшение площади листьев и коэффициентов поглощения энергии посевами, а также снижение активности фотосинтетического аппарата наблюдаются и в течение предуборочного периода.

Часто вегетационный период растений фактически составляет только незначительную часть потенциально возможного, так как растение либо сеется, либо сажается сравнительно поздно, либо, наоборот, рано начиная вегетацию, рано ее заканчивает (рис. 73 и 74). Все это в совокупности и приводит

к тому, что в подавляющем большинстве случаев коэффициенты поглощения, а следовательно, и использования солнечной радиации бывают очень низкими. Для выяснения теоретически возможных коэффициентов ее использования мы примем хороший посев, т. е. посев своевременно и возможно

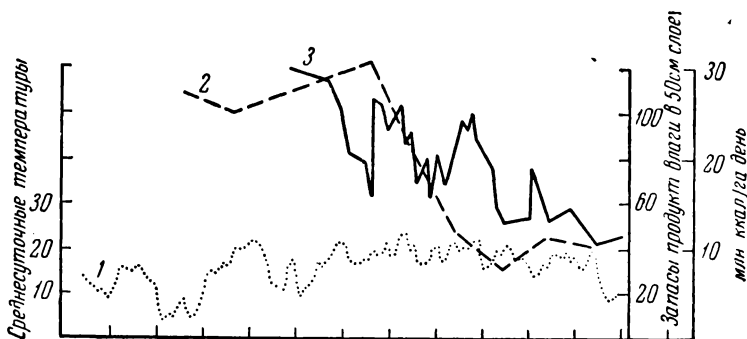
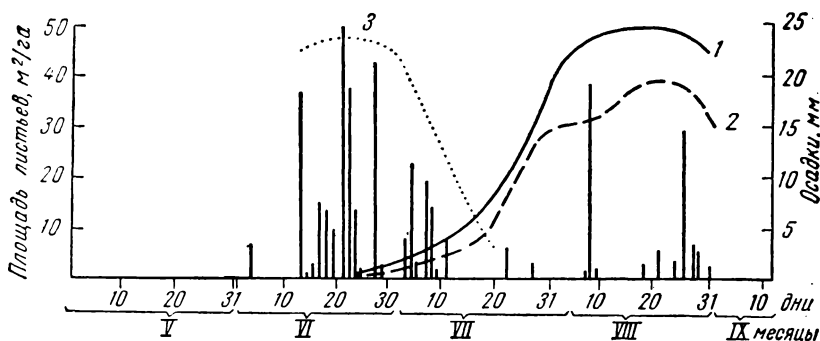


Рис. 73. Ход роста площади листьев кукурузы (верхний рисунок):
1 — с поливом, 2 — без полива, 3 — яровая пшеница.
Столбики — осадки в мм

Рис. 74. Среднесуточные температуры (1), запасы продуктивной влаги в 50-ти сантиметровом слое почвы (2), суточные количества энергии суточной радиации (3)

более рано произведенный, где растение активно вегетирует в течение всего вегетационного периода (рис. 75). Это могут быть или посев одного растения, или несколько последовательных посевов в течение вегетационного периода, или, наконец, специальные уплотненные культуры.

Но и в этих случаях неизбежен период всходов и последующего их роста или отрастание растений после укусов, а также мало активный в смысле фотосинтеза предуборочный период. Поэтому в лучших случаях хорошие посевы могут поглощать до 50—60% падающей на Землю за время потен-

циального вегетационного периода энергии солнечной радиации.

Что касается коэффициента использования поглощаемой энергии на фотосинтез, то можно исходить из того, что в оптимальных случаях фотосинтез может идти с восьмиквантовым расходом (Рабинович, 1961). При этом эйнштейн фотосинтетически активных лучей солнечного спектра в среднем

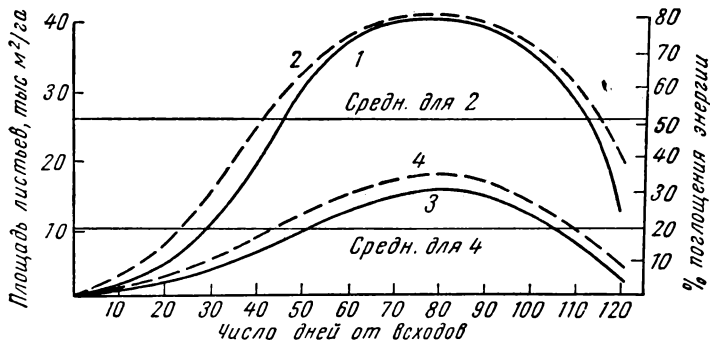
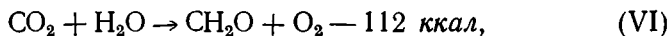


Рис. 75. Оптимальный ход роста площади листьев в посеве с длиной вегетационного периода 120 дней (1) и процентные количества поглощаемой им энергии солнечной радиации (2); то же для посева с недостаточным развитием площади листьев (кривые 3 и 4)

можно принять равным 50 ккал/моль CO_2 . Следовательно, при восьмиквантовом расходе фотосинтеза для усвоения грамм-моля (44 г) CO_2 должно быть поглощено 400 тыс. ккал энергии солнечной радиации.

Согласно уравнению фотосинтеза:



при фотосинтетическом усвоении грамм-молекулы CO_2 в продуктах фотосинтеза накапливается 112 ккал, что составляет 28% от 400 тыс. (поглощенная энергия). Это и есть теоретически возможный коэффициент использования поглощаемой энергии радиации на фотосинтез, который можно наблюдать в кратковременных опытах и при сравнительно низких интенсивностях света. Растение в течение суток растрчивает часть этой энергии на дыхание, и фактический коэффициент использования поглощенной энергии на фотосинтез равен, таким образом, примерно 20%.

Выше мы говорили, что идеальные посевы могли бы поглощать около 50% приходящей за время возможной вегетации энергии солнечной радиации. Из них 20% теоретически может связываться в продуктах, составляющих урожай, или,

иначе говоря, теоретически возможный коэффициент использования падающей энергии радиации может быть равен 10%. Этот коэффициент основан на допущении, что квантовый расход фотосинтеза равен 8 при всех интенсивностях света. Однако квантовые расходы при высоких интенсивностях света возрастают до 20—40 и более. Это будет показано даль-

Таблица 13

Размеры теоретически возможных биологических урожаев растений в различных географических зонах при 5%-ном использовании приходящей энергии

Географическая широта, градусы	Возможный приход энергии солнечной радиации, млрд. ккал/га	Теоретически возможные биологические урожаи, т/га
60—70	2,0 —1,0	25—12
50—60	3,5 —2,0	40—25
40—50	5,0 —3,5	70—40
30—40	6,0 —4,5	75—55
20—30	9,0 —6,0	110—75
0—20	10,0 —9,0	125—110

ше; для хороших условий возможен квантовый расход 16—20. Теоретически возможный коэффициент использованной энергии ФАР следует принять равным не 10%, а примерно 5%.

В табл. 13 приведены данные теоретически возможных при этом условии биологических урожаев, которые могли бы давать растения в идеальных посевах в различных географических зонах и которые составляют обычно 3—5 т/га, в лучших случаях 8—10 т/га.

Если сопоставить цифры табл. 13 с данными рис. 76, где показаны связи между размерами биологического и хозяйственного урожаев, то мы увидим, что резерв возможностей в направлении повышения фотосинтетической продуктивности растений и их урожайности громаден.

Ниже мы остановимся на некоторых возможных путях и принципах работ в этом направлении.

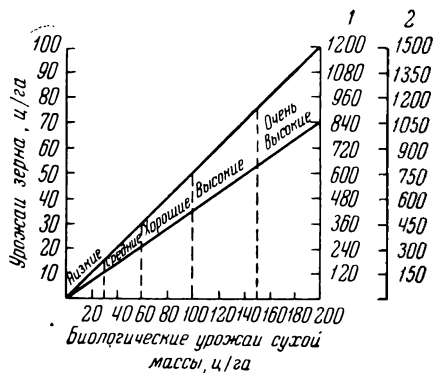


Рис. 76. Количественная связь между размерами урожаев биологических и хозяйственных:

- 1 — урожай корне- и клубнеплодов,
- 2 — урожай сырой массы кукурузы

РОСТ ПЛОЩАДИ ЛИСТЬЕВ В ПОСЕВАХ КАК ФАКТОР ИХ ПРОДУКТИВНОСТИ

Как было сказано выше, одно из важнейших условий высокой продуктивности посевов растений заключается в том, чтобы они поглощали возможно большие количества энергии солнечной радиации. Как показали специальные исследования, это в значительной мере связано с размерами площади листьев в посевах, что видно из рис. 71.

Посевы разных растений характеризуются очень близкими показателями коэффициентов поглощения фотосинтетически активной солнечной радиации в зависимости от площади листьев. Существенно, что возрастание площади листьев до 30—40 тыс. m^2/ga связано со значительным увеличением коэффициентов поглощения, а дальнейшее увеличение площади уже мало эффективно. Подобные данные, а также данные по сопоставлению размеров урожаев с максимальными площадями листьев, которые наблюдались в соответствующих посевах, давали основание считать, что площадь листьев около 30—40 тыс. m^2/ga является достаточной для получения высоких суточных приростов биомассы на гектар посевов, а соответственно и высоких урожаев (Ничипорович, 1956).

Однако это только первое приближение к решению вопроса о влиянии на урожай хода формирования, размеров и работы фотосинтетического аппарата растений. В этом вопросе есть много специфических и важных деталей и особенностей. В их оценке будем исходить пока из того, что ход формирования фотосинтетического аппарата растений в посевах, где площадь листьев достигает 40 тыс. m^2/ga , близок к оптимальному и может обеспечить получение высоких урожаев с достаточно высокими коэффициентами использования энергии солнечной радиации.

Исходя из этого положения, разберем вопрос о значении длины вегетационного периода полноценных по структуре посевов как условия, определяющего размеры урожаев.

Длина вегетационного периода разных растений различна и даже в пределах умеренной зоны изменяется от 75—80 дней (например, у яровых пшениц) до 120—180 дней (у позднеспелых сортов кукурузы, сахарной свеклы, риса, хлопчатника).

На рис. 77 изображены графики роста площади листьев для растений с разной длиной вегетационного периода, но с одинаковыми максимальными показателями площади листьев — 40 тыс. m^2/ga . На основании графического интегрирования определены возможные показатели фотосинтетических потенциалов таких посевов, которые, как видно из данных рисунка, могут меняться при этих условиях в пределах от 1,2 млн. до 4,5 млн. " $m^2 \cdot c$ ".

Если принять средние показатели чистой продуктивности фотосинтеза таких посевов за $5 \text{ г/м}^2 \cdot \text{день}$ (такие величины часто наблюдаются), то и в этих случаях можно установить, что подобные посевы могут давать биологические урожаи от 6 до $22\text{--}25 \text{ т/га}$, что можно считать очень хорошим результатом.

Получение более низких урожаев обусловлено чаще всего тем, что площади листьев в посевах достигают в период максимального развития значительно меньших величин, чем 40—

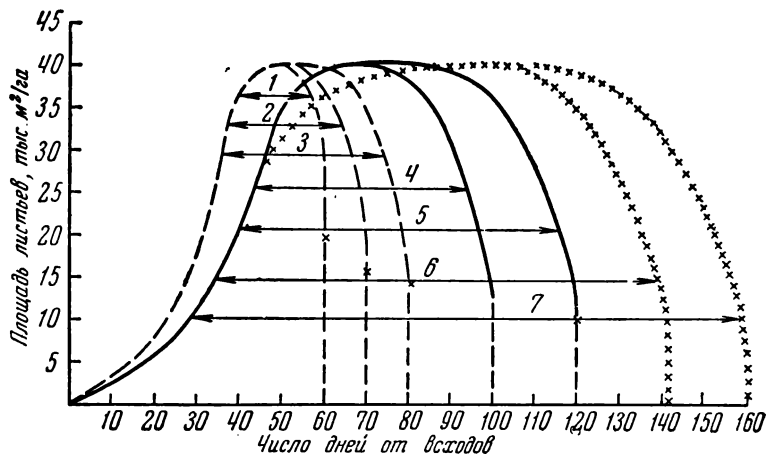


Рис. 77. Оптимальные графики роста площади листьев для посевов растений с разной длиной вегетационного периода. Для каждого случая приведены показатели фотосинтетического потенциала (« $\text{м}^2\text{-с}$ »):

$$1 - 1,22 \times 10^6; \quad 2 - 1,58 \times 10^6; \quad 3 - 1,90 \times 10^6; \quad 4 - 2,31 \times 10^6; \\ 5 - 3,00 \times 10^6; \quad 6 - 3,71 \times 10^6; \quad 7 - 4,40 \times 10^6$$

$50 \text{ тыс. м}^2/\text{га}$, и именно: $20, 15$, а в ряде случаев всего $10\text{—}8 \text{ тыс. м}^2/\text{га}$. Соответственно с этим и показатели фотосинтетических потенциалов посевов нередко бывают равны всего $0,5\text{—}1,0 \text{ млн. "м}^2\text{-с"}$.

Кроме того, нередко и средние показатели чистой продуктивности оказываются равными всего $2\text{—}4 \text{ г/м}^2$ в сутки. Все это и определяет получение низких биологических урожаев, равных $2\text{—}4 \text{ т/га}$.

Таким образом, в работах по повышению урожайности растений необходимо стремиться прежде всего к тому, чтобы получать посевы с возможно более высокими показателями фотосинтетических потенциалов. Для скороспелых культур они должны быть равны по крайней мере $1,5\text{—}2 \text{ млн. "м}^2\text{-с"}$, для среднеспелых — $2,5\text{—}3,0 \text{ млн. "м}^2\text{-с"}$ и позднеспелых — $3\text{—}5 \text{ млн. "м}^2\text{-с"}$. Однако нельзя утверждать, что и эти показатели не могут быть улучшены.

Оценивая вопрос с принципиальной точки зрения, можно считать, что в пределах каждого типа скороспелости растений это может быть сделано двумя путями: во-первых, путем ускорения темпов первоначального роста площади листьев и наиболее быстрого возрастания ее до максимально допустимого уровня; во-вторых, путем повышения значения оптимального уровня, например, до 50—60 тыс. m^2/ga , а может быть и больше.

Рассмотрим сначала вопрос о значении быстроты роста площади листьев в посевах. Казалось бы, что в формировании оптимальных по структуре посевов было бы целесообразно стремиться к тому, чтобы площадь листьев в посевах нарастала после появления всходов возможно более быстро. Однако этот принцип имеет целый ряд специфических ограничений.

Дело в том, что по мере роста площади листьев и смыкания травостоев в посевах меняются радиационные режимы, так как прежде всего происходит взаимное затенение листьев и уменьшение освещенности листьев средних и нижних ярусов. Вместе с тем, растения обладают специфической требовательностью к условиям освещения в различные фазы вегетации, и изменение освещенности внутри травостоев не должно оказываться в противоречии с этими требованиями растений. Особенно специфические требования к условиям освещения предъявляют некоторые растения в фазу заложения и формирования репродуктивных органов. В связи с этим чрезмерно быстрое нарастание площади листьев в посевах и слишком быстрое их смыкание, благоприятное для увеличения общего биологического урожая, может оказаться отрицательным фактором для урожая репродуктивных органов, ради получения которых мы и возделываем многие растения. Примеры такого отрицательного влияния быстрого нарастания площади листьев в посевах на урожай зерна кукурузы приведены на рис. 78.

Густота посевов и посадок — один из сильнейших факторов, определяющих начальный и последующий ход формирования в посевах площади листьев.

Так как смысл работ по увеличению суммарной урожайности растений заключается в том, чтобы посеvy растений поглощали наибольшие количества энергии солнечной радиации и наилучшим образом использовали ее на фотосинтез, то необходимо, чтобы ход формирования в посевах фотосинтетического аппарата наилучшим образом соответствовал сезонному ходу изменений радиационного режима. Значение этого фактора можно иллюстрировать данными рис. 73—74. На нем изображен ход формирования площади листьев пшеницы (сорт Краснозерная) и кукурузы (сорт Стерлинг) в условиях Подмосквья в 1959 г. Как видно, максимальное разви-

тие площади листьев яровой пшеницы совпадало с периодом максимальной освещенности (июнь — начало июля). Это благоприятное обстоятельство. Однако пшеница завершила период вегетации сравнительно рано, не использовав еще значительные количества энергии солнечной радиации.

У кукурузы в период наилучшей освещенности площадь листьев в посеве была столь невелика, что процент поглощения посевом энергии солнечной радиации был очень низким.

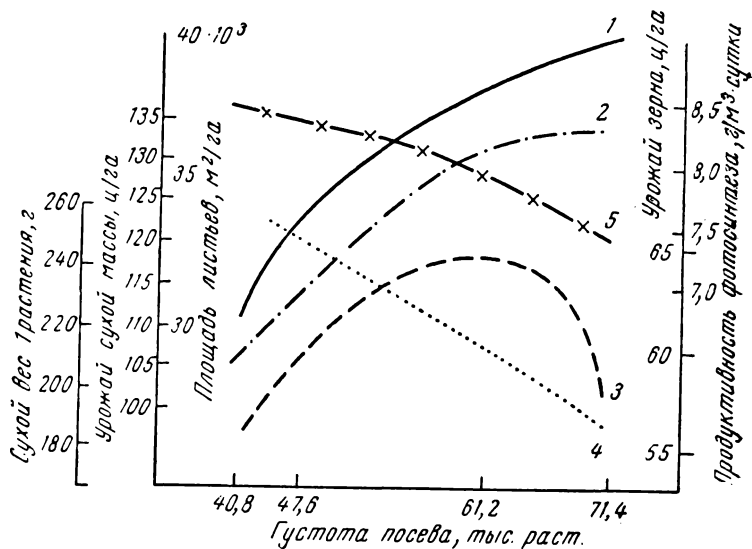


Рис. 78. Максимальные площади листьев (1), урожай сухой надземной массы (2), зерна (3), сухой вес одного растения (4) и чистая продуктивность фотосинтеза (5) при разной густоте посевов кукурузы (по Устенко, Гайдукову, 1959)

В период, когда площадь листьев кукурузы достигла оптимальных величин, значительно ухудшились условия радиационного режима, особенно в сомкнувшемся посеве, в результате чего резко снизилась фотосинтетическая деятельность листьев в посеве и уменьшились показатели чистой продуктивности фотосинтеза. В связи с этим необходимо отметить, что большинство культур, которые выращиваются в умеренной зоне, являются пришельцами из разных зон (горные районы, ксерические области, области субтропиков и тропиков) с другими экологическими условиями. Циклы развития таких культур хорошо приспособлены к условиям их естественного обитания. Там эти циклы биологически выгодны, но в новых областях культуры обладают многими недостатками.

Высокая специализация культур и сортов с максимальной приспособленностью циклов их развития к циклам климати-

ческих зон — одно из важных средств повышения коэффициентов использования энергии солнечной радиации в формировании фотосинтетической продукции растений. Там, где позволяют условия, этой же цели могут служить такие приемы, как комбинированные уплотненные посевы разных растений, пожнивные и послеуборочные посевы для получения в течение года повторных урожаев. Последнее особенно важно в зонах с длинным вегетационным периодом и достаточным обеспечением влагой.

В зонах с коротким вегетационным периодом важное значение может иметь использование культур для наиболее ранних (может быть, даже зимних или подзимних) посевов и посадок.

Все эти приемы могут быть эффективным средством увеличения коэффициентов использования наиболее важного фактора формирования урожаев — солнечной радиации.

Рассмотрев значение хода формирования и работы фотосинтетического аппарата растений в посевах во времени, вернемся к обсуждению вопроса о значении для урожайности растений максимальных уровней площади листьев в период наибольшего ее развития.

Если бы влияние этого фактора на величину урожайности реализовалось только через размеры фотосинтетических потенциалов растений, то значение его могло быть чрезвычайно большим. Это может быть иллюстрировано данными рис. 79, где представлены несколько возможных графиков роста площади листьев в посевах растений с длиной вегетационного периода в 100 дней.

Как видно, возрастание максимальных показателей, которых может достигать площадь листьев, может очень сильно увеличивать показатели фотосинтетических потенциалов посевов, в частности в приведенных на графике примерах — с 0,65 до 3,5 млн. "м²-с".

Если бы при этом показатели чистой продуктивности фотосинтеза посевов могли сохраняться одинаковыми и соответ-

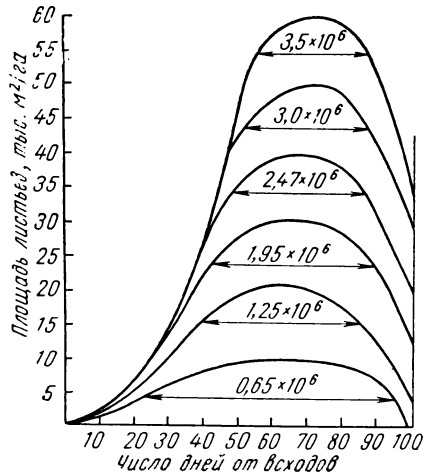


Рис. 79. Возможные графики роста площади листьев у растений с вегетационным периодом 100 дней с обозначением показателей фотосинтетических потенциалов (млн. «м²-с»)

ствовали, например, 5 г/м²-сут, то биологические урожаи для указанных посевов могли бы возрасти с 3 до 17 т общей сухой массы.

Однако в действительности дело оказывается значительно более сложным по причине, которая была указана выше: получение в посевах очень большой по размерам площади листьев требует быстрого ее роста. Но это требование может в определенных условиях оказаться в противоречии с ходом формирования репродуктивных и запасающих органов (см. рис. 78). Кроме того, — и это является наиболее важным — по мере увеличения в посевах площади листьев и возрастающего взаимного их затенения снижаются показатели интенсивности и чистой продуктивности фотосинтеза растений в посевах. Это установлено в ряде работ. Результаты некоторых из них представлены на рис. 80.

Так мы подошли к одному из самых трудных и сложных вопросов повышения продуктивности фотосинтеза, а следовательно, и урожайности растений. Одна из главных задач в достижении этой цели заключается в том, чтобы получать посевы с наибольшим развитием площади листьев и в то же время обладающие наиболее высокими показателями интенсивности и чистой продуктивности фотосинтеза.

В действительности оказывается, что эти два признака находятся в известном противоречии между собой. Это одно из главных обстоятельств, затрудняющих рост урожаев, прямо пропорционально показателям максимальной площади листьев, рис. 80. В связи с обычно наблюдаемым падением показателей чистой продуктивности фотосинтеза возрастание урожаев часто происходит приблизительно в соответствии с кривой 3 рисунка 80Б.

Перед тем как разобрать этот вопрос более подробно, укажем на следующую важную деталь.

В ряде работ падение показателей чистой продуктивности фотосинтеза в зависимости от размеров площади листьев в посевах изображается прямыми линиями, правда с различным их наклоном. На самом деле эта зависимость более сложна и носит криволинейный характер: при увеличении площади листьев в посевах до 10 тыс. м²/га показатели чистой продуктивности фотосинтеза снижаются мало, а затем падение хода кривой становится более сильным.

В связи с наличием зависимости именно такого характера урожаи растений в условиях недостаточно высокой агротехники, где площадь листьев в посевах достигает только 10—15 тыс. м²/га, больше всего зависят от ее увеличения, например до 30—40 тыс. м²/га. При этом увеличение урожайности бывает почти прямо пропорционально возрастанию этих показателей, так как показатели чистой продуктивности фотосинтеза почти не снижаются.

Практически задачу повышения урожайности растений в очень многих случаях приходится решать главным образом этим путем.

Но в тех случаях, когда необходимо увеличивать урожай там, где исходный уровень агротехники более высок и площадь листьев в посевах достигает не менее чем 30 тыс. $\text{м}^2/\text{га}$,

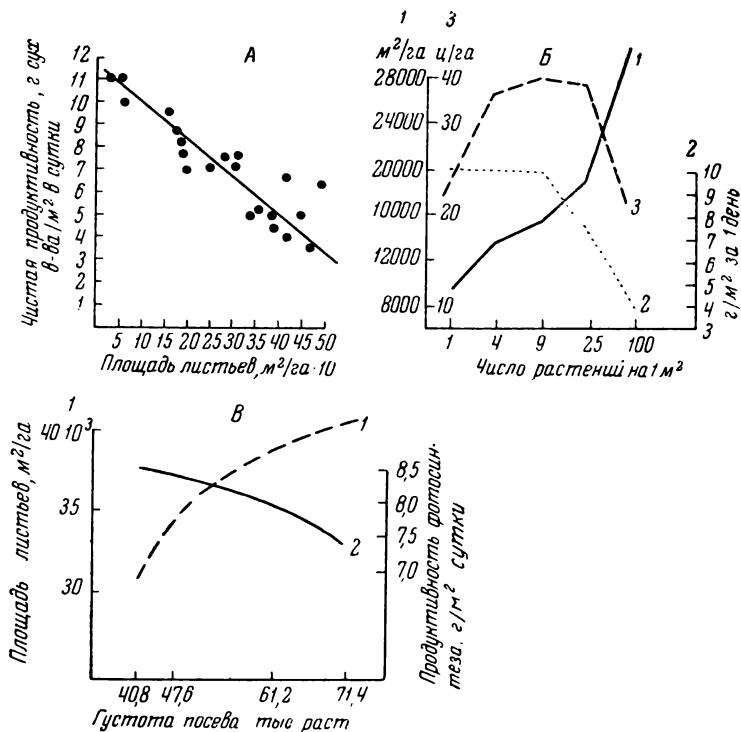


Рис. 80. Снижение показателей чистой продуктивности фотосинтеза в зависимости от площади листьев и густоты стояния растений в посевах. А — разовые определения $\Phi_{\text{ч.пр}}$ в посевах картофеля с разной площадью листьев (по Строгоновой); Б и В — средние показатели $\Phi_{\text{ч.пр}}$ для посевов с разной густотой стояния (2), с разными максимальными площадями листьев (1), урожай хлопка-сырца (3); Б — хлопок (Меднис, 1955), В — кукуруза (по Устенко, 1959)

для дальнейшего повышения приходится решать более трудную задачу: необходимо сочетать увеличение площади листьев в посевах не только с сохранением исходного уровня, но также с увеличением интенсивности и чистой продуктивности фотосинтеза и хозяйственной его эффективности (высокие значения $K_{\text{хоз}}$).

Конкретное значение этой задачи изображено на рис. 81. На оси абсцисс отложены показатели возможных площадей

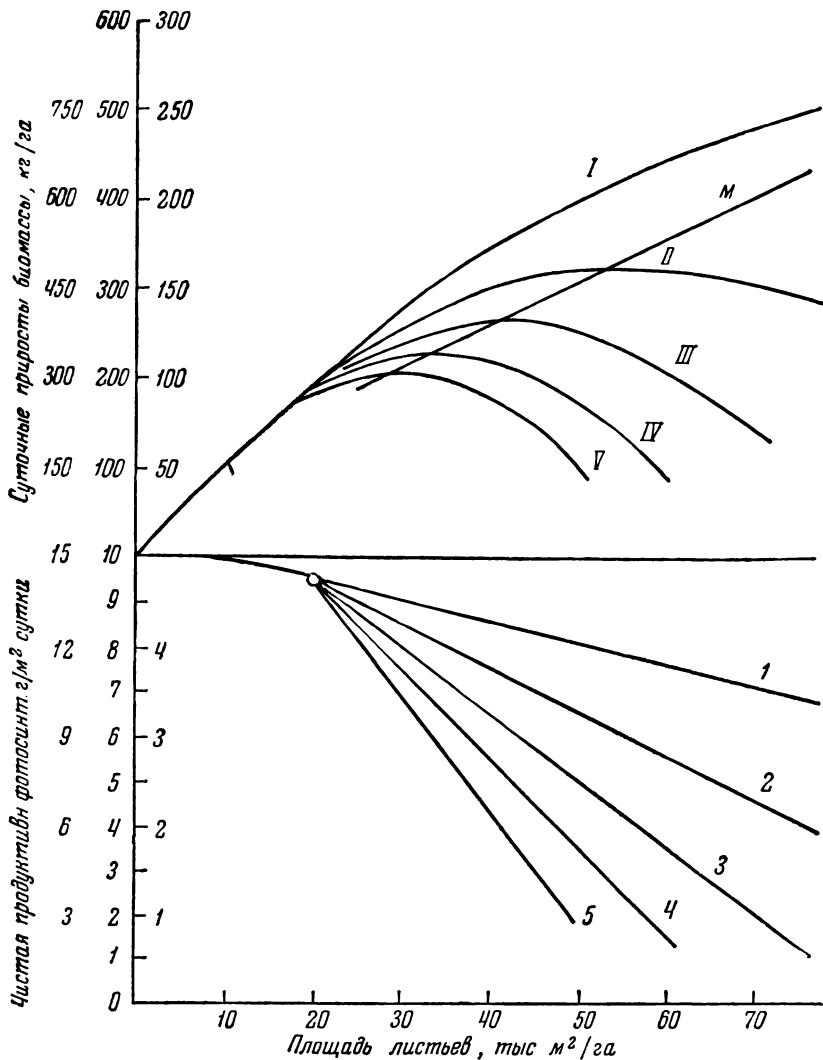


Рис. 81. Примеры различной быстроты падения показателей чистой продуктивности фотосинтеза в зависимости от площади листьев в посевах (кривые I—5) и возможных суточных приростов сухой биомассы в соответствующих им случаях (I—V). Прямая M соединяет точки, соответствующие максимальным суточным приростам сухой биомассы и оптимальным площадям листьев для различных рассматриваемых на графике случаев

листьев (L) в тыс. m^2/ga . На оси ординат в нижней части отложены возможные показатели чистой продуктивности фотосинтеза ($\Phi_{ч.пр.}$), а кривые показывают различные случаи их падения в зависимости от возрастания показателей площади листьев. При этом кривая I изображает случай устойчивого сохранения показателей, а кривая 5 — случай сильного их падения.

В верхней части представлены кривые, характеризующие суточные приросты биомассы (результат произведений соответствующих показателей L на $\Phi_{ч.пр.}$); причем кривые $I—V$ соответствуют кривым $1—5$.

Суточные приросты биомассы бывают максимальными при различных сочетаниях показателей L и $\Phi_{ч.пр.}$. При этом оптимальные (с точки зрения величин суточных приростов) значения показателей площади листьев могут резко различаться в зависимости от крутизны падения кривых $\Phi_{ч.пр.}$: при крутом падении этих кривых неэффективным оказывается увеличение площади листьев уже свыше 30—40 тыс. m^2/ga , при высокой устойчивости показателей $\Phi_{ч.пр.}$ оптимальными могут быть площади листьев значительно более высокие.

Абсолютные значения показателей суточных приростов биомассы естественно зависят не только от размеров площади листьев, но и от исходного уровня показателей чистой продуктивности фотосинтеза. Так, в примере, соответствующем кривой III , в посевах с площадью листьев в 40 тыс. m^2/ga суточные приросты биомассы равны 127, и 260, и 380 kg/ga в зависимости от исходного уровня показателей чистой продуктивности фотосинтеза в 5, 10 или 15 g/m^2 в сутки.

Итак, в работах по повышению урожайности растений необходимо повышать показатели чистой продуктивности фотосинтеза растений и особенно устойчивость этих показателей при увеличении площадей листьев. Это дает возможность эффективно увеличивать в посевах размеры фотосинтетического аппарата — площади листьев и показателей фотосинтетических потенциалов растений.

СТРУКТУРА ПОСЕВОВ КАК ОПТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА

Вопрос о соотношениях между размерами площади листьев и величиной показателей интенсивности и чистой продуктивности фотосинтеза имеет очень важное значение. Специальные работы, выполненные в нашей лаборатории (Ничипорович и Чен-Инь, 1959), показали, что усвоение растениями элементов минерального питания тесно связано с фотосинтезом: оно идет интенсивно только при его наличии.

По мере увеличения в посевах площади листьев, ухудшения их освещенности и снижения фотосинтеза могут ухудшаться возможности усвоения элементов минерального питания. Это, в свою очередь, может еще больше ухудшать возможности фотосинтеза. Вероятно, такая цепь взаимосвязанных изменений процессов лежит в основе тех нередко наблюдаемых фактов, когда хорошие дозы удобрений не дают положительного эффекта, и кажется, что исчерпаны возможности дальнейшего повышения урожая.

Отсюда вытекает общее требование к дальнейшим работам по повышению урожайности: стремиться увеличить площадь листьев до оптимальных уровней с наименьшим ущербом для интенсивности фотосинтеза и тем самым создавать

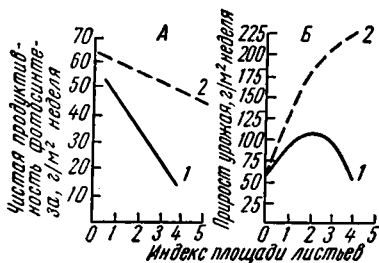


Рис. 82. Зависимость чистой продуктивности (А) и приростов урожая (Б) от индекса площади листьев для капусты (1) и сахарной свеклы (2) (Watson, 1952)

свеклы и листовой капусты от площади листьев в посевах, автор нашел, что у листовой капусты она падает сильно, а у сахарной свеклы в гораздо меньшей степени. Наивысшие суточные приросты биомассы наблюдались у листовой капусты при площади листьев 20—30 тыс. m^2/ga , а у сахарной свеклы — при 50 тыс. m^2/ga .

Эти различия могли быть обусловлены двумя причинами: во-первых, различиями в степени светолюбия двух растений и, в частности, большим светолюбием листовой капусты (более сильной отрицательной ее реакцией на возрастающие ослабления освещенности листьев); во-вторых (это более вероятная причина), тем, что разные растения создают в посевах разные по структуре и по оптическим свойствам ценнозы.

Иллюстрируем значение последнего обстоятельства следующим примером: представим себе, что какое-либо гипотетическое растение имеет горизонтальные листья, расположенные на одном уровне, которые к какому-то времени образуют в посевах сплошной горизонтальный слой пластинок с общей

условия для дальнейших повышений уровня оптимальных площадей листьев.

На какие же факты можно опираться для выяснения перспектив и возможностей успешного разрешения этого вопроса?

Обратимся прежде всего к результатам опыта Ватсона (Watson, 1952), проведенного на Ротамстедской станции (рис. 82).

Определяя зависимость показателей чистой продуктивности фотосинтеза у сахарной

площадь в 10 тыс. m^2/ga . Такой слой листьев поглощал бы много (до 85—90%) падающей на него фотосинтетически активной энергии солнечной радиации, но из-за ограниченного размера не мог бы выполнить очень большой суммарной фотосинтетической работы.

Это было бы связано еще с тем, что в полуденные часы солнечных дней¹ пластинки листьев освещались бы избыточ-

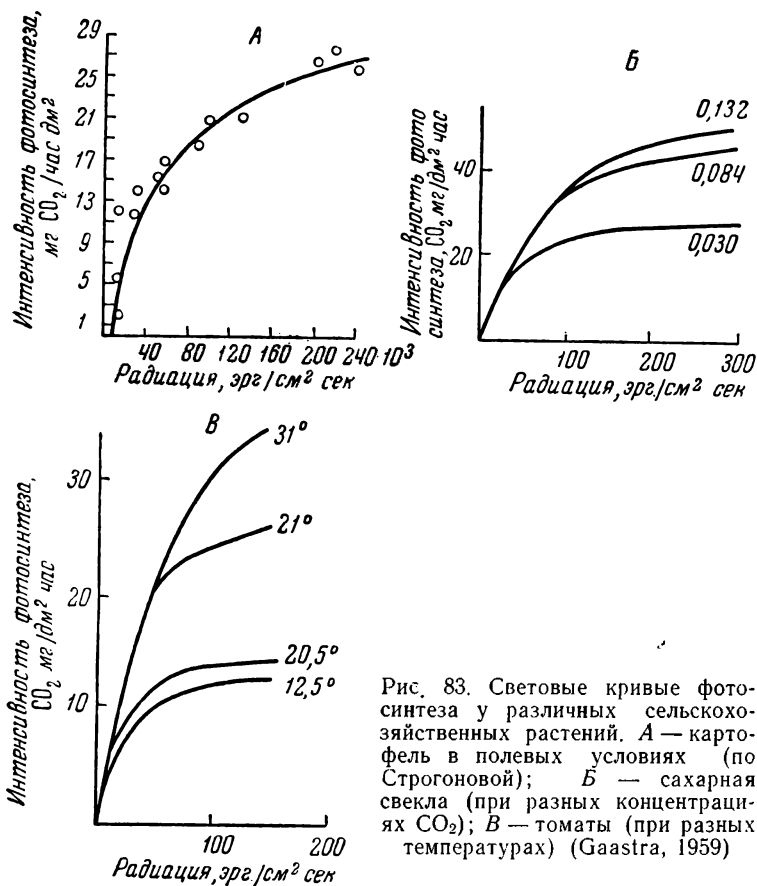


Рис. 83. Световые кривые фотосинтеза у различных сельскохозяйственных растений. А — картофель в полевых условиях (по Строгоновой); Б — сахарная свекла (при разных концентрациях CO_2); В — томаты (при разных температурах) (Gaastra, 1959)

ным светом, соответствующим плато световых кривых фотосинтеза (рис. 83), а в утренние часы эффект действия солнечного света на фотосинтез был бы снижен и ослаблен тем, что солнечные лучи падали бы на пластинки под большими углами и освещенность их горизонтальной поверхности ослаблялась бы пропорционально косинусу угла падения лу-

¹ Интенсивность полуденного света в безоблачный день в среднем может соответствовать $0,6 кал/см^2 мин$, или $420 тыс. эрг/см^2 сек$.

чей. Подобный посев обладал бы и тем недостатком, что в нем не мог создаться второй слой листьев, так как сплошной «монослой» не оставлял бы солнечной энергии в достаточном для нормальной жизнедеятельности подстилающего слоя количестве.

С подобным посевом можно сравнить посев, в котором листья растений располагались бы строго вертикально. В таком посеве, особенно при достаточно большой высоте растений, могло бы быть несколько ярусов листьев, которые в сумме могли бы иметь площадь в 8—10 раз большую, чем поверхность «монослоя» листьев в описанном выше гипотетическом посеве. При этом свет проникал бы достаточно хорошо в толщу травостоя и освещал листья хотя и несколько ослабленным, но достаточным для более или менее значительного фотосинтеза светом. Представим себе, что в связи с этим фотосинтез листьев в этом посеве был бы в 2—5 раза менее интенсивным. Но при площади листьев в 8—10 раз большей, чем в первом посеве, суммарная фотосинтетическая работа была бы все же большей. Правда, такой посев обладал бы и недостатком: при строго вертикальном положении листьев он поглощал бы падающий на него свет далеко не полно.

Таким образом, можно себе представить, что идеальным может быть посев, обладающий промежуточными свойствами: листья верхних горизонтов в нем должны иметь вертикальное или близкое к нему расположение и достаточно хорошо пропускать свет в толщу травостоя, где он должен поглощаться листьями, имеющими пространственную ориентировку, приближающуюся к горизонтальной.

Нам (Ничипорович, 1961) удалось показать, что в посеве зерновых злаков, имеющем площадь листьев, близкую к 40 тыс. m^2/ga примерно 50% площади листовых пластинок ориентировано по отношению к горизонтальной поверхности под углами в 90—60°, 37% — под углами 30—60° и 13% — под углами 30—0°.

При такой пространственной ориентировке проекции листовых пластинок могли бы расположиться на поверхности шара, вписанного в толщу травостоя. Это значит, что пластинки листьев занимают в посеве все возможные положения по отношению к небосводу, однако преобладают листья, стоящие вертикально. Это один из выгодных типов структуры травостоев.

Встречаются также посевы и насаждения с преобладанием горизонтально расположенных листьев (тыквенные, подсолнечник и др.) или вертикально (различные лилейные, луковичные). Кроме того, имеются посевы и ценозы с высокими и низкими растениями. При этом одни растения способны создавать высокопроизводительные, более или менее совершенные по структуре ценозы, другие этой способностью не

обладают. Из-за этого в свое время потерпела неудачу попытка ввести в культуры каучуконосные одуванчики кок-сагыз, крым-сагиз, дающие плотно распластанную на земле розетку листьев. Не давая полноценные ценозы и образуя даже в сильно загущенных посевах площадь листьев не выше 10—15 тыс. м²/га, они давали очень низкие урожаи.

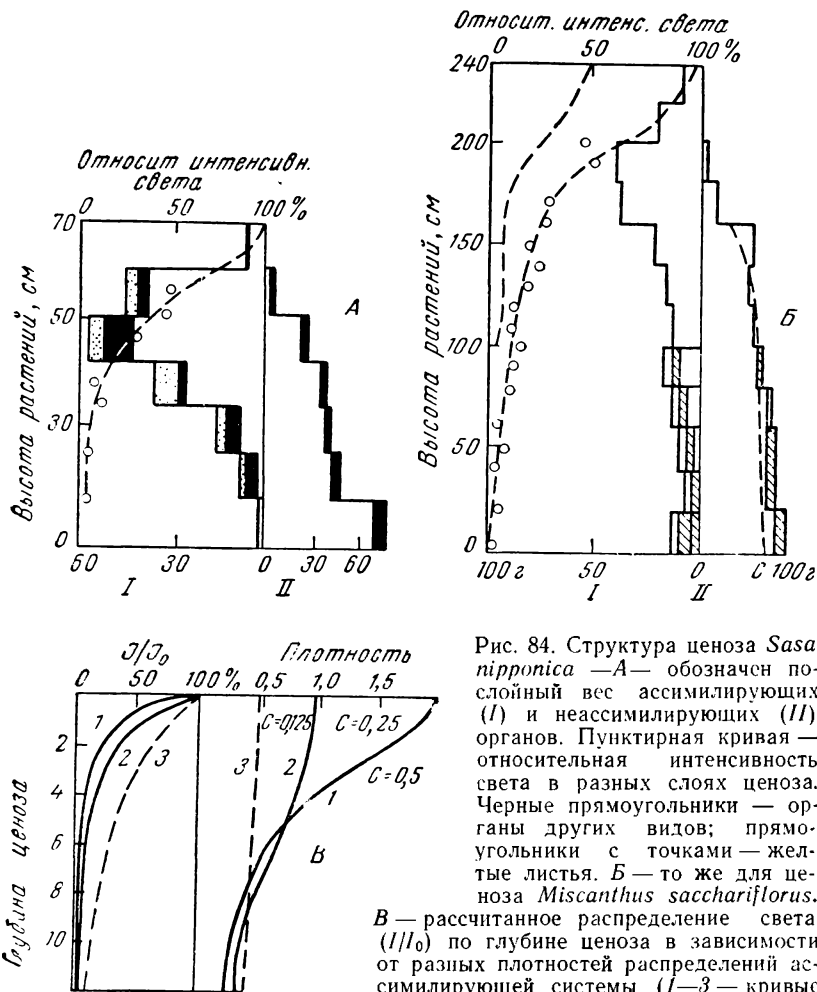


Рис. 84. Структура ценоза *Sasa pinnata* — А — обозначен по-слойный вес ассимилирующих (I) и неассимилирующих (II) органов. Пунктирная кривая — относительная интенсивность света в разных слоях ценоза. Черные прямоугольники — органы других видов; прямоугольники с точками — желтые листья. Б — то же для ценоза *Miscanthus sacchariflorus*.

В — рассчитанное распределение света (I/I_0) по глубине ценоза в зависимости от разных плотностей распределений ассимилирующей системы (1—3 — кривые с константами $C=0,5$; $C_1=0,75$; $C_2=0,125$)

Японские исследователи сделали попытки оценить возможную производительность ценозов, создаваемых некоторыми растениями, на основании оценки структуры и оптических свойств посевов (Monsi, Saeki, 1953; Saeki, Kuroiwa, 1959; Saeki, 1960).

Для этого они применяли метод послойного (через каждые 10 см по вертикали) определения проникания света в толщу посевов и, кроме того, учитывали вес биомассы и пло-

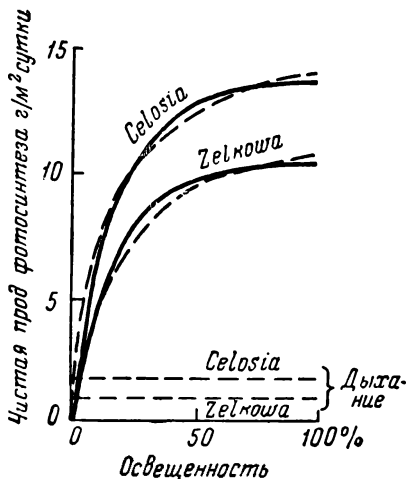


Рис. 85. Световые кривые чистой продуктивности фотосинтеза *Celosia* и *Zelkova* (Saeki, 1960)

щади листьев в каждом из этих слоев методом послойного срезания органов растений.

Зная величины послойного распределения биомассы, площади листьев и света (рис. 84) и данные световых кривых фотосинтеза листьев растений (рис. 85), авторы вычисляли фотосинтез для каждого слоя, а затем и сумму фотосинтетической деятельности всех слоев, или, иначе говоря, всего посева в целом.

При этом авторы (Saeki, 1960) расчетным путем показали, что у разных растений, которые давали бы ценозы с разными коэффициентами экстинкции (K), или поглощения света, должны быть разные по размерам оптимальные площади листьев. В посевах, где значительная часть листьев сосредоточивается в верхних горизонтах и листья ориентированы преимущественно горизонтально, коэффициент

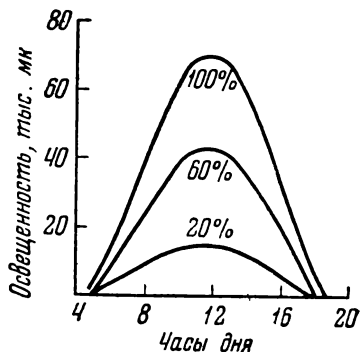


Рис. 86. Дневные ходы освещенности при 100, 60 и 20% падающего света (Saeki, 1960)

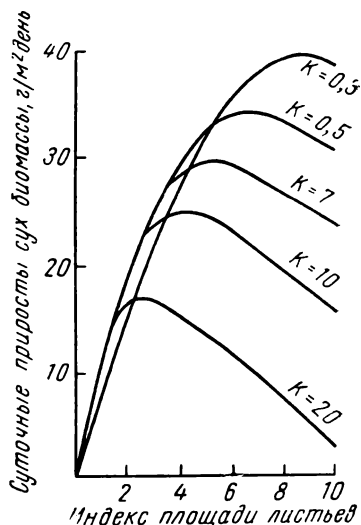


Рис. 87. Рассчитанные дневные приросты сухой биомассы при различной площади листьев в ценозах с разными коэффициентами экстинкции (K) (Saeki, 1960)

экстинкции посева должен быть высоким и падение интенсивности света, а следовательно, и фотосинтеза будет очень сильным. В таких посевах максимально возможная (или оптимальная) площадь листьев будет небольшой (рис. 87).

При более равномерном распределении площади листьев в толще посева и освещенности внутри травостоев, а следовательно, более низком значении коэффициентов экстинкции (K) величина максимальных, или оптимальных, площадей листьев будет более высокой, а соответственно с этим будут и более высокими суточные приросты биомассы.

Вопрос о посевах как целостной оптической системе, об оптимальной их структуре — новый, и поэтому нельзя еще сделать широких обобщений. Однако из всего изложенного видно, что этот вопрос очень важен. Необходимо направить внимание исследователей на более подробное его изучение и на разработку мер и способов совершенствования и улучшения структуры посевов растений. Один из способов — неуклонный и сознательно направленный подбор сортов растений, способных создавать наиболее совершенные ценозы.

Английские исследователи (Watson, Witt, 1959) установили, что по мере улучшения сахарной свеклы селекционным путем и повышения ее урожайности первоначально расплывчатая по земле розетка листьев превращалась в воронкообразную, и свекла стала способной создавать более совершенные ценозы.

ФАКТИЧЕСКИ ВОЗМОЖНЫЕ КОЭФФИЦИЕНТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭНЕРГИИ СОЛНЕЧНОЙ РАДИАЦИИ НА ФОТОСИНТЕЗ И ФОРМИРОВАНИЕ УРОЖАЕВ

Осветив вопрос о значении структуры посевов как целостной оптической системы, мы можем еще раз вернуться к оценке возможных коэффициентов использования энергии солнечной радиации на фотосинтез и формирование урожая.

Что касается коэффициентов поглощения падающей на посевы энергии света, то, как мы говорили уже выше, полноценные по структуре посевы, площадь листьев которых достигает не менее 40 тыс. m^2/ga , могут в среднем поглощать 50% падающей на них световой энергии.

Если же говорить об использовании поглощенной энергии на фотосинтез, то теоретически возможен фотосинтез с восьмиквантовым расходом и, следовательно, с использованием энергии света в количестве около 20% (за вычетом расхода на дыхание).

Если оценивать возможную фотосинтетическую работу того гипотетического монослоя пластинок листьев в посевах, о котором мы говорили выше, то он должен был бы при раз-

ных интенсивностях света осуществлять фотосинтез с интенсивностями, указанными на кривой 1 рис. 88.

Сравнение этой теоретической световой кривой фотосинтеза с фактически наблюдаемой говорит о том, что использование энергии света монослоем листьев с восьмиквантовым расходом при высоких интенсивностях света представляется мало вероятным, так как это требует таких показателей фотосинтеза, которые слишком далеки от реально наблюдаемых.

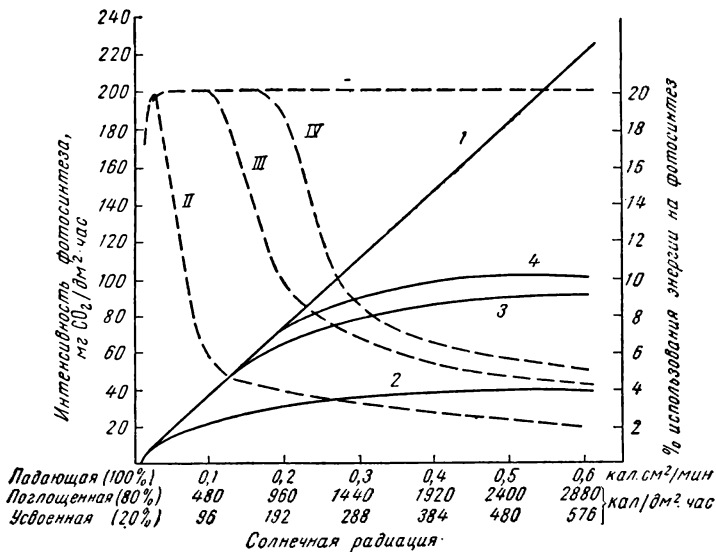


Рис. 88. Световые кривые фотосинтеза:

1 — при восьмиквантовых выходах фотосинтеза для всех интенсивностей света, 2 — часто наблюдаемая световая кривая современных сельскохозяйственных растений, 3 и 4 — вероятные световые кривые будущих сортов при культивировании их в хороших условиях. I—IV — кривые коэффициентов использования на фотосинтез энергии солнечной радиации при фотосинтезе, соответствующем показателям кривых 1—4

Однако если тот же свет, который мог бы падать на посев с гипотетическим «монослоем», падал бы на совершенный по структуре посев с площадью в 40—50 тыс. m^2/ga , а возможно и больше, то такой посев смог поглощать не меньше энергии света, чем гипотетический «монослой». Солнечный свет, проникая в толщу посева, освещал бы площадь листьев в 4—5 раз большую, чем площадь «монослоя».

Допустим, что средняя освещенность пластинок стала бы соответственно в 3—5 раз меньшей. В соответствии с этим каждый квадратный метр листьев фотосинтезировал бы с интенсивностью в 2—3 раза меньшей, но и при этом 4—5 m^2 пластинок листьев на метре посева усваивали бы больше

CO₂, чем 1 м² листьев «монослоя». Это значит, что энергия солнечной радиации, падающая на посев, использовалась бы с более высоким коэффициентом полезного действия.

Это следует и из того, что фотосинтез, идущий при пониженных интенсивностях света, идет с более высокими коэффициентами полезного использования энергии радиации, чем фотосинтез при высоких интенсивностях света (см. рис. 88).

Из данных рис. 88 видно, что если бы сорта сельскохозяйственных растений имели световые кривые фотосинтеза, близкие к кривой 4, и освещенность листьев внутри травостоев изменялась в пределах не свыше 0,30 кал/см² мин, или 50% от прямой солнечной радиации в полдень, то коэффициент использования света на фотосинтез варьировали бы в пределах 10—20%, и посев в целом работал бы с коэффициентами полезного действия, близкими к теоретическим возможным.

Однако высокие показатели коэффициентов полезного действия фотосинтеза посевов могут получаться в полноценных посевах с хорошей структурой и с хорошим распределением света в толще посевов. Но такое состояние посевов — временное явление.

До этого момента в посевах бывает меньшая площадь листьев. Листья освещаются в среднем более интенсивным светом, и поэтому коэффициенты использования поглощаемого света у них могут быть более низкими. Это подтверждается и фактическими учетами, которые показывают, что наиболее высокие коэффициенты использования поглощенного света на фотосинтез наблюдаются, по данным С. Н. Чмора, в период смыкания травостоев. Именно в эти периоды и можно рассчитывать на коэффициенты, близкие к теоретически возможным. В среднем же за весь вегетационный период они, вероятно, имеют меньшую величину (8—10%), и, таким образом, можно получать коэффициенты использования поглощенной за весь вегетационный период энергии 5% (табл. 14). Но и в этих случаях урожай будут во много раз повышать средние и даже высокие современные, которые используют энергию солнечной радиации с коэффициентами 0,25—1% и только в хороших случаях 2—3%.

Однако и эти урожайи нельзя считать предельными. Так, если в будущем в культуре смогут быть формы и сорта растений, способные осуществлять в хороших и, может быть, специальных условиях агротехники фотосинтез в соответствии со световой кривой 4 рис. 88, то коэффициенты использования энергии поглощенного света смогут подняться в хороших по структуре посевах почти до 16—18%, а суммарные коэффициенты за весь период вегетации — почти до 8—9%.

Для этого должна быть проведена большая работа по введению в культуру форм и сортов растений, способных создавать высоко совершенные по структуре посевы, обладающие

Размеры биологически возможных урожаев в разных географических широтах при показателях прихода солнечной радиации и при 5%-ном ее использовании на формирование урожая

Географические зоны, градусы	Возможные приходы энергии радиации млрд. ккал/га за сезон	Реально возможные биологические урожаи современных растений, т/га
70—60	2,0—1,0	25—12
60—50	3,5—2,0	40—25
50—40	5,0—3,5	70—40
40—30	6,0—4,5	75—55
30—20	9,0—6,0	110—75
20—0	10,0—9,0	125—110

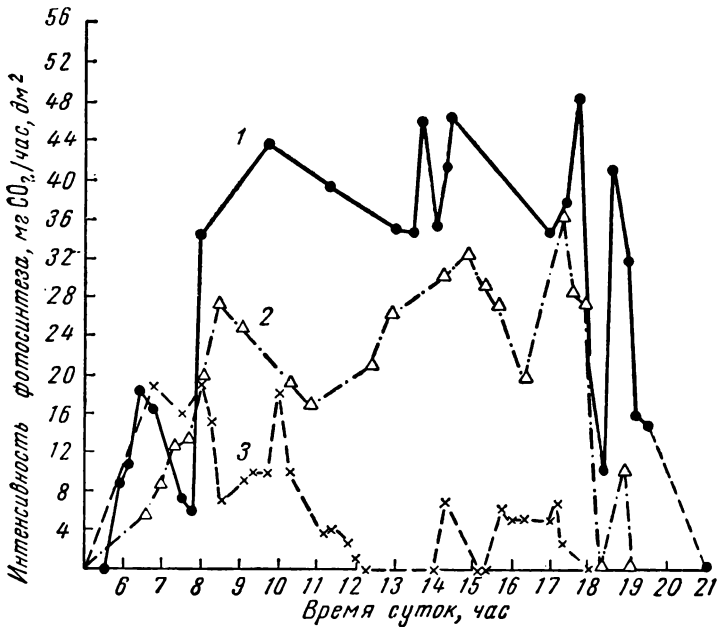


Рис. 89. Примеры дневного хода интенсивности фотосинтеза в посевах кукурузы (Φ_{CO_2} г/м²) (по Строгоновой):
1 — благоприятные условия, 2 — при похолодании, 3 — период засух

высокой фотосинтетической активностью и кривыми фотосинтеза, по возможности лишенными ярко выраженного плато.

Кроме того, необходима разработка системы агротехники, обеспечивающей получение посевов с наилучшими структурой и ходами формирования фотосинтетического аппарата растений, с высокоинтенсивной и продуктивной его работой (рис. 89).

НЕОБХОДИМЫЕ УРОВНИ ОБЕСПЕЧЕННОСТИ ПОСЕВОВ МИНЕРАЛЬНЫМ ПИТАНИЕМ И ВОДОЙ

На основании приведенных выше данных мы можем составить представление об условиях, необходимых для выращивания таких урожаев, которые могут получаться при 5%-ном использовании энергии солнечной радиации. Размеры этих урожаев варьируют прежде всего в зависимости от кол-веств приходящей энергии солнечной радиации. Совершенно естественно, что получение разных по размерам урожаев потребует разной обеспеченности посевов минеральным питанием и водой.

Понятно, что биологический урожай в 15 т сухой биомассы не может быть получен, если не будет обеспечена возможность усвоения растениями по крайней мере 225 кг азота и 750 кг суммы зольных элементов (имея в виду, что содержание азота в сухой массе составляет 1,5%, а содержание других элементов минерального питания — 5%). И если бы посев не был обеспечен такими доступными количествами элементов минерального питания, то было бы невозможно использовать энергию солнечной радиации с заданным 5%-ным коэффициентом.

Вместе с тем, усвоение столь больших количеств элементов минерального питания требует очень хороших условий для фотосинтеза и прежде всего совершенной структуры посевов и высокой природной фотосинтетической активности растений.

Таким образом, ставя перед собой задачу повышения фотосинтетической продуктивности растений и коэффициентов использования на фотосинтез энергии солнечной радиации, необходимо прежде всего обеспечивать посевы растений условиями, находящимися в соответствии с приходами энергии солнечной радиации и с ожидаемыми урожаями при заданных коэффициентах ее использования. Это относится как к условиям минерального питания, так и к режиму водоснабжения. У оптимальных по ходу развития и структуре посевах энергия радиации, не используемая непосредственно на фотосинтез, должна удаляться почти целиком из органов растений через транспирацию и в меньшей степени путем теплообмена с окружающей средой. Последнее обычно свидетельствует о напряженности водного режима и возможной депрессии ростовых процессов.

Исходя из этой предпосылки, можно приближенно рассчитывать количества необходимой для транспирации полноценных посевов влаги в разных географических зонах с различными радиационными режимами. Определение этих количеств может быть сделано различными путями. Мы в данном случае берем в основу расчетов сезонные количества прите-

кающей радиации (см. табл. 14) при реальной атмосфере; величину их уменьшаем на 15% (10% отражается от посевов и 5% используется на фотосинтез). Остальную энергию (поглощаемую листьями и проходящую на почву) можно считать движущей силой возможной транспирации растений и

Таблица 15
Количества воды, необходимой для испарения полноценными посевами в разных географических зонах

Географические зоны, градусы	Количества влаги, необходимые для испарения, мм
70—60	190
60—50	280
50—40	500
40—30	800
30—20	1000
20—0	1600

испарения влаги с поверхности почвы. Если иметь в виду участие в испарении инфракрасной радиации, эти количества следует увеличить на 25%. Получавшиеся таким образом показатели сезонных притоков активной радиации — фактора транспирации и испарения — делились на средние показатели скрытой теплоты испарения воды (590 кал/л при $t^{\circ} = 20^{\circ} \text{C}$). Полученные таким образом показатели, не учи-

тывающие и других важных факторов транспирации и испарения как дефицит влажности воздуха, процессы прямого и радиационного теплообмена между растительным покровом и атмосферой, могут рассматриваться только как общие показатели сильной зависимости испарения от притоков энергии радиации. Это свидетельствует о необходимости усиленных работ, направленных на лучшее водоснабжение ценозов в соответствии с их оптическими свойствами и радиационными режимами различных территорий (табл. 15).

Согласовывая систему агротехники, удобрений, водоснабжения посевов с радиационными режимами различных зон и с задаваемыми коэффициентами использования солнечной радиации, мы можем довести их до 5% от падающей фотосинтетически активной радиации — ФАР.

Дальнейшая работа по изысканию специальных приемов воздействия на активность фотосинтетического аппарата, по введению в культуру сортов, обладающих высокой активностью и способных создавать совершенные по структуре посевы, вероятно, может повысить коэффициенты использования падающей энергии солнечной радиации и до 8—9%.

СПЕЦИАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ ФУНКЦИИ РАСТЕНИЙ

Культура высокопродуктивных сельскохозяйственных растений была, есть и будет главным средством использования фотосинтеза для удовлетворения нужд человека, особенно

там, где речь идет о пищевых ресурсах. Однако в работах по повышению их фотосинтетической продуктивности необходимо считаться с рядом особенностей их физиологии.

Такой особенностью является периодичность их роста и развития; причем в период появления всходов и первоначального их роста площадь листьев невелика и посевы поглощают очень мало солнечной радиации, большие количества ее расходятся бесплодно для фотосинтеза. То же можно сказать о периоде созревания растений, когда их фотосинтетическая активность сильно снижается. В очень многих случаях из-за краткости теплого периода или в силу ограниченного водоснабжения фактические периоды вегетации растений оказываются значительно более короткими, чем позволяют световые режимы.

Наконец, высшие наземные растения обладают сложной организацией в силу того, что они тесно связаны в своей жизнедеятельности как с воздушной, так и с почвенной средой. При этом основной процесс — процесс питания — осуществляется двояким путем: при помощи корней и листьев. Это связано со сложной транспортировкой питательных веществ из одних органов в другие, со сложными использованиями их на разнообразные цели и со значительными тратами первоначально синтезируемых веществ и связанной энергии. Именно поэтому получение теоретически возможных коэффициентов использования энергии солнечной радиации на формирование урожая при помощи фотосинтеза высших растений является далеко не легкой задачей. Вместе с тем, существуют некоторые возможности создавать специальные системы, в которых можно избежать ряда указанных трудностей.

Одна из подобных возможностей заключается в массовой промышленной культуре одноклеточных водорослей, в частности таких, как протококковые: хлорелла, сценедесмус и др. Каждая особь этих водорослей представляет собой микроскопическую клетку, обитающую в водной среде и осуществляющую процесс питания как CO_2 , так и элементами минеральных солей через всю поверхность клетки. В этой клетке происходит как новообразование питательных веществ, так и непосредственное использование их на процессы жизнедеятельности роста и размножения. Размножение осуществляется путем образования внутри взрослой клетки автоспор (рис. 90). В хороших условиях питания (и в суспензиях высокой плотности, когда клетки не конкурируют между собой за свет и пищу) каждая клетка может дать от 4 до 16, а иногда и больше, автоспор, которые после разрыва оболочки материнской клетки оказываются в питательной среде в качестве дочерних клеток, способных к интенсивному питанию, фотосинтезу и росту. У высокоактивных форм вновь образовавшиеся дочерние клетки проходят циклы развития за 6—8 час.

Таким образом, теоретически одна исходная клетка в течение суток может дать в очень разбавленных суспензиях поколение в 64—4096 дочерних клеток.

В благоприятных условиях освещения и снабжения CO_2 (при продувании жидкой среды воздухом, содержащим CO_2), при надлежащем содержании в питательной среде минеральных солей клетки хлореллы, засеянные в питательную среду в количестве 1—2 млн. клеток на 1 мл жидкости, начинают

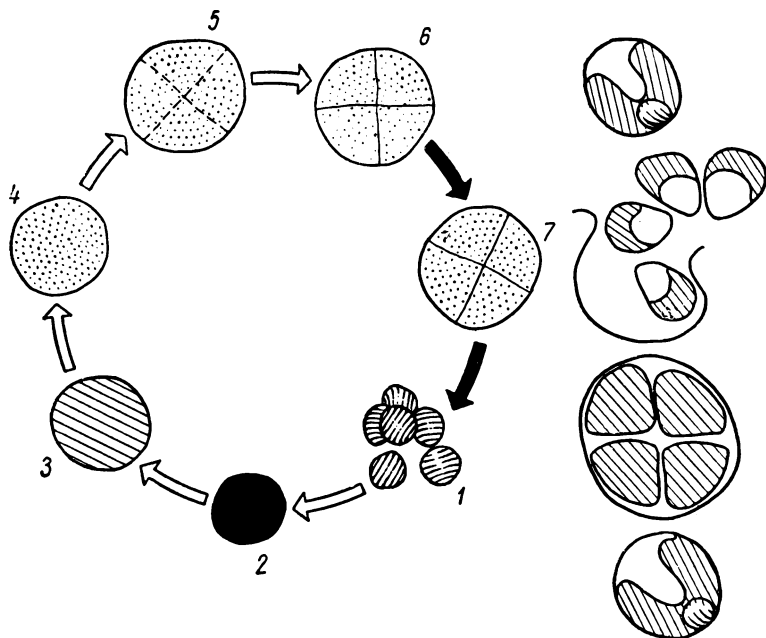


Рис. 90. Полный цикл жизни хлореллы.

Слева: 1—3 — молодые интенсивно фотосинтезирующие и растущие клетки, 4—7 — взрослые созревающие и готовящиеся к образованию автоспор клетки; справа — клетки в стадии 3, 6, 7—1,3 (считая снизу)

быстро размножаться, и через несколько дней плотность суспензии достигает 50—500 млн., а в хороших условиях и более клеток на 1 мл суспензии. По мере уплотнения суспензии коэффициенты суточного размножения клеток уменьшаются. Рост плотности суспензии продолжается, пока не достигнет постоянной величины, при которой из-за конкуренции клеток за свет и пищу и плохого проникания света в суспензию фотосинтез сильно снижается, уравнивается с процессом дыхания. В зависимости от условий освещения и питания, а также от активности культуры быстрота нарастания плотности суспензии и предельная плотность могут быть очень различны, а при хороших условиях очень высокими. На самом крутом

участке кривой нарастания плотности суточные приросты биомассы, а следовательно продукции фотосинтеза, оказываются наиболее высокими (рис. 91).

В этот период из бассейна можно ежедневно отбирать такое количество суспензии, в котором содержится биомасса, соответствующая суточному приросту. Эта биомасса может быть выделена из суспензии путем центрифугирования (осаждения). Питательная жидкость может быть возвращена обратно в бассейн, кроме того, в него может быть добавлена свежая питательная среда с таким расчетом, чтобы плотность суспензии поддерживалась на оптимальном уровне. В последующие сутки за счет фотосинтеза нарастает новая биомасса, которая может быть также отобрана из бассейна, и т. д.

Водная среда, в которой культивируются водоросли, не подвержена столь резким колебаниям температурного режима, как воздушная среда, в тесном контакте с которой находятся высшие растения. Кроме того, суспензию можно в случае необходимости подогревать в холодные периоды года, особенно там, где есть отходное тепло промышленных предприятий.

У водорослей нет столь резко выраженной сезонной периодичности жизнедеятельности, как у высших растений. В культуре водорослей плотность суспензии можно поддерживать все время на оптимальном уровне, а сам слой суспензии может быть такой глубины (обычно 5—10 см), чтобы он практически поглощал всю падающую на него энергию солнечной радиации (за исключением отражаемой). Правда, у суспензии хлореллы есть свои недостатки, в частности относительно малая поверхность контакта с газовой фазой, а отсюда трудности в снабжении клеток углекислотой. В этом смысле полноценный посев высших растений с площадью листьев в 40—50 тыс. м²/га имеет значительные преимущества, и в эти пе-

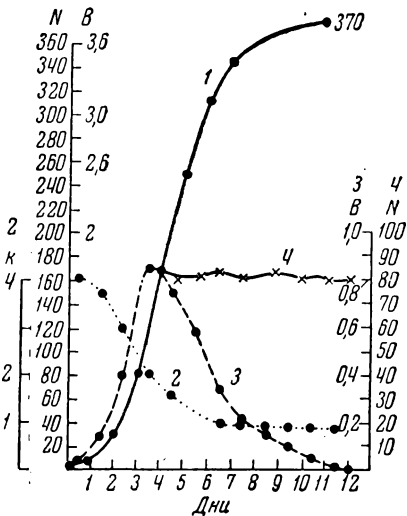


Рис. 91. Ход нарастания плотности суспензии хлореллы (млн. клеток на 1 мл суспензии) во времени (1), изменение коэффициентов размножения (отношение N_1/N_2), т. е. показателей плотности суспензии, на конец и начало каждых суток (2), суточные приросты (г/л) биомассы (3), суточные выходы биомассы при работе автоматики, поддерживающей плотность суспензии на оптимальном уровне (4)

риоды хорошие посевы могут давать суточные приросты биомассы в 250—550 кг/га в сутки, в то время как даже относительно хорошо проводимая культура хлореллы в Японии в летние месяцы дает суточные приросты биомассы до 200 кг/га, а в осенне-весенние, а тем более зимние месяцы значительно меньше (рис. 92). Однако в силу того, что эксплуатация установок с культурой одноклеточных водорослей может быть более продолжительной и во времени более устойчивой, тем

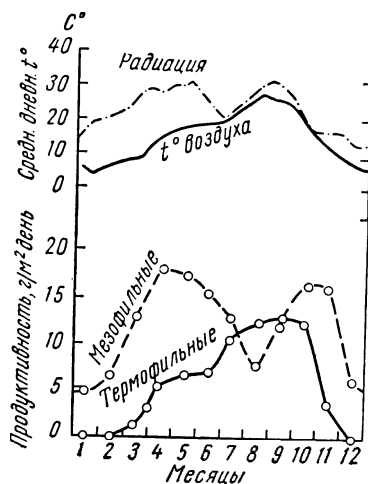


Рис. 92. Средние суточные урожай $г/м^2$ сухой биомассы в культуре мезофильной и термофильной форм хлореллы за каждый месяц в течение года (нижний график) в сопоставлении с ходом среднемесячных температур и солнечной радиации в Японии (верхний график)

более при смене мезофильных и термофильных форм водорослей (рис. 92), годовые урожаи биомассы могут составлять даже в субтропической зоне 20—30 т/га, а средние коэффициенты использования солнечной радиации могут достигать 5—6%.

Однако в силу ряда причин перспективы хозяйственного использования культуры водоросли пока не ясны.

Что касается высших растений, то расширение времени возможной культуры высших растений может достигаться также путем выращивания их полностью или целиком на искусственном свете («светокультура») в те периоды времени, когда естественный свет недостаточен (Клешнин, 1954; Протасова, 1959; Мошков, 1959; Артемьев, 1959; Тагеева и др., 1959).

В результате работ за последние 40 лет испытаны многие источники света с точки зрения пригодности для светокультуры, разработан ряд практических приемов светокультуры и в настоящее время она получила широкое распространение. Так, например, в хозяйствах средней полосы широко применяется ускоренная выгонка (январь, февраль) рассады огурцов, томатов с последующим выращиванием ее в закрытом грунте уже при естественном свете. С помощью светокультуры выращиваются томаты, огурцы, редис, цветная капуста. Широко используется светокультура растений в селекционной работе для получения нескольких поколений растений в год и для оценки их в сравнимых и контролируемых условиях. В цветоводстве приемы светокультуры с успехом используют-

ся для выгонки цветов к точно заданным срокам времени.

В последние годы Б. С. Мошков (1959) предложил эффективный способ выращивания на искусственном свете томатов, сочетая интенсивный свет (16 трехсотваттных ламп накаливания с водяным фильтром над 1 м² культивационной площади) с подбором скороспелых сортов и с рационально проводимым режимом минерального питания. Это дает ему

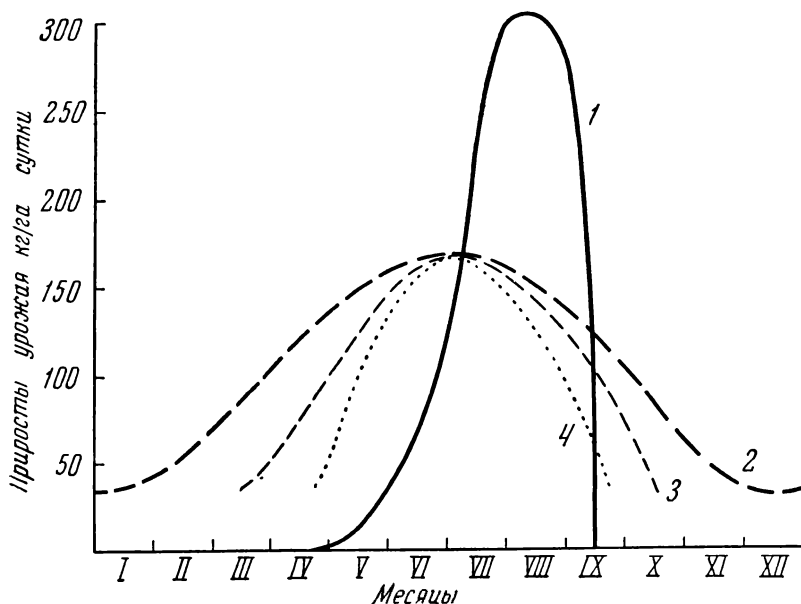


Рис. 93. Возможный ход суточных приростов биомассы у сельскохозяйственных растений (1) в умеренной зоне и в производственной культуре хлореллы при культивировании ее в течение круглого года в южных районах (2) и в более северных широтах (3) и (4)

возможность получать за 60 дней светокультуры 18—19 кг зрелых плодов томатов с 1 м² освещаемой площади. Несмотря на целый ряд практически важных результатов, в настоящее время нет еще достаточного материала для того, чтобы создать широкую и всеобъемлющую теорию светокультуры. Однако совокупность предшествующих материалов создала общее представление о чрезвычайной сложности действия фактора света на растительный организм.

Из работ последнего времени вытекает, что процесс фотосинтеза осуществляется в результате не одной, а двух, а может быть, и большего числа фотохимических реакций, обусловленных действием разных фотоактивных систем. Выясняется, что в фотохимические превращения, связанные с деятельностью фотосинтетического аппарата, вовлекаются не

только CO_2 , но и нитраты, сульфаты и другие окисленные соединения, причем спектры действия их усвоения не идентичны.

Это свидетельствует о преимущественной ответственности за них разных фотоактивных систем. Эффект работы фотосинтетического аппарата зависит в значительной мере от сочетания работы различных фотоактивных систем. В частности, работами ряда исследователей показано, что комбинирование лучей различной длины волны обуславливает в ряде случаев более высокий фотосинтез, чем эквивалентные количества монохроматических лучей. Впервые подобные факты были установлены А. Н. Даниловым (1935, 1936).

В последнее время исследователи уделяют много внимания «эффекту Эмерсона», сущность которого состоит в том, что фотосинтез, слабый и быстро падающий в монохроматических лучах в части спектра с длиной волны от 680 до 700 *мкм*, значительно усиливается при комбинированном действии тех же лучей с лучами с максимумом 650 *мкм* (Emerson, 1958; Emerson, Rabinowich, 1960; Рабинович, 1961).

Работы последних лет показали (Ничипорович, 1953, 1955, 1961; Nichiporovich, Andreyeva, Voskresenskaya, Nežgovorova, Novitsky, 1958; Доман и Ваклинова, 1958; и др.), что в процессе фотосинтеза, идущего в разных условиях, образуются продукты в разных количественных отношениях и, в частности, меняется количественное соотношение аминокислот, что может по-разному влиять на синтез белков и ход процессов жизнедеятельности растений.

Помимо указанного, в последние годы установлено наличие в растениях фотоактивных систем, не связанных с запасанием энергии, но ответственных за ход процессов роста, развития растений в зависимости от условий освещения. Это так называемые «red — far-red»-эффект и «bluefar-red»-эффект (Borthwick, Nakajama, Hendricks 1960; Mohr, 1957, 1961; см. также «Photoperiodism and related Phenomena in plants and animals». Edit. by. R. B. Withrow, D. C. Washington, 1959). В этих эффектах синие или «красные» (max 660 *мкм*) лучи вызывают превращение специального пигмента в активный фермент, поглощающий в области 700—800 *мкм* (max 735 *мкм*). Эти изменения лежат в основе ряда характерных реакций растений на действие света, таких, как прорастание семян, рост в длину осевых органов, фотопериодическая реакция и т. д. Действие ближних красных лучей инактивирует названный выше фермент, вызывает обратимое его превращение и снимает положительное действие красных лучей.

Не менее сложно действие на растение изменяющихся интенсивностей, периодичности света. Совокупность этих влияний приводит к чрезвычайно разнообразным реакциям, даже если свет дается в эквивалентных количествах. Совокупность всех перечисленных данных говорит о том, что, ставя

на разрешение вопрос о повышении использования света растениями, мы должны учитывать не только количественную, но и качественную сторону зависимости фотосинтеза и других физиологических процессов от света. При этом полное понимание всех особенностей этих отношений требует еще специальных широких и глубоких исследований.

ЛИТЕРАТУРА

- Арнон Д. И. V Междунар. биохим. конгр., Симп. VI. М., Изд-во АН СССР, 1961. Артемьев Г. В. Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Бассем Д. А., Кальвин М. V Междунар. биохим. конгр., Симп. VI. М., Изд-во АН СССР, 1961. Беликов И. Ф. Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Воейков А. И. Избр. соч. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1948. Данилов А. Н. Сов. бот., 1935, 4, № 3; Арх. биол. наук, 1936, 43. Доман Н. Г., Ваклинова С. Г. ДАН СССР, 1958, 122. Иванов Л. А. «Сб. работ памяти К. А. Тимирязева». М., Изд-во АН СССР, 1941. Клешнин А. Ф. Растение и свет. Теория и практика светокультуры растений. М., Изд-во АН СССР, 1954. Кондратьев К. Я. Лучистая энергия Солнца. М., Гидрометеиздат, 1954. Костин С. И., Покровская Т. В. Климатология. Л., Гидрометеиздат, 1953. Мошков Б. С. Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Ничипорович А. А. V Междунар. биохим. конгр., Симп. VI. М., Изд-во АН СССР, 1961; Физиол. раст., 1961а, 8; Тр. Ин-та физиол. раст. АН СССР, 8, вып. 1. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1953; Сб. «Применение изотопов в техн., биол. и сельск. хоз-ве». М., Изд-во АН СССР, 1955а; Световое и углеродное питание растений (фотосинтез). М., Изд-во АН СССР, 1955б; Вестн. АН СССР, 1961б, № 11; «Тимирязевские чтения», 15. М., Изд-во АН СССР, 1956. Ничипорович А. А., Власова М. П. Физиол. раст., 1961, 8. Ничипорович А. А., Строгонова Л. Е., Чмора С. Н., Власова М. П. Фотосинтетическая деятельность растений в посевах. М., Изд-во АН СССР, 1961. Ничипорович А. А., Чень-Инь. Физиол. раст., 1959, 6. Ничипорович А. А., Чмора С. Н. Физиол. раст., 1958, 5. Протасова Н. Н. Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Рабинович Е. И. V Междунар. биохим. конгр., Симп. VI. М., Изд-во АН СССР, 1961, Тагеева С. В., Брандт А. Б., Деревянко В. Г., Павлова И. П. Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Устенко Г. П. Автореф. докт. дисс. Волгоград, 1962. Устенко П. Г., Гайдуков Г. Ф. Сб. «Пробл. фотосинтеза». М., Изд-во АН СССР, 1959. Borthwick H. A., Nakajima S., Hendricks S. B. Proc. 3 Int. Congr. on Photobiol. Copenhagen, 1960. Blackman G. E., Rutter A. J. Ann. Bot., 1948, 12. Blackman G. E., Wilson G. L. Ann. Bot., N. S., 1951, 15. Boysen-Jensen P. Die Stoffproduktion der Pflanzen. Fischer, Jena, 1932. Emerson R. Science, 1958, 127. Emerson R., Rabinowich E. Plant Physiol., 1959, 35. Kanazawa T., Fujita Ch., Juhara T., Sasa T. J. Gen. Appl. Microbiol., 1958, 4. Mohr H. Plant Arch. Wiss. Bot., 1957, 49; Proc. 3. Int. Congr. on Photobiol. Copenhagen, 1961. Monsi M., Saeki T. Über den Lichtfactor in den Pflanzengesellschaften und seine Bedeutung für die Stoffproduktion. Tokyo, 1953. Mortimer D. C. Canad. J. Bot., 1960, 38. Nichiporovich A. A., Andreyeva T. P., Voskresenskaya N. P., Nezgovorova L. A., Novitsky J. I. Radioisotopes in Sci. Res., IV. Bergamon Press, London, 1958. Saeki T., Kuroiwa S. Bot. Mag., Tokyo, 1959, 72. Saeki T. Bot. Mag., Tokyo, 1960, 73. Watson D. J. Adv. in Agr., 1952, 4. Watson D. J., Witt K. J. Ann. Bot., London, N. S., 1959, 23.

ХИМИЗМ И ЭНЕРГЕТИКА ПРОЦЕССА ДЫХАНИЯ

ХИМИЗМ ДЫХАНИЯ

Дыхание представляет собой сложную, многозвенную систему окислительно-восстановительных процессов, сущность которых заключается в преобразовании химической природы органических веществ и использовании содержащейся в них энергии.

Учение о дыхании растений как самостоятельная область знания возникло в конце XIX в., когда удалось установить основные факты, касающиеся газового состава воздуха (работы Пристли, Лавуазье).

Однако и до этого времени целый ряд исследователей занимался вопросами дыхания растений. В 1780 г. Ингенгауз показал, что зеленое растение в зависимости от условий освещения может не только поглощать углекислый газ, выделяя кислород, но и, наоборот, выделять углекислый газ, поглощая при этом кислород. Спустя два десятилетия появилась серия работ Сосюра, который впервые строго количественно показал существование у зеленых растений столь противоположных по существу процессов, как дыхание и фотосинтез. Все же вслед за этими работами наступил довольно длительный период, не прибавивший ничего нового к этой области знания. Мало того, целый ряд авторитетов оспаривал наличие дыхания в тканях растений. Обосновывая это утверждение, они ссылались на отсутствие у растений специального органа дыхания.

Начиная с конца XIX и особенно в начале XX в. развитие учения о дыхании получило значительный толчок. В этот период появились работы И. П. Бородина, А. Н. Баха, В. И. Палладина, С. П. Костычева, Варбурга, Виланда и многих других исследователей. В их работах впервые был решен вопрос о том, каким образом в биологических условиях, т. е. при низкой температуре и без всякого подвода энергии извне, с большой скоростью осуществляется сжигание органического вещества. Оказалось, что возможность такого окисле-

ния определяется деятельностью ферментов — катализаторов химических реакций. Весь процесс окисления органического вещества при этом разбивается на ряд последовательных этапов, каждый из которых катализируется соответствующим ферментом. Так, постепенно окисляясь, субстрат дыхания превращается все в более и более окисленные продукты, пока, наконец, полностью не сжигается.

ДЫХАНИЕ И БРОЖЕНИЕ; ИХ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ

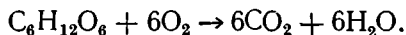
Обязательным участником процесса дыхания является кислород воздуха. Это означает, что процесс дыхания мог возникнуть лишь после появления в атмосфере Земли свободного кислорода. Однако и до этого момента на нашей планете существовали организмы, осуществлявшие процесс дыхания, неотъемлемый от всего живого. В этом случае речь могла лишь идти о некой разновидности дыхания, протекающей в анаэробных (бескислородных) условиях. Такой тип дыхания получил название анаэробного, или интрамолекулярного, дыхания. Чаще его называют просто процессом брожения, или ферментации.

Интересно, что способность к анаэробному дыханию, которую мы с полным правом можем считать эволюционно более древней, не утратилась в процессе развития живых организмов.

У большинства ныне существующих организмов, за исключением строго специализированных анаэробов, дыхание может осуществляться как по аэробному, так и по анаэробному типу.

В растениях основными веществами, которые подвергаются окислительному распаду (т. е. являются субстратами дыхания и брожения), служат углеводы. Из их числа наиболее реакционноспособны шестичленные сахара типа глюкозы и фруктозы; поэтому все схемы процессов окисления рассматривают глюкозу как исходный продукт дыхания. Это, конечно, не означает, что вещества, принадлежащие к другим группам, как например белки или жиры, не могут быть использованы в процессе дыхания. Для этих соединений известны свои пути окислительных превращений, которые мы будем рассматривать в дальнейшем изложении. Однако их использование в процессах окисления по своему удельному весу не идет ни в какое сравнение с той огромной ролью, которую играют в качестве субстрата дыхания углеводы.

В процессе дыхания молекула гексозы окисляется кислородом воздуха до конечных продуктов — углекислоты и воды, по следующему уравнению:

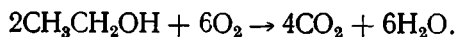
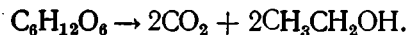


В процессе брожения полного окисления гексозы не происходит. С помощью целого ряда последовательно протекающих ферментных процессов, не требующих присутствия кислорода, гексоза распадается лишь на более простые соединения. Такими соединениями могут быть спирт, молочная кислота, масляная кислота и другие продукты.

В свое время вопрос о природе брожения был предметом ожесточенных споров, которые еще более обострились после знаменитых работ Луи Пастера, исследовавшего природу спиртового брожения. Дискутировался вопрос о том, является ли процесс брожения неотъемлемым атрибутом жизни или же он может осуществляться в отсутствие дрожжей за счет тех веществ, которые выделяются ими.

Вопрос о природе брожения был окончательно решен в 1897 г. Э. Бюхнером. Оказалось, что возбудителями брожения являются ферменты, образуемые микроорганизмами, осуществляющими процесс брожения. Впоследствии ферменты, индуцируемые дрожжами, были выделены и получили название «зимазного комплекса».

Предметом длительных дискуссий явился также вопрос о взаимоотношениях дыхания и брожения. Некоторые ученые рассматривали конечные продукты процесса ферментации (спирт и молочную кислоту) как промежуточные продукты нормального кислородного дыхания. Так возникла теория, что дыхание является непосредственным продолжением процесса брожения. Согласно этой теории, продукты, которые образуются в процессе брожения, при изменении анаэробных условий на аэробные продолжают далее окисляться до воды и углекислого газа. Это демонстрировалось следующими уравнениями, первое из которых представляет собой уравнение спиртового брожения, а второе соответствует окислению образующегося спирта в присутствии кислорода:



Авторами этой теории были видные физиологи конца XIX и начала XX в. Пфэффер и Пфлюгер.

Тесная взаимосвязь дыхания и брожения подтверждалась целым рядом фактов. Оказалось, что ферменты зимазного комплекса, а также промежуточные продукты их реакций повсеместно распространены в тканях высших растений, причем некоторые дыхательные яды, такие, как фтористый натрий или моноиодуксусная кислота, в равной степени подав-

ляют как процессы дыхания, так и брожения. После кратковременного выдерживания в условиях анаэробноза интенсивность дыхания у растений значительно возрастает. Повышение интенсивности дыхания в этом случае связывалось с окислением тех продуктов, которые образовались в результате анаэробного распада.

Вместе с тем, в науке накапливались факты, не согласующиеся с теорией единой линии процессов дыхания и брожения. Оказалось, что спирт, который Пфлюгер и Пфедфер рассматривали как промежуточный продукт кислородного дыхания, в тканях высших растений окисляется значительно труднее, чем сахар. Это обстоятельство противоречило представлениям о дыхании как о прямом продолжении процесса спиртового брожения и свидетельствовало о том, что спирт не стоит на главном пути дыхания.

Теорию генетической связи процессов дыхания и брожения обосновал и экспериментально подтвердил С. П. Костычев (1933). По его теории, начальные этапы превращения молекулы сахара являются общими как для дыхания, так и для брожения. Пути этих процессов расходятся лишь на самых последних этапах, на уровне образования пировиноградной кислоты. Это можно представить себе в виде следующей схемы:



Направление, по которому будет превращаться пировиноградная кислота, зависит от условий снабжения кислородом. В присутствии кислорода пировиноградная кислота окисляется до конечных продуктов дыхания: CO_2 и H_2O , а в отсутствие кислорода образуются конечные продукты брожения.

Теория Костычева многократно подтверждалась экспериментально и в настоящее время пользуется всеобщим признанием.

ПУТИ ОКИСЛЕНИЯ УГЛЕВОДОВ

Последовательность реакций на начальных этапах окислительного распада молекулы гексозы

Начальные этапы распада молекулы гексозы являются общими как для брожения, так и для дыхания. Этот путь окислительных превращений получил название пути Эмб-

ден — Мейергофа — Парнаса (по имени исследователей, впервые изучивших его), или гликолитического окисления¹.

Особенность гликолитического распада состоит в том, что превращением в этом случае подвергается не свободная, а фосфорилированная молекула гексозы. Последовательность и взаимосвязь отдельных реакций, происходящих на начальных этапах брожения и дыхания, представлены на рис. 94.

В первой реакции молекула глюкозы воспринимает остаток фосфорной кислоты. Источником, или, как говорят, донатором фосфора, служит молекула аденозинтрифосфата (АТФ). Это соединение (подробно о нем см. стр. 403) заключает в себе большие запасы энергии. Отдавая неорганический фосфор, аденозинтрифосфат теряет энергию и превращается в аденозиндифосфат (АДФ). Реакция передачи фосфора катализируется ферментом гексокиназой. Продукт реакции получил название глюкозо-6-фосфата, поскольку фосфорная кислота присоединяется к шестому по счету углероду глюкозы. Глюкозо-6-фосфат под влиянием фермента оксоизомеразы превращается в фруктозо-6-фосфат, отличающийся от

глюкозы тем, что он имеет кетонную группу $\begin{array}{c} | \\ \text{C} = \text{O} \\ | \end{array}$ вместо

$\begin{array}{c} \text{O} \\ // \\ \text{C} - \text{H} \end{array}$ альдегидной $\begin{array}{c} \text{O} \\ // \\ \text{C} - \text{H} \end{array}$. Далее фруктозо-6-фосфат воспринимает от аденозинтрифосфата еще одну фосфорную кислоту, которая присоединяется теперь уже к первому углероду фруктозы. Фермент, катализирующий эту реакцию, был назван фосфогексокиназой. В результате этого процесса образуется дифосфорный эфир фруктозы — фруктозо-1,6-дифосфат. Таким образом, молекула сахара приобретает большую лабильность и способность к дальнейшим превращениям.

Следующим этапом является разрыв шестичленной цепочки фруктозо-1,6-дифосфата пополам на два трехуглеродных соединения: 3-фосфоглицериновый альдегид и фосфодиоксиацетон. Такой разрыв в значительной степени облегчается симметричным расположением остатков фосфорной кислоты на концах молекулы гексозы. Этот этап превращения молекулы сахара дает еще одно название гликолитическому распаду, а именно — дихотомический распад (дихотомия — это разветвление на две ветви). Реакция разрыва катализируется ферментом альдолазой.

Дальнейшим превращениям подвергается только 3-фосфоглицериновый альдегид. Фосфодиоксиацетон под влиянием фермента изомеразы фосфотриоз, или фосфоглицериноизомера-

¹ Термин заимствован из области биохимии животных. В классическом понимании процессом гликолиза называется анаэробный распад глюкозы до молочной кислоты, который осуществляется в мышечной ткани.

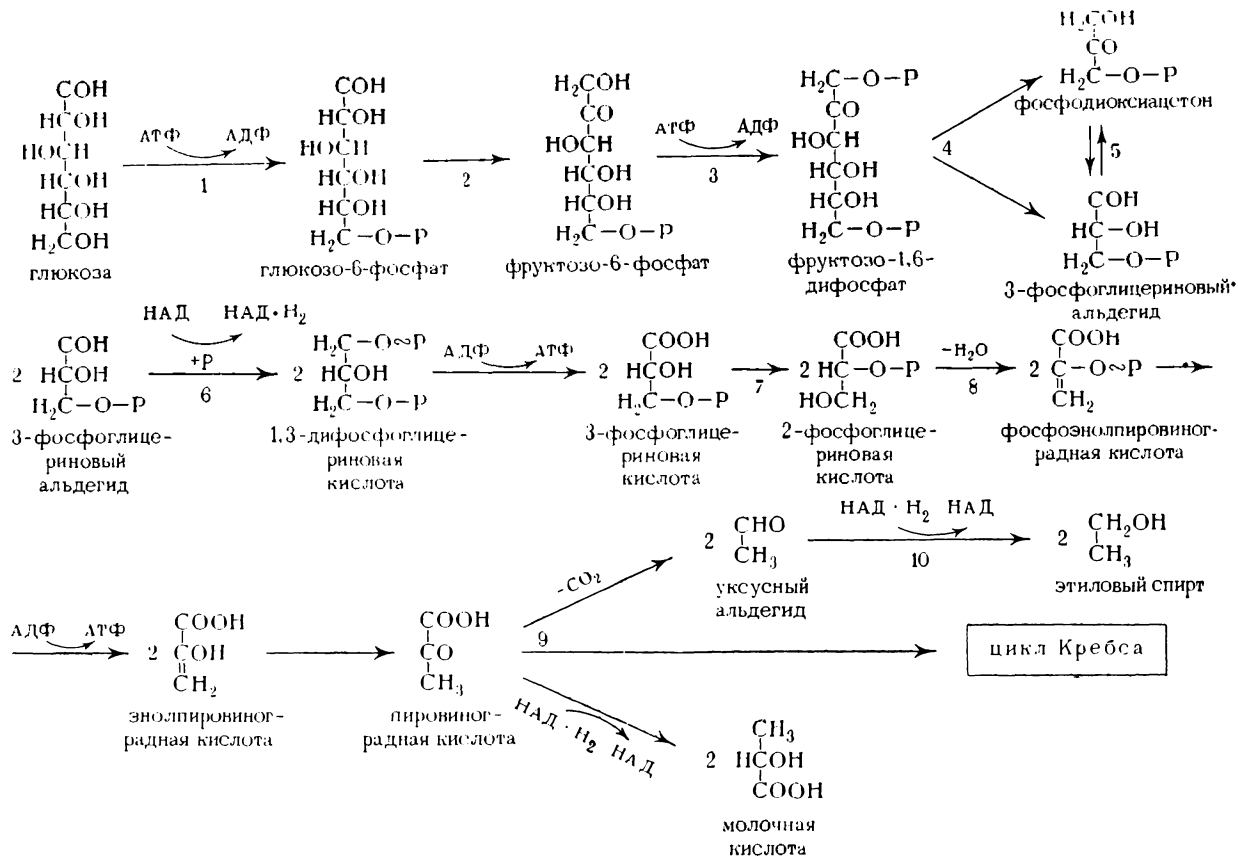


Рис. 94. Гликолитический распад молекулы глюкозы.

Ферменты, осуществляющие реакции: 1 — гексокиназа, 2 — оксизомераза, 3 — фосфогексокиназа, 4 — альдолаза, 5 — изомераза фосфотриоз, 6 — дегидрогеназа 3-фосфоглицеринового альдегида, 7 — фосфоглицеромутаза, 8 — энোлаза, 9 — декарбоксилаза пировиноградной кислоты, 10 — алкогольдегидрогеназа, 11 — лактикодегидрогеназа

зы, превращается в 3-фосфоглицериновый альдегид. Превращение фосфодиоксиацетона позволяет избежать потери половины всего количества глюкозы, вступившей в реакцию.

К образовавшемуся фосфоглицериновому альдегиду присоединяется еще одна молекула фосфорной кислоты за счет неорганического фосфора. При этом происходит окисление образовавшегося дифосфоглицеринового альдегида в 1,3-дифосфоглицериновую кислоту. Реакция катализируется соответствующей дегидрогеназой 3-фосфоглицеринового альдегида. Водород, отнятый от субстрата, переносится на особый кофактор — никотинамидадениндинуклеотид (НАД).

В результате отнятия водорода связь между фосфором и первым углеродом триозы обогащается энергией. Эта энергия затем переносится на молекулу аденозиндифосфата, которая, присоединяя фосфор триозы, превращается в аденозинтрифосфат.

Этот этап гликолитического окисления является очень важным в энергетическом отношении. До этого мы сталкивались с отнятием фосфора от АТФ и присоединением его к молекуле сахара, т. е. с процессом потребления энергии. На этапе 3-фосфоглицеринового альдегида происходит обратный процесс образования богатых энергией связей АТФ за счет энергии, освобождающейся при окислении (подробно об этом см. стр. 405).

В образовавшейся 3-фосфоглицериновой кислоте фосфор от третьего углерода перемещается ко второму при участии фермента фосфоглицеромутазы. Образующийся продукт, получивший название 2-фосфоглицериновой кислоты, сразу же подвергается действию энлазы. Под влиянием этого фермента происходит отнятие воды. Этот процесс перераспределяет внутреннюю энергию молекулы 2-фосфоглицериновой кислоты таким образом, что связь между вторым углеродом триозы и фосфором становится макроэргической. Остаток фосфорной кислоты, содержащий макроэргическую связь, переносится на АДФ, которая при этом превращается во вторую молекулу АТФ. Оставшаяся молекула энолпировиноградной кислоты является очень нестойким соединением и тут же переходит в более устойчивую форму пировиноградной кислоты.

До этого этапа превращения гексозы являлись общими как для брожения, так и для процесса дыхания. Дальнейшая судьба образовавшейся пировиноградной кислоты зависит от наличия кислорода в среде.

В присутствии кислорода пировиноградная кислота может претерпевать полное окисление до углекислоты и воды через аэробный цикл окислительных превращений, называемый циклом Кребса.

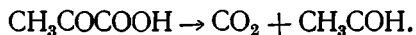
В анаэробных условиях пировиноградная кислота сбраживается до образования конечных продуктов брожения.

Преобразования пировиноградной кислоты в анаэробных условиях

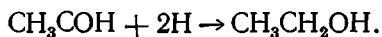
Конечными продуктами брожения, или ферментации, могут быть спирт, молочная кислота, масляная кислота и некоторые другие соединения. В зависимости от конечных продуктов различаются и виды ферментаций.

Остановимся коротко на основных типах брожения.

Спиртовое брожение. При спиртовом брожении пировиноградная кислота подвергается декарбоксилированию. В результате этого процесса выделяется углекислый газ и образуется уксусный альдегид согласно следующему уравнению:



Уксусный альдегид восстанавливается, вступая во взаимодействие с восстановленной формой НАД, образовавшегося при окислении 3-фосфоглицеринового альдегида в процессе гликолитического распада:



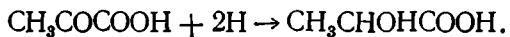
Конечным продуктом реакции служит спирт.

Спиртовое брожение используется в целом ряде пищевых производств: при производстве спирта, пива, вина, а также в хлебопекарной промышленности.

Типичными организмами, осуществляющими спиртовое брожение, являются дрожжи. Отдельные сахара сбраживаются дрожжами с различной скоростью. Из числа моносахаров наиболее легко сбраживается глюкоза и фруктоза, из дисахаров — сахароза и мальтоза (дисахара сбраживаются лишь после предварительного гидролиза на моносахара). Значительно хуже сбраживается манноза, потом галактоза. Пентозы не сбраживаются дрожжами совсем.

Способность к спиртообразованию свойственна не только дрожжам. Спирт был обнаружен в тканях многих высших растений, находящихся в анаэробных условиях. Однако чисто алкогольная ферментация встречается лишь у очень ограниченного числа растений. Среди них можно назвать проростки гороха, риса и ячменя в первые дни после прорастания, корень моркови на ранних стадиях анаэробнозиса (James, Ritchie, 1955), а также некоторые эмбриональные ткани.

Молочнокислое брожение. При молочнокислом брожении не происходит декарбоксилирования пировиноградной кислоты. Пировиноградная кислота в этом случае восстанавливается, в результате чего образуется молочная кислота. Этот процесс может быть выражен следующим уравнением:



Типичным представителем организмов, осуществляющих брожение по молочнокислому типу, являются молочнокислые бактерии. Микроорганизмы этого типа делятся на две группы: гомоферментативные бактерии, которые в результате своей жизнедеятельности образуют только молочную кислоту, и гетероферментативные бактерии, при брожении которых помимо молочной кислоты образуются значительные количества уксусной кислоты и этилового спирта.

Молочнокислое брожение лежит в основе производства простокваши, кумыса, кефира, а также изготовления кваса, хлебных заквасок и жидких дрожжей для хлебопечения, силосования кормов, квашения капусты и огурцов.

Среди высших растений также встречаются виды, осуществляющие брожение по молочнокислому типу. Типичным примером таких растений служит картофель, клубни которого, находясь в атмосфере азота, накапливают молочную кислоту. Однако по мере пребывания в атмосфере азота в клубнях картофеля происходит изменение характера ферментации. Первый период характеризуется накоплением молочной кислоты, вслед за чем, начиная приблизительно с 10-го дня анаэробноза, в тканях возрастает содержание спирта. Возникновение спиртовой ферментации наступает скорее в тканях подмороженного, очищенного или травмированного картофеля, т. е., по образному выражению Костычева, зависит от его «предыстории».

Маслянокислое брожение. При маслянокислом брожении сахар сбраживается до масляной кислоты по следующему уравнению:



В природе маслянокислое брожение происходит на дне болот, в иле, там где разлагается органическое вещество в условиях затрудненного доступа воздуха. Процесс маслянокислого брожения имеет большое значение при мочке льна, конопля и других волокнистых культур.

* *
*

Спиртовое, молочнокислое и маслянокислое брожения составляют три основных типа ферментации. Все остальные представляют собой различные комбинации этих трех типов.

В растениях, помещенных в анаэробные условия, почти никогда не встречается брожение только одного вида, протекающее в точном соответствии с уравнением.

Как правило, в тканях растений, помещенных в условия анаэробноза, удастся обнаружить конечные продукты нескольких видов брожений, в их числе спирт, ацетальдегид, различные органические кислоты и сивушные масла.

Превращения пировиноградной кислоты в аэробных условиях. Цикл Кребса

В присутствии кислорода пировиноградная кислота подвергается аэробным окислительным превращениям. Эти превращения представляют цикл реакций, названных по имени ученого, открывшего его, циклом Кребса. Цикл Кребса назы-

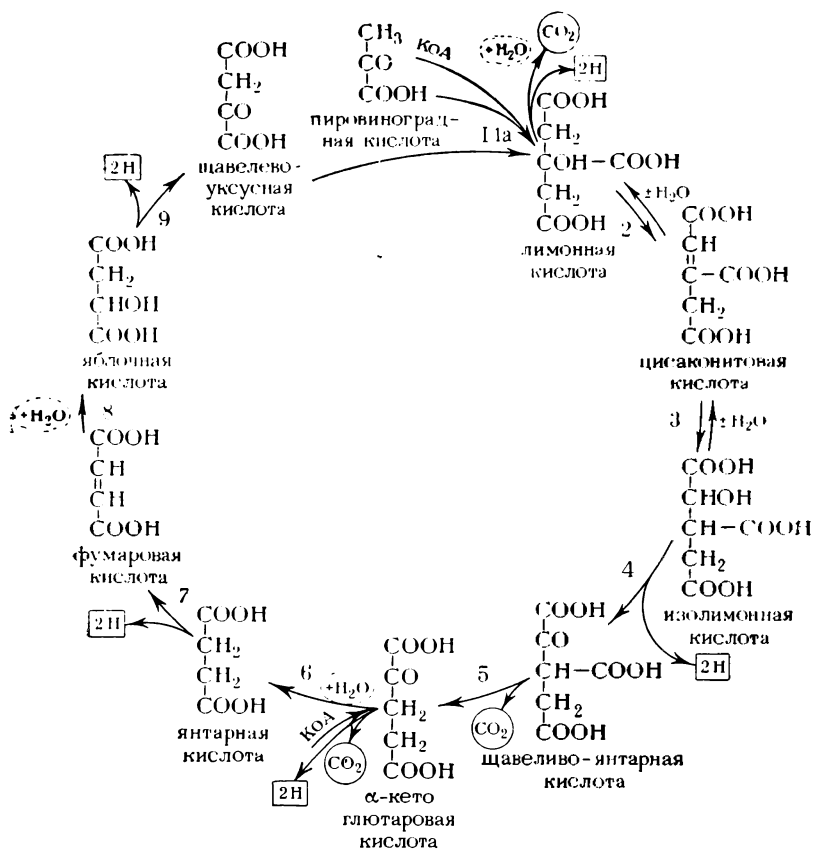


Рис. 95. Цикл Кребса.

Ферменты, осуществляющие реакции: 1 — декарбоксилаза пировиноградной кислоты; 1а — конденсирующий фермент, 2, 3 — аконитаза, 4 — изоцитрикодегидрогеназа, 5 — декарбоксилаза щавелев-янтарной кислоты, 6 — декарбоксилаза α-кетоглутаровой кислоты, 7 — сукциндегидрогеназа, 8 — фумараза, 9 — мализодегидрогеназа

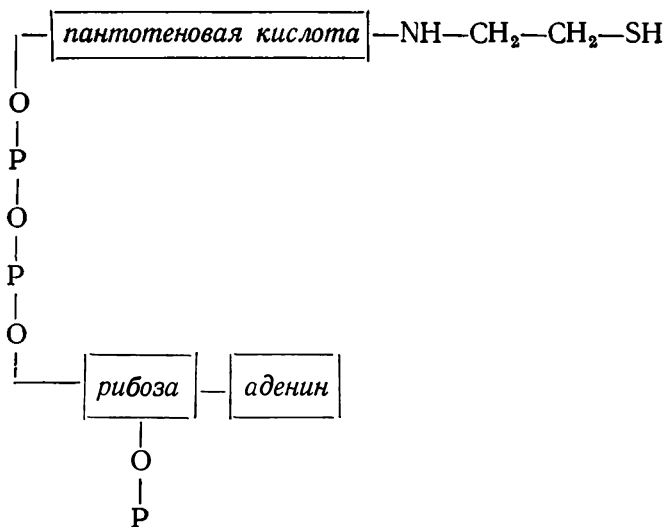
вают также лимонно-кислым циклом, или циклом ди- и трикарбоновых кислот. Он является непосредственным продолжением процессов гликолитического распада в живой клетке.

На первых этапах цикла Кребса происходит окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты (рис. 95).

Участниками этой реакции, механизм которой удалось расшифровать лишь в самое последнее время, являются НАД и коэнзим А.

Коэнзим А (КоА) — чрезвычайно важное соединение, открытое в 1945 г. в дрожжах, бактериях, животных тканях и тканях высших растений. Структура коэнзима А была установлена благодаря работам Линена и Липмана. Оказалось, что коэнзим А является сульфгидрильным соединением, состоящим из остатков пантотеновой кислоты, рибозы, аденина, тиоэтаноламина и трех молекул фосфорной кислоты.

Схематическое изображение формулы коэнзима А:

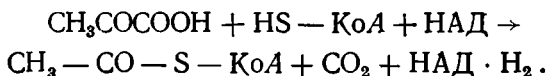


Коэнзим А обладает способностью присоединять к себе ацетильную группу — остаток уксусной кислоты ($\text{CH}_3 - \text{CO}$). Образующееся соединение называется ацетил-коэнзимом А ($\text{CH}_3 - \text{CO} - \text{S} - \text{CoA}$).

Связь между ацетилом и коэнзимом А богата энергией. Используя энергию этой связи, коэнзим А может отдавать активный ацетил различным соединениям, тем самым наращивая их углеродную цепочку на 2 атома. Такие процессы играют важную роль при биосинтезе жирных кислот, стеролов и каучука. Кроме остатка уксусной кислоты коэнзим А способен таким же образом переносить остатки янтарной, бензойной и некоторых других кислот.

В начальной реакции цикла Кребса коэнзим А присоединяет к себе ацетил, образовавшийся из остатка пировиноградной кислоты после ее декарбоксилирования.

Реакция осуществляется по следующему уравнению:



Одновременно с декарбоксилированием происходит процесс окисления, почему эта реакция и получила название «окислительное декарбоксилирование». Водород пировиноградной кислоты переносится на НАД, превращая его в восстановленное состояние.

Обязательными участниками этой реакции являются тиаминпирофосфат и липоевая кислота.

В ходе дальнейших превращений в цикле Кребса ацетил присоединяется к щавелевоуксусной кислоте. Реакция катализируется конденсирующим ферментом. В результате взаимодействия ацетил-КоА со щавелевоуксусной кислотой образуется лимонная кислота и освобождается молекула КоА.

Дальнейшим превращениям в цикле подвергается не лимонная, а изолимонная кислота, которая образуется из лимонной через промежуточное образование цисаконитовой. Изолимонная кислота окисляется под влиянием фермента изоцитрикодегидрогеназы, в результате чего образуется щавелево-янтарная кислота. Последняя декарбоксилируется и превращается в α -кетоглутаровую кислоту.

Далее происходит окислительное декарбоксилирование этой кислоты, которое по своему механизму сходно с окислительным декарбоксилированием пировиноградной кислоты. В этой реакции также участвует КоА.

Образующаяся в результате реакции янтарная кислота под влиянием сукциндегидрогеназы превращается в фумаровую кислоту, которая, в свою очередь, присоединяя молекулу воды, под действием фумарозы превращается в яблочную кислоту.

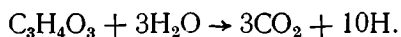
Дегидрирование яблочной кислоты, которое осуществляется с помощью маликодегидрогеназы, приводит к образованию щавелевоуксусной кислоты.

Таким образом, цикл замыкается. Образующаяся щавелевоуксусная кислота может вновь конденсироваться с активным ацетатом и дать начало новому циклу.

В целом в результате одного оборота цикла происходит окислительный распад молекулы пировиноградной кислоты. При этом выделяются 3 молекулы углекислого газа (реакции 1, 5 и 6) и 5 пар водородных атомов (реакции 1, 4, 6, 7 и 9). Возникает вопрос, откуда берутся 5 пар водородных атомов и 6 атомов кислорода, если в самой пировиноградной кислоте содержится всего лишь 2 пары атомов водорода и 3 атома кислорода? Ответ на этот вопрос может быть получен при рассмотрении схемы. На этапах 1, 6 и 8 дегидрированию предшествует присоединение молекулы воды к окис-

ляющейся органической кислоте. Таким образом, из пяти пар выделяющихся атомов водорода только 2 пары принадлежат пировиноградной кислоте, а 3 пары — воде. Таким же образом 3 атома кислорода из шести атомов, выделяющихся в виде CO_2 , образуются из кислорода воды.

Ниже приводится общее уравнение реакции цикла Кребса:



Изложенные выше представления об участии воды в процессе полного окисления пировиноградной кислоты являются блестящим подтверждением идей, развивавшихся в свое время крупнейшим русским физиологом и биохимиком В. И. Палладиным (1914).

В созданной им теории дыхания растений В. И. Палладин отводил воде весьма важную роль, указывая, что кислород воды участвует в окислении органического вещества, происходящем в процессе дыхания.

Схема трикарбонового цикла была раскрыта Кребсом на тканях животных. В настоящее время имеются все основания утверждать, что цикл Кребса широко распространен в тканях высших растений. Основанием для этого служат следующие факты: 1) в тканях растений обнаружены все органические кислоты, принимающие участие в цикле Кребса, и все ферменты, катализирующие их превращения; 2) добавление органических кислот лимоннокислого цикла значительно стимулирует дыхание растительных тканей; 3) малонат (ингибитор реакций цикла Кребса) подавляет дыхание растительных тканей.

В 1957 г. Корнбергом и Кребсом (Kornberg, Krebs, 1957) был открыт новый дыхательный цикл, получивший название цикла глиоксалевого кислоты (рис. 96). Этот новый путь представляет собой модификацию цикла Кребса.

Различия начинаются на уровне изолимонной кислоты. В глиоксальевом цикле изолимонная кислота под действием изоцитратазы превращается в янтарную и глиоксальевую кислоты. Последняя конденсируется с уксусной кислотой с помощью фермента, получившего название малатсинтетазы, в результате чего образуется яблочная кислота.

Глиоксальевый цикл обнаружен при дыхании бактерий, плесневых грибов, а также некоторых растений. Его реакции лежат в основе превращения жира в углеводы, что происходит, в частности, при прорастании семян растений, содержащих масло.

Мы описали главный путь превращений углеводов в живом организме: его анаэробную стадию — гликолитический распад до образования пировиноградной кислоты и дальнейшую аэробную стадию — цикл Кребса.

Этот путь является основным путем дыхания и с некоторыми модификациями встречается у всех высших растений. Однако в живом организме каждое соединение, как правило, может превращаться не одним, а несколькими путями. Этим объясняется очень большая гибкость и динамичность обмена, чрезвычайно чутко реагирующего на малейшие изменения условий существования. В этом смысле дыхание не является исключением.

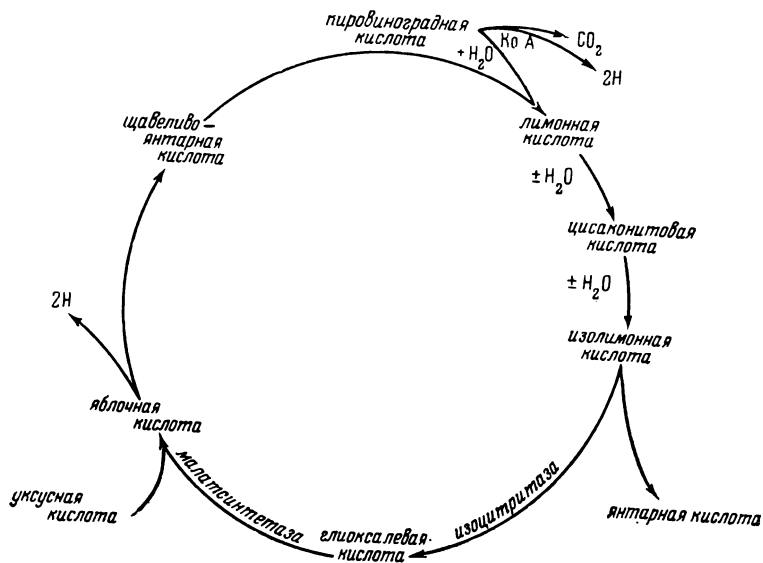


Рис. 96. Цикл глиоксалевой кислоты

Помимо гликолитического распада в настоящее время известны еще два пути окислительных превращений молекулы гексозы. Так, если описанное выше гликолитическое окисление представляет собой цепь реакций, в которых участвует дифосфорный эфир гексозы, то наряду с этим существует второй путь, где окислительным превращениям подвергается монофосфорный эфир гексозы.

Третьим путем является путь окисления свободной нефосфорилированной гексозы.

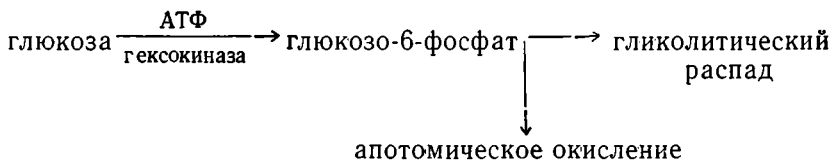
Апотомическое, или гексозомонофосфатное, окисление

Такое название получил путь окисления монофосфорного эфира гексозы. В некоторых случаях гексозомонофосфатное окисление называют прямым окислением, или пентозным шунтом.

Этот путь окисления представляет собой цикл аэробных превращений сахаров.

Начальная реакция его совпадает с реакцией гликолиза.

Расхождение начинается на уровне образования глюкозо-6-фосфата:



Подробная схема апотомического цикла представлена на рис. 97.

Два первых этапа представляют собой реакции окисления, строго специфичные к никотинамидадениннуклеотидфосфату (НАДФ).

В первой реакции глюкозо-6-фосфат окисляется в 6-фосфоглюконат. Последний подвергается окислительному декарбонилрованию, в результате чего образуется пятичленный сахар — пентоза — и выделяется молекула CO_2 . Этот этап объясняет собой название цикла, данного ему В. А. Энгельгардтом (апотомия означает усекование, т. е. укорачивание цепочки гексозы на один атом, что происходит при выделении CO_2).

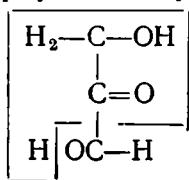
Пентоза образуется в форме рибулозо-5-фосфата, который изомеризуется следующим образом: из каждых трех молекул образовавшейся рибулозы две превращаются в ксилулозо-5-фосфат и одна — в рибозо-5-фосфат. Ксилулозо-5-фосфат отличается от рибулозы трансрасположением гидроокисла у третьего углерода молекулы пентозы.

В дальнейших реакциях апотомического цикла участвуют ферменты, переносящие целые цепочки углеродных атомов — транскетолаза и трансальдолаза.

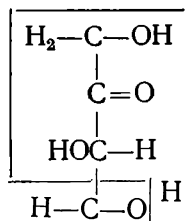
Транскетолаза — это фермент, переносящий группу из двух атомов углерода, так называемый «активный гликольальдегид».

Трансальдолаза переносит цепочку из трех углеродных атомов, называемую дигидрооксиацетоном.

Формулы этих групп представлены ниже:



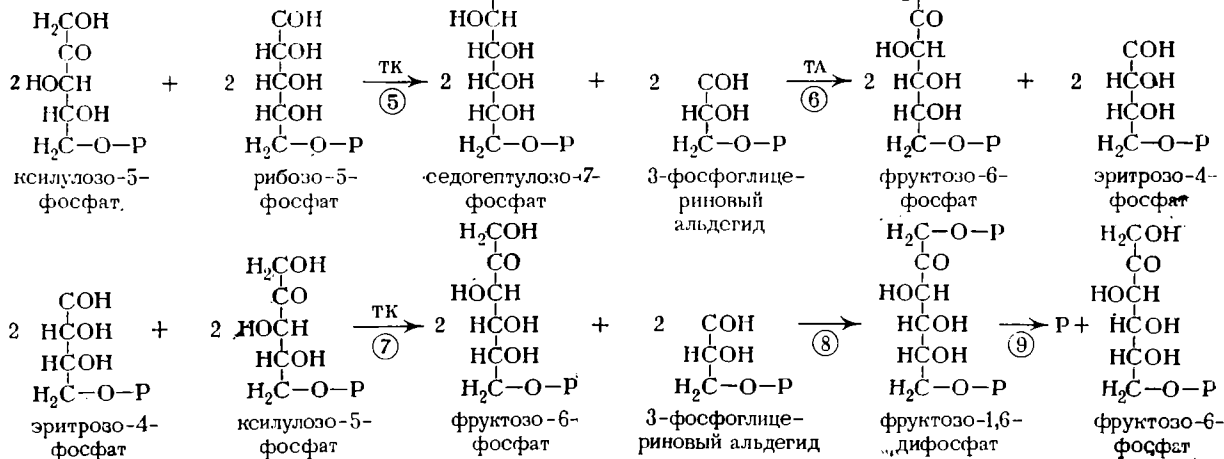
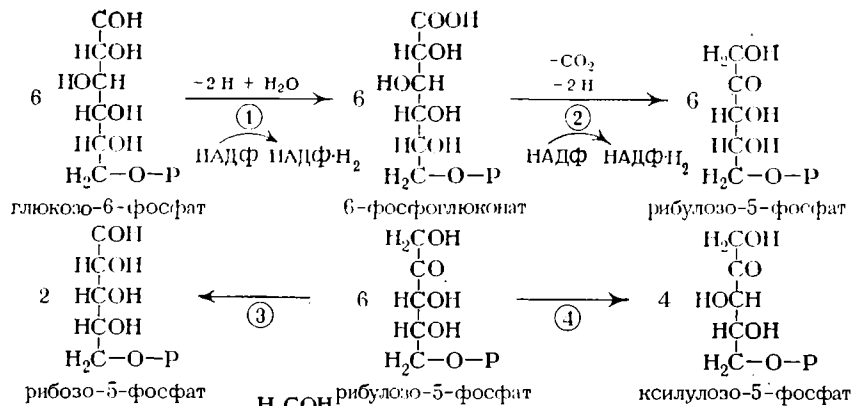
активный гликольальдегид



группа дигидрооксиацетона

Рис. 97. Последовательность реакций апотомического окисления

Ферменты, осуществляющие реакции: 1 — дегидрогеназа глюкозо-6-фосфата, 2 — дегидрогеназа, 6-фосфоглюконата, 3 — фосфопентоизомераза, 4 — фосфопентокетозимераза, 5 — транскетолаза, 6 — трансальдолаза, 7 — транскетолаза, 8 — альдолаза, 9 — фосфатаза



Источниками или акцепторами этих групп могут служить некоторые кетосахара. Донаторами, или веществами воспринимающими группы — сахара в форме альдегидов. Эти ферменты наращивают углеродные цепочки сахаров соответственно на 2 или 3 атома углерода.

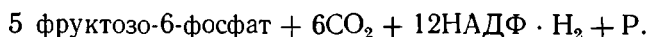
С помощью фермента транскетолазы образовавшиеся пентозы взаимодействуют между собой. Транскетолаза переносит группу активного гликольальдегида от ксилулозо-5-фосфата на рибозо-5-фосфат. В результате образуется семичленный сахар — седогептулозо-7-фосфат и остаток триозо-3-фосфата.

Продукты этой реакции вновь взаимодействуют между собой с помощью трансальдолазы, которая переносит цепочку из трех углеродов от седогептулозы на триозу. Тем самым углеродная цепочка триозы удлиняется на 3 атома, образуется фруктозо-6-фосфат и остаток — четырехчленный сахар эритрозо-4-фосфат.

Эритрозо-4-фосфат реагирует с третьей молекулой пентозы — ксилулозо-5-фосфатом. Эта реакция вновь катализируется транскетолазой. В результате образуется вторая молекула фруктозо-6-фосфата и триозо-фосфат. Два триозофосфата, конденсируясь между собой с помощью альдолазы, дают третью молекулу фруктозы.

На этом этапе заканчиваются превращения гексозомонофосфатного цикла.

Общее уравнение его можно выразить следующим образом:



Апотомическое окисление было открыто в начале 30-х годов у дрожжей и в тканях животных (Warburg, Christian, Griese, 1935; Lipmann, 1936; Dickens, 1936; Энгельгардт и Бархаш, 1938). Исследование этих процессов у высших растений началось значительно позднее. В настоящее время трудно назвать хотя бы одно растение, в тканях которого не удалось бы обнаружить ферменты и промежуточные продукты апотомического окисления; однако вопрос о доле этого окисления в общем дыхании организмов пока еще недостаточно исследован.

Апотомическое окисление имеет огромное значение для пластического обмена. Некоторые из промежуточных продуктов этого окисления играют чрезвычайно важную роль в целом ряде процессов обмена. Такие ферменты, как трансальдолаза и транскетолаза, не строго специфичны к определенной длине углеродной цепочки молекулы вещества, отдающего активную группу и воспринимающую ее. Это открывает бога-

тые возможности для образования соединения с различным количеством атомов в углеродной цепочке.

Из числа промежуточных продуктов особенно важная роль принадлежит пентозе. Апотомическое окисление в организме является единственным поставщиком этого соединения. Пентоза служит обязательной составной частью таких важнейших биологических соединений, как нуклеиновые кислоты, входит в состав многих коферментов дыхания (ди- и трифос-

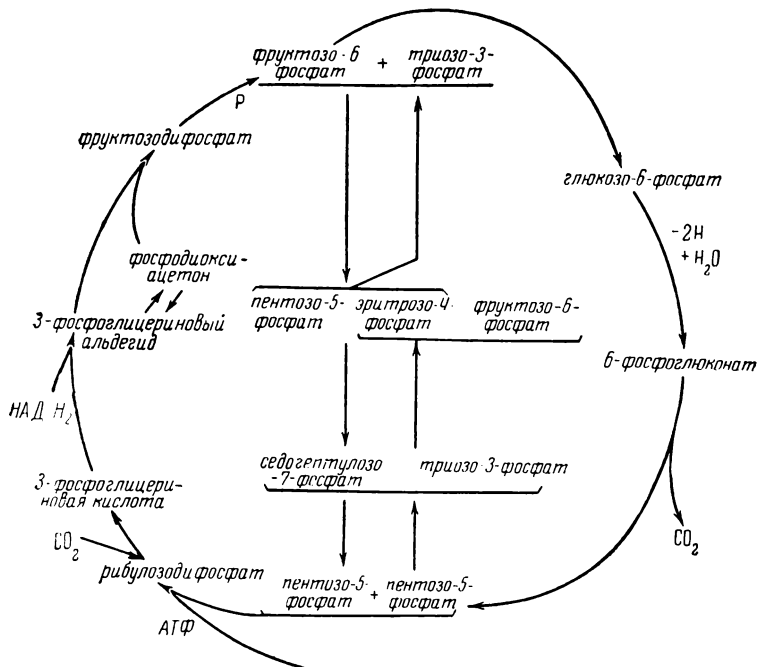


Рис. 98. Апотомическое окисление и фотосинтетический цикл Кальвина

фопиридиннуклеотидов, аденозинтрифосфата и коэнзима А), является простетической группой многих флавиновых ферментов.

С другой стороны, пентоза участвует в процессе фотосинтеза. Она является тем соединением, которое первично воспринимает молекулу углекислого газа. На рис. 98 представлена вся последовательность реакций фотосинтетического цикла согласно одной из наиболее распространенных сейчас схем, представленных М. Кальвином (1957). Рассмотрев эту схему, можно убедиться, что схема фотосинтетического цикла представляет собой точное соответствие цикла апотомии, повернутого в обратную сторону. Единство апотомического

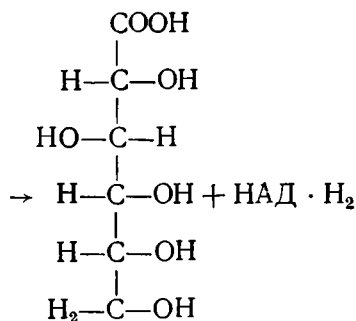
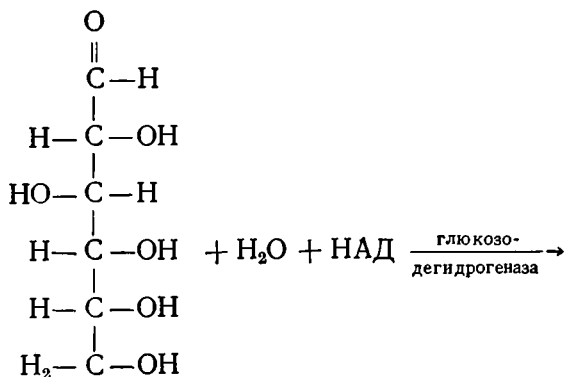
распада с таким важнейшим процессом, каким является для зеленого растения процесс фотосинтеза, свидетельствует о большой биологической значимости этого окисления.

Окисление нефосфорилированной гексозы

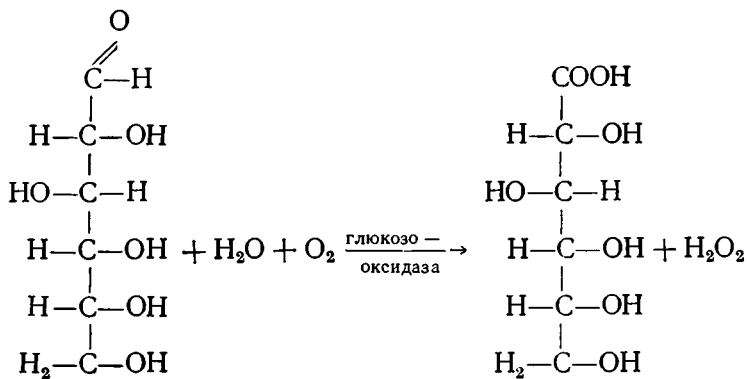
В некоторых организмах (плесневые грибы, дрожжи), а также в некоторых тканях животных изучен путь окисления свободной нефосфорилированной гексозы. Вопрос о присутствии этого окисления в тканях высших растений пока еще не может считаться решенным.

Окисление свободной гексозы может осуществляться двумя различными ферментами: 1) глюкозодегидрогеназой — ферментом, действующим с НАД, причем водород НАД·Н₂ далее передается на цепь промежуточных катализаторов, и 2) глюкозооксидазой — ферментом флавопротеиновой природы, передающим водород непосредственно кислороду воздуха.

Уравнения обеих реакций представлены ниже:



глюконовая кислота



глюконовая кислота

В результате действия обоих ферментов образуется глюконовая кислота.

Биологическая роль и удельный вес этого окисления пока неизвестен.

Мы описали три пути окислительного распада гексозы, встречающиеся в живых организмах: гликолитический распад и следующий за ним лимоннокислый цикл, апотомическое окисление и, наконец, окисление свободной гексозы. Однако трудно представить, что в организме все эти типы окисления протекают независимо друг от друга. Обмен веществ живого организма представляет собой сложную и взаимосвязанную систему, где разные его стороны соприкасаются и промежуточные продукты одних процессов могут служить исходными соединениями для других. Это полностью относится к описанным выше путям дыхания. Например, 3-фосфоглицериновый альдегид, образующийся в качестве промежуточного продукта апотомического окисления, может превращаться в пировиноградную кислоту по схеме гликолиза и далее участвовать в цикле Кребса. Образующаяся при окислении глюкозы глюконовая кислота может фосфорилироваться при участии АТФ и в дальнейшем окисляться по пути апотомического распада. Таких примеров можно привести достаточно много. Все они свидетельствуют о том, что окислительная система растений представляет собой сложную, разветвленную, но тем не менее единую цепь процессов.

Все сказанное выше относилось к окислительному распаду углеводов, которые являются основным субстратом дыхания в тканях высших растений. Однако в процессе дыхания могут превращаться не только углеводы. В настоящее время трудно назвать какое-либо соединение, которое бы не могло участвовать в процессе дыхания. Раньше считалось, что все вещества, прежде чем подвергнуться окислению, должны

превратиться в углеводы и только тогда лишь могут быть использованы как субстрат дыхания. Такая точка зрения сейчас должна быть полностью оставлена. Для большинства соединений растительной клетки открыты пути их прямого окислительного распада без предварительного превращения в углеводы. На каком-то из этапов этих превращений образуются промежуточные продукты, которые способны включаться в главное русло окислительного распада углеводов. Дальнейшее окисление этих продуктов протекает по уже описанным ранее схемам.

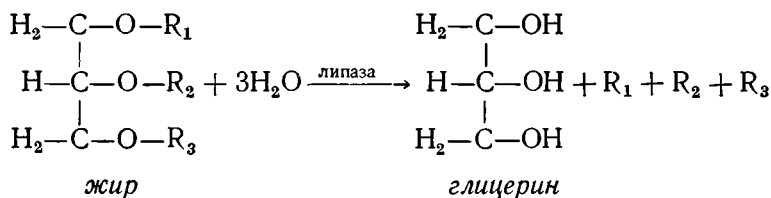
Окислительным превращениям могут подвергаться белки, жиры и другие соединения растительной клетки. Выбор субстрата дыхания определяется видовой специфичностью организма, его возрастными особенностями, а также в большой степени зависит от условий существования.

Мы рассмотрим здесь окислительные превращения жиров и белков, поскольку именно они наряду с углеводами составляют основу растительной клетки.

ОКИСЛЕНИЕ ЖИРОВ

Содержание жира в растениях относительно невелико. Однако в семенах масличных и некоторых бобовых культур накапливаются большие количества жира.

Первичный гидролиз жиров осуществляется ферментом липазой¹, которая разлагает жиры на глицерин и жирные кислоты.



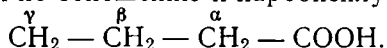
где R_1 , R_2 и R_3 — радикалы жирных кислот.

Образующийся глицерин, окисляясь, может превращаться в 3-фосфоглицериновый альдегид и далее в пировиноградную кислоту по схеме гликолитического окисления.

Важнейшим этапом диссимиляции жирных кислот является путь их окислительного распада, получивший название β -окисления. Этот путь окисления был открыт Кноопом более 50 лет назад в тканях животных. Однако имеются все основания полагать, что он функционирует и в тканях высших растений. β -окислению подвергаются насыщенные жирные кисло-

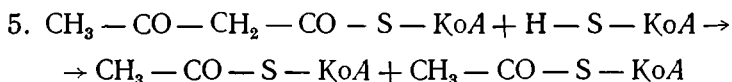
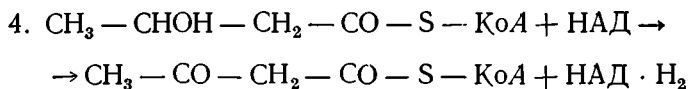
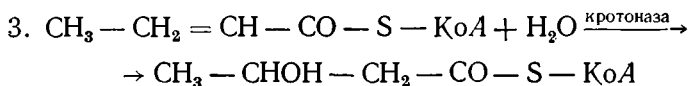
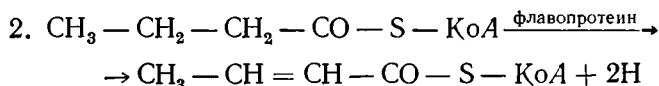
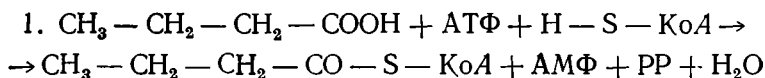
¹ От действия липазы во многом зависит прогоркание муки и крупы при их хранении.

ты, т. е. кислоты, не содержащие в своей молекуле двойных связей. Окисление происходит у атома углерода, находящегося в β -положении по отношению к карбоксилу



Отсюда и название: β -окисление.

Последовательность реакций β -окисления жирных кислот представлена ниже.



Первая стадия заключается в присоединении коэнзима А к молекуле жирной кислоты. Эта реакция требует обязательного участия энергии АТФ. Далее происходит дегидрирование между α - и β -атомами жирной кислоты.

Фермент, осуществляющий эту реакцию, является по природе флавопротеином, содержащим в своем составе медь.

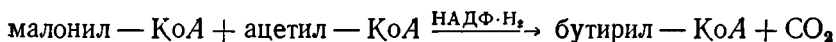
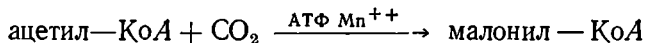
Следующая реакция состоит в присоединении воды по месту образования двойной связи. Эта реакция катализируется ферментом кротоназой.

Затем происходит отнятие водорода у β -углерода молекулы жирной кислоты с помощью дегидрогеназы, специфичной к НАД.

Наконец, происходит заключительный этап расщепления кетокислоты, в результате чего образуется ацетил—КоА и остаток жирной кислоты, присоединивший к себе новую молекулу КоА. Этот остаток содержит на 2 углеродных атома меньше, чем жирная кислота, вступившая в реакцию. Образовавшаяся жирная кислота может вновь окисляться по той же схеме. Так происходит постепенное укорачивание углеродной цепочки жирной кислоты, каждый раз на 2 атома углерода, вплоть до полного ее использования.

Что касается синтеза, то жирные кислоты с относительно короткой цепью (не более 10 углеродных атомов) синтезируют

ются по пути, обратному β -окислению. Однако жирные кислоты с более длинной углеродной цепочкой образуются по иному. Согласно недавно полученным данным (Вакил, 1961), синтез таких кислот осуществляется следующим образом:

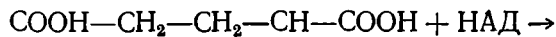


Этот путь биосинтеза включает карбоксилирование ацетил—КоА с образованием малонил—КоА.

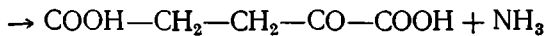
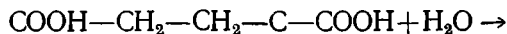
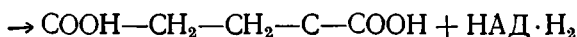
Следует отметить, что ферменты β -окисления сосредоточены в подавляющем большинстве в митохондриях, в то время как ферменты, катализирующие синтез жирных кислот с длинной углеродной цепью, локализованы в цитоплазме.

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ АМИНОКИСЛОТ

Основной путь окисления аминокислот в живом организме—это путь их окислительного дезаминирования. Ниже представлена реакция дезаминирования глутаминовой кислоты:



Глутаминовая кислота

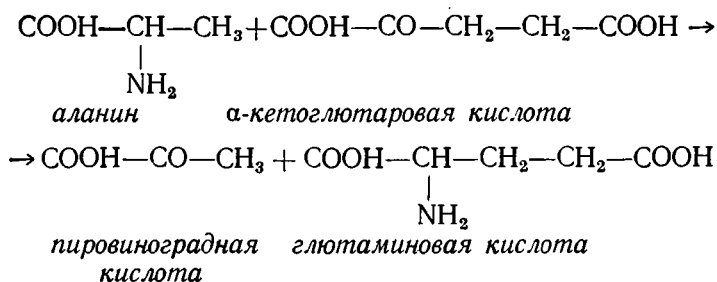


α -кетоглутаровая кислота

Вначале происходит окисление аминокислоты. При этом образуется иминокислота. Далее к иминокислоте присоединяется вода, в результате чего аммиак отщепляется. Продуктами реакции являются аммиак и α -кетоглутаровая кислота. Окислительное дезаминирование в этом случае катализируется глутамикодегидрогеназой, ферментом, специфичным к НАД.

Глутамикодегидрогеназа по своей активности занимает особое место среди дегидрогеназ аминокислот. Она наиболее активна и распространена среди живых организмов.

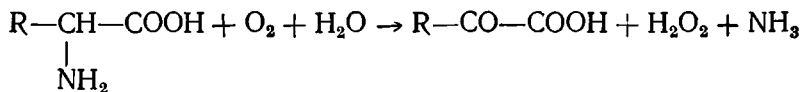
Дегидрогеназы остальных аминокислот значительно уступают ей по своей активности. Этот факт послужил основанием для теории, выдвигаемой А. Е. Браунштейном (1957). Согласно этой теории, для всех аминокислот, кроме глутаминовой, не существует пути прямого окислительного дезаминирования. Эти аминокислоты предварительно подвергаются процессу переаминирования, отдавая свою аминогруппу α -кетоглутаровой кислоте. В результате переаминирования α -кетоглутаровая кислота превращается в глутаминовую, а аминокислота — в соответствующую кетокислоту. Ниже представлен процесс переаминирования между аланином и α -кетоглутаровой кислотой:



Образуемая глутаминовая кислота затем уже подвергается прямому окислительному дезаминированию согласно формуле, уже приведенной выше. Таким образом, оказывается, что глутаминовая кислота занимает в организме особую ключевую позицию, поскольку только через нее может осуществляться окислительное дезаминирование всех остальных аминокислот.

Однако в тканях высших растений В. Л. Кретовичем и сотрудниками (1952) было показано прямое окислительное дезаминирование аспарагиновой кислоты, аланина и гликокола. В результате дезаминирования аспарагиновой кислоты образуется щавелевоуксусная кислота; при дезаминировании аланина — пировиноградная.

Кроме окисления через посредство глутамикодегидрогеназы аминокислоты могут превращаться с помощью особых ферментов флавопротеиновой природы, так называемых оксидаз аминокислот. Эти ферменты также осуществляют процесс окислительного дезаминирования, который протекает по типу описанного выше. Единственное отличие состоит в том, что водород, отнятый от субстрата оксидазой аминокислоты, в этом случае окисляется до перекиси водорода:



В природе растительные и животные белки встречаются в виде *l*-аминокислот. Заметное количество *d*-аминокислот обнаружено в тканях плесневых грибов и бактерий. Казалось бы, следовало ожидать, что в тканях растений и животных широко должна быть представлена *l*-оксидаза аминокислот, а у грибов и бактерий, наоборот, — *d*-оксидаза. Однако на самом деле картина оказывается обратной. У растений и животных, где преобладают *l*-аминокислоты, обнаружены активные *d*-оксидазы аминокислот, в то время как у грибов и бактерий преобладают *l*-оксидазы аминокислот. Это противоречие до сих пор еще не нашло объяснения, вследствие чего роль оксидаз аминокислот пока еще остается неясной.

ФЕРМЕНТЫ ДЫХАНИЯ

Из приведенных выше схем окисления очевидно, что окисление любого вещества начинается с его дегидрирования, т. е. с отнятия водорода (или электрона) от данного соединения с помощью соответствующих дегидрогеназ.

Отнятый водород через целый ряд промежуточных ферментов передается затем на кислород воздуха. При взаимодействии кислорода и водорода происходит образование воды или перекиси водорода.

Однако в живой клетке водород субстрата не может самопроизвольно реагировать с кислородом воздуха. Для того чтобы эта реакция осуществилась, необходимо активировать исходные продукты.

В процессе эволюции дыхания вырабатывались приспособления, позволяющие активировать, с одной стороны, кислород воздуха, с другой — водород дыхательного субстрата.

В обоих случаях активирование осуществляется при участии ферментных систем.

Теория дегидрирования В. И. Палладина. Мысль о дегидрировании как первом этапе окисления органического вещества в процессе дыхания впервые была высказана В. И. Палладиным в 1914 г. Согласно созданной им теории, дыхание осуществляется с помощью специфических посредников, способных к обратимым окислительно-восстановительным превращениям. Этими веществами, которые В. И. Палладин назвал дыхательными хромогенами, служат различные полифенолы, содержащиеся в растениях. При окислении полифенолы превращаются в хиноны, которые были названы В. И. Палладиным пигментами.

Пигменты способны отнимать от субстрата водород, тем самым активируя его. Под влиянием соответствующих ферментов пигменты передают водород кислороду воздуха. Таким образом небольшие количества полифенола и соответ-

ствующее количество хинона могут многократно подвергаться попеременному окислению и восстановлению и благодаря этому выполнять роль связующего звена между водородом субстрата и кислородом воздуха.

В своей теории В. И. Палладин отводит большую роль процессам активирования водорода дыхательного субстрата и его переносу к кислороду с помощью промежуточных окислительно-восстановительных систем.

Считая главным процесс активирования водорода, В. И. Палладин придавал известное значение второй стороне процесса биологического окисления — активированию молекулярного кислорода. Это как раз недоучитывал современник В. И. Палладина биохимик Виланд, опубликовавший свою теорию дегидрирования на полгода позже В. И. Палладина. Виланд считал, что единственным ферментом процесса окисления является дегидрогеназа. По Виланду, если этот фермент оторвет водород от дыхательного субстрата, т. е. активирует его, водород будет способен присоединяться к любому веществу, в том числе и к молекулярному кислороду. Таким образом в теории Виланда, представляющей в целом значительное достижение биохимии, проявилась недооценка процесса активирования кислорода, известного уже тогда из работ А. Н. Баха.

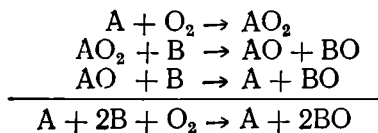
Перекисная теория А. Н. Баха. Теория активирования кислорода была выдвинута А. Н. Бахом (1950). Бах утверждал, что молекулярный кислород способен быть окислителем лишь в том случае, если в его молекуле будет разорвана по крайней мере одна из связей, удерживающих оба атома. Разрыв может легко произойти при взаимодействии кислорода с каким-либо ненасыщенным соединением, в результате чего образуются перекиси типа:



Такой разрыв в молекуле кислорода А. Н. Бах считал более вероятным, чем полное разделение на атомы, поскольку последний процесс требует больших дополнительных затрат энергии.

Таким образом, активирование кислорода в процессе дыхания, согласно А. Н. Баху, осуществляется путем образования перекисей. Перекиси образуются в результате непосредственного присоединения кислорода к молекуле окисляемого вещества.

Образовавшиеся перекиси могут участвовать в окислении других продуктов по схеме:



где В — окисляемое вещество, А — промежуточный продукт реакции, образующий перекись и выполняющий роль катализатора.

В ходе реакции между водородом субстрата и активированным кислородом образуется перекись водорода, которая, в свою очередь, может использоваться в живой клетке для окисления различных соединений. Этот процесс осуществляется с помощью пероксидазы, которую Бах считал важнейшим ферментом окислительной системы живой клетки.

Теория Баха — Палладина сейчас лежит в основе современных представлений о механизме биологического окисления.

Согласно этой теории, сущность дыхания состоит в окислении водорода, оторванного от субстрата дыхания и предварительно активированного с помощью активированного же кислорода воздуха.

Система транспорта водорода (электрона) от молекулы дыхательного субстрата к кислороду воздуха сложна и многоступенчата. Она представляет собой последовательную цепь переносчиков, посредством которой водород транспортируется к кислороду. В растительной клетке существует несколько путей такого переноса. Как правило, каждый из путей включает в себя более двух звеньев переносчиков. Между ферментами, отнимающими водород непосредственно от субстрата, и ферментами, ответственными за его окисление кислородом воздуха, функционируют еще группы ферментов, выполняющие роль промежуточных переносчиков.

Ферменты, отнимающие водород от различных органических соединений, называются дегидразами, или дегидрогеназами. По характеру своего действия они делятся на группу анаэробных и группу аэробных дегидрогеназ.

В следующем разделе дается более подробная характеристика отдельных групп окислительных ферментов.

Анаэробные дегидрогеназы

Анаэробными дегидрогеназами называются дегидрогеназы, не способные присоединять отнятый от субстрата водород (электрон) непосредственно к молекулярному кислороду. Такие дегидрогеназы передают водород соответствующим ферментам, следующим за ними в цепи дыхания.

Анаэробные дегидрогеназы, так же как и остальные окислительные ферменты, являются двухкомпонентными соедине-

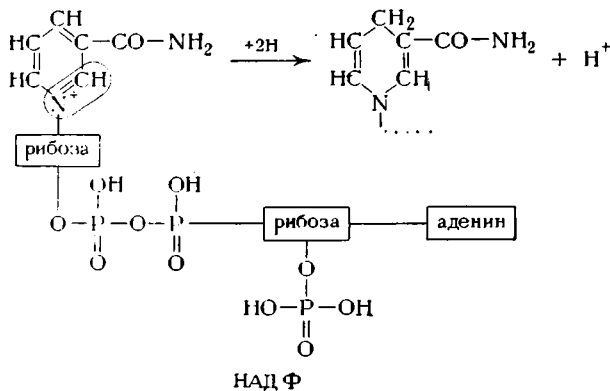
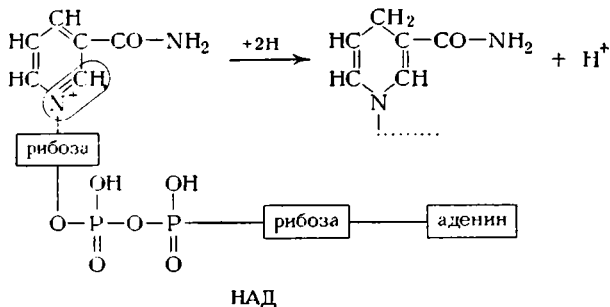
ниями, состоящими из белковой части и активной протетической группы.

Активная группа непосредственно вступает во взаимодействие с субстратом, белковая же часть усиливает каталитические свойства активной группы и определяет собой сродство фермента к субстрату, т. е. его специфичность.

Из числа анаэробных дегидрогеназ в первую очередь следует назвать пиридиннуклеотидные дегидрогеназы, т. е. те, коферментом которых являются пиридиннуклеотиды.

Известно два пиридиннуклеотида: трифосфопиридиннуклеотид (ТПН) и дифосфопиридиннуклеотид (ДПН). Согласно новой номенклатуре ферментов ДПН получил название никотинамидадениндинуклеотида (НАД), а ТПН — никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФ). НАД иначе называют козимазой, или кодегидразой I (Ко I); НАДФ — кодегидразой II (Ко II). Обе кодегидразы имеют сходное химическое строение. Различие состоит в том, что НАДФ содержит на одну группу фосфорной кислоты больше НАД.

Формулы обоих кодегидраз приведены ниже.



В состав обоих коферментов входят 2 молекулы рибозы, адениновое основание, никотинамид и фосфорная кислота.

Непосредственное участие в переносе водорода принимает никотинамид.

Пиридиннуклеотидные ферменты отнимают от дыхательного субстрата 2 атома водорода. Из них к никотинамиду присоединяется только один. Электрон второго атома нейтрализует положительный заряд у атома азота, а оставшийся водородный ион уходит в раствор, закисляя его.

Восстановленные пиридиннуклеотиды имеют отчетливо выраженный максимум поглощения при 340 мкм. Это позволяет следить за их окислительно-восстановительными превращениями с помощью спектрофотометра.

В соединении со специфическими белками пиридиннуклеотиды образуют различные ферменты, способные окислять строго определенные вещества. Специфичность белковой части, как правило, проявляется не только по отношению к субстрату окисления, но и по отношению к самому пиридиннуклеотиду. Существуют ферменты, которые осуществляют свое действие только с НАД, другие — только с НАДФ. Некоторые дегидрогеназы активны как с НАД, так и с НАДФ.

Основные пиридиннуклеотидные дегидрогеназы, обнаруженные в растениях, приведены в табл. 16.

Группа анаэробных дегидрогеназ не ограничивается только пиридиннуклеотидными дегидрогеназами. Сюда же относится и часть дегидрогеназ флавиновой природы.

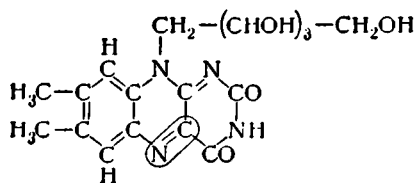
Таблица 16

Пиридиннуклеотидные дегидрогеназы тканей высших растений

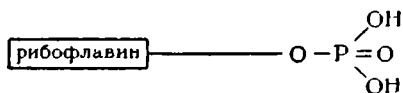
Название фермента	Субстрат окисления	Продукты реакции	Специфичность к пиридиннуклеотиду
Изоцитрикодегидрогеназа	Изолимонная кислота	Щавелево-янтарная кислота	НАДФ
Дегидрогеназа α -кетоглutarовой кислоты	α -Кетоглutarовая кислота	Янтарная кислота и CO_2	НАД
Маликодегидрогеназа	Яблочная кислота	Щавелевоуксусная кислота	НАД, слабее НАДФ
Глютаминкодегидрогеназа	Глютаминовая кислота	α -Кетоглutarовая кислота и NH_3	НАД, слабее НАДФ
Алкогольдегидрогеназа	Этиловый спирт	Уксусный альдегид	НАД, некоторые с НАДФ
Дегидрогеназа глюкозо-6-фосфата	Глюкозо-6-фосфат	6-Фосфоглюконат	НАДФ
Дегидрогеназа 6-фосфоглюконата	6-Фосфоглюконат	Рибулезо-5-фосфат и CO_2	НАДФ
Дегидрогеназа 3-фосфоглицеринового альдегида	3-Фосфоглицериновый альдегид	3-Фосфоглицериновая кислота	НАД, в зеленых листьях—НАДФ
Лактикодегидрогеназа	Молочная кислота	Пировиноградная кислота	НАД, слабее НАДФ

Флавиновые дегидрогеназы, так же как и пиридиннуклеотидные, являются двухкомпонентными ферментами, в которых специфический белок соединен с простетической группой — рибофлавином (витамин В₂). Отсюда и название флавиновых ферментов, или флавопротеины (ФП).

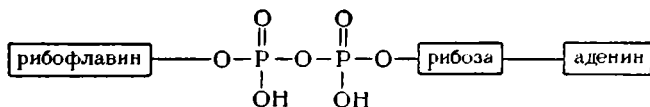
Простетическая группа флавиновых ферментов может быть как в форме флавинмононуклеотида (ФМН), так и в форме флавинадениннуклеотида (ФАД). Эти соединения имеют следующие формулы (место присоединения водорода отмечено кружком):



рибофлавин (витамин В₂)



флавинаденинмононуклеотид



флавинадениндинуклеотид

Флавиновые ферменты, о которых идет речь, не окисляют непосредственно субстрат дыхания. Они отнимают водород от восстановленных пиридиннуклеотидов и передают его на цитохромы, глутатион и некоторые другие вещества, восстанавливая их, поэтому эти ферменты получили также название редуктаз, т. е. ферментов, осуществляющих редукцию — процесс восстановления.

В первую очередь сюда относятся редуктазы цитохрома *c*. В растениях, так же как и в других объектах, обнаружено присутствие двух редуктаз цитохрома. Одна из них переносит к цитохрому *c* электрон от НАДФ·Н₂. В особенно больших количествах этот фермент обнаружен в зеленых листьях растений. Вторая редуктаза отнимает электрон от НАДФ·Н₂ и передает его тому же цитохрому *c*.

К цитохромредуктазам близки диафоразы, которые также окисляют восстановленные пиридиннуклеотиды. Однако

эти ферменты неспособны передавать отнятые электроны цитохромам. Вопрос об акцепторах электронов в случае диафораз пока остается открытым, а их место в цепи окисления до сих пор еще трудно представить.

К числу флавопротеинов, являющихся также промежуточными переносчиками водорода, относится и глутатионредуктаза. Этот фермент восстанавливает окисленный глутатион за счет водорода, отнятого от пиридиннуклеотида.

Группа флавопротеиновых дегидрогеназ не ограничивается перечисленными выше ферментами, не способными передавать свой водород кислороду воздуха. Большинство дегидрогеназ флавопротеинового типа могут отдавать водород как промежуточным переносчикам, так и непосредственно кислороду воздуха. Такие ферменты составляют группу аэробных дегидрогеназ.

Аэробные дегидрогеназы

К группе аэробных дегидрогеназ относится целый ряд важнейших ферментов флавиновой природы.

В эту группу входят оксидазы аминокислот (см. стр. 376), а также глюкозооксидаза. К этой же группе ферментов принадлежит и ксантинооксидаза, окисляющая гипоксантин в мочевую кислоту и играющая большую роль в пуриновом обмене.

Некоторые из оксидаз флавопротеинового типа представлены в табл. 17.

Таблица 17

Оксидазы флавопротеинового типа

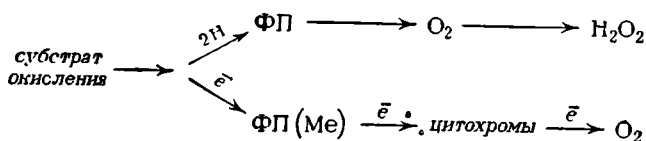
Название фермента	Субстрат окисления	Продукты реакции
Оксидазы аминокислот	Аминокислота	Кетокислота + NH_3 + H_2O_2
Глюкозооксидаза	Глюкоза	Глюконовая кислота + H_2O_2
Ксантинооксидаза	Гипоксантин	Ксантин + H_2O_2
	Ксантин	Мочевая кислота + H_2O_2
Аминоксидаза	Амины ($\text{R}-\text{CH}_2-\text{NH}_2$)	Альдегиды ($\text{R}-\text{CHO}$) + + H_2O_2 + NH_3
НАД·Н ₂ оксидаза	НАД·Н ₂	НАД + H_2O_2
НАДФ·Н ₂ оксидаза	НАДФ·Н ₂	НАДФ + H_2O_2
Оксидаза гликолевой кислоты	Гликолевая кислота	Глиоксальная кислота + H_2O_2

Аэробные дегидрогеназы флавопротеинового типа при взаимодействии с кислородом воздуха образуют перекись водорода, а не воду, как обычные оксидазы.

В литературе часто встречается термин «остаточное дыхание». Под этим названием обычно понимают ту часть дыхания, которая не подавляется ингибиторами металлосодержащих ферментов (цианидом, азидом натрия, фтористым натрием).

До настоящего времени считалось, что ферменты флавиновой природы не содержат в своем составе металлов. Поэтому величину остаточного дыхания принимали как показатель суммарной активности флавопротеиновых ферментов. Однако в самое последнее время благодаря исследованиям Малера (Mahler, 1956) удалось установить, что в составе протетической части целого ряда ферментов этой группы имеется металл. К таким ферментам относятся: 1) ксантиноксидаза, содержащая молибден, 2) бутирил-КоА-дегидрогеназа, в составе которой находятся медь и другие ферменты.

Было высказано предположение, получающее сейчас все более полное экспериментальное подтверждение, согласно которому флавопротеиновые ферменты могут участвовать в окислительно-восстановительной цепи дыхания двумя способами. С одной стороны, они могут окислять субстрат и передавать затем водород непосредственно кислороду воздуха. В превращениях такого рода металлы не участвуют. Однако у флавопротеиновых оксидаз существует еще одна возможность окисления, связанная с цитохромной системой. В этом случае речь идет о передаче электрона. Отнятый электрон передается на флавопротеин, восстанавливая содержащийся в нем металл. Следующим акцептором служит цитохромная система, с помощью которой электрон передается кислороду воздуха. Все это может быть представлено в виде следующей схемы:



Первый путь передачи водорода кислороду устойчив к действию различных ингибиторов металлов. Транспорт же электронов через цитохромную систему подавляется этими соединениями.

Возможно, что при неблагоприятных для дыхания условиях, когда деятельность цитохромной системы подавлена, окисление осуществляется обходным путем, минуя цитохромы. Этим значительно расширяются адаптивные возможности растения, что позволяет ему приспособиться к колебаниям условий среды.

Оксидазы

Помимо группы дегидрогеназ в растениях присутствуют многочисленные оксидазы, т. е. ферменты, способные передавать водород (электрон) только кислороду воздуха. Поскольку эти ферменты заканчивают собой цепь передачи водорода, они иначе называются ферментами завершающих этапов окисления, или терминальными оксидазами.

В этом разделе мы рассмотрим основные терминальные оксидазы, функционирующие в тканях растений: системы цитохромов и цитохромоксидазы, полифенолоксидазы и аскорбиноксидазу.

Цитохромная система

В 1925 г. Кейлин (Keilin, 1925) обнаружил в целом ряде аэробных организмов соединения, названные им цитохромами. При этом он не только описал главнейшие свойства цитохромов, но и показал, что эти соединения участвуют в дыхании, действуя на этапе между дегидрогеназами и кислородом воздуха.

Исследования последующих лет подтвердили, что цитохромы встречаются почти во всех организмах.

Цитохромы представляют собой двухкомпонентные ферментные системы, состоящие из белка и протетической группы, близкой по природе к гемоглобину.

Основу строения цитохромов составляет порфириновое ядро, которое лежит также в основе молекулы хлорофилла и входит в состав таких ферментов дыхания, как каталаза и пероксидаза.

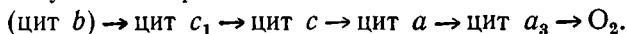
В центре порфиринового ядра цитохромов находится железо. Изменение валентности железа от двух до трех ($Fe^{++} \xrightarrow{\dot{e}} Fe^{+++}$) и определяет собой окислительно-восстановительные свойства цитохромов.

Окисленная форма цитохромов воспринимает электрон от водородного атома, отнятого флавиновой или пиридиннуклеотидной дегидрогеназой от молекулы окисляемого субстрата. При этом водородный атом превращается в ион. После восприятия электрона трехвалентное железо, содержащееся в составе окисленного цитохрома, переходит в двухвалентное. Далее под влиянием цитохромоксидазы электрон передается молекулярному кислороду, тем самым активируя его. Активированный кислород приобретает способность реагировать с ионизированными водородными атомами, образуя воду. Таким образом, система цитохромов является акцептором не водородных ионов, а служит лишь акцептором и переносчиком электронов.

В природе существует несколько форм цитохромов. Кейлин открыл и идентифицировал три цитохрома, а именно —

цитохромы *a*, *b*, *c*. Позднее был открыт четвертый член этой серии — цитохром *c*₁. Все цитохромы образуют последовательный ряд переносчиков, с помощью которых электрон транспортируется к кислороду воздуха.

Современное представление об этой последовательности можно получить из приведенной ниже схемы:



Фермент, окисляющий цитохром *c* и с его помощью восстанавливающий молекулярный кислород, получил название цитохромоксидазы. Кейлин считал, что этот фермент состоит из двух цитохромов *a* и *a*₃. Однако некоторые исследователи не считают доказанным существование в составе цитохромоксидазы двух цитохромов и обозначают этот фермент как цитохром *a*.

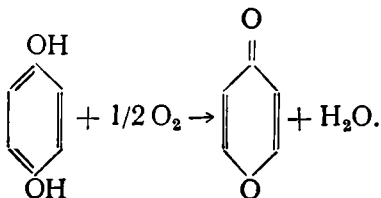
Цитохром *a* представляет собой Cu-гемопrotein, поскольку в его составе обнаружена медь. Физическими и химическими методами была показана способность меди в этом комплексе к быстрым окислительно-восстановительным превращениям. Вполне возможно, что медь является каталитическим звеном, связывающим группу гема и молекулярный кислород.

Цитохромоксидаза полностью угнетается моноокисью углерода (СО). Это угнетение обратимо и может быть снято с помощью света. Ингибирование моноокисью углерода является реакцией, специфичной для цитохромов, и часто применяется исследователями для определения участия цитохромов в дыхании.

У млекопитающих цитохромная система является господствующей терминальной системой окисления. Вопрос об удельном весе системы цитохромов в дыхании растительных организмов оказался много сложнее. Одно время высказывались сомнения в преобладающей роли цитохромов в окислительно-восстановительных процессах растительных тканей. В настоящее же время, напротив, все больше распространяется мнение о ее исключительной роли в дыхании растений. Однако с такой точкой зрения трудно согласиться — ей противоречат одновременное присутствие в клетках других оксидаз, частичная или полная инактивация цитохромоксидазы, отмеченная на разных фазах развития растений, а также данные по зависимости действия отдельных оксидаз от ряда факторов среды, о чем будет сказано ниже.

Полифенолоксидаза

Полифенолоксидаза — это фермент, окисляющий фенолы и их производные в хиноны в присутствии молекулярного кислорода. Реакция протекает по следующему уравнению:



Предполагают, что в основе действия полифенолоксидазы лежит обратимое превращение одновалентного атома меди в двухвалентный. В зависимости от природы окисляемого субстрата различают монофенолоксидазу, или тирозиназу, и полифенолоксидазу.

В настоящее время известно, что ферменты, катализирующие одну и ту же реакцию и объединяющиеся под общим названием, в ряде случаев представляют собой группу катализаторов, отличающихся по ряду свойств. Основываясь на отношении к окисляемому субстрату, Бооркман и Гольмгрен (Bjorkman, Holmgren, 1960) предположили, что в листьях золотарника существует не менее двух различных ферментов с полифенолоксидазной функцией.

Трудно с уверенностью сказать, имеем ли мы дело во всех подобных случаях с различными индивидуальными ферментами. Не исключена возможность, что свойства определенного фермента могут изменяться в зависимости от его локализации. В 1960 г. были опубликованы данные (Mauger, Freind, 1960) о распределении фенолазной активности по клеточным структурам листьев сахарной свеклы. Установлено, что в зависимости от локализации фермента изменяется его отношение к субстрату. Так, способность окислять катехин присуща ферменту, находящемуся в растворенном состоянии, тогда как фермент, локализованный на клеточных структурах, обладает лишь небольшой оксидазной активностью в отношении катехина. Окисление крезола осуществляется в основном ферментом, адсорбированным на хлоропластах. Чувствительность фенолаз к ряду ингибиторов также изменяется в зависимости от места локализации.

Эти данные позволили авторам предположить, что они имели дело с фенолазами различного типа. Однако возможные и иные объяснения наблюдаемых явлений.

Так, согласно имеющимся данным (Szarkowski, 1957), полифенолоксидаза зерен ржи обладает центрами активности двух типов — полифенол- и монофенолоксидазными. У свежеубранного зерна монофенолоксидазный центр блокирован пептидом или белком и в процессе хранения постепенно освобождается за счет идущих в зерне протеолитических процессов. Того же результата можно добиться путем обработки неочищенного ферментного препарата трипсином.

Издавна считалось, что в растительных объектах полифе-

нолоксидаза является одной из основных оксидаз завершающих этапов окисления.

Однако в последнее время некоторые авторы настаивают на исключении полифенолоксидазы из числа ферментов дыхания. По их мнению, полифенолоксидаза является своего рода аварийным ферментом, который вступает в действие при расстройстве отдельных звеньев дыхательного процесса. Такая декомпенсация возникает при нарушении структуры тканей, физиологических расстройствах, при внедрении в ткань растения паразитарных микроорганизмов.

Основанием для отрицания участия полифенолоксидазы в цепи дыхания служит факт, что этот фермент до сих пор еще не удается обнаружить в митохондриях растений.

Сторонники этой теории считают, что главной транспортной системой электронов в растениях служат цитохромы.

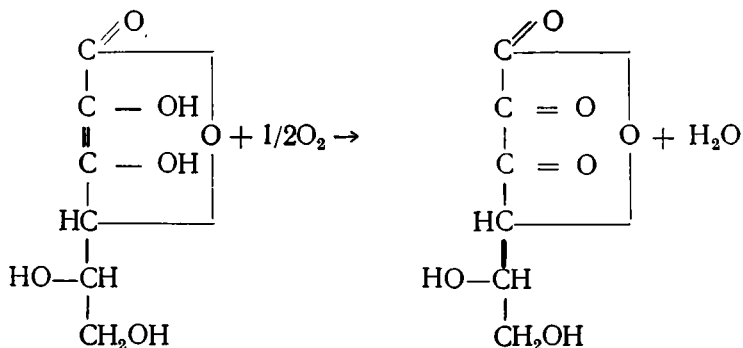
Однако широкое распространение цитохромной системы в тканях высших растений еще не является достаточной причиной для того, чтобы считать ее единственной терминальной системой, полностью исключаящей все остальные.

Несмотря на имеющиеся сомнения, пока еще рано вычеркивать столь мощную окислительную систему растительной ткани, каковой является полифенолоксидаза, из числа завершающих систем цепи дыхания.

Аскорбиноксидаза

Аскорбиноксидаза окисляет аскорбиновую кислоту в присутствии молекулярного кислорода.

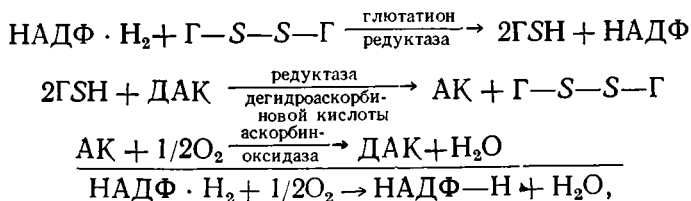
В результате образуется дегидроаскорбиновая кислота согласно следующей реакции:



Имеются все основания полагать, что система *аскорбиновая кислота* — *аскорбиноксидаза* участвует в процессе дыхания высших растений.

В растительных тканях окисление аскорбиновой кислоты, как правило, сопряжено с системой восстановления окисленного глутатиона.

Это можно себе представить следующим образом:



где Г—S—S—Г—окисленный глутатион; GSH—восстановленный глутатион; ДАК — дегидроаскорбиновая кислота; АК — аскорбиновая кислота.

Помимо перечисленных выше истинных оксидаз, использующих для окисления молекулярный кислород, в растении существует еще одна система терминального окисления. Речь идет о пероксидазе, действию и свойствам которой посвящен следующий раздел.

Пероксидазная система

Пероксидаза — это фермент, способный окислять различные соединения с помощью активированного кислорода перекисей. Реакция протекает по следующему уравнению: $\text{AH}_2 + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{A} + 2\text{H}_2\text{O}$, где AH_2 является субстратом окисления.

В организме могут встречаться два вида перекисей: перекись водорода и различные органические перекиси.

Как мы уже упоминали, перекись водорода образуется при функционировании дегидраз флавопротеинового типа. Существуют все основания полагать, что пероксидаза может использовать перекись, образующуюся при взаимодействии флавопротеинов с кислородом воздуха. Поэтому система пероксидазы в целом ряде случаев оказывается сопряженной в своем действии с флавопротеинами.

Из числа органических перекисей особенное значение имеют перекисные формы хинонов, а также перекиси ненасыщенных соединений: ненасыщенные жирные кислоты, терпены, каротиноиды. Эти перекиси также могут быть использованы пероксидазой.

Что касается субстратов окисления, то ими могут быть полифенолы, аскорбиновая кислота, некоторые аминокислоты и амины, цитохром *c*. Фермент, окисляющий цитохром *c* и использующий при этом кислород перекисей, получил название цитохромпероксидазы. Он присутствует в дрожжах и в самое последнее время обнаружен в тканях высших растений.

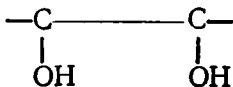
Теорелль (Theorell, 1942), впервые выделив из корней хрена кристаллическую пероксидазу, показал, что по электрофоретическим и некоторым другим свойствам этот препарат (пероксидаза II) существенно отличается от некристаллизуемой части (пероксидазы I). (Jermin, Thomas, 1954), используя метод электрофореза на бумаге, разделили пероксидазу хрена сначала на 4, а затем на 5 компонентов, обладающих различным отношением к субстрату. Соотношение между отдельными компонентами варьировало в зависимости от времени года.

Пероксидаза относится к числу ферментов, широко распространенных в тканях высших растений. Этот фермент, так же как и цитохромы, представляет собой двухкомпонентное соединение, активную группу которого составляет железопорфирин¹.

Согласно недавним исследованиям Ленинжера (Neubert, Wojtczak, Lehninger, 1962), каталаза и пероксидаза содержатся в митохондриях печени крысы, участвуя в сокращениях последних. Таким образом, не исключена возможность, что оба эти фермента принимают участие в механизмах сопряжения энергии.

Липоксидаза

По механизму своего действия липоксидаза близка к пероксидазе. Она катализирует непосредственное присоединение кислорода воздуха к молекуле ненасыщенных жирных кислот по месту двойной связи, что доказано на основании опытов с меченым кислородом. В результате образуется гидроперекись типа:



¹ Интересно, что точно такую же простетическую группу имеет другой фермент — каталаза. Таким образом, различия в свойствах каталазы и пероксидазы объясняются различиями в свойствах белков, связанных с одной и той же активной группой.

Каталаза не относится к числу оксидаз. Этот фермент разлагает перекись водорода на воду и молекулярный кислород по следующему уравнению: $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$.

Биологическая роль каталазы до сих пор еще представляется недостаточно ясной. В литературе имеются указания, что этому ферменту свойственны пероксидазные функции. Так, при низких концентрациях кислорода каталаза способна осуществлять пероксидазную реакцию восстановления перекиси за счет электронов некоторых соединений, таких, как альдегиды, некоторые ароматические амины и др. С другой стороны, имеется точка зрения о защитной роли каталазы, предохраняющей клетку от вредного действия непрерывно образующейся перекиси водорода. Нельзя также недооценивать значения каталазы как источника кислорода для тех участков растительной ткани, куда доступ его из атмосферы затруднен и где концентрация кислорода много ниже, чем это требуется для нормального течения процессов окисления.

Гидроперекиси обладают высокой окислительной способностью и могут вторично окислять полифенолы, аминокислоты, аскорбиновую кислоту, хлорофилл, каротиноиды и новые порции ненасыщенных жирных кислот. Таким образом, ненасыщенные жирные кислоты в сочетании с липоксидазой могут служить мощной системой для окисления самых разнообразных соединений.

Липоксидаза широко распространена в растениях. Высоко активная липоксидаза обнаружена среди растений семейства бобовых (в этом отношении особенно выделяется соя). Этот фермент присутствует и у других растений: у клубней картофеля, в зеленых листьях моркови, свеклы.

Вызываемое липоксидазой разрушение каротиноидов играет существенную роль в процессе сушки и хранения целого ряда продуктов растительного сырья.

По своей химической природе липоксидаза еще недостаточно изучена. Известно лишь, что она представляет собой специфический белок, не содержащий в своем составе железа или меди.

На основании всего сказанного выше можно заключить, что в тканях растений существует не одна, а несколько систем, осуществляющих терминальные этапы окисления. В этом растительные ткани отличаются от тканей млекопитающих, где главной завершающей системой окисления является цитохромоксидаза. Наибольшее сходство с растениями в отношении завершающих оксидаз имеют те виды животных, которые не обладают хорошо развитой кровеносной системой и постоянной температурой тела. У этих организмов комплекс оксидаз также характеризуется многокомпонентностью, непостоянством и высокой подвижностью. Так, дыхание эмбрионов кузнечика во время диапаузы полностью резистентно к цианиду, тогда как на других фазах развития (для которых характерна более высокая интенсивность дыхательного газообмена) значительная часть дыхания подавляется дыхательными ядами (Bodine, Boell, 1934). Возрастные изменения в системе катализаторов дыхания обнаружены у мясной мухи, у которой в предкуколичной и куколичной стадиях развития значение цитохромоксидазы значительно снижается при одновременном возрастании активности тирозиназы (Karlsom, Wecker, 1955) и т. п.

В мозге всех водных холоднокровных позвоночных и у некоторых амфибий доказано наличие цитохромоксидазы, однако цитохромы у них практически отсутствуют, с чем и связана ничтожно малая активность цитохромной системы в целом.

Формирование полной цитохромной системы приурочено к более поздним этапам эволюции и было обусловлено, по видимому, переходом животных к наземному образу жизни.

Одновременно происходило падение роли анаэробных окислительных процессов, на долю которых у водных позвоночных, развивающихся в условиях затрудненного доступа кислорода, приходится существенная часть энергетического обмена мозга (табл. 18).

Таблица 18

Дыхание, анаэробный гликолиз и цитохромоксидаза мозга позвоночных (средние данные на 1 мг сухого веса при t 37°)
(по Вержбинской, 1954)

Объект исследования	Дыхание, <i>мкл</i> <i>О₂/час</i>	Анаэробный гликолиз, <i>мкл</i> <i>О₂/час</i>	Цитохромок- сидаза, <i>мкл</i> <i>О₂/час</i>
Многа	—	—	16,5
Рыбы	3,8	18,8	44,5
Амфибии	6,1	18,4	20,0
Рептилии	8,7	16,6	67,3
Птицы	12,0	10,3	189,3
Млекопитающие	10,4	8,5	146,0

Параллельно усложнению строения организма животных происходила стабилизация условий среды во внутренних тканях. Млекопитающие, обладающие высокоразвитыми нервной и кровеносной системами, характеризуются постоянством температуры тела и парциального давления кислорода в дышащих клетках. Это привело к упрощению окислительных ферментных систем. Действительно, у высших животных, особенно в таких специализированных тканях, как мозг и скелетная мускулатура, доминирующая роль в аэробном окислении принадлежит цитохромной системе, являющейся в этом случае единственной терминальной оксидазой.

Даже в пределах одного организма отдельные органы и ткани животного могут отличаться по характеру окислительно-восстановительной системы. Например, в хрусталике глаза, не имеющем кровеносных сосудов, доминирующая роль принадлежит не цитохромоксидазе, а гексозомонофосфатному пути окисления глюкозы (Бранд, 1951).

Из приведенных материалов следует, что наличие у зеленых растений сложной многокомпонентной системы оксидаз является весьма важным приспособительным свойством, отвечающим специфическим особенностям строения этих организмов и условиям среды, к которым приурочена их жизнедеятельность.

Способность зеленых растений осуществлять нормальное развитие при непрерывной смене условий температуры, освещения, влажности и т. д. обеспечивается закономерными из-

менениями в каталитическом аппарате и, в частности, в системе окислительных ферментов.

При изменении соотношений между отдельными оксидазами на первом месте оказывается тот из ферментов, для которого существующие условия оказываются наиболее близкими к оптимальным.

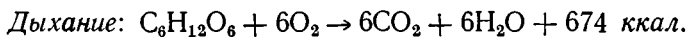
Очевидно, именно эта форма приспособления в ходе эволюции оказалась наиболее действенной, наиболее отвечающей задаче сохранения единства организмов с условиями их жизни.

ЭНЕРГЕТИКА ДЫХАНИЯ

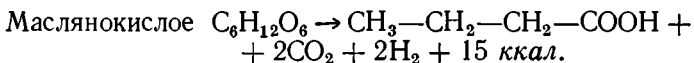
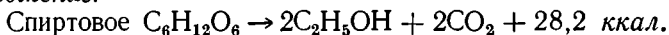
Дыхание является основным поставщиком энергии, необходимой организму, т. е. составляет энергетическую основу жизни. Эта сторона процесса дыхания никогда не вызывала сомнения исследователей. Однако долгое время оставались загадочными пути и механизмы, с помощью которых в клетке происходит запасание и использование энергии дыхания. Значительные успехи в этой области знания были сделаны лишь в самое последнее время. Полученные результаты в известной степени проливают свет на проблему биоэнергетики и позволяют обобщить те знания, которыми располагает наука в этой области.

Основное количество необходимой организму энергии реализуется в акте аэробного дыхания. Различного рода брожения, протекающие в анаэробных условиях, являются энергетически значительно менее выгодными.

Ниже приведены уравнения дыхания и основных видов брожений с указанием свободной энергии, выделяющейся в результате окисления одной молекулы гексозы.



Брожение:



Сравнивая эти уравнения, можно видеть, что выход энергии в присутствии O_2 в 25 и более раз больше соответствующего выхода в условиях анаэробных. Большой энергетический выход дыхания свидетельствует о том, что функция аэробного окисления является эволюционно более совершенной. Она возникла вместе с появлением в атмосфере свободного кислорода. Результатом этого явилось резкое повышение энергетического уровня жизни, что обеспечило организму возможность неизмеримо более эффективно использовать энергию

органического вещества, сжигая его полностью до H_2O и CO_2 .

Вторым большим преимуществом аэробного обмена по сравнению с процессами брожения является то, что в окислительном метаболизме этого типа в качестве субстрата дыхания помимо углеводов могут быть использованы также и другие соединения живой клетки, в частности белки и жиры. Об использовании этих соединений в качестве источников энергии в процессах анаэробного обмена пока еще ничего не известно.

Возникновение новой функции аэробного дыхания не было связано с утратой систем, катализирующих дыхание анаэробное. Подавляющее большинство ныне существующих растительных организмов обладают способностью осуществлять как брожение, так и дыхание, реализуя ту или иную возможность в зависимости от условий окружающей среды и в первую очередь от условий кислородного снабжения.

Каждое из названных двух механизмов образования энергии имеет ряд преимуществ перед другим: окисление отличается экономичностью и большей эффективностью, в то время как брожение — независимостью от кислорода и меньшей чувствительностью к повреждающим агентам.

Сохраняя ферментные механизмы как дыхательного, так и бродильного процессов, большинство аэробных организмов в нормальном физиологическом состоянии, как правило, не используют их одновременно. В присутствии кислорода один из механизмов (брожение) обычно резервируется. Существование наряду с энергетически высоко эффективным процессом дыхания другого, резервного процесса свидетельствует о том, что постоянство внутренней среды организма не является абсолютным. Не исключено, что отдельные ткани организма могут попадать в условия, неблагоприятные для процесса дыхания. Поэтому едва ли правильно рассматривать способность тканей осуществлять ферментацию как рудимент, постепенно исчезающий в процессе эволюции. Более вероятно, что этот механизм помогает организму приспосабливаться и выживать при изменении условий среды.

Сказанное особенно относится к растительным организмам, процессы обмена которых во многом зависят от условий окружающей среды. Растения не имеют постоянной температуры тела и лишены способности передвигаться, а следовательно, вынуждены приспосабливаться к температурным условиям, изменениям атмосферного давления и прочим факторам внешней среды.

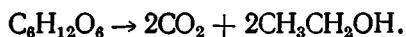
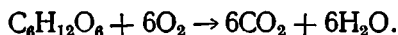
В аэробных условиях субстрат дыхания расходуется значительно более экономно, чем в отсутствие кислорода. Для получения одного и того же количества энергии в анаэробных условиях приходится затратить много больше дыхатель-

ного субстрата, чем в присутствии O_2 . Это объясняется тем, что в процессе дыхания субстрат окисляется полностью до уровня углекислого газа и воды, в то время как при брожении образуются неполностью окисленные продукты, содержащие в себе большие запасы нереализованной энергии.

Процесс дыхания и процесс брожения в нормально функционирующей клетке во многих случаях не осуществляются одновременно.

В своих классических исследованиях по спиртовому брожению дрожжей Пастер впервые показал, что кислород подавляет процесс брожения. В присутствии O_2 дрожжи не образовывали спирта и глюкоза окислялась полностью до CO_2 и H_2O . В результате потребность клетки в энергии целиком удовлетворялась при использовании значительно меньшего количества субстрата, чем это имело место в процессе брожения. Это явление было названо Варбургом «пастеровский эффект». Сейчас под названием «пастеровский эффект» обычно понимают угнетение брожения в присутствии O_2 и связанное с этим более экономное расходование субстрата окисления. Другими словами, пастеровский эффект имеет место в тех тканях, которые неспособны осуществлять процесс брожения в аэробных условиях. В том же случае, если в клетках в присутствии O_2 продолжается процесс ферментации (в этом случае он называется процессом аэробного брожения), считается, что эффект Пастера отсутствует.

Вопрос о наличии либо отсутствии пастеровского эффекта наиболее наглядно можно решить при сопоставлении уравнений дыхания и брожения:



Сравнивая обе реакции, мы видим, что при использовании одной молекулы гексозы в процессе дыхания выделяется в три раза больше углекислого газа, чем при брожении, т. е.

$$\frac{CO_2, \text{ выделившийся в анаэробных условиях в результате брожения}}{CO_2, \text{ выделившийся на воздухе в процессе дыхания}} = 1/3.$$

В том случае, когда брожение не подавляется в присутствии кислорода, в тканях возникает процесс аэробной ферментации. При этом количество углекислого газа в знаменателе отношения, приведенного выше, возрастает, поскольку углекислый газ, выделяющийся при дыхании, суммируется с CO_2 , образующимся в процессе аэробной ферментации. В результате величина отношения становится меньше $1/3$.

Таким образом, величина отношения

$$\frac{\text{CO}_2 \text{ ферментации}}{\text{CO}_2 \text{ дыхания}} < 1/3$$

означает, что брожение не подавляется в присутствии O_2 . В таких тканях идет процесс аэробного брожения, и пастеровский эффект отсутствует.

В литературе иногда пользуются обратной величиной отношения, а именно:

$$\frac{\text{CO}_2, \text{ выделенный при дыхании}}{\text{CO}_2, \text{ выделенный при брожении}}$$

В этом случае показателем отсутствия пастеровского эффекта служит величина отношения > 3 .

Так (в значительной мере упрощенно) можно представить сущность пастеровского эффекта. Следует заметить, что такого рода отношение справедливо лишь в том случае, если в тканях происходит спиртовое брожение или брожение до уровня двухуглеродных продуктов. Если же конечным продуктом распада является трехуглеродное соединение типа молочной кислоты, образования углекислого газа вообще не происходит.

Это видно из уравнения молочнокислого брожения:



В таком случае о наличии пастеровского эффекта можно судить по отношению конечных продуктов брожения.

Явление пастеровского эффекта со времени его открытия всегда привлекало внимание биохимиков. Предпринимались неоднократные попытки расшифровать природу пастеровского эффекта, определить фактор, его вызывающий. Было создано несколько десятков теорий, каждая из которых пыталась объяснить сущность этого явления.

Все ныне существующие теории можно разбить на две группы. Первая, впервые предложенная Мейергофом, утверждает, что продукты брожения в присутствии кислорода вновь превращаются (ресинтезируются) в углеводы. По Мейергофу, брожение в аэробных условиях не прекращается, однако ресинтез не позволяет уловить его конечные продукты. Эта теория в настоящее время полностью отвергнута.

Теории второго рода предполагают, что дыхание оказывает прямое тормозящее влияние на процессы брожения. Сюда относится теория Липмана — Варбурга (Warburg, 1926; Lipmann, 1933, 1942), которые считают, что ферменты брожения активны только лишь в восстановленном состоянии, по-

скольку кислород воздуха через посредство особого железосодержащего фермента оказывает на них подавляющее влияние. Более точно место приложения пастеровского эффекта не конкретизировалось.

Попытка такой конкретизации была предпринята В. А. Энгельгардтом и Н. Е. Саковым (1943), которые поставили своей задачей непосредственно определить то конкретное звено гликолиза, на которое воздействует кислород воздуха. Как показали их опыты, таким уязвимым звеном является фермент фосфогексокиназа, катализирующий перенос фосфора от аденозинтрифосфата на фруктозо-6-фосфат. Этот фермент оказался чувствителен не только к кислороду, но и к другим окислителям. Согласно теории, предложенной этими авторами, подавление брожения на уровне глюкозо-6-фосфата направляет гексозу по другому пути, а именно — по пути гексозомонофосфатного, или апотомического, окисления.



Теория В. А. Энгельгардта и Н. Е. Сакова чрезвычайно заманчива своей простотой. Тем не менее в настоящее время она не может считаться приемлемой, поскольку показано, что апотомическое окисление не является доминирующим окислением в живом организме.

Удовлетворительное объяснение пастеровского эффекта было предложено Линеном (Lunen, 1941) и Реккером (Racker, Wu, 1959). Однако, поскольку упомянутая теория связывает явление пастеровского эффекта с процессами фосфорилирования, мы остановимся на ней при дальнейшем изложении.

Пастеровский эффект широко распространен в тканях растительных организмов. Однако степень его выраженности в различных объектах широко варьирует. Очень многие растения даже в условиях хорошей аэрации способны накапливать в своих тканях спирт. Это особенно относится к тканям, находящимся в неблагоприятных условиях. Сейчас уже можно бесспорно утверждать, что механическое и химическое повреждение тканей, облучение, заболевание, старение, дегенерация вызывают появление в них процессов аэробной ферментации.

ОКИСЛЕНИЕ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА В ЖИВОЙ КЛЕТКЕ. ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ

Окисление органического вещества живой клетки в акте дыхания на первый взгляд в какой-то степени аналогично процессу его сгорания вне организма.

Действительно, окисление одной грамм-молекулы глюкозы в процессе дыхания и сжигание ее в калориметрической бомбе приводит к образованию одних и тех же конечных продуктов — воды и углекислого газа, и выделению одного и того же количества энергии — 674 ккал. Однако на этом аналогия заканчивается. Окисление органического вещества в живой клетке характеризуется целым рядом особенностей, которые присущи лишь энергетике живых организмов. Эти особенности выработались в процессе длительного эволюционного развития органического мира и направлены на максимально полное использование энергии, заключенной в органическом веществе.

По современным представлениям процесс окисления не обязательно заключается в присоединении кислорода к окисляемому веществу, так же как восстановление — не только в присоединении водорода. Установлено, что при окислительно-восстановительных процессах происходят изменения в электронной оболочке реагирующих молекул. В общем виде можно принять, что отнятие электрона от субстрата составляет процесс окисления, в то время как присоединение электрона есть процесс восстановления.

Вещества, которые принимают участие в окислительно-восстановительных процессах, протекающих в живой клетке, обладают способностью отдавать и присоединять электроны. Легкость, с которой электроны отдаются или присоединяются, зависит от окислительно-восстановительной способности этих веществ, т. е. от их окислительно-восстановительного потенциала. Таким образом, величина потенциала характеризует способность вещества к окислению или восстановлению в определенных условиях.

Высоким окислительно-восстановительным потенциалом обладают сильные окислители, т. е. вещества, способные отнимать электрон от других соединений, сами при этом восстанавливаясь. Низкий потенциал свойствен восстановленным соединениям, которые легко отдают электрон и окисляются при этом сами. Самым низким потенциалом обладает водород, самым высоким — кислород. Остальные соединения по величине своего потенциала занимают промежуточное положение.

Каждое соединение, способное к окислительно-восстановительным реакциям, находится в растворе в виде двух форм: окисленной и восстановленной. Соотношение этих форм

в растворе зависит от ряда факторов, в частности от рН среды.

Существует специальная формула для определения окислительно-восстановительного потенциала каждого вещества:

$$E_n = E_0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{(\text{окисл})}{(\text{восст})} .$$

В этой формуле E_n представляет собой искомый потенциал определяемого вещества, находящегося в данных условиях; E_0 — это потенциал для этого же вещества, находящегося в стандартных условиях, т. е. при равных концентрациях его окисленной и восстановленной форм; R — газовая константа (8,314 джоуля /градус/ моль); T — абсолютная температура; n — число электронов, которое теряется при окислении; F — число Фарадея (96,487 кулонов/моль); (окисл), (восст) — концентрация окисленной и восстановленной форм опытного вещества.

По этой формуле рассчитывается величина окислительно-восстановительного потенциала для каждого вещества, находящегося в любых условиях.

Практически величина потенциала измеряется по отношению к потенциалу водородного электрода, который условно принимается за нуль. Величины потенциалов для многих соединений живой клетки сведены в таблицы, где приводятся значения их E_0 (Некрасов, 1933).

В электрической цепи электрон может двигаться лишь в том случае, если на концах этой цепи существует разность потенциалов. Только тогда в цепи наблюдается перемещение электрона в направлении от полюса с меньшим потенциалом к полюсу с большим потенциалом. Значит, для того чтобы в биологических условиях происходило окисление субстрата, т. е. отнятие от него электрона и передача его на другие акцепторы, должна существовать разность потенциалов между субстратом окисления, отдающим электрон, и веществом, его воспринимающим, или акцептором электрона.

Разность потенциалов для каждых двух соединений рассчитывается по следующей формуле:

$$\Delta E \text{ или } E_{n_1} - E_{n_2} = \left(E_{O_1} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{(\text{окисл})}{(\text{восст})} \right) - \left(E_{O_2} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{(\text{окисл})}{(\text{восст})} \right) .$$

Ниже приводится специальная формула, связывающая величину разности потенциалов с величиной свободной энергии системы, т. е. энергией, освобождающейся в результате реакции между обоими веществами:

$$\Delta F = -nF\Delta E,$$

где ΔF — величина свободной энергии в ккал/моль; E — разность потенциалов в вольтах; F — число Фарадея; n — количество электронов, теряющихся при окислении.

Следовательно, величина энергии, освобождающейся при взаимодействии двух веществ, тем больше, чем больше разность их потенциалов. Так, например, количество энергии, выделяющейся при передаче электрона от восстановленного пиридиннуклеотида на кислород воздуха, будет очень велико, поскольку между этими соединениями существует значительная разность потенциалов. Однако окислительно-восстановительные реакции могут осуществляться самопроизвольно только между соединениями, разность потенциалов которых сравнительно невелика. Если же эта разница составляет значительную величину, то для того, чтобы реакция началась, необходимо приложить энергию извне.

Типичным примером может служить реакция взаимодействия между водородом и кислородом, т. е. реакция «гремучего газа». Реакция начинается только при нагревании. В результате происходит взрыв и выделяется большое количество тепла. Такая реакция в клетке привела бы к перегреву протоплазмы, коагуляции ее белков и неизбежной гибели ткани.

В живой клетке существует специальный механизм, предотвращающий ее перегрев и потерю энергии окисления, выделяющуюся в виде тепла. Этот механизм является одним из важнейших достижений эволюции, отличающим процессы биологического окисления от простого сгорания органического вещества вне организма. Речь идет о системе промежуточных, последовательно действующих катализаторов, с помощью которых водород или электрон субстрата ступенчато передается кислороду воздуха. Потенциалы таких промежуточных переносчиков последовательно возрастают от субстрата окисления к кислороду. В табл. 19 приводятся величины потенциалов для ферментов, участвующих в переносе электрона от α -кетоглутаровой кислоты через флавопротеин и систему цитохромов к кислороду воздуха.

Из таблицы видно, как возрастают значения потенциалов переносчиков в зависимости от их места расположения по отношению к кислороду в электронно-транспортной цепи.

Потенциалы переносчиков, которые являются соседними членами цепи, относительно близки по величине. Этим достигается то, что реакция между рядом стоящими переносчиками может осуществляться самопроизвольно и не требует дополнительных затрат энергии извне. С другой стороны, система постепенного переноса электрона с помощью отдельных переносчиков приводит к тому, что энергия окисления выделяется не сразу, а постепенно, отдельными мелкими порциями. Такой способ выделения позволяет уловить и запасти

образующуюся энергию. Кроме того, выделение энергии мелкими порциями исключает возможность перегрева клетки.

По аналогии с процессом сгорания вне организма можно было бы ожидать, что вся энергия окисления выделяется в виде тепла. Однако в биологических системах превращение энергии происходит по-иному. Установлено, что большая

Т а б л и ц а 19

**Окислительно-восстановительный потенциал компонентов
электронно-транспортной цепи при окислении
 α -кетоглутаровой кислоты**

Соединения	Окислительно-восстановительный потенциал (E_0)
α -Кетоглутаровая/янтаровая кислота кислота	—0,68*
НАД/НАД·Н ₂	—0,32
Флавопротени/восстановленный флавопротени	—0,063
Цитохром b — Fe ⁺⁺⁺ /Fe ⁺⁺	—0,04
Цитохром c — Fe ⁺⁺⁺ /Fe ⁺⁺	+0,29
Цитохром a ₃ — Fe ⁺⁺⁺ /Fe ⁺⁺	—
Стандартный кислородный электрод	+0,815

* По принятому обозначению потенциалы всех соединений, способных восстанавливать кислород, обозначаются знаком минус.

часть энергии окисления в живой ткани сразу же превращается в энергию химических связей, без ее предварительного перехода в тепло. Этим достигается значительно более полное использование освобождающейся энергии окисления, поскольку превращение энергии в тепло в условиях живой клетки равносильно ее потере для организма. Улавливание энергии в виде химических связей, минуя ее превращение в тепло, позволяет живой клетке фиксировать до 60% выделяющейся энергии. Таким образом, коэффициент полезного действия живых систем оказывается очень высоким. По своей величине он значительно превышает к. п. д. самых совершенных машин, использующих энергию сгорания топлива.

РОЛЬ ФОСФОРА В БИОЭНЕРГЕТИКЕ; АДЕНОЗИНТРИФОСФАТ

Какова же та форма химических связей, в которой запасается энергия, освобождающаяся при окислении органического вещества? В настоящее время твердо установлено, что

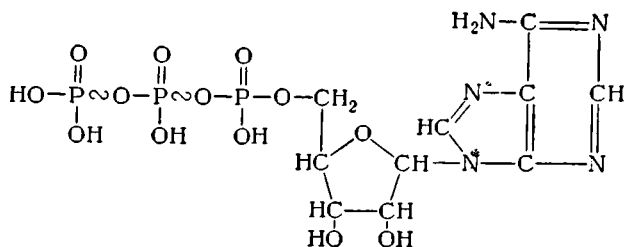
такой формой является специальная форма химической энергии, заключенная в фосфорных связях.

Исключительную роль фосфорной кислоты в энергетическом обмене живой клетки удалось установить в значительной мере благодаря работам русских исследователей. Одним из первых был Л. А. Иванов (1905), конкретно указавший на участие фосфорной кислоты в биологических превращениях. Однако особенный интерес в этом смысле представляют работы В. А. Энгельгардта, А. Е. Браунштейна и В. А. Белицера, появившиеся в 30-х годах (Энгельгардт, 1930, 1931, 1932, Белицер и Цыбакова, 1936; Белицер, 1938 а; 1938 б, 1939, 1940). В этих работах показано, что в живой клетке одновременно протекают два противоположных процесса: гидролитическое расщепление фосфорсодержащих соединений, с одной стороны, и связывание минеральной фосфорной кислоты в процессе дыхания — с другой.

Таким образом, постоянное содержание фосфорной кислоты в живой клетке, которое рассматривалось ранее как результат статичности, на самом деле является результатом уравновешивания процессов распада и синтеза.

В этих исследованиях было показано, что потребление кислорода в акте дыхания сопровождается соответствующим поглощением неорганического фосфора, причем оба процесса находятся в совершенно определенном соотношении. Оказалось, что поглощенный неорганический фосфор в живой клетке связывается в виде аденозинтрифосфата (АТФ).

В настоящее время считается общепринятым, что аденозинтрифосфорная кислота концентрирует в себе большую часть энергии аэробного и анаэробного распада. Формула аденозинтрифосфата представлена ниже:



Аденозинтрифосфат (АТФ) состоит из аденина, рибозы и трех остатков фосфорной кислоты, соединенных последовательно между собой. Значком ~ обозначены макроэргические связи аденозинтрифосфата; они включают в себе значительные количества энергии, порядка 8000—10000 кал, в то время как фосфорные связи глюкозо- и фруктозофосфатов составляют всего лишь 2000—4000 кал.

Теряя одну молекулу фосфорной кислоты, аденозинтрифосфат превращается в аденозиндифосфат (АДФ). Аденозиндифосфат имеет то же строение, как и аденозинтрифосфат. Все отличие этих соединений состоит в том, что аденозиндифосфат содержит два остатка фосфорной кислоты вместо трех. В организме аденозиндифосфат является непосредственным предшественником аденозинтрифосфата. Воспринимая богатый энергией фосфор, это соединение превращается в АТФ:



Помимо аденозинтрифосфата в организмах обнаружены и другие соединения, содержащие макроэргические связи. Сюда относится целый ряд нуклеозидов, таких, как уридин-, гуанин- и цитидинтрифосфаты, ацетилфосфат, ацетил-КоА и некоторые другие вещества.

Среди них особенно интересной является тиосвязь в ацетил-КоА, которая образуется между серой и кислородом и по своему характеру также относится к числу макроэргических связей.

Мы уже упоминали о важной биологической роли КоА, который участвует в процессах биосинтеза и β -окисления жирных кислот, в образовании лимонной кислоты и во многих других процессах.

Открытие богатой энергии связи у ацетил-КоА впервые поставило вопрос о том, что макроэргические связи могут образовываться не только у фосфорсодержащих соединений, но в такой же мере у серусодержащих (Шапот, 1954).

Разнообразные реакции окисления клеточных субстратов приводят к синтезу одних и тех же, общих для всего живого стандартных носителей энергии связей аденозинтрифосфорной кислоты. Энергия этих процессов тем самым переводится в единую, легко мобилизуемую и доступную для реализации форму. Энергия АТФ может превращаться в механическую, осмотическую, электрическую, световую, а также использоваться на различные биосинтетические процессы, протекающие в живом организме.

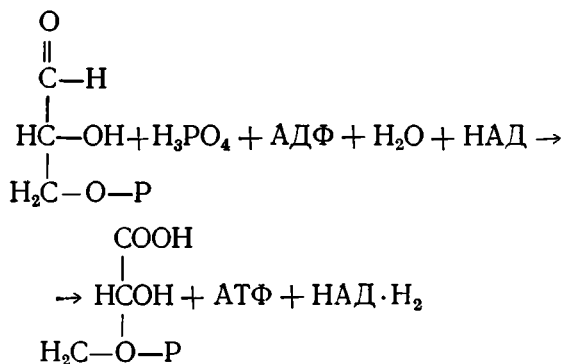
ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ

Образование макроэргических связей АТФ в процессе окисления в общем виде можно представить следующим образом: одновременно с процессом окисления в ткани происходит поглощение неорганического фосфора; освобождающаяся энергия фиксируется в связи неорганического фосфора с продуктом окисления; затем происходит перенос богатой энергией группы фосфора на АДФ, который при этом превращается в АТФ.

Таким образом, окисление оказывается как бы сопряженным с процессом фосфорилирования. Поэтому этот процесс и получил название процесса «окислительного фосфорилирования».

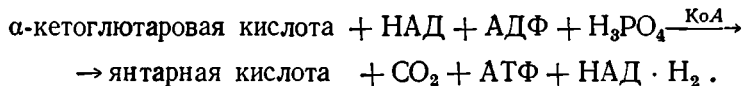
Однако не всякое окисление обязательно сопровождается фосфорилированием. На всем пути окислительного превращения молекулы гексозы, включающего процесс гликолитического распада и следующий за ним цикл Кребса, обнаружены лишь две реакции окисления, которые оказались сопряженным с процессами фосфорилирования¹.

Первая реакция — окисление 3-фосфоглицеринового альдегида в 3-фосфоглицериновую кислоту, которое происходит на пути гликолитического распада. Реакция протекает по следующему уравнению:



Неорганический фосфор присоединяется к первому углероду триозы, где и происходит окисление. Энергия окисления концентрируется между фосфором и триозой, в результате чего связь становится макроэргической. Вслед за этим богатая энергией связь вместе с фосфором переносится на аденозиндифосфат, который при этом превращается в аденозинтрифосфат.

Второй случай окисления, сопряженного с фосфорилированием, — это окислительное декарбоксилирование α -кетоглутаровой кислоты, которое происходит на одном из этапов цикла Кребса. В этом случае, так же как и в предыдущем, энергия окисления фиксируется в связи АТФ. Эта реакция протекает с участием коэнзима А следующим образом:

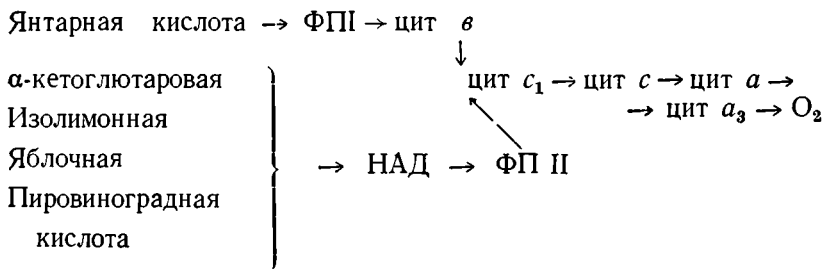


¹ Имеются отдельные указания на то, что реакция окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты сопровождается синтезом макроэргической связи (Слейтер, 1961). Однако пока это еще не может считаться доказанным.

Оба случая окисления, сопряженного с фосфорилированием, осуществляются при непосредственном окислении органического вещества, т. е. самого субстрата дыхания. Поэтому такое фосфорилирование было названо фосфорилированием на уровне субстрата, или субстратным фосфорилированием. Однако удельный вес субстратного фосфорилирования в общем выходе энергии очень невелик. За счет субстратного фосфорилирования запасается не более 10% всех макроэргических связей живой клетки. Остальные 90% энергии реализуются в так называемом коферментном фосфорилировании. Так обозначается фосфорилирование, которое происходит в цепи транспорта электрона от восстановленного пиридиннуклеотида или флавопротеиновой дегидрогеназы к кислороду воздуха.

Образование макроэргических связей на промежуточных этапах переноса электрона к кислороду было впервые показано В. А. Белицером и Е. Т. Цыбаковой, (Белицер и Цыбакова, 1936; Белицер, 1938 а, 1940). Было установлено, что при окислении восстановленного НАД через цепь переносчиков происходит образование от трех до четырех макроэргических связей АТФ. При окислении янтарной кислоты, которое катализируется флавопротеиновым ферментом сукциндегидрогеназой, образуется около двух макроэргов.

Цепь переносчиков электронов от восстановленного дифосфорипиридиннуклеотида или янтарной кислоты на основании современных представлений можно себе представить следующим образом:



где ФП — флавопротеин (ФП I — сукциндегидрогеназа, ФП II — пиридиннуклеотид-дегидрогеназа).

Такая цепь переносчиков получила название электронно-транспортной цепи, или сокращенно ЭТЦ.

На протяжении всего пути переноса электрона пока удалось установить 3 последовательных фосфорилирования:

- 1) на этапе между пиридиннуклеотидом и флавопротеином (или между флавопротеином и цитохромом с);
- 2) между цитохромами b и с;
- 3) в окислительной части цепи между цитохромами с и O₂.

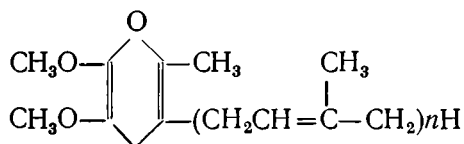
Окислительное фосфорилирование обычно измеряется по убыли неорганического фосфора, который уходит из реакционной смеси и связывается в форме АТФ. Основным показателем интенсивности процессов окислительного фосфорилирования является коэффициент Р:О. Это отношение представляет собой число эквивалентов эстерифицированного неорганического фосфора к числу атомов поглощенного кислорода.

Цепь переносчиков в том виде, в котором она приводится здесь, была предложена Слейтером лишь в 1958 г. (Slater, 1958). Однако прогресс науки в области биоэнергетики столь велик, что в настоящее время эта схема уже может быть дополнена некоторыми новыми звеньями.

Речь идет о некоторых жирорастворимых производных хинонов: филлохиноне, или витамине К, токофероле, или витамине Е, и убиллихиноне. Все эти соединения обладают способностью к обратимым окислительно-восстановительным превращениям, недостаток их в организме приводит к существенным нарушениям дыхания.

Участие вышеперечисленных производных хинонов в окислительных реакциях живой клетки является блестящим подтверждением теории дыхательных хромогенов В. И. Палладина. В. И. Палладин утверждал, что с помощью окислительно-восстановительных превращений в системе *хиноны — фенолы* осуществляется перенос водорода к кислороду воздуха. С тех пор прошло около 30 лет. Открытый в настоящее время факт участия некоторых производных хинонов в ЭТЦ лишний раз подтверждает правильность высказанного Палладиным положения.

Из всех трех производных хинонов бесспорным участником цепи переноса электрона пока следует признать только один — убиллихинон. Это соединение, открытое совсем недавно (Grape, Glenn, 1957), известно также под названием коэнзима Q, или Q₂₇₅ (275 — это длина волны в мк, при которой лежит максимум поглощения этого вещества). По своей химической структуре убиллихинон состоит из ядра хинона с боковой изопреновой цепью:

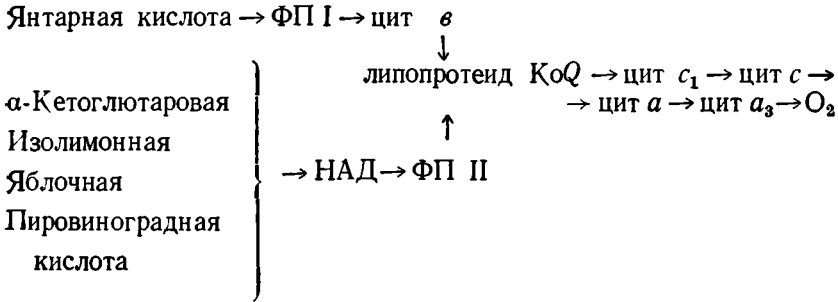


Длина боковой цепи коэнзима варьирует от 6 до 10 изопреноидных остатков в зависимости от источника получения. Коэнзим Q обнаружен в митохондриях почти всех аэробно живущих организмов. Он содержится в таком же количестве,

как и флавопротеины, и в 6—10 раз превосходит концентрацию отдельных цитохромов.

Полученные данные указывают, что коэнзим Q включается в электронно-транспортную цепь на участке между флавопротеином (в данном случае сукциндегидрогеназой) и цитохромом c_1 .

Таким образом, в окончательном виде цепь окисления сукцината должна выглядеть следующим образом:



Коэнзим Q близок по своему строению к другому производному хинонов — α -токоферолу, или витамину Е. Структура обоих соединений настолько близка, что они могут взаимопревращаться (токоферол образовывается при восстановлении коэнзима Q). Участие этого соединения в электронно-транспортной цепи вполне вероятно, однако механизм его действия и точка приложения пока не установлены.

Несколько больше оснований существует для признания участия витамина К в электронно-транспортной цепи. Однако и здесь пока еще трудно утверждать что-либо определенное. Известно, что витамин К в больших количествах обнаружен в хлоропластах растений, где может принимать участие в процессах фотосинтетического фосфорилирования.

В последнее время в митохондриях обнаружено железо, не связанное с порфирином, так называемое негеминное железо ($\text{Fe}_{\text{нп}}$) (Грин, 1961). Имеются указания, что негеминное железо находится в комплексе с белком, в частности оно найдено в составе сукциндегидрогеназы и, очевидно, участвует в переносе электронов. Представленная схема транспорта электронов к кислороду воздуха в живой клетке хотя и является крупнейшим достижением науки, но тем не менее не может считаться окончательной. Можно ожидать, что в ближайшее время в нее будет внесен целый ряд поправок и дополнений.

Основными центрами образования макроэргических связей являются митохондрии. Митохондрии представляют собой структурные образования белково-липидной природы, содержащие все коэнзимы, кофакторы и ферменты, необходи-

мые для выполнения присущих им функций. В митохондриях локализованы основные ферменты дыхания — все энзимы цикла Кребса, а также ферменты электронно-транспортной цепи. В них сосредоточены процессы фосфорилирования, связанные с окислением α -кетоглutarовой кислоты, и все этапы коферментного фосфорилирования.

Однако часть окислительных ферментов находится в растворенном состоянии в цитоплазматической жидкости. К таким ферментам принадлежат все ферменты гликолитического и апопомического распада. Поэтому энергетические процессы, связанные с окислением 3-фосфоглицеринового альдегида в 3-фосфоглицериновую кислоту, и образование АТФ на уровне фосфоэнолпировиноградной кислоты происходят в цитоплазме клетки. В общем балансе количество энергии, которое возникает в цитоплазме клетки в процессе гликолиза, незначительно. Основное количество макроэргов образуется в структурных элементах клетки.

В отличие от животной клетки, где подавляющая часть энергии образуется в митохондриях, в зеленых растениях эти процессы осуществляются также и в хлоропластах, в результате так называемого фотосинтетического фосфорилирования.

Особенность этого процесса состоит в том, что запасание энергии в макроэргических связях АТФ осуществляется в данном случае не за счет энергии окисления органического субстрата, а за счет электромагнитной энергии квантов света.

ЭФФЕКТ РАЗОБЩЕНИЯ ДЫХАНИЯ ОТ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ

Процессы фосфорилирования чрезвычайно чувствительны к различного рода воздействиям, причем чувствительность фосфорилирования во много раз выше, чем чувствительность сопряженного с ним окисления. Поглощение неорганического фосфора полностью прекращается под влиянием многих факторов, в то время как поглощение кислорода продолжается. При этом внешняя картина дыхания может почти не меняться; клетки по-прежнему в таком же или почти в таком же количестве поглощают кислород и выделяют углекислый газ, а в действительности происходит биологическое обесценивание дыхания.

Еще издавна биохимики рассматривали дыхание организма как показатель полноценности его состояния. Суммарная активность дыхания стала одним из критериев полноценности изучаемого объекта. Если еще несколько лет тому назад такой подход не вызывал возражений, то сегодня характеристика состояния организма только на основании данных по поглощению его тканями кислорода должна быть отвергнута.

Сейчас уже недопустимо рассматривать чисто внешнюю, количественную сторону дыхания без учета качественных показателей этого процесса. Многочисленные примеры свидетельствуют о том, как количественно неизменное дыхание полностью утрачивает свою физиологическую эффективность и уже не выполняет одной из своих главных функций — снабжения клетки необходимой энергией.

Такое явление биологически обесцененного дыхания получило название разобщения дыхания от сопряженного с ним процесса фосфорилирования.

Впервые на возможность разобщения двух сопряженных процессов дыхания и фосфорилирования указывали Белицер и Цыбакова (Белицер и Цыбакова, 1936; Белицер, 1939).

Существует особая категория веществ (так называемые разобщающие яды), разобщающие дыхание от фосфорилирования. Типичным представителем таких веществ является 2,4-динитрофенол (ДНФ). ДНФ еще издавна применяли в качестве инсектицида в сельском хозяйстве, а одно время даже использовали в медицине как средство для похудения.

Вскоре было замечено, что это соединение в определенной концентрации почти не сказывалось на процессе поглощения O_2 , действует подавляюще на некоторые функции живой клетки, требующие затрат энергии (синтез белка и полисахаридов, рост клеток, их подвижность и т. п.). Лишь в 1948 г. удалось выяснить биологическую роль ДНФ как вещества, которое угнетает процессы образования и запасаения энергии в живой клетке (Loomis, Lipmann, 1948).

Механизм действия ДНФ можно объяснить следующим образом: фактором, тормозящим или лимитирующим скорость процесса дыхания, являются этапы фосфорилирования. В нормально функционирующем растении, где усиленно протекают процессы окислительного фосфорилирования, так называемые кофакторы дыхания (АДФ и неорганический фосфор) находятся в ограниченном количестве. Добавление АДФ и фосфора приводит к возрастанию скорости дыхания и сопряженного с ним фосфорилирования. Источником аденозиндифосфата внутри самого организма являются непрерывно протекающие в нем процессы синтеза, требующие затрат АТФ. Отдавая энергию в виде макроэргического фосфора, АТФ превращается в АДФ и вновь может служить кофактором в процессе фосфорилирования. Таким образом, самым мощным стимулом образования богатых энергией связей АТФ является его усиленное расходование на потребности клетки.

ДНФ нарушает механизм сопряженного фосфорилирования таким образом, что дыхание перестает зависеть от присутствия АДФ и неорганического фосфора. Скорость дыхания уже не тормозится этими факторами, поглощение кислорода

возрастает, но такое дыхание протекает «на холостом ходу», поскольку не сопровождается процессами фосфорилирования.

Интересно, что субстратное и коферментное фосфорилирования в разной степени чувствительны к ДНФ. Так, если коферментное фосфорилирование полностью подавляется этим ядом, то субстратное оказывается устойчивым к нему. Такие различия в эффекте одного и того же соединения свидетельствуют о том, что механизмы обоих фосфорилирований в чем-то существенном различаются между собой.

К группе разобщающих ядов относятся также вещества, часть которых широко известна в медицине и биологии. В их число входят многие структурные аналоги ДНФ, азид натрия, некоторые красители (метиленовая синь и пиоционин), наркотики, акрихин, целый ряд антибиотиков (грамицидин, тироксин), пчелиный и змеиный яды и многие другие вещества. Неоднократные попытки авторов связать разобщающий эффект с наличием в структуре этих соединений каких-то определенных химических групп не увенчались успехом.

Очень существенным представляется еще одно свойство явления разобщения: в клетках, в которых наблюдается процесс аэробной ферментации, неизбежно оказывалось нарушенным окислительное фосфорилирование. В такой же степени оказалось справедливым и обратное положение — торможение окислительного фосфорилирования во всех случаях приводило к подавлению пастеровского эффекта, т. е. к возникновению процесса ферментации в аэробных условиях. Другими словами, функционально обесцененное, «разобщенное» дыхание не в состоянии подавить процесс брожения. Этим свойством обладает только полноценное дыхание, сопряженное с процессом фосфорилирования.

Такая тесная связь пастеровского эффекта с процессом фосфорилирования позволила Линену и Реккеру (Lypen, 1941; Racker, Wu, 1959), И. Ф. Сейцу (1961) выдвинуть еще одну теорию, объясняющую пастеровский эффект.

Согласно этой теории, взаимоотношения дыхания и брожения в клетке определяются имеющейся в ней концентрацией АДФ и неорганического фосфора (P_n), который в равной мере необходим как для окислительного, так и для гликолитического фосфорилирования (процесс брожения включает в себя этап гликолитического фосфорилирования). В нормальных условиях весь АДФ и P_n используются на фосфорилирование, сопряженное с дыханием, и АДФ для гликолитического фосфорилирования не хватает. Поэтому процесс брожения подавлен. При любом повреждении, например воздействии разобщающего яда, или изменении условий аэрации процессы окислительного фосфорилирования прекращаются. В клетке возникают свободный аденозиндифосфат и неорганический фосфор, которые образуются при использовании АТФ. Появ-

ление свободного АДФ и P_n приводит к возникновению процесса аэробного брожения.

Согласно этой теории, аэробный гликолиз является не патологическим процессом, а своего рода аварийным приспособлением, позволяющим организму переносить неблагоприятные условия внешней среды, угнетающие процессы окислительного фосфорилирования.

Такая трактовка пастеровского эффекта представляется сейчас наиболее совершенной и удовлетворительной. В последнее время она получает все большее экспериментальное обоснование.

До недавнего времени считалось, что явление разобщения дыхания от фосфорилирования есть дефект обмена, своего рода патологическое изменение, которое происходит под влиянием каких-либо неблагоприятных воздействий.

Однако сейчас все более и более распространяется иная точка зрения, согласно которой нефосфорилирующее или свободное (как называют его некоторые авторы) окисление является в некоторых случаях адаптивным приспособлением, позволяющим организму выживать при неблагоприятных условиях (Скулачев, 1958, 1960). Согласно этой теории, в живой клетке осуществляется регуляция степени сопряжения окисления с фосфорилированием. В зависимости от возрастных особенностей организма, от окружающих его условий внешней среды степень сопряжения может быть различной.

Физиологический смысл этого явления особенно понятен в терморегуляции. Живой организм приспособлен к сравнительно узкому пределу колебаний температуры. Высокие температуры неизбежно приводят к свертыванию белков протоплазмы, в то время как при низких температурах содержимое клетки замерзает. Организмы, имеющие постоянную температуру тела, менее зависят от температурных колебаний во внешней среде. Постоянная температура тела — свойство, выработавшееся в течение длительной эволюции, тесно связано с энергетическим обменом клеток. Та энергия, которая образуется и запасается в виде АДФ в электронно-транспортной цепи, в случае разобщения дыхания от фосфорилирования будет выделяться в виде тепла.

Очевидно, при понижении температуры степень сопряженности дыхания и фосфорилирования становится менее полной, что способствует выделению некоторого дополнительного количества тепла, с помощью которого и поддерживается постоянная температура тела.

Однако при перемещении организма вновь в условия нормальной температуры в нем восстанавливается обычное дыхание, сопряженное с процессом фосфорилирования. Таким образом, то разобщение, которое возникает в организме под

влиянием пониженных температур, является процессом обратимым.

Следовательно, в биологической системе нельзя считать окисление, сопряженное с фосфорилированием, нормальным, а несопряженное — обесцененным, идущим вхолостую. В зависимости от условий дыхание как с фосфорилированием, так и без него будет физиологически ценным и необходимым. Лишь в случае утерянной регуляции, т. е. утраченной способности использования обеих возможностей, и невозможности осуществления перехода с одного пути на другой могут развиться необратимые нарушения, ведущие к гибели организма.

В оптимальных условиях жизни степень сопряженности дыхания и фосфорилирования может служить показателем совершенства организма в эволюционном плане.

В ходе эволюции живых организмов возрастала степень сопряженности дыхания и фосфорилирования. Материалы по эволюции процессов энергетического обмена свидетельствуют о том, что дыхание, не сопряженное с фосфорилированием, представляет собой более древнюю и примитивную систему, преобладающую в метаболизме первичных организмов (Вержбинская, 1961). Дыхание, сопряженное с фосфорилированием, — система более дифференцированная, более экономичная, появившаяся в относительно более поздний период эволюции, возможность формирования которой была обусловлена появлением в атмосфере Земли свободного кислорода.

ЛИТЕРАТУРА

- Бах, А. Н. Собр. работ по химии и биохимии. М., Изд-во АН СССР, 1950. Белицер В. А. Биохимия, 1938а, 3; Усп. совр. биол., 1938б, 8; Биохимия, 1939, 4; Химические превращения в мышце. М., Медгиз, 1940. Белицер В. А., Цыбакова Е. Т. Биохимия, 1936, 4. Бранд Т. Анаэробизм у позвоночных. М., ИЛ, 1951. Браунштейн А. Е. Главные пути ассимиляции и диссимиляции азота у животных. М., Изд-во АН СССР, 1957. Вакиль С. И. V Междунар. биохим. конгр., Симп. VII. М., Изд-во АН СССР, 1961. Вержбинская Н. А. Сб. «Биохимия нервной системы». Киев, 1954; V Междунар. биохим. конгр., Симп. V. М., Изд-во АН СССР, 1961. Грин Д. Е. V Междунар. биохим. конгр., Пленарная лекция. М., Изд-во АН СССР, 1961. Иванов Л. А. О превращении фосфора в растениях. Пб., 1905. Кальвин М. Сб. «Совр. пробл. биохимии». М., ИЛ, 1957. Костычев С. П. Физиология растений. ч. 1. М., 1933. Кретович В. Л. и Успенская Ж. В. ДАН СССР, 1952, 82, № 6. Некрасов Н. И. Усп. биол. химии, 1933, вып. 10. Палладин В. И. «Сб. статей, посвящ. К. А. Тимирязеву и его ученикам в ознаменование 70-го дня его рождения». М., 1914. Сейц И. Ф. Взаимодействие дыхания и гликолиза в клетке. М., Медгиз, 1961, Скулачев В. П. Усп. совр. биол., 1958, 46, вып. 3 (6); Сб. «Фосфорилирование и функция». Л., 1960. Слейтер Э. V Междунар. биохим. конгр., Симп. V. М., Изд-во АН СССР, 1961. Шапот В. С. Усп. совр. биол., 1954, 37, вып. 3. Энгельгардт В. А. Казанск. мед. журн. 1930, 26; 1931, 27; 1932, 28. Энгельгардт В. А. и Бархаш А. П. Биохимия, 1938, 3, Энгель-

гардт В. А. и Саков Н. Е. Биохимия, 1943, 8. Björkman O. a. Holmgren P. *Physiol. Plantarum*, 1960, 13, № 3. Bodine J. H. a. Boell E. J. *J. Cell. Comp. Physiol.*, 1934, 5. Crane F. L. a. Glenn J. L. *Biochim. et Biophys. Acta*, 1957, 25. Dickens F. *Nature*, 1936, 138. James W. O. a. Ritchie A. *Proc. Roy. Soc., London, Ser., B*, 1955, 143. Jermin M. A. a. Thomas R. *Biochem. J.*, 1954, 56, N 4. Karlson P. a. Wecker E. *Hoppe-Seylers Ztschr. Physiol. Chem.*, 1955, 300, № 1—3. Keilin D. *Proc. Roy. Soc., London*, 1925, 98. Kidd F., Karlson P. a. Wecker E. *Hoppe-Seylers Ztschr. Physiol. Chem.*, 1955, Kornberg H. L. a. Krebs H. A. *Nature*, 1957, 179, № 4568. Lipmann F. *Biochem. Ztschr.*, 1933, 255; *Nature*, 1936, 138; *Symp. on respiratory enzymes. Madison*, 1942. Loomis W. F. a. Lipmann F. *J. Biol. Chem.*, 1948, 173. Liebigs *Chem. Ann.*, 1941, 546. Mahler H. R. *Proc. 3. Int. Congr. Biochem.*, 1956. Mayer A. M. a. Freund J. *Expt. Bot.*, 1960, 11, № 32. Neubert D., Wojtczak A. B. a. Lehninger A. L. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1962, 48. Racker E., Wu K. *Ciba Foundat. Sympos. on the Regulat. of cell. Metab. London*, 1959. Slater E. C. *Adv. in Enzymol.*, 1958, 20. Szarkowski J. W. *Acta Biochim. Polon.*, 1957, 4, № 2. Theorell H. *Arkiv Kem. Mineral. Geol.*, 1942, 16a, № 2. Warburg O. *Über den Stoffwechsel der Tumoren. Berlin*, 1926. Warburg O., Christian W., Griese A. *Biochem. Ztschr.*, 1935, 282.

ЗАВИСИМОСТЬ ДЫХАНИЯ ОТ ОСОБЕННОСТЕЙ ОРГАНИЗМА

ДЫХАНИЕ РАСТЕНИЙ РАЗЛИЧНЫХ СИСТЕМАТИЧЕСКИХ ГРУПП

Способность к дыхательному газообмену, понимаемая в широком смысле, представляет собой свойство, общее для всех живых клеток. Вместе с тем, среди живых организмов наблюдается чрезвычайное разнообразие в интенсивности дыхательного процесса. Это в полной мере относится к различным представителям мира растений. Еще в 1892 г. Ауберт указывал, что поглощение кислорода отдельными растениями при температуре 12° С может колебаться от 3 (*Cereus macrogonus*) до 291 (*Triticum sativum*) мл CO₂ на 1 г сухого веса в час (Aubert, 1892).

Дыхание растений, относящихся к различным систематическим, а также к различным экологическим группам, неодинаково как по интенсивности, так и по характеру окислительной системы.

В табл. 20 приведены данные, характеризующие интенсивность дыхания у представителей некоторых систематических групп растений.

Наивысшей интенсивностью дыхания обладают бактерии и в особенности плесневые грибы, причем у низших растений метаболическая активность в основном зависит от возраста.

Так, согласно С. П. Костычеву (1907), максимальное дыхание двухдневной культуры *Aspergillus niger*, выращенного на хинной кислоте, составляет 1874 мг CO₂ на 1 г сухого веса мицелия за 24 часа. Того же порядка цифры (1526—1735 мг CO₂) были получены В. И. Палладиным (1886) для кончиков корней проростков бобов. Однако при определении дыхания низших грибов и бактерий следует иметь в виду, что субстра-

ты дыхания этих организмов в большинстве находятся вне клетки, в то время как в случае высших растений запасы веществ, используемых на дыхание, содержатся внутри клетки. Это обстоятельство приводит к снижению относительной интенсивности дыхания растительной ткани, пересчитанной на единицу веса.

Т а б л и ц а 20
 Дыхание различных растений при 12°
 (по W. Stiles и W. Leach)

Растение	Поглощенный O ₂ , мл на 1 кг сырого веса в час
<i>Cereus macrogonus</i>	3,0
<i>Mamillaria cliphatideus</i>	5,6
<i>Sedum dendroideum</i>	19,0
Люпин белый	73,7
Бобы русские	96,6
Пшеница	291,0

Принадлежность растения к той или иной систематической группе может определять не только интенсивность дыхания, но и до некоторой степени также характер окислительной системы. Так, например, у ряда бактерий, грибов, дрожжей, водорослей обнаружена способность к непосредственному окислению глюкозы (без предварительного фосфорилирования), которое катализируется флавопротеиновым ферментом — глюкозооксидазой. У высших растений глюкозооксидаза до настоящего времени не обнаружена.

Однодольные растения, а также крестоцветные и тыквенные из двудольных либо совсем лишены полифенолоксидазной активности, либо обладают ею в ничтожной степени. Растения этого типа, как правило, обладают высокой аскорбиноксидазной и пероксидазной активностью, что позволило Сент-Дьердьи объединить их в группу «пероксидазных» растений. Однако последние данные Т. М. Ивановой и Б. А. Рубина (Иванова и Рубин, 1960, 1962) показывают, что и пероксидазные растения способны окислять полифенол — флороглюцин. Окисление это катализируется пероксидазой, проявляющей в данном случае оксидазную активность, и принимает, по-видимому, участие в дыхательном процессе.

Некоторые представители мира растений обладают особенностями окислительно-восстановительных процессов, не обнаруженными у большинства растений.

Так, например, соцветие ароидных спадикс (початок) отличается необычно высоким уровнем дыхания и значительным повышением температуры во время раскрытия обверт-

ки початка. Дыхание початка нечувствительно к ингибиторам цитохромоксидазы — цианиду и СО (James, Beevers, 1950). В качестве терминальной оксидазы в тканях початка функционирует аутооксидабельный фермент, совмещающий функции редуктазы и оксидазы, простетическая группа которого представляет собой флавинадениннуклеотид (James, Elliot, 1958). Высокая температура, развиваемая при дыхании, определяется тем, что значительная часть энергии, освобождающейся в процессе дыхания, не резервируется в форме макроэргических связей, а освобождается в виде тепла (Hackett, 1957).

Другие органы ароидных имеют обычный тип дыхания, в завершающем этапе которого большая роль принадлежит цитохромоксидазе.

Своеобразная дыхательная система обнаружена в семенах женьшеня (Буч, 1955). Интенсивность дыхания у этих семян в 20 раз слабее, чем у семян пшеницы, и не поддается цианидом. Автору не удалось обнаружить ни цитохромоксидазной, ни полифенолоксидазной активности как в покоящихся, так и в прорастающих семенах. Обнаружена лишь пероксидаза, активность которой, очень низкая во время набухания семени, несколько возрастает при прорастании. Буч предполагает, что функция завершающей оксидазы в семенах женьшеня принадлежит флавопротеиновым ферментам; возникающая при этом перекись водорода используется пероксидазой. У мхов найдена флавопротеиновая оксидаза, окисляющая щавелевую кислоту (Datta, Meeuse, 1955). Характер окислительных ферментов растения неразрывно связан с особенностями химического состава тканей. Так, ткани, богатые маслами, обладают, как правило, активной липоксидазой; богатые дубильными веществами растения имеют высокую полифенолоксидазную активность. С этой точки зрения представляют также интерес цитированные выше работы Ивановой и Рубина. Ими установлено, что ткани кочнов капусты, типичного «пероксидазного» растения, содержат дубильные вещества в количествах, превышающих их содержание в клубнях картофеля, являющегося «полифенолоксидазным» растением. Оказалось, что приблизительно $\frac{1}{3}$ дубильных веществ капусты представлена флороглюцином, соединением, окисляемым не полифенолоксидазой, а пероксидазой, проявляющей по отношению к флороглюцину оксидазную активность.

ЗАВИСИМОСТЬ ДЫХАНИЯ ОТ МЕСТА ПРОИЗРАСТАНИЯ РАСТЕНИЯ

Несмотря на методические трудности при сравнении дыхания растений, растущих в различных климатических и экологических условиях, можно считать установленным, что светолюбивые растения дышат, как правило, интенсивнее тене-

выносливых. Суккулентным растениям с массивными тканями, поверхность которых мало проницаема для газов из-за толстого кутикулярного слоя, свойственна низкая интенсивность дыхания.

Повышенная интенсивность дыхания наблюдается у арктических растений, что особенно заметно в интервале пониженных температур. Эта особенность арктических растений связана, несомненно, с их приспособленностью к температурным условиям произрастания. Помимо способности поддерживать нормальный ход дыхания в условиях пониженных температур растения эти обладают повышенной метаболической активностью, вызванной необходимостью осуществить весь цикл развития за время короткого вегетационного периода.

Высокогорным растениям также свойственна повышенная интенсивность дыхания. Согласно Б. А. Рубину и др. (Рубин, Пушкинская и Соколова, 1945) и С. О. Гребинскому (1944), усиление интенсивности дыхания и активности окислительных ферментов является результатом приспособления этих растений к пониженному парциальному давлению кислорода, свойственному высокогорным районам.

Аналогичная приспособленность окислительной системы к особенностям высокогорной атмосферы установлена и для животных, у которых в этих условиях резко увеличено количество крови в организме, так и содержание в ней эритроцитов и гемоглобина (Коржуев, 1959).

ОСОБЕННОСТИ ДЫХАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНОВ РАСТЕНИЯ

Отдельные органы растений существенно различаются по интенсивности дыхательного газообмена, что обусловлено в основном физиологической активностью органа, а также относительным количеством клеток с ослабленной жизнедеятельностью или отмерших.

Наибольшей дыхательной активностью отличаются ткани, клетки которых находятся в состоянии энергичного деления.

Высокая интенсивность дыхания характерна также для тканей, выполняющих активные физиологические функции. Так, дыхание проводящей системы листовых черешков сахарной свеклы в 4—5 раз интенсивнее, чем дыхание окружающей эту систему паренхимы (Туркина и Дубинина, 1954).

Органы, которым свойствен низкий уровень жизнедеятельности, имеют слабую дыхательную активность. Сюда относятся вегетативные и генеративные запасающие органы в период покоя и в особенности сухие семена (табл. 21), дыхание которых в десятки тысяч раз ниже дыхания листьев.

Обращает внимание то, что в пределах одного органа наиболее интенсивным дыханием обладают наружные ткани, что в большой мере определяется лучшей обеспеченностью этих тканей кислородом.

Таблица 21

Дыхание некоторых органов растений и их тканей

Объект исследования	Выделено CO ₂ , мг на 1 кг сырого веса в час
Лимон (плоды)	
целые плоды	91
кожура	270
мякоть	59
Картофель (клубни)	
целые клубни	19
покоящиеся глазки	110
кожура	90
паренхима	11
Ветки ясеня	
флоэма	320
камбий	432
заболонь наружная	153
заболонь внутренняя	61
древесина	29
Пшеница	
зерно	0,04
листья	932

ЗАВИСИМОСТЬ ДЫХАНИЯ ОТ ВОЗРАСТА РАСТЕНИЯ

Причины различий в интенсивности дыхательного газообмена растений несомненно связаны с различиями в характере и активности их окислительных систем. При рассмотрении этого вопроса нельзя упускать из виду, что деятельность окислительных систем протекает в протоплазме, в основном даже в определенных протоплазменных структурах. Лишь молодые клетки почти нацело заполнены протоплазмой. С возрастом в клетках сильно разрастаются вакуоли, утолщаются клеточные оболочки, в самой протоплазме увеличивается количество включений, неактивных в дыхательном отношении (например, крахмальные зерна).

Наиболее интенсивно дышит ткань, состоящая из молодых клеток (рис. 99). После прекращения митоза разрастание ткани продолжается за счет увеличения объема клеток. В этот период интенсивность дыхания ткани снижается, стабилизируясь к окончанию растяжения клеток. Иначе выгля-

дит кривая дыхания той же ткани в пересчете на одну клетку (см. рис. 99).

Дыхательная активность оказывается минимальной у клеток в момент их образования. Увеличение размеров клеток, связанное с увеличением количества протоплазмы, сопровождается возрастанием дыхательной активности.

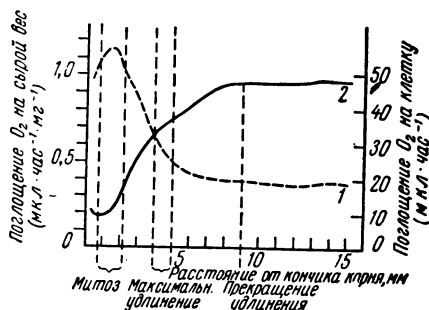


Рис. 99. Дыхание первичного корня проростков кукурузы на различном расстоянии от кончика корня:

1 — на сырой вес, 2 — на одну клетку (по Goddard, Bonner, 1960)

В зоне удлинения сырой вес одной клетки увеличивается с 8 до $125 \cdot 10^{-9}$ г, т. е. в 15 с лишним раз. Поскольку увеличение массы клетки зависит помимо новообразования протоплазмы от разрастания вакуоли и появления неактивных включений, интенсивность ее дыхания возрастает значительно меньше — примерно в 5 раз (Goddard, Bonner, 1960).

Существование тесной связи между интенсивностью дыхательного газообмена и количеством протоплазмы показали Робертсон и Турнер (Robertson, Turner, 1951). Детально изучив процесс деления и растяжения клеток растущего яблока, они пришли к выводу, что рост клетки сопровождается синтезом белков цитоплазмы. При этом толщина протоплазматического слоя остается на протяжении жизни клетки приблизительно постоянной и объем клетки увеличивается в основном за счет разрастания вакуоли. Таким образом, количество протоплазмы увеличивается пропорционально возрастанию поверхности клеток. Данные табл. 22 показывают, что

Таблица 22

Отношение между интенсивностью дыхания, объемом и поверхностью клетки (по Robertson, Turner, 1951)

№ сбора яблок	Объем клетки, мм ³	Поверхность клетки, мм ²	Поглощение CO ₂ в час на:		
			1 клетку, мг × 10 ⁻⁷	ед. объема, мг × 10 ⁻⁶	ед. поверхн., мг × 10 ⁻⁸
1	0,00047	0,025	0,19	53	78
2	0,0010	0,047	0,19	20	41
3	0,0027	0,093	0,38	14	41
4	0,0026	0,090	0,38	15	43
5	0,0034	0,113	0,51	15	45
6	0,0042	0,125	0,60	15	48
7	0,0044	0,131	0,63	14	49
8	0,0052	0,147	0,95	18	65
9	0,0063	0,168	1,14	18	68

темпы возрастания интенсивности дыхания одной клетки близки к темпам увеличения ее поверхности, а не объема. Вместе с тем, параллелизм между величинами, характеризующими поверхность и дыхание клетки, не может быть полным, так как количество дыхательных центров (главным образом митохондрий) цитоплазмы не остается постоянным, так же как и строение и активность дыхательной системы.

При изучении интенсивности дыхания необходимо учитывать, что исследователь, как правило, имеет дело не с отдельными клетками, а с тканями, целыми органами или растением. В различных тканях количество жизнедеятельных клеток варьирует весьма значительно. В зависимости от характера и функции ткани в ней по мере роста и старения появляются отмершие клетки, скелетные образования и т. п. Таким образом, уровень дыхательного газообмена отражает наряду с биохимическими особенностями протопласта ряд анатомо - морфологических свойств органа или ткани.

Как биохимическая активность, так и структура тканей подвержена весьма сильным изменениям, связанным с возрастом и развитием растения, особенностями отдельных его органов и тканей, а также зависит от условий среды. Все это находит отражение в чрезвычайной изменчивости дыхательного процесса.

Значение возрастных изменений в структуре растения наглядно видно из кривых рис. 100. Дыхание всего растения подсолнечника усиливается до наступления периода созревания, а происходящее затем отмирание части листьев находит отражение в довольно значительном снижении дыхательной активности растения. Кривая дыхания, рассчитанного на единицу сухого веса, имеет иной характер. Активность дыхания, очень высокая в начале онтогенеза, резко падает на протяжении первых 30 дней развития, вслед за чем скорость падения кривой, замедляясь, продолжает снижаться и достига-

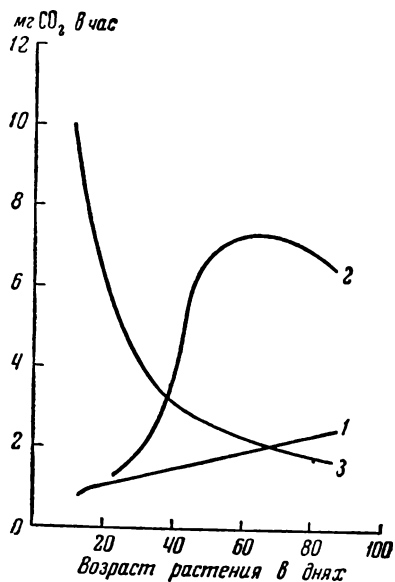


Рис. 100. Дыхание растений подсолнечника при расчете на единицу азота (1), целое растение (2) и на 1 г сухого веса (по Bonner, Galston, 1952)

ет у 80-дневных растений величины в 8—10 раз меньшей, чем у 20-дневных растений. Вместе с тем, при расчете на единицу азота (величина, до некоторой степени отражающая количество активных белков) интенсивность дыхания изменяется сравнительно незначительно.

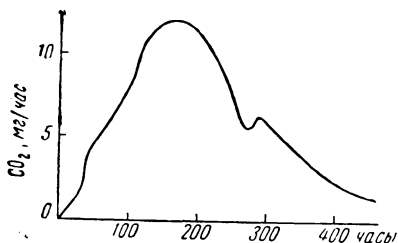


Рис. 101. Выделение CO_2 зернами ячменя, прорастающими в темноте (на 5 г сырого веса) (по Джеймс, 1956)

несколько дней после начала прорастания интенсивность дыхания достигает максимума, вслед за чем идет снижение дыхательной активности. Это снижение связано с уменьшением относительного значения меристематических тканей и с процессом так называемого старения протоплазмы уже образовавшихся клеток. В случае, если проращивание ведется в темноте, уменьшение дыхательной активности зависит также от истощения субстратов в эндосперме (рис. 101).

Сходный характер имеют изменения интенсивности дыхания и в процессе развития отдельных органов растения — листьев, корней, цветов и т. п. Однако в этом случае необходимо учитывать, что помимо возраста органа на его дыхании сказываются также возраст растения в целом и его стадийное состояние.

Как видно из кривых рис. 102, первоначальный уровень дыхания листьев и последующее падение его интенсивности зависят в большей степени от возраста растения. Чем моложе растение, тем интенсивнее дышат вновь образовавшиеся листья и тем заметнее проявляется снижение их дыхательной активности по мере старения. У многих видов растений об-

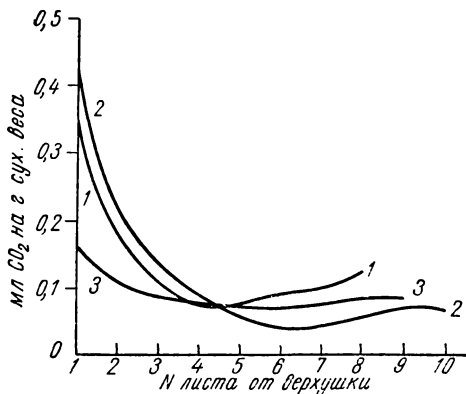


Рис. 102. Дыхание листьев сорго: 1 — растение высотой 1 фут (8 листьев), 2 — растение высотой 3 фута (10 листьев), 3 — растение с метелкой (9 листьев) (по Hoyer Gustafson, 1926)

наружено, что после снижения дыхательной активности до определенного минимума интенсивность дыхания стареющих листьев начинает постепенно повышаться. Это показано для листьев ржи, сорго и овса (Hover, Gustafson, 1926). Подъем дыхательной активности стареющих листьев может зависеть от начинающегося отмирания клеток, связанного с дезорганизацией протоплазмных структур. При этом идет несбалансированное окисление субстратов дыхания, приводящее к временной вспышке поглощения O_2 и выделения CO_2 .

Влияние, оказываемое стадийным состоянием растения на дыхательную активность его органов, хорошо иллюстрируется данными Н. И. Багдыкова (1954). Им установлено, что с начала набухания зерна до появления третьего листа дыхание яровизированной озимой пшеницы Украинка выше, чем неяровизированной. У неяровизированной пшеницы дыхание, после достижения максимума при разворачивании второго и третьего листа, постепенно снижается к концу вегетации. При этом различия в интенсивности дыхания, связанные с возрастом листьев и их расположением по ярусам, слабо выражены.

Дыхание яровизированной пшеницы отличается большей динамичностью; здесь имеются два отчетливых максимума дыхательной активности, приуроченные к началу выхода в трубку и к началу плодоношения. Кроме того, интенсивность дыхания листьев всех ярусов существенно снижается по мере старения.

В период цветения дыхание растений значительно активизируется. Отчасти это связано с повышенным дыханием новообразующихся репродуктивных органов, которые дышат значительно активнее листьев. Наибольшей интенсивностью дыхания в цветке обладают тычинки и пестик. Так, для ряда растений получены (Maige, 1911) следующие средние величины (*мл* CO_2 на 1 г сырого веса в час):

Листья	0,35
Лепестки цветков	0,31
Тычинки	0,75
Пестики	0,77

В период цветения дыхательный газообмен активизируется и у вегетативных частей растения, что обусловлено изменениями в обмене веществ всего организма при переходе в новую фазу развития.

В процессе созревания происходит снижение активности дыхания семян, особенно резкое в конце созревания, сопровождающееся высушиванием зерна (табл. 23).

Падение интенсивности дыхания зерна продолжается и в процессе послеуборочного дозревания. Согласно А. П. Прохоровой и В. Л. Кретовичу (1951), за первые три месяца пос-

Дыхание пшеничного зерна при созревании
(по Смирнову, 1943)

Дата	Фазы созревания	% влажности	Дыхание, мл O_2 на 1 г абс. сухого веса в час; t 25°
18/VII	Молочная спелость	64,85	672
29/VII	Молочная спелость	50,24	410
3/VIII	Ранняя восковая спелость	42,45	320
12/VIII	Поздняя восковая спелость	18,28	2,2

леуборочной отлежки энергия дыхания зерна пшеницы снижается примерно в четыре раза (рис. 103, А). Вместе с тем, у зерна, поступившего на хранение в состоянии полной физиологической зрелости, интенсивность дыхания практически

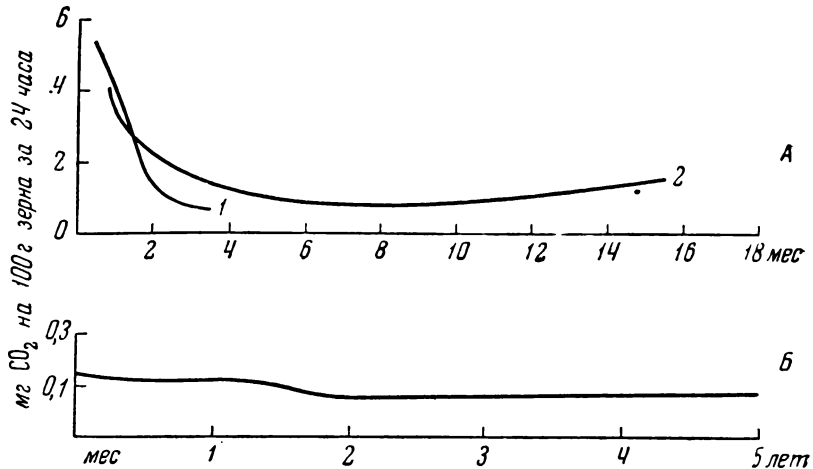


Рис. 103. Зависимость энергии дыхания зерна пшеницы от послеуборочного дозревания. А — пшеница с незаконченным послеуборочным дозреванием (1 — влажность 15%, 2 — влажность 14—14,5%); Б — пшеница полной физиологической зрелости (влажность до 12%) (по Прохоровой и Кретовичу, 1951)

не изменяется на протяжении 3—5 лет (рис. 103, Б). Процесс послеуборочного дозревания связан с одновременным повышением всхожести и энергии прорастания зерна.

В дыхании плодов, перикарпий которых состоит из сочной многослойной паренхимы, происходят типичные для этих объектов изменения, связанные с процессом роста и созревания. В начале развития плодов наблюдается пик дыхательной

активности, совпадающий с периодом быстрого деления клеток после опыления завязи. Затем наступает постепенно замедляющееся падение интенсивности дыхания, совпадающее с периодом, когда увеличение размера плода идет лишь за счет увеличения размера клеток, переставших делиться.

В период, предшествующий созреванию, темпы роста плода замедляются. Этот этап жизни плода, связанный с коренными изменениями характера обмена веществ, сопровождается активированием дыхательного газообмена. Такой подъем дыхания получил название «климактерического» (Kidd, West, 1930). Как видно из рис. 104, у плодов перед их созреванием отмечается особенно отчетливый подъем выделения CO_2 , что сопровождается соответственным возрастанием дыхательного коэффициента.

Климактерический подъем дыхания обнаружен при исследовании большого числа разнообразных видов плодов (рис. 105). Начало климактерической вспышки дыхательной активности, ее длительность и интенсивность в большой мере определяются условиями среды, в частности температурой.

Изменения дыхательной активности наблюдаются не только в течение онтогенеза растения и его органов, но и в течение суток. Суточные изменения интенсивности дыхания растения не являются непосредственной реакцией на смену температуры и освещенности; суточная динамика дыхательного газообмена отражает собой ритмические изменения в дыхательной системе, являющейся результатом филогенетического приспособления к закономерной смене внешних условий. К такому выводу приводят данные по дыханию листьев сахарной свеклы, освещавшихся ночью и затемнявшихся днем. Как видно из рис. 106, растения на протяжении 11-суточного опыта не смогли полностью приспособиться к новому ритму освещенности и сохраняли утренний подъем дыхательной активности.

Изменения интенсивности дыхания, наблюдающиеся в онтогенезе растения, не являются чисто количественными. Они связаны с качественными изменениями в окислительной системе организма. В ходе развития изменяется относительное значение различных путей окисления. Так, показано (Gibbs, Beevers, 1955), что в молодых тканях (пшеница, клешевина,

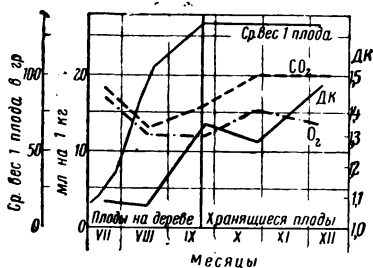


Рис. 104. Изменения интенсивности дыхания, дыхательного коэффициента и среднего веса одного плода в процессе роста и хранения яблок Антоновка (по Арциховской, 1956)

подсолнечник, томаты) преобладает гликолитический путь распада глюкозы, тогда как в более взрослых тканях окисление идет в основном по гексозомонофосфорному пути. Тагер (Tager, 1956) нашел, что в предклимактерической фазе у бананов гексозомонофосфатный путь играет в дыхании существенную роль.

На определенных фазах развития у растительных клеток может ясно проявляться способность к аэробному брожению,

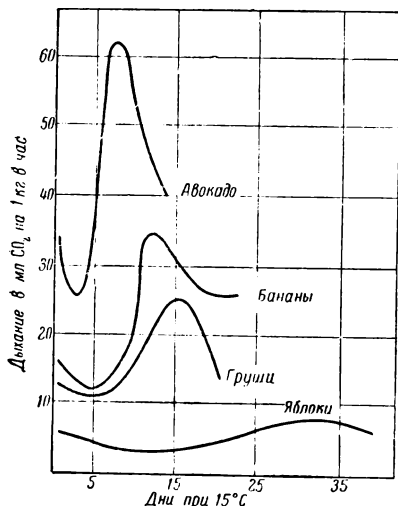


Рис. 105. Климактерический подъем дыхания у различных плодов в послелуборочный период (по Viale, 1950)

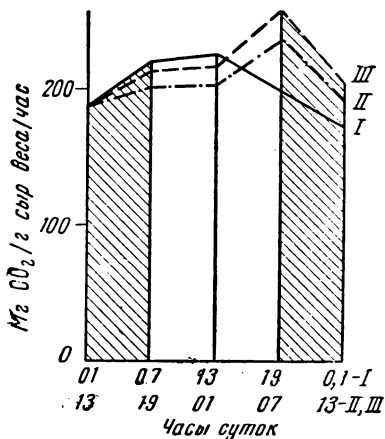


Рис. 106. Влияние измененного ритма освещения на дыхание листьев сахарной свеклы:

I — нормальное освещение, II — измененное освещение (5 суток); III — измененное освещение (11 суток); заштрихован период затемнения (по Рубину, Арциховской, Спиридоновой и Лутиковой, 1945)

как это показано для меристематических тканей и сочной паренхимы плодов в постклимактерический период. Изменяется с возрастом растения и декарбоксилирующая активность тканей (Ракитин, 1948; Rozier-Vinot, 1960).

Существенные изменения в процессе развития претерпевает система завершающих оксидаз. В 1939 г. были получены косвенные указания на инактивацию цитохромоксидазы в стареющих листьях моркови, дыхание которых становится устойчивым к действию цианида и CO (Marsh, Goddard, 1939). Н. М. Сисакян и Б. А. Рубин (1944) нашли, что по мере старения листья яблони постепенно теряют пероксидазную активность, тогда как активность полифенолоксидазы возрастает. Исследуя дыхание проростков ячменя, Д. М. Михлин и

П. А. Колесников (1947) обнаружили, что ведущая роль в активировании молекулярного кислорода на первых этапах прорастания принадлежит цитохромоксидазе. В процессе развития проростков фермент этот быстро теряет активность и основное значение в завершающем этапе окисления переходит к флавопротенновым оксидазам. Джеймс (James, 1954) считает, однако, что ферментом, замещающим цитохромоксидазу, является у ячменя аскорбинооксидаза.

В настоящее время смена завершающих оксидаз в ходе развития растений и их органов обнаружена у многочисленных представителей мира растений. Установлено, что активность цитохромоксидазы, снижающаяся на первых фазах развития растения, затем вновь возрастает, достигая максимума во время образования семян.



Рис. 107. Участие отдельных групп оксидаз в дыхании кожуры лимона в различные периоды жизни плода (в процентах от общего дыхания) (по Арциховской, Рубину и Ивановой, 1949)

Существенные изменения происходят и в окислительной системе развивающихся плодов (Рубин, Арциховская и Иванова, 1951; Арциховская и Рубин, 1955). Так, активность цитохромоксидазы, катализирующей около 50% поглощения кислорода растущими плодами лимона, почти полностью теряется в период, предшествующий созреванию. После прохождения плодом климатерической фазы активность этого фермента снова приобретает вполне определенные величины, не достигая, однако, уровня, свойственного зеленым плодам. Ведущая роль в активировании молекулярного кислорода переходит у созревающих плодов к так называемым ферментам остаточного дыхания, представленным в основном флавопротениновыми оксидазами (рис. 107). Аналогичная смена ферментов обнаружена в плодах томатов (Марх и Фельдман, 1956). Значительные изменения в системе завершающих оксидаз происходят также и в плодах яблоки (рис. 108).

Созревание плодов связано с активированием систем азробного брожения, о чем свидетельствует значительное возрастание дыхательного коэффициента и появление в тканях плода продуктов брожения — ацетальдегида, этилового спирта, этилена и т. д. (рис. 109).

Развитие анаэробных процессов в тканях созревающего плода определяется не затруднением доступа кислорода во внутренние слои мясистой паренхимы, о чем свидетельствует большее накопление продуктов анаэробного обмена в наиболее аэрируемой ткани плода — кожеуре.

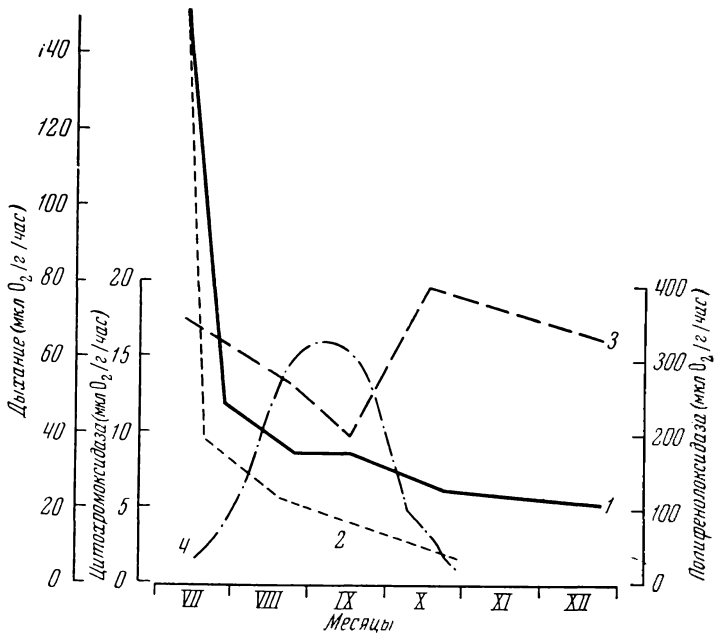


Рис. 108. Изменения интенсивности дыхания и активности оксидаз в онтогенезе яблок Антоновка:
 1 — общее дыхание, 2 — остаточное дыхание, 3 — полифенолоксидаза, 4 — цитохромоксидаза

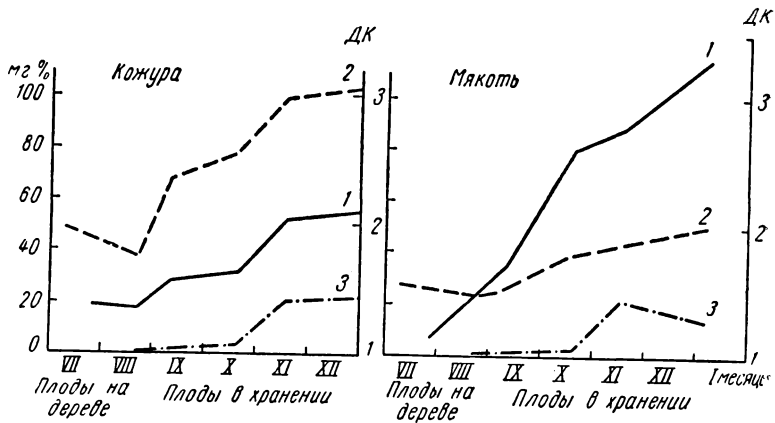


Рис. 109. Изменения дыхательного коэффициента (DK) (1) и содержания спирта (2) и ацетальдегида (3) в онтогенезе яблок Антоновка (по Арциховской и Соколовой, 1952)

Причины дыхательного пика у созревающих плодов привлекают к себе внимание исследователей на протяжении почти 45 лет. В настоящее время господствующей является точка зрения, согласно которой сдерживающим фактором в дыхании растущих плодов является недостаток фосфатных акцепторов. В период, предшествующий созреванию, 2,4-динитрофенол (ДНФ), разобщающий дыхание и окислительное фосфорилирование, резко активизирует дыхание тканей плодов. Активирование дыхания незрелых плодов может быть также достигнуто добавлением фосфорных акцепторов. Вместе с тем, дыхание зрелых плодов не активизируется под воздействием ДНФ или фосфатного акцептора — аденилата. Эти наблюдения позволили высказать предположение (Millerd, Bonner, Biale, 1953), что в ходе созревания в плодах образуется вещество, обладающее свойствами разобщающего агента. Другие исследователи иначе объясняют «независимость» дыхания спелых плодов от фосфатного акцептора (Hulme, 1954; Pearson, Robertson, 1954). Основываясь на том, что созревание плодов сопровождается значительным активированием синтеза белков, авторы эти считают, что в процессе синтеза белка происходит расщепление богатых энергией фосфатных связей. Происходящее при созревании снижение коэффициента АТФ/АДФ указывает на возрастание концентрации фосфатного акцептора, который поэтому перестает лимитировать скорость окислительного процесса.

Приведенные материалы позволяют считать, что изменения в обмене веществ, неизменно сопровождающие развитие растения и отдельных его органов, распространяются также и на окислительный обмен. Изменения интенсивности дыхательного газообмена, происходящие в ходе развития растения, отражают собой глубокие изменения в структуре дыхательного аппарата.

Есть все основания считать, что особенности дыхательной системы, связанные с функциями ткани и с ее химическим составом, отражают вместе с тем положение растения в эволюционном ряду, его филогенетический возраст.

ЛИТЕРАТУРА

- Арциховская Е. В. Окислительные системы и дыхания органов запаса у растений. Докторск. дисс., инст. Биохимии АН СССР, 1956.
Арциховская Е. В. и Рубин Б. А. Сб. «Биохимия плодов и овощей», т. 3. М., Изд-во АН СССР, 1955.
Арциховская Е. В., Рубин Б. А. и Иванова Т. Т., ДАН СССР, 1949, 67, № 6.
Арциховская Е. В. и Соколова В. Е. ДАН СССР, 1952, 84, № 4.
Багдыков Н. И. Изв. АН СССР, сер. биол., 6, 1954.
Буч Т. Г. Бюл. Главн. бот. сада 1955, № 20.
Гребинский С. О. Усп. совр. биол., 1944, 18, вып. 2.
Джеймс В. Дыхание растений, ИЛ, М., 1956.
Иванова Т. М. и Рубин Б. А. Биохимия, 1960, 25, вып. 3, 1962, 27, вып. 4.
Коржув П. А. Усп. совр. биол., 1959, 47, вып. 3.
Костычев С. П. Бот.

зап., 1907, 25. Марх А. Т. и Фельдман А. Л. Биохимия, 1956, 21, вып. 1. Михлин Д. М. и Колесников П. А. Биохимия, 1947, 12, вып. 5. Палладин В. И. Значение кислорода для растения. М., Изд-во МОИП 1886. Прохорова А. П. и Кретович В. Л. ДАН СССР, 1951, 80, № 1. Ракитин Ю. В. Тр. Ин-та физиол. раст. АН СССР, 6. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1948. Рубин Б. А., Арциховская Е. В. и Иванова Т. М. Сб. «Биохимия плодов и овощей», т. 2, М., Изд-во АН СССР, 1951. Рубин Б. А., Арциховская Е. В., Спиридонова Н. С. и Лутикова О. Т. Биохимия, 1945, 10, вып. 1. Рубин Б. А., Пушкинская О. И. и Соколова В. Е. Биохимия, 1945, 10, вып. 5—6. Сисакян Н. М. и Рубин Б. А. Биохимия, 1944, 9, вып. 6. Смирнов А. И. Биохимия, 1943, 8. Туркина М. В. и Дубинина И. М. ДАН СССР, 1954, 95, № 1. Aubert E. Rev. Gen. Bot., 1892, Biale J. B., Ann. Rev. Plant Physiol., 1950, 1. Bonner J., Galston A. W. Principles of plants Physiology. S.-Fruncisco, 1952, 4. Datta P. K. a. Meeuse B. J. D. Biochim. et Biophys. Acta, 1955, 17, № 4. Gibbs M. a. Beevers H. Plant Physiol., 1955, 30, № 4. Goddard D. R. a. Bonner W. D. «Plant Physiology», Acad. Press, N. Y., a. London, 1960. Hackett D. P. J. Expt. Bot., 1957, 8, № 23. Hover J. M. a. Gustafson F. G. J. Gen. Physiol., 1926, 10. Hulme A. C. J. Expt. Bot., 1954, 5. James W. O. Adv. Sci., 1954, 11, № 43. James W. O. a. Beevers H. New Phytol., 1950, 49, № 3. James W. O. a. Elliott D. C. New Phytol., 1958, 57, N 2. Kidd F. a. West C. Proc. Roy. Soc., 1930, 106. Maige G. Ann. Sci. Nat. Bot., Ser. 9, 1911, 14. Marsh P. B. a. Goddard D. R. Amer. J. Bot., 1939, 26, № 9. Miller A., Bonner J. a. Biale J. B. Plant Physiol., 1953, 28, № 3. Pearson J. A. a. Robertson R. N. Austral. J. Biol. Sci., 1954, 7. Robertson R. N. a. Turner J. F. Austr. J. Sci. Res., SB, 1951, 4, № 2. Rozier-Vinot C. C. R. Acad. Sci., 1960, 251, № 1. Stiles W. a. Leach W. Handbuch der Pflanzenphysiologie, 1960, XII-2. Tager J. M. S. Afric. J. Sci., 1956, 53, № 5.

ДЫХАНИЕ РАСТЕНИЙ И ВНЕШНЯЯ СРЕДА

Наряду с внутренними особенностями организма для структуры дыхательной системы и интенсивности дыхательного газообмена большое значение имеют условия среды.

Состояние таких факторов среды, как температура, состав атмосферы, влажность, минеральное питание, свет, оказывает большое влияние на весь обмен веществ растения, в том числе и на одно из центральных звеньев обмена, каким является дыхание.

Воздействие, оказываемое на дыхательный процесс одним из факторов, в большой мере определяется состоянием других факторов среды. Это положение необходимо постоянно иметь в виду при изолированном рассмотрении зависимости дыхания от определенного фактора внешней среды.

ВОДА

Вода неразрывно связана с жизнью, являясь неотъемлемой частью протоплазмы, растворителем большинства веществ, содержащихся в клетке. Кроме того, вода является непосредственным участником большинства процессов обмена, протекающих в организме. В полной мере это положение может быть отнесено к процессу дыхания.

Как уже упоминалось выше, вода не только является одним из конечных продуктов реакции, но вместе с тем как реагент участвует в отдельных реакциях дыхательной цепи. Поступление воды в клетку представляет собой активный процесс, идущий с потреблением энергии дыхания. Также и водоудерживающая способность находится в прямой зависимости от интенсивности дыхания, о чем подробнее будет сказано ниже.

Для осуществления дыхательного процесса необходима определенная степень оводненности протоплазмы. Это видно при рассмотрении дыхания растительных тканей, способных к высушиванию, например семян. Значительное активирование дыхательного газообмена семян наступает при повышении содержания воды до 14—15%, т. е. при переходе границы так называемой «критической» влажности. При более низкой влажности вся вода, содержащаяся в зерне, находится в связанном состоянии. Такая форма воды настолько прочно соединена с клеточными коллоидами, в основном с белками, что не может принять участия в создании водной фазы, необхо-

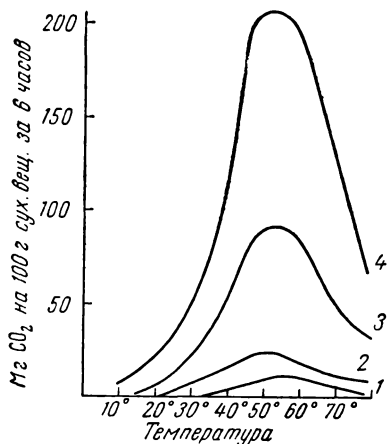


Рис. 110. Влияние температуры на дыхание зерна пшеницы с влажностью 14% (1), 16% (2), 18% (3) и 22% (4) (по Кретовичу, 1964)

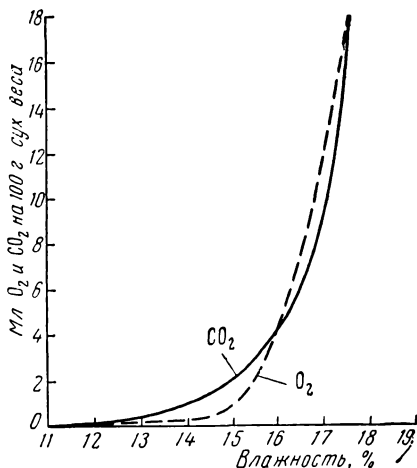


Рис. 111. Зависимость интенсивности дыхания семян проса от влажности (по Кретовичу, 1964)

димой для течения биохимических реакций. Лишь при увеличении влажности выше 14—15% в семенах появляется свободная вода, что приводит к резкому ускорению всех биохимических процессов (рис. 110, 111).

Увеличение влажности не только усиливает дыхание зерна, но и изменяет реакцию дыхательного процесса на температуру. Если дыхание сухого зерна в очень малой степени зависит от температуры, то по мере увеличения влажности возрастает температурный коэффициент дыхания, а также усиливается повреждающее действие высокой температуры на дыхательные системы.

При рассмотрении влияния влажности зерна на интенсивность его дыхания надо иметь, однако, в виду, что в этом случае мы не имеем дело с влиянием оводненности в чистом виде. Повышение влажности в этом случае неизбежно сопро-

воздается возникновением ростовых процессов, оказывающих большое воздействие на дыхание.

Жизнедеятельность большинства растительных тканей (например тканей вегетативных органов высших растений) возможна лишь в определенных границах оводненности протоплазмы. При медленной потере воды наблюдается первоначальное возрастание интенсивности дыхания, зависящее от раздражающего действия высушивания (Huber, Ziegler, 1960). При дальнейшей потере воды интенсивность дыхания постепенно снижается. При резком водном дефиците, приводящем к отмиранию клеток, может иметь место сублетальный скачок дыхательной активности.

Характер изменений дыхательной активности в процессе обезвоживания ткани и степени обезвоживания, при которых наступает первоначальный подъем дыхания или гибель клеток, неодинаков для различных растительных объектов.

Помимо наследственных особенностей организма характер реакции растительной ткани на потерю воды зависит от физиологического состояния организмов — от возраста, условий выращивания и т. п. (Курсанов, Благовещенский, Казакова, 1933).

Растения, выращенные в засушливых условиях, отличаются по интенсивности дыхания от растений, росших в оптимальных условиях увлажнения. Однако имеющиеся данные о характере этих отличий весьма противоречивы, что объясняется как природой исследуемых растений, так и степенью водного дефицита, испытываемого растениями. Так, например, в опытах Томбеси (Tombesi, 1949) растения томата, росшие при недостатке воды, обладали пониженной интенсивностью дыхания. Напротив, груши с поливного участка дышали слабее, чем с неполивного (Ryall, Aldrich, 1944). Более интенсивное дыхание листьев сахарной свеклы при недостаточном снабжении водой растений наблюдал В. И. Жолкевич (1958).

С В Е Т

Вопрос о влиянии света на дыхание растений изучен недостаточно в основном из-за методических затруднений, встречающихся при исследовании этого вопроса на зеленых тканях. Для того чтобы картина дыхательного газообмена не затемнялась газообменом фотосинтетическим, экспериментатору приходится применять воздействия, физиологически далеко не нейтральные. Так, помещение растений в атмосферу, лишенную углекислого газа, нарушает нормальный состав атмосферы, к которому адаптированы все жизненные процессы растения. Вместе с тем, прием этот не может нацело исключить фотосинтез, поскольку выделяющийся при дыхании углекислый газ может быть ассимилирован в дышащей клетке,

а выделяемый при этом кислород будет непосредственно использоваться на дыхание. Применение слабых концентраций ингибиторов может не только прекращать фотосинтетическую активность клетки, но и влиять на другие процессы, в ней протекающие. Наконец, используемые при работе с водорослями мутанты, содержащие хлорофилл, но лишенные фотосинтетической активности, представляют собой организмы с серьезными нарушениями в обмене веществ. Таким образом, полученные на них данные не могут быть полностью перенесены на нормальные растительные объекты. Если к тому же учесть, что среди растений наблюдается чрезвычайное разнообразие в отношении их реагирования на условия среды, то становится понятным, почему по вопросу о влиянии света на дыхание не установлено сколько-нибудь общих закономерностей. Рассматриваемый вопрос усложняется еще тем, что свет может оказывать на дыхание косвенное влияние, поскольку в процессе фотосинтеза возникают вещества, являющиеся субстратами дыхания.

В последние годы нашли широкое применение эксперименты с изотопами кислорода и углерода, входящими в состав CO_2 , с помощью которых можно вести одновременное раздельное определение дыхания и фотосинтеза. Данные, полученные этим методом, позволяют надеяться, что в недалеком будущем вопрос о влиянии света на дыхание станет более ясным.

По имеющимся в настоящее время данным можно заключить, что в большом числе случаев освещение не оказывает на дыхание сколько-нибудь заметного воздействия. Вместе с тем, в некоторых случаях удалось показать, что при освещении листьев дыхание активизируется. Особенно чувствительны к свету теневые листья, дыхание которых при кратковременном воздействии прямого солнечного света может возрастать в 2—3 раза, причем эффект этот сохраняется на протяжении нескольких часов.

Характер и степень воздействия, оказываемого светом, во многом зависят от порядка чередования освещения и затемнения. При наблюдениях над зелеными водорослями и водными растениями установлено, что в темноте, следующей за освещением, даже кратковременным, растения дышат сильнее, чем до освещения. Эффект этот не связан с накоплением продуктов фотосинтеза, так как наблюдался в опытах, где исключались лучи всей видимой части спектра (освещение ртутной лампой).

Однако в опытах с изотопом кислорода (Brown, 1953) на ряде водорослей и сосудистых растений не получили стимулирующего эффекта от прерывистого освещения.

Наиболее эффективно влияет на дыхание коротковолновая часть видимого спектра и в особенности ультрафиолетовые

лучи. Это позволяет заключить, что влияние света на дыхательный процесс обусловлено не тепловой энергией, а специфическим воздействием определенных участков спектра.

Дыхание бесхлорофильных тканей высших растений (корни, клубни, семена и т. д.) при длительном солнечном освещении вначале значительно активизируется, вслед за чем наступает депрессия. Характер кривой и расположение оптимальной точки зависят от интенсивности освещения.

В последние годы получены данные, позволяющие считать, что в случае влияния света, так же как и при других воздействиях на дыхание, мы имеем дело не с простым изменением скорости реакций в цепи дыхательных превращений, а с избирательным воздействием на отдельные звенья этой цепи, приводящим к качественным изменениям дыхательной системы. Об этом можно судить, например, по результатам опытов со стеблями гороха, выращивавшимися при полном солнечном освещении, при освещении отдельными участками спектра и в темноте (Hunter, Hunter, King, Pinkney, 1956). Каждый из этих вариантов освещения оказывал различное воздействие на окисление тканями стебля испытывавшихся субстратов (в качестве субстратов использовались янтарная, лимонная, глутаминовая кислоты, глицерофосфат и аскорбиновая кислота). Авторы приходят к выводу, что отдельные участки спектра оказывают различное воздействие на отдельные ферментные системы.

К сходным выводам приходят Фаркаш и др. (Farkas, Konrad, Kiraly, 1957), изучавшие влияние малоната на дыхание освещенных и этиолированных проростков пшеницы. Установив, что в результате освещения возрастает чувствительность дыхания к ингибирующему действию малоната, авторы пришли к выводу, что освещение этиолированных проростков оказывает активное воздействие на сукцинооксидазную систему.

МИНЕРАЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА

Уровень содержания тех или иных минеральных элементов в почве, а также внесение минеральных удобрений влияют на интенсивность дыхательного газообмена. Вместе с тем, вопрос о воздействии определенных ионов чрезвычайно сложен. Так, например, растения, выращенные на почве, богатой калием, характеризуются высокой активностью окислительных ферментов, усилением дыхательного газообмена в целом и интенсивными синтетическими процессами. Наряду с этим существенное активирование дыхания наблюдается и у растений, испытывающих дефицит калия. Подобная противоречивость объясняется многообразным воздействием минеральных элементов на различные направления обмена веществ и в том числе на окислительно-восстановительные процессы.

Большое значение имеет также то, что действие одного какого-либо элемента может быть либо усилено, либо ослаблено одновременным присутствием других элементов.

Минеральные элементы могут влиять на дыхательный процесс различными путями. Так, ионы металлов являются важной составной частью ряда окислительных ферментов. Например, железо является активным центром гемина, играющего роль простетической группы в каталазе, пероксидазе, цитохромоксидазе и в цитохромах. Железо представляет собой также функциональную группу в ТПН- и ДПН-цитохромредуктазах и в дегидразе бутирил-коэнзима А; молибдену принадлежит та же роль в нитратредуктазе и ксантинооксидазе; медь входит в активную группу полифенолоксидазы и аскорбинооксидазы и т. п.

In vitro показано, что катионы могут оказывать как активирующее, так и ингибирующее действие на различные окислительно-восстановительные ферменты. Так, Mg^{++} является активатором ряда ферментов — фосфатазы, энлазы, фосфоглюкоматазы, киназы, катализирующей перенос фосфора от АТФ к глюкозе и т. д. K^+ активирует действие фруктокиназы, киназы пировиноградной кислоты, ацетилазы коэнзима А и т. п.

Ионы тяжелых металлов могут оказывать неспецифическое ингибирующее действие на ферменты. Молибден подавляет кислую фосфатазу; в ряде случаев ферменты, активируемые K^+ , могут ингибироваться Na^+ и Li^+ .

Недостаток катионов, входящих в состав определенных ферментов, сказывается на уменьшении активности этих ферментов в растении. Так, в клубнях Си-дефицитных растений картофеля почти отсутствует полифенолоксидаза и, напротив, внесение микродоз меди приводит к существенному активированию этого фермента.

Однако недостаток какого-либо элемента может влиять и на активность фермента, в состав которого этот элемент не входит; например, при недостатке марганца падает активность каталазы и пероксидазы (Brown, Steinberg, 1953). Сплошь и рядом дефицит определенных элементов приводит не к подавлению, а к активированию действия ряда ферментов, как это видно из данных табл. 24.

Вопрос усложняется еще и тем, что активность и количество определенных ферментов сплошь и рядом не являются фактором, лимитирующим интенсивность дыхания. Так, содержание цитохромов может быть снижено у *Aerobacter* недостатком Fe в среде. Однако интенсивность дыхания при этом не снижается (Waring, Werkman, 1944). Аналогичное действие на содержание цитохромов и дыхание у *Aerobacter* оказывает и умеренный недостаток азота (de Ley, 1955).

Сложность связей, существующих между снабжением растения минеральными элементами и дыханием, в полной

Действие недостатка микроэлементов на активность ферментов и дыхание листьев томата*

(по Nason, 1952; Nason и др., 1952; цитир. по Syrett, 1960)

Металл	Поллфенолок-сидаза	Аскорбино-ксидаза	Пероксидаза	Лактисде-гидаза	Дегидр. гли-кол. к-ты	ДПН. Н диафораза	Изоцитр. де-гидрогеназа	Дыхание
—Zn	280	200	360	150	150	130	140	100
—Cu	30	50	200	110	100	220	1650	300
—Mn	560	180	400	150	130	200	220	140
—Fe	500	100	40	80	100	80	230	120
—Mo	220	80	250	130	120	100	110	20
—Br	220	80	200	120	110	100	120	140

* Активность ферментов, отнесенная на единицу белка, выражена в процентах к контролю; эндогенное дыхание гомогената отнесено на сухой вес и выражено в процентах к контролю.

мере выявляется при изучении действия солей на растение.

В длительных опытах дыхание срезов картофеля активируется калийными солями и тормозится кальциевыми. Как активирующее, так и тормозящее действие катионов усиливается анионами, причем степень эффективности последних располагается в следующем порядке: $\text{NO}_3^- > \text{Cl}^- > \text{Br}^- > \text{SO}_4^{2-}$ (Steward, Preston, 1941).

Действие солей может сказываться на дыхании косвенным образом, изменяя проницаемость протоплазмы. Особенно это заметно при высоких концентрациях солей — начинающийся плазмолиз связан с возрастанием интенсивности дыхания, тогда как значительное снижение проницаемости при далеко зашедшем плазмолизе приводит к снижению дыхательной активности клетки. Это может зависеть как от утраты клеточной важных промежуточных соединений, так и от высаливания белков.

Стевард и Престон (Steward, Preston, 1941) установили в длительных опытах, что у срезов картофеля, находящихся в аэрируемых растворах, интенсивность дыхания зависит от интенсивности синтеза белка, который усиливается солями калия и подавляется солями кальция. Согласно Эрплеу (Erpley, 1960), калию принадлежит существенная роль в повышении скорости реакций, приводящих к переносу фосфатов и, в частности, в усилении использования АТФ. Это до некоторой степени может разъяснить противоречивость данных по действию калия на дыхание растений. Хорошее снабжение калием должно активировать процессы окислительного фосфори-

лирования и использования энергии на синтетические процессы. Вместе с тем, дефицит калия может вызвать частичное разобщение дыхания и фосфорилирования, связанное с активированием дыхательного газообмена, энергия которого в этом случае используется растением в меньшей степени.

Приведенные материалы показывают, что вопрос о влиянии минеральных элементов на дыхание является чрезвычайно сложным и в настоящее время мы еще далеки от полного понимания закономерностей, управляющих этой стороной жизни клетки.

ТЕМПЕРАТУРА

Дыхание растений, как все химические процессы, усиливается с повышением температуры. При достижении температуры, повреждающей протоплазму и нарушающей нормальную жизнедеятельность клетки, дыхание падает.

Верхняя граница температуры, при которой возможно дыхание, расположена для большинства растительных организмов около 45—55°C. Однако в результате приспособления к условиям повышенной температуры верхний предел жизни может быть сильно сдвинут. Это наблюдается у термофильных организмов (бактерии, водоросли), отдельные представители которых способны расти при 80°C (Baker, Hunter, Sobotka, 1955).

Термоустойчивость организма не может не быть связанной с соответственной устойчивостью дыхательной системы и отдельных окислительно-восстановительных ферментов, что и подтверждается в ряде исследований. Например, у термофильных бактерий дегидраза яблочной кислоты более 2 час остается стабильной при 65°C, тогда как в тех же условиях у мезофильных форм фермент этот полностью инактивируется за 10 мин (Militzer, Sonderegger, Tuttle, Georgi, 1949).

Нижняя температурная граница для нормального течения дыхательного процесса также сильно варьирует в зависимости от особенностей организма и обусловлена в основном экологической приспособленностью растения. Для растений жаркого климата повреждение холодом сплошь и рядом наблюдается даже при положительной температуре. Так, хлопчатник (*Gossypium hirsutum*) гибнет в течение суток при температуре от 1 до 3°, хинное дерево (*Cinchona ledgeriana*) отмирает в течение нескольких суток при 2°. Еще более чувствительно растение какао (*Theobroma cacao*), гибель которого может наступить даже при температуре 8°. Среди культурных растений умеренного климата наибольшей чувствительностью к понижению температуры отличаются огурцы, а также фасоль, кукуруза, баклажаны и гречиха.

Снижение температуры до уровня, приводящего к повреждению, связано с временным подъемом дыхательной активно-

сти, совпадающим с появлением симптомов повреждения холодом, как это наблюдалось, например, у огурцов уже при $+10^{\circ}\text{C}$ (Eaks, Morris, 1956).

Нижний предел температуры, при которой ткани растения способны поддерживать дыхательный газообмен, различается не только у разных растений, но и у одного и того же растения в разное время года. Еще в 1903 г. Н. А. Максимов показал, что у многолетних растений зимующие органы (почки, иглы хвойных) не прекращают дыхания даже при -25°C , хотя интенсивность дыхания при этом очень незначительна. Летом же дыхание хвои прекращается уже при температуре -4 , -5° (Максимов, 1952).

Дыхательные системы арктических растений отличаются исключительной приспособленностью к низким температурам. Так, ветви арктических деревьев и кустарников, перенесшие охлаждение до -183° , перестают развиваться, но сохраняют способность к дыхательному газообмену (Scholander, Flagg, Hock, Irwing, 1953).

Влияние температурных условий на интенсивность дыхания определяется не только уровнем температуры, но и характером температурной кривой — быстротой смены температуры, длительностью ее воздействия. Так, при кратковременной экспозиции максимальная точка дыхательной кривой располагается при более высокой температуре, чем в случае продолжительных экспозиций. Причина заключается в том, что температуры, к которым растение не адаптировано, постепенно нарушают дыхательную систему, и первоначальное активирование дыхания высокой температурой сменяется затем депрессией.

Большое влияние на интенсивность дыхания оказывает смена температуры. Даже незначительные колебания ее в пределах условий, нормальных для данного растения, оказывают раздражающее влияние на дыхание, повышая, как правило, его интенсивность. Это явление было впервые обнаружено В. И. Палладиным (1899).

Повышение интенсивности дыхания, приводящее к возрастанию потери питательных веществ, является нежелательным при хранении овощей и плодов. Поэтому хранение рекомендуется вести при постоянной температуре. В качестве примера воздействия смены температур на дыхание приведены в табл. 25 (данные Б. А. Рубина (1945)). В одном из вариантов опыта овощи выдерживались 55 суток при постоянной температуре (5°). Во втором варианте каждые сутки температура менялась — сутки овощи находились при 2° , сутки при 8° , затем опять 2° и т. д. Несмотря на то что средняя температура для обоих вариантов была одинаковой, дыхание в условиях изменяющейся температуры было значительно более интенсивным.

Основным приемом, позволяющим сократить потери питательных веществ в плодах и овощах, является хранение при пониженной температуре. Однако границы, до которых может быть снижена температура без снижения качества хранящегося объекта, сильно варьируют для разных плодов и овощей (см. Ulrich, 1954).

Таблица 25

Влияние смены температур на интенсивность дыхания хранящихся овощей (мг СО₂ на 1 кг сырого веса в час)
(по Рубину, 1945)

Объекты	Температурные условия	
	постоянная температура +5°	чередование температур +2 и +8° через сутки
Морковь Шантене	7,7	11,1
Лук Скопинский	9,9	11,5
Свекла Бордо грибовская . .	12,1	15,9

При рассмотрении зависимости дыхания от температуры возникает вопрос, как определить оптимальные температурные условия для дыхания данного объекта? Температура, при которой дыхание достигает минимального уровня, оказывает в то же время повреждающее действие на дыхательную систему и поэтому не может быть признана оптимальной. На основании большого экспериментального материала, накопленного в мировой литературе, можно заключить, что оптимальными для дыхательного процесса являются те температурные интервалы, в пределах которых повышение температуры приводит к максимальному возрастанию интенсивности дыхания.

Характер зависимости дыхания от температуры выражается обычно коэффициентом Q_{10} (увеличение интенсивности дыхания при возрастании температуры на 10°), т. е.

$$Q_{10} = \frac{\text{дыхание при температуре } n^{\circ} + 10^{\circ}}{\text{дыхание при температуре } n^{\circ}}$$

Величина Q_{10} колеблется в больших пределах для различных растений, а также может существенно изменяться в процессе онтогенеза растения и отдельных его органов. Кроме того, Q_{10} не одинаково, как правило, в различных температурных интервалах.

В качестве примера рассмотрим изменения величины температурного коэффициента, наблюдающиеся в ходе развития плодов. Из данных табл. 26 видно, что по мере развития яблок Антоновка степень активирования процесса поглощения кислорода при повышении температуры от 20 до 30° неуклон-

но снижается, тогда как в интервале 5—15° величина Q_{10} возрастает до момента созревания плодов.

Значительно более постоянным является Q_{10} выделения CO_2 , существенно не изменяющийся на протяжении развития яблوك.

Изменения зависимости дыхания от температуры, происходящие в ходе роста и развития плодов, с большой наглядностью видны на рис. 112. При 5° зрелые плоды лимона и мандарина поглощают кислород активнее зеленых, тогда

Т а б л и ц а 26

Изменения температурного коэффициента (Q_{10}) дыхания яблук Антоновка во время их роста и хранения (по Арциховской, 1956)

Дата	Поглощение O_2		Выделение CO_2	
	5—15°	20—30°	5—15°	20—30°
21/VII	1,71	2,22	2,03	1,78
18/VIII	1,90	1,58	2,10	1,53
25/IX	2,09	1,46	2,62	1,42
27/X	2,21	1,44	2,24	1,53
8/XII	1,85	1,24	2,55	1,50

как при 30° наблюдается обратная картина. Причина заключается в том, что у спелых плодов максимальное возрастание интенсивности поглощения кислорода происходит в интервале низких температур, а у зеленых плодов Q_{10} достигает наибольшего значения при повышении температуры от 20 до 30°. Другими словами, на каждой фазе развития для поглощения плодами кислорода наиболее благоприятны те температурные интервалы, на фоне которых проходит эта фаза. Так, рост плодов осуществляется при высоких летних температурах, которые и максимально стимулируют дыхание. Последний период пребывания плодов на дереве проходит для яблук Антоновка (средняя полоса России) в сентябре, а для цитрусовых (советские субтропики) — в ноябре — декабре, т. е. примерно в одинаковых условиях пониженных температур. Это отражается на соответственном изменении Q_{10} , максимальное значение которого для созревающих плодов наблюдается в интервале 5—10°.

У цитрусовых, также как и у яблук, процесс выделения углекислоты в меньшей степени зависит от изменений температуры, чем процесс поглощения кислорода. В результате изменения температуры сопровождаются существенными изменениями величины дыхательного коэффициента (отношение CO_2/O_2), возрастающей у зеленых плодов при низких температурах, а у зрелых — при высоких температурах. Иными

словами, температуры, к которым плод на данной фазе развития не адаптирован, искажают нормальный ход дыхательного газообмена. Это может зависеть как от использования в качестве дыхательного субстрата более окисленных соединений, так и от относительного активирования процессов анаэробного распада.

О подавлении дыхания температурами, к которым растение не приспособлено на данной фазе развития, говорят так-

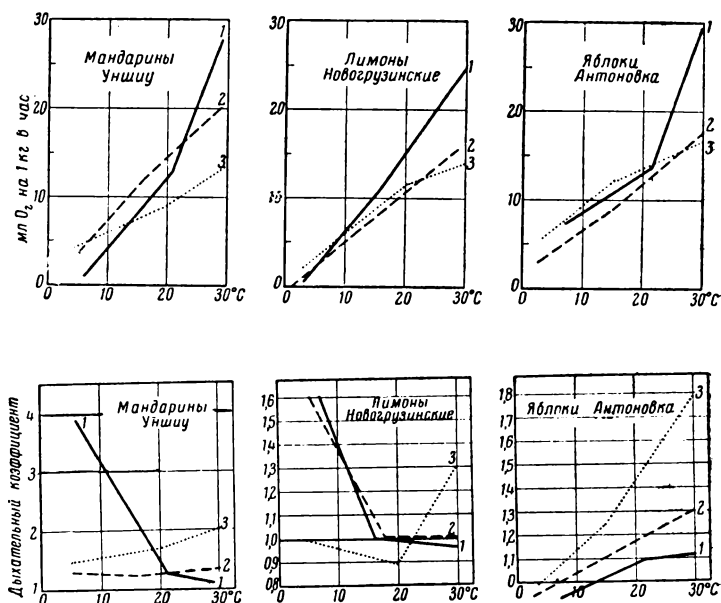


Рис. 112. Влияние температуры на дыхание и дыхательный коэффициент плодов зеленых (1), перед созреванием (2) и спелых (3) (по Рубину, Арциховской и Ивановой, 1949)

же данные, полученные А. А. Кричевской и И. Ф. Лященко (1954) на пшенице. В осенний период при снижении температуры ниже 0° дыхание озимых пшениц сохранялось на довольно высоком уровне (2,88—3,24 мл O₂/1 час/мг сухого веса), тогда как у яровых пшениц интенсивность дыхания резко падала и растения погибали.

Приспособление дыхательного процесса к закономерной смене температур, на фоне которых осуществляется развитие растения, можно наблюдать не только на протяжении вегетационного сезона, но и в течение суток (табл. 27). И в этом случае температурный коэффициент поглощения кислорода подвержен значительно большим колебаниям по сравнению с Q₁₀ выделения CO₂.

Имеются все основания считать, что приспособление дыхания к изменяющимся температурным условиям осуществляется путем качественных изменений в дыхательной системе, путем изменения степени участия отдельных ферментов в дыхательном процессе.

Как уже говорилось выше, в ходе созревания citrusовых плодов падает активность металлосодеждащих оксидаз и возрастает роль остаточного дыхания. Изучение зависимости действия этих двух групп оксидаз от температуры показало, что при низкой температуре дыхание кожy citrusовых

Т а б л и ц а 27

Суточные колебания температурного коэффициента дыхания старых и молодых листьев *Corynocarpus laevigatus* (30—40°) (средние данные) (по Ruhland, Ramshorn, 1938)

Возраст листьев	Поглощение O ₂		Выделение CO ₂	
	утро	вечер	утро	вечер
Молодые	1,31	1,16	1,35	1,35
Старые	1,33	1,13	1,40	1,22

плодов обеспечивается в основном ферментами остаточного дыхания. С повышением температуры активность ферментов этой группы возрастает незначительно. В то же время активность металлосодеждащих оксидаз, играющих сравнительно небольшую роль при пониженных температурах, при повышении температуры быстро возрастает, особенно в интервале 20—30° (рис. 113) (Арциховская и Рубин, 1950).

В среднем температурный коэффициент составляет:

	Лимон	Апельсин
Металлосодеждащие оксидазы	4,7	5,2
Флавопротеиновые оксидазы	2,6	1,5

Изменение температурной зависимости дыхания яблoк также связано с изменениями в системе завершающих оксидаз. На первых фазах развития плода основная роль в активировании молекулярного кислорода принадлежит флавопротеиновым оксидазам, затем ведущая роль переходит к цитохромоксидазе и, наконец, у зрелых плодов — к полифенолоксидазе (см. рис. 108).

Как показали исследования, температурный коэффициент остаточного дыхания яблoк неуклонно снижается по мере их роста и созревания:

	10—20°	20—30°
Июль	3,64	2,69
Август	3,52	2,18
Сентябрь	3,40	1,56
Октябрь	1,98	1,29

Данные эти заставляют предполагать, что остаточное дыхание катализируется у яблок несколькими флавопротеиновыми оксидазами, обладающими неодинаковым отношением к температурному фактору, причем соотношение активности отдельных оксидаз изменяется в ходе развития плода.

Цитохромоксидаза, которой принадлежит существенная роль в завершающем этапе окисления в августе — сентябре, характеризуется высоким Q_{10} (порядка 3—5). При созрева-

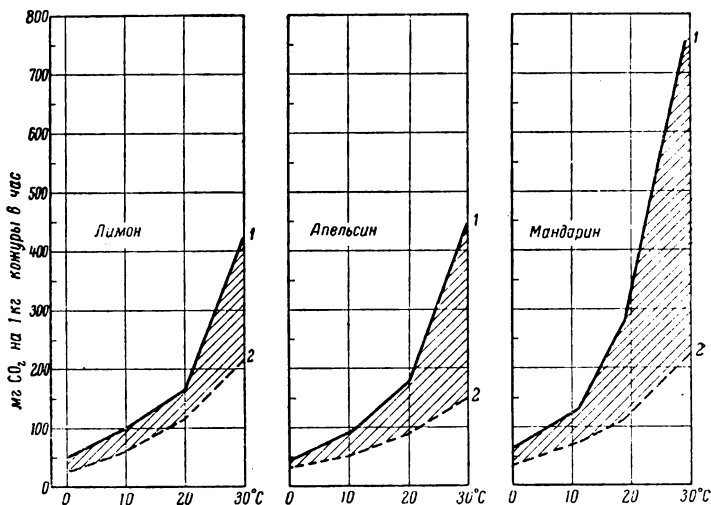


Рис. 113. Температурная зависимость общего (1), остаточного (2) и подавляемого (заштриховано) дыхания кожуры цитрусовых плодов (по Арциховской и Рубину, 1950а)

нии яблок основная роль в активировании молекулярного кислорода переходит к полифенолоксидазе. Активность полифенолоксидазы живых тканей яблока отличается своеобразным характером зависимости от температуры: ее активность (при определении в срезах ткани) практически не изменяется при повышении температуры от 10 до 30°. Исследование столь необычного поведения фермента показало, что фермент этот находится в живых клетках яблока в двух состояниях — адсорбированном на структурных элементах клетки и растворенном в клеточном соке.

Удалось установить, что полифенолоксидаза, адсорбированная на структурных образованиях клетки, не только не

увеличивает активности при повышении температуры, но даже несколько ее снижает. Вместе с тем, будучи переведена в раствор, полифенолоксидаза реагирует на повышение температуры определенным повышением активности (табл. 28).

Подобные свойства полифенолоксидазы не являются общими для всех растительных объектов, на что указывают данные, полученные на картофеле. Как видно из табл. 28, фермент, адсорбированный на структурных элементах картофеля, отличаясь несколько пониженной величиной Q_{10} , сохраняет все же способность вполне определенно увеличивать активность с повышением температуры.

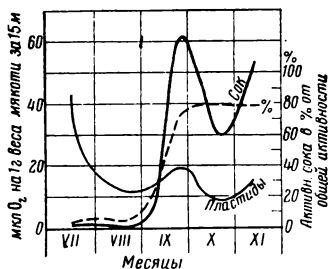
Таблица 28

Температурный коэффициент растворенной и адсорбированной полифенолоксидазы (средние данные)
(по Арциховской, 1956)

Объект	Адсорбированный фермент		Извлеченный фермент	
	10—20°	15—25°	10—20°	15—25°
Яблоки Антоновка, мякоть	0,87	0,93	2,00	2,19
Картофель, клубни . .	1,51	1,30	2,05	2,17

Приведенные данные подчеркивают, что свойства фермента в большой мере определяются состоянием, в котором он находится в клетке. Исследование соотношения свободной и адсорбированной полифенолоксидазы в клетках мякоти яблок (рис. 114) показало, что созревание яблок сопровож-

Рис. 114. Распределение полифенолоксидазной активности между пластидами и цитоплазмой на различных этапах развития яблок Антоновка (по Арциховской, 1956)



дается переходом основной части фермента из пластид в цитоплазменную жидкость. Материалы эти указывают, что в приспособлении дыхания к температурным условиям помимо смены ферментных систем может играть роль и изменение внутриклеточной локализации ферментов. Кроме того, этими данными подчеркивается значение полифенолоксидазы как фермента «холодного» дыхания.

Указания на подобную роль полифенолоксидазы имеются также в работе Томашевского (Tomaszewski, 1957). Автор наблюдал, что плодовые деревья, у которых весенние побеги рано трогаются в рост, отличаются высокой активностью полифенолоксидазы. Кроме того, у некоторых видов плодовых деревьев отмечена корреляция между высокой полифенолоксидазной активностью и морозостойкостью сортов.

В качестве примера адаптивной роли перестройки дыхательной системы можно привести данные Б. А. Рубина и

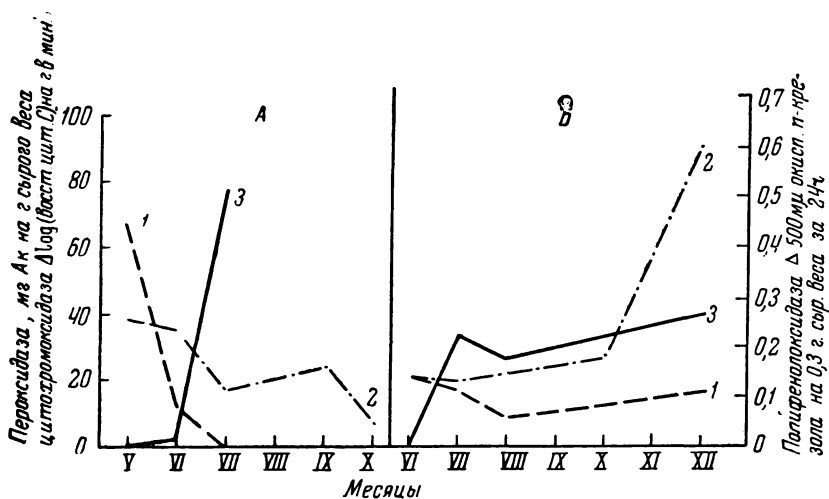


Рис. 115. Изменения активности оксидаз в хвое лиственницы (А) и сосны (Б) в годичном цикле развития растений:

1 — цитохромоксидаза, 2 — пероксидаза, 3 — полифенолоксидаза (по Рубину, 1960)

Я. Ф. Ворошильской (см. Рубин, 1960), касающиеся динамики активности оксидаз и дегидрогеназ в хвое лиственницы и сосны. В период интенсивного роста хвои главной завершающей оксидазой у лиственницы является цитохромоксидаза (рис. 115). В это время наблюдается также высокая активность пероксидазы, тогда как полифенолоксидазная активность практически отсутствует. Во вполне сформировавшейся хвое лиственницы основной завершающей оксидазой является полифенолоксидаза, тогда как активность цитохромоксидазы сводится к нулю. Во второй половине лета в хвое лиственницы в завершающем этапе дыхания основная роль принадлежит, по-видимому, пероксидазе, сопряженной с флавопротеиновыми ферментами.

Иные соотношения между активностью ферментов наблюдаются в хвое сосны. Наибольшие различия отмечены осенью, когда хвоя сосны готовится к зимовке, а хвоя лист-

венницы заканчивает жизненный цикл. В противоположность лиственнице, у которой активность пероксидазы к октябрю уменьшается, у сосны этот фермент сильно активируется, особенно при переходе к зиме. Одновременно неуклонно повышается активность полифенолоксидазы.

Сильно различается также хвоя лиственницы и сосны по динамике активности дегидрогеназ (рис. 116). У лиственницы осенью происходит почти полная инактивация дегидрогеназ лимоннокислого цикла, тогда как у сосны эти дегидро-

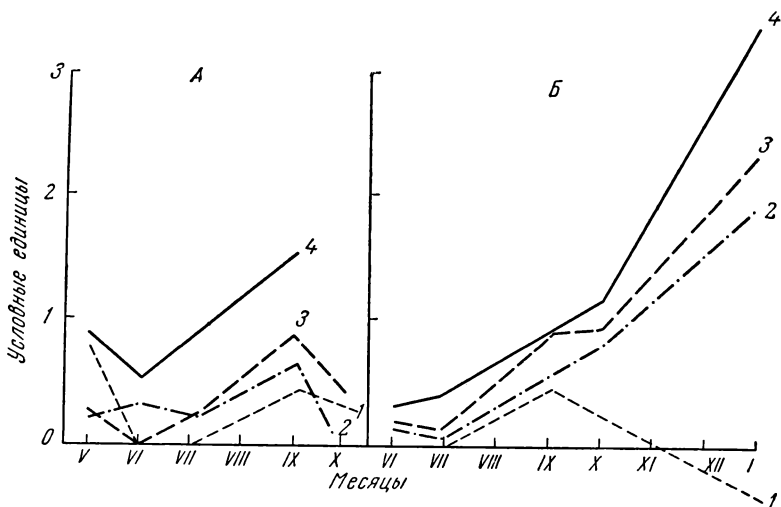


Рис. 116. Изменения активности дегидрогеназ в хвое лиственницы (А) и сосны (Б) в годичном цикле развития растений:
Дегидрогеназы: 1 — глютаминовой, 2 — янтарной, 3 — яблочной, 4 — изолимонной кислот (по Рубину, 1960)

геназы в осенне-зимние месяцы резко активируются. Имеются основания рассматривать сдвиги, происходящие к зиме в дыхательной системе сосновой хвои, как приспособление к условиям пониженной температуры. В частности, активирование дегидрогеназной деятельности может быть связанным с накоплением в хвое восстановленных, богатых энергией запасных веществ — масел, выполняющих важную защитную роль.

Изменения в окислительной системе могут быть вызваны соответствующими температурными условиями выращивания растений. Так, например, у растений шпината, выдерживавшихся в течение двух недель при температуре 26°, хлоропласты содержат не чувствительную к цианиду окислительную систему, тогда как в хлоропластах растений, выдерживавшихся соответственно при 18°, подобная активность не обна-

рживалась (Laties, 1950). Стойкие изменения в соотношении подавляемого цианидом и остаточного дыхания удается вызвать также у плодов цитрусовых путем кратковременного выдерживания их в условиях повышенной (32°) или пониженной (2°) температуры (Рубин, Арциховская, Иванова, 1951).

СОСТАВ АТМОСФЕРЫ

Из газов, входящих в состав атмосферы Земли, непосредственное физиологическое воздействие на растения оказывают кислород, представляющий собой основной реагент в процессе аэробного дыхания, и углекислый газ — конечный продукт дыхания.

Содержание кислорода в воздухе, лишенном водяных паров, является практически постоянным (около 21 объемного процента). Незначительные колебания, которым подвергается содержание кислорода в воздухе, не могут оказать сколько-нибудь заметного влияния на дыхание растений.

Доступность кислорода атмосферы для дышащей клетки зависит, однако, не от относительного его содержания в воздухе, а от парциального давления, определяющего собой растворимость этого газа в жидкостях организма. Пониженное атмосферное давление в высокогорных районах создает поэтому условия кислородной недостаточности для обитающих в этих районах организмов.

Относительно большим колебаниям подвержено содержание в воздухе углекислого газа (от 0 до 0,04 объемного процента, при среднем 0,03). Содержание углекислого газа может изменяться в зависимости от характера растительности в данной местности, от времени года, в течение суток и т. п. Изменения эти могут сказываться на процессе фотосинтеза, но, чтобы оказать заметное влияние на процесс дыхания, содержание углекислого газа в воздухе должно повыситься по крайней мере в 10 раз, что в природных условиях исключено.

Однако воздух — это газовая среда лишь для надземной части растений. Подземная часть растения находится в условиях газовой среды почвы, подверженной значительным колебаниям и сильно отличающейся по составу от воздуха. Содержание кислорода и углекислого газа в почве зависит от многих факторов — от структуры и влажности почвы, глубины ее слоя, количества органического вещества в почве, характера микрофлоры и т. д.

В тяжелых и влажных почвах, богатых органическими веществами, концентрация кислорода может падать настолько низко, а содержание углекислого газа настолько возрастать (до 16%), что создаются условия, частично или полностью подавляющие аэробное дыхание.

Особенно резкий дефицит кислорода испытывают подземные части растений на заболоченных почвах. Для поддержания нормального дыхания корневой системы у болотных растений выработалась система межклетников, пронизывающих все растение, либо воздухоносных тканей (аэренхима), через которые осуществляется диффузия кислорода от наземных органов к тканям корней и диффузия углекислого газа из клеток корня в обратном направлении.

Еще большее значение имеют воздухоносные ткани для водных растений. Растворимость кислорода в воде очень невелика и количество кислорода в воде недостаточно для поддержания дыхания погруженных в воду частей растения (табл. 29).

Т а б л и ц а 29

Содержание газов в воде озер Англии (средние данные)
(по Stiles, 1960)

Месяц	Температура	% O ₂	% CO ₂
Апрель	4,9	0,63	—
Май	7,7	0,62	0,058
Июнь	12,3	0,56	0,049
Июль	15,3	0,31	0,049
Август	15,5	0,41	0,066
Сентябрь	13,1	0,46	0,079
Декабрь—январь .	6,5—3,8	0,76	0,070

Воздухоносные ткани водных растений, сообщаемые с наружной атмосферой через воздушные листья, являются одновременно резервуаром, в котором накапливается углекислый газ, выделяемый при дыхании и используемый затем в процессе фотосинтеза. Выделяемый в ходе фотосинтеза кислород попадает в воздухоносные пути и поглощается при дыхании.

Кислород необходим для аэробного дыхания, которое является основным путем использования дыхательного субстрата у высших растений. Вместе с тем, растения обладают также системами, позволяющими осуществлять анаэробный распад дыхательного субстрата, среди которых основное место принадлежит системе спиртового брожения. В условиях недостатка кислорода дыхание частично или полностью становится анаэробным.

Кратковременное пребывание в анаэробных условиях растения переносят обычно без вреда для себя, быстро восстанавливая нормальный ход процессов в условиях нормального снабжения кислородом. Длительное же пребывание в бескислородной среде приводит растение к гибели. Одной из

основных причин гибели растения является отравление клеток продуктами анаэробного обмена — этиловым спиртом, ацетальдегидом и т. п. Значительный вред приносит также связанное с анаэробным дыханием истощение растения, зависящее от меньшей энергетической эффективности процессов брожения. Кроме того, в процессе кислородного дыхания образуется ряд промежуточных соединений, необходимых растению для разнообразных синтетических процессов.

Способность к переходу от одного типа дыхания к другому выражена у различных растений неодинаково. Известны объекты, у которых интенсивность выделения CO_2 в бескислородной среде выше, чем в нормальной атмосфере (например, спелые яблоки во время хранения). Однако у большей части растительных тканей интенсивность выделения CO_2 при перемещении в анаэробные условия снижается.

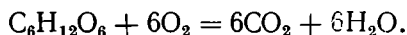
Неодинаковы у различных растений и пути анаэробного распада субстрата. Так, спиртовое брожение почти в чистом виде можно наблюдать в отсутствие кислорода у цветков клена, корней моркови, ягод винограда. Напротив, в клубнях картофеля спирт, как правило, вовсе не образуется (Костычев, 1913); лишь в поврежденных клубнях удастся обнаружить образование спирта.

В большинстве случаев спиртовым брожением представлена лишь часть анаэробных процессов, о чем можно судить по величине отношения количеств образовавшихся спирта и CO_2 . Согласно уравнению спиртового брожения отношение конечных продуктов этого процесса должно составлять в молярном выражении 1, а в весовом — 1,04. Получаемые фактически величины этого отношения, как правило, значительно ниже 1 (табл. 30).

Величина отношения *спирт/углекислый газ* для одного и того же объекта, помещенного в анаэробные условия, непостоянна и зависит от ряда условий. В частности, чем выше содержание сахаров, тем большее участие в анаэробном дыхании принимает спиртовое брожение.

Показателем активирования анаэробных процессов служит дыхательный коэффициент (ДК) — величина отношения объема выделившегося углекислого газа к объему поглощенного кислорода.

Согласно уравнению дыхания



При полном окислении одной молекулы гексозы поглощается 6 молекул кислорода и выделяется 6 молекул углекислого газа; следовательно, отношение $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ (дыхательный коэффициент) = 1.

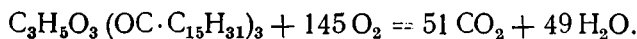
Приведенное схематическое уравнение не отражает, однако, всей сложности и многозвенности дыхательного процесса. В настоящее время известно, что кислород, поглощаемый при дыхании, используется в основном не на окисление углерода и, следовательно, мало связан с выделением CO_2 . Процессы выделения CO_2 и поглощения O_2 катализируются различными ферментными системами, активность которых поразному зависит от факторов среды. Оба эти процесса, являясь двумя сторонами дыхания, друг с другом непосредственно не связаны и друг друга непосредственно не обуславливают. Об этом нельзя забывать при рассмотрении материалов по дыхательному коэффициенту (ДК).

Таблица 30

Величина отношения $\frac{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}{\text{CO}_2}$ (весового)
при анаэробном дыхании некоторых растений (по Костычеву, 1913)

Объект исследования	Отношение $\frac{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}{\text{CO}_2}$
Семядоли гороха	0,6—0,8
Корни моркови	0,9—1,0
Ягоды винограда	0,8—0,9
Яблоки	0,4—0,9
Апельсины	0,6—0,8
Плодовые тела шампиньонов	0,0
Цветки клена	1,07
Листья настурции	0,2—0,4
Листья клена	0,5—0,6
Проростки горчицы	0,4—0,5
Клубни картофеля	0,0—0,7

Величина дыхательного коэффициента зависит от ряда причин и, в частности, от степени восстановленности или окисленности веществ, используемых в качестве дыхательного субстрата. Малые величины ДК (меньше 1) свидетельствуют о том, что дыхание осуществляется за счет соединений, содержащих меньше кислорода, чем гексозы. Так, при дыхании за счет белков ДК снижается до 0,7—0,8. Еще более восстановленным субстратом дыхания являются жиры. При полном окислении молекулы трипальмитина поглощается 145 молекул O_2 и выделяется 51 молекула CO_2 .



При этом $\text{ДК} = 0,35$.

Напротив, высокие значения ДК имеют место при использовании на дыхание высокоокисленных соединений, напри-

мер органических кислот. Так, при окислении яблочной и лимонной кислот $ДК=1,33$, а при окислении щавелевой кислоты — 4,00.

Значение особенностей дыхательного субстрата для величины $ДК$ наглядно проявляется, например, при прорастании семян, имеющих различный химический состав.

У злаков, запасные вещества которых представлены в основном углеводами, $ДК$ на всем протяжении прорастания близок к единице.

При прорастании семян, богатых жирами (подсолнечник, клещевина и т. п.), наблюдается более сложная картина. В первую очередь прорастающие масличные семена используют небольшие количества углеводов, содержащихся в них, и $ДК$ в этот период близок к единице. Через 1—2 дня $ДК$ падает до 0,3—0,4, так как значительная часть поглощаемого семенем кислорода используется в этот период на превращение запасных жиров в углеводы. После завершения этого процесса $ДК$ вновь возрастает и может достигнуть величин 0,7—0,8 и даже приблизиться к 1,0.

Величина $ДК$ зависит также от полноты окисления дыхательного субстрата. Если процесс этот не идет до конца и в тканях растения накапливаются промежуточные соединения, как например органические кислоты, то $ДК$ снижается.

Большое значение для величины $ДК$ имеет степень обеспеченности дышащих клеток кислородом. При недостатке кислорода аэробное дыхание подавляется и одновременно активируются процессы анаэробного распада. Степень «чувствительности» ткани к недостатку кислорода неодинакова для различных растений, как это было установлено еще в 1891 г. (Stich, 1891).

В дальнейшем вопросу о влиянии недостатка кислорода на дыхание различных растительных тканей было посвящено большое количество исследований, в основном связанных с хранением овощей и плодов в искусственных газовых смесях.

Концентрации кислорода, при которых начинается снижение интенсивности дыхания, неодинаковы для разных растений. Так, для крессалата такой концентрацией является 16% O_2 , а для корней моркови — 7% (Chevillard, Hamon, Mayer, Planteful, 1930). Для клубней картофеля и корнеплодов свеклы, турнепса и редиса Денни (Denpy, 1948) нашел, что снижение концентрации кислорода до 15% снижает интенсивность дыхания приблизительно на 5%; это в равной мере относится как к поглощению O_2 , так и к выделению CO_2 . В такой же степени подавляется поглощение кислорода у проростков пшеницы в атмосфере с 12,6—14,4% O_2 , но в этом случае интенсивность выделения CO_2 не изменяется по

сравнению с контролем и, следовательно, дыхательный коэффициент возрастает (Denpy, 1947). Концентрация кислорода, при которой в тканях возникает процесс ферментации и соответственно возрастает величина ДК, называется критической концентрацией, или точкой экстинкции. Поскольку активирование процессов анаэробного распада начинается постепенно, точно установить точку экстинкции практически невозможно.

Для большинства тканей снижение содержания кислорода до 4—5% не сдвигает дыхание сколько-нибудь заметно в сторону анаэробноза, однако известны объекты, более чувствительные к недостатку кислорода. Так, кислородное дыхание мха *Hyphnum triquetrum* при понижении концентрации кислорода до 15% снижается на 87%, тогда как подавление процесса выделения CO_2 начинается лишь при 4% O_2 (Chevilard и др., 1930). Возрастание дыхательного коэффициента у проростков пшеницы, как указывалось выше, начинается при 12,6—14,4% O_2 и т. п.

Значение парциального давления кислорода для интенсивности дыхания и степени его аэробности варьирует не только в зависимости от вида растения, но и от фазы развития органа или ткани одного и того же растения. Высказывались различные точки зрения на причины различной зависимости дыхательного процесса от кислородного фактора. Так, Чоудри (Choudhury, 1939), работавший с овощами, пришел к выводу, что зависимость дыхательного газообмена от концентрации кислорода определяется как интенсивностью дыхания объекта, так и его способностью к анаэробному дыханию. В опытах автора первое место по интенсивности аэробного дыхания занимала морковь, последнее — картофель, а промежуточное — артишок. По способности к анаэробному дыханию изучавшиеся объекты располагались в том же порядке. Наибольшая же выносливость к недостатку кислорода была обнаружена у картофеля, наименьшая — у артишока.

Большое значение придается многими исследователями проницаемости тканей для кислорода. Так, было обнаружено, например (Bergy, 1949; Bergy, Norris, 1949), что для отдельных участков корня лука, находящихся на различном расстоянии от кончика корня, критическая точка дыхания расположена при различных концентрациях кислорода. Считая, что потребность в кислороде одинакова для всех клеток, авторы пришли к выводу, что наблюдавшиеся различия объясняются различной скоростью диффузии кислорода в отдельные участки корня.

Аналогичный вывод формулирует Поллок (Pollock, 1953), получивший интересные данные по влиянию кислородного фактора на дыхание отдельных частей почки клена. Максимальный уровень поглощения кислорода достигается у внут-

ренных чешуй при 8% кислорода, тогда как интенсивность дыхания кроющих чешуй возрастает непрерывно с повышением концентрации кислорода в окружающей среде.

Ни один из цитированных авторов не учитывал влияние специфических условий кислородного режима, создающихся в различных тканях, на отношение дыхательной системы к кислороду. Между тем имеются все основания предполагать, что у тканей, находящихся в условиях затрудненного снабжения кислородом, должна вырабатываться приспособленность к нормальному для них пониженному парциальному давлению кислорода. Данные, полученные Поллоком, указывают на существование подобного приспособления, однако этот автор при трактовке экспериментальных данных исходит из того, что потребность в кислороде должна быть одинаковой у всех клеток, и объясняет особенности дыхательного газообмена отдельных чешуй почки затрудненной диффузией кислорода к внутренним чешуям.

Вместе с тем, в литературе имеются указания, что выносливость окислительной системы растения и его отдельных тканей к недостатку кислорода связана с характерными для данного объекта условиями снабжения кислородом. Так, Густафсон (Gustafson, 1932) нашел, что мясистые ткани кактусов, защищенные плотной кожурой и находящиеся в условиях затрудненной аэрации, чрезвычайно выносливы к недостатку кислорода в окружающей атмосфере. Опуния, обладающая более тонкими листьями с большим количеством устьиц, быстрее других кактусов повреждается в анаэробных условиях. Было установлено также (Laing, 1940, 1941), что для роста полупогруженных водных растений оптимальной является концентрация кислорода в 1—1,5%, тогда как при 5% кислорода рост таких растений почти полностью прекращается. Способность водных растений существовать при ограниченном доступе кислорода зависит от того, что они долгое время могут жить за счет процессов брожения, которое, по предположению автора, идет в тканях этих растений одновременно с дыханием.

Сходные данные получены при сравнении дыхания проростков риса, проводящего значительную часть вегетационного периода под водой, с проростками других растений, приспособленных к нормальным условиям аэрации (Taylor, 1942; Petrucci, 1950). И в этом случае показано, что растения, развивающиеся в условиях затрудненного доступа кислорода, способны осуществлять активные анаэробные процессы.

В естественных условиях хорошо аэрируемые ткани, какими являются, например, листья большинства растений, не испытывают недостатка в кислороде. Наличие устьиц, хорошо развитой системы межклетников и небольшая тол-

щина ткани позволяют кислороду свободно диффундировать к дышащим клеткам и не создают серьезных препятствий к выделению образующегося в процессе дыхания углекислого газа. Помимо сравнительно свободного сообщения листовой ткани с наружным воздухом состав внутренней атмосферы листа должен определяться соотношением активности процессов фотосинтеза и дыхания. Исходя из суточной динамики фотосинтеза, Мотес (Mothes, 1933) предположил, что на свету в газовой среде листа повышается парциальное давление кислорода вследствие образования его при фотосинтезе и свободной диффузии внутрь листа через открытые устьица. В темноте же концентрация кислорода должна снижаться, так как в отсутствие фотосинтеза при закрытых устьицах имеющийся в тканях листьев кислород поглощается в процессе дыхания.

Непосредственные наблюдения над составом внутренней атмосферы листьев сахарной свеклы показали, однако, что состав внутренней атмосферы листьев определяется в основном интенсивностью дыхания (Рубин и Панасенко, 1956). Как видно из рис. 117, содержание кислорода во внутренней атмосфере листа понижено днем, когда дыхание наиболее интенсивно, и повышено ночью, когда дыхание ослаблено. Соответственно максимальные количества углекислого газа обнаруживаются в листе во время максимальной освещенности, тогда как в ночные часы содержание CO_2 резко снижается. Данные эти показывают, что в нормальных условиях газообмен, происходящий при фотосинтезе, не оказывает, по-видимому, существенного влияния на состав внутренней атмосферы тонких, хорошо аэрируемых листьев, какими являются листья сахарной свеклы.

В некоторых случаях диффузия газов в растении облегчается, вероятно, разницей в давлении различных газов во внутренних тканях. Активная ассимиляция CO_2 в трудно аэрируемых органах может создать избыточное давление кислорода в межклетниках. В этом можно убедиться, срезав под водой один из боковых побегов растения риса — из среза выделяются пузырьки газа, богатого кислородом. Это же по-

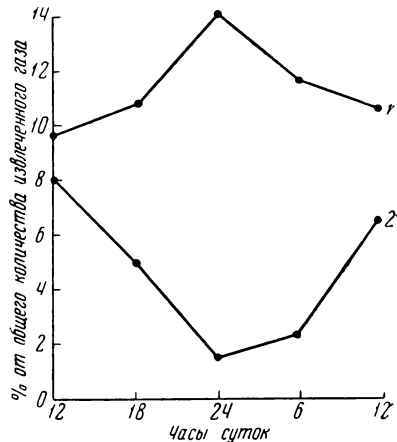


Рис. 117. Суточные изменения содержания O_2 (1) и CO_2 (2) в листьях сахарной свеклы (по Рубину и Панасенко, 1956)

феля примерно удваивается при повышении температуры на 10°.

В результате содержание кислорода в межклетниках, составляющее при 5° 19,5%, падает до 2,1% при повышении температуры до 37°.

Таблица 31

**Влияние толщины среза на дыхание ткани корнеплодов
(в мл O₂ на 1 г сырого веса в час)
(по Stiles, Dent, 1947)**

Объект исследования	Время предварительного промывания, час	Толщина срезов, мм	Интенсивность дыхания	
Морковь	21	0,334	53,5	
		0,50	53,3	
		1,10	55,6	
		2,33	45,9	
	47	0,45	197,8	
		1,10	153,6	
		2,01	105,4	
	96	0,445	92,6	
		1,00	61,1	
		2,00	42,55	
	Столовая свекла	21,5	0,258	59,14
			0,463	64,6
1,00			64,1	
2,10			45,7	
168		0,625	115,0	
		1,25	92,3	
		2,10	79,1	

В силу затрудненной диффузии газов через покровные ткани массивных органов, а также некоторого сопротивления диффузии толщей паренхимной ткани в дышащих клетках таких органов создается своеобразный газовый режим, существенно отличающийся от газового режима клеток, соприкасающихся с наружной атмосферой.

Рассматривая состав газовой среды, создающийся во внутренних тканях растений, аэрация которых затруднена, трудно отделить влияние недостатка кислорода от влияния повышенных концентраций CO₂. Установлено, что повышение

концентрации CO_2 приводит к угнетению дыхания, причем дыхательный коэффициент не только не повышается, но даже снижается (табл. 32).

На этом основано хранение плодов в искусственной атмосфере с повышенным содержанием CO_2 , позволяющее понизить интенсивность дыхания, не нарушая нормального хода процесса. Тем самым замедляется перезревание плодов и распад их тканей. К таким же результатам приводит хранение плодов в замкнутом пространстве, где происходит накопление CO_2 за счет дыхания плодов при соответственном снижении содержания кислорода. Однако в этом случае надо

Т а б л и ц а 32

Влияние концентрации CO_2 на дыхание семян белой горчицы

Показатель	Исходное содержание CO_2 , %					
	0	10	20	30	40	80
Поглощено O_2 , мл	197	185	122	104	97	90
Выделено CO_2 , мл	173	159	96	75	61	41
ДК	0,87	0,85	0,75	0,72	0,63	0,45

иметь в виду, что значительное снижение содержания кислорода приводит к развитию анаэробных процессов и в результате к гибели плодов; избыточное накопление CO_2 вызывает также серьезные изменения в обмене веществ хранящихся объектов, вызывая, например, повышение рН и разрушение аскорбиновой кислоты, как это показано для спаржи (Thompson, 1937).

Хранение в атмосфере с пониженным содержанием кислорода и повышенным CO_2 неодинаково сказывается на хранении различных плодов и овощей. Для яблок, груш и т. п. замедление дыхания, вызванное условиями газового хранения, отделяет наступление перезревания и тем самым удлиняет сроки хранения. Вместе с тем, сохраняемость, например, апельсинов в этих условиях ухудшается. Так же различно реагируют на газовое хранение отдельные овощи. Белокочанная капуста требует хорошей аэрации, тогда как для хранения моркови благоприятна атмосфера с повышенным содержанием CO_2 .

Различия в отношении к составу атмосферы наблюдаются не только между отдельными видами растительного сырья. Для одного и того же объекта характер воздействия искусственной атмосферы может изменяться в зависимости от фазы развития органа. Так, газовые смеси, содержащие от 1 до

11% кислорода и от 10 до 20% CO₂, ухудшают сохраняемость лука. Однако молодые луковички хранятся на протяжении 6—7 месяцев в техническом азоте (содержанием 0,5% O₂) лучше, чем на воздухе, сохраняя полностью способность к росту (Heiss, 1945).

Состав газа, содержащегося в межклетниках плода, зависит от многих факторов. Существенное значение имеет проницаемость покровных тканей, различная для разных объектов. Проницаемость покровных тканей изменяется в ходе развития органа. Так, проницаемость кожуры яблока, высокая в начале развития плода, снижается в процессе роста, достигая минимума перед созреванием. Созревание и перезревание яблока связаны с некоторым увеличением проницаемости (Peiniazek, 1943). Большое значение имеет в этом случае восковое покрытие поверхности яблока. Сходные наблюдения имеются для плодов груши (Marcellin, 1955), у которых существенную роль играет степень открытости чечевичек.

Выделение CO₂ из плодов может происходить не только через чечевички, но и путем диффузии через пропитанные суберином клеточные стенки, тогда как кислород не диффундирует через такие ткани (Smith, 1954). Высказывается также предположение об избирательной проницаемости кожуры плодов (Ulrich, Marcellin, 1955).

Существенным фактором в составе внутренней атмосферы органа является соотношение объемов межклетников и клеток, сильно варьирующее у различных объектов. Из данных табл. 33 видно, например, что объем межклетников у яблок в 2—3 раза выше по сравнению с лимонами.

Данные табл. 33 показывают также, что соотношение объема межклетников и клеток существенно изменяется в ходе развития плодов, причем изменения эти могут иметь прямо противоположное направление. Паренхима яблока в ходе

Таблица 33

Изменения объема межклетников лимона и яблока в ходе их развития (в см³ на 100 г плода) (данные автора)

Лимоны Новогрузинские		Яблоки Антоновка	
дата	объем межклетников	дата	объем межклетников
22/IX	11,5	19/VII	22,6
18/X	10,5	28/VII	24,7
25/XI	11,1	16/VIII	28,9
4/I	9,4	29/IX	29,6
18/I	9,5	31/X	30,7
19/III	9,2	8/XII	31,4

созревания как бы разрыхляется, причем объем межклетников возрастает. Иная картина наблюдается у плодов, межклетники которых при созревании частично заполняются соком. У лимона дольки плода очень сочны и ко времени созревания почти лишены газа, тогда как толстая кожура и пористая ткань сердцевины, проходящая в центре плода, остаются пронизанными межклетниками. Созревание многих плодов связано с размягчением тканей и со значительным заполнением жидкостью межклетников, что значительно уменьшает аэробность внутренней атмосферы. Так, при созревании томатов объем газа, извлекаемого из плодов, сокращается приблизительно на 40% (Солдатенков, 1941; Ракитин, 1944). Аналогичные наблюдения сделаны Л. Н. Березнеговской для абрикосов и персиков (1939).

Состав газа, содержащегося в межклетниках, в большой мере определяется интенсивностью дыхания прилегающих к ним клеток, что наглядно выявляется при изучении влияния температуры на состав газа, извлеченного из массивных органов. По имеющимся данным (Kidd, West, 1935), содержание кислорода во внутренней атмосфере яблок отстает от наружной атмосферы при низких температурах на 2,0—5,5%, тогда как при высоких температурах — до 9%. Об этом же говорят цитированные выше данные (Burton, 1950), а также наблюдения Денни (Denpy, 1946). Последний установил, что за один и тот же период времени ткани картофеля при температуре 10° задерживают 27% CO₂, образующегося при дыхании, тогда как при 20° эта величина составляет 62, а при 32°—70%.

Надо отметить, что состав атмосферы, заполняющей межклетники, существенно отличается от газового режима, создающегося внутри дышащей клетки. Извлечение газа из плода с помощью шприцевой иглы при небольшом разрежении дает представление о составе атмосферы межклетников, содержащей у яблока 18—19% O₂ и 1,8—2,6% CO₂ (Smith, 1947). Отсасывание газа при глубоком вакууме, извлекающем также газы, растворенные в клеточном соке, дает величины другого порядка. Концентрация CO₂ в извлеченном из яблок газе составляет для яблок Антоновка в среднем 7,9%, а кислорода — 10,4%. По имеющимся данным (Ulrich, Magcellin, 1955) основная часть углекислого газа в плодах груш находится в растворенном виде.

Анализ последовательных порций газа, извлекаемых из плодов при возрастающем вакууме, показывает также, что первые порции, состоящие в основном из газа крупных межклетников, относительно богаты кислородом и содержат мало углекислого газа. Напротив, последние порции, извлекаемые при глубоком разрежении, характеризуют состав газа, растворенного в клеточном соке: он содержит много углекис-

лого газа, тогда как содержание кислорода настолько незначительно, что не всегда удается его обнаружить (табл. 34).

Состав газа, заключенного в межклетниках массивных органов, близок к составу атмосферы внутренних полостей некоторых плодов. Так, газ из внутренней полости крупных плодов тыквы содержит около 18% O₂ (Devaux, 1891). В полостях коробочек мака содержится также около 18% O₂, тогда как газ, извлеченный из плаценты коробочки, значительно беднее кислородом и отличается высоким содержанием CO₂ (Понтович, 1954).

Таблица 34

Содержание кислорода и углекислого газа в последовательных порциях газа, извлекаемых в вакууме из спелых плодов (по Арциховской, 1956)

№ извлечений	Лимон Новогузинский			Яблоко Антоновка		
	объем газа	% в извлеченном газе		объем газа	% в извлеченном газе	
		CO ₂	O ₂		CO ₂	O ₂
1	14,0	2,9	17,1	25,9	2,7	15,5
2	19,7	5,1	13,2	31,6	3,8	14,2
3	12,2	10,9	9,0	23,8	5,0	13,5
4	8,0	17,5	3,8	17,4	6,9	10,4
5	6,0	28,3	1,7	13,2	9,1	7,6
6	4,1	39,0	1,2	9,7	12,4	5,2
7	—	—	—	8,4	14,3	2,4
8	—	—	—	6,2	19,3	0
9	—	—	—	6,0	20,0	0
10	—	—	—	4,4	27,3	0

При изучении связи, существующей между составом внутренней атмосферы различных плодов и проницаемостью их покровных тканей, мы обнаружили практически полную непроницаемость кожуры цитрусовых плодов. Испытания лимонов, мандаринов и апельсинов показали, что газ при вакууминfiltrации может поступать в плод лишь через место прикрепления плодоножки, распространяясь затем по крупным сосудам кожуры и по рыхлой паренхиме, расположенной в центре плода между его дольками. Однако изолирование места прикрепления плодоножки не снижало в течение ряда суток интенсивности дыхания плодов и не изменяло содержания кислорода во внутренней атмосфере, повышая, вместе с тем, содержание углекислого газа.

Полученные данные показывали, что основным путем поступления кислорода внутрь плода является его поглощение поверхностными клетками кожуры с дальнейшей диффузией во внутренние ткани. Однако диффузия кислорода в растворенном виде представлялась недостаточной для обеспечения

дыхания внутренних тканей, и нами было сделано предположение о транспорте кислорода в виде перекисных соединений, образующихся в поверхностных тканях плода. Экспериментальная проверка подтвердила правильность такого предположения. Определения показали, что в тканях цитрусовых содержатся значительные количества органических перекисей. Как видно из данных табл. 35, количества свободного

Таблица 35

Дыхание мякоти и содержание кислорода в плодах лимона
(мкл O₂ на 1 г сырого веса) (по Арциховской и Рубину, 1950б)

Дата	Новогрузинский			Мейер		
	суточная потребность в O ₂	газообразный O ₂	перекисный O ₂	суточная потребность в O ₂	газообразный O ₂	перекисный O ₂
25/VIII	1990	4,2	—	1860	—	—
22/IX	1020	6,6	—	1230	8,9	—
19/X	810	7,8	—	1060	10,3	—
25/XI	610	12,6	161	430	10,2	140
5/I	660	12,0	163	—	—	171
3/II	470	—	192	—	—	—
21/II	580	12,4	242	200	14,1	223
21/III	190	12,2	272	180	14,0	178

кислорода, присутствующего в плоде лимона, достаточны для обеспечения дыхания одной лишь мякоти плода на протяжении трех минут, и лишь к концу хранения запас свободного кислорода приближается к величине часовой потребности мякоти в кислороде. Количество же связанного, перекисного кислорода во много раз превышает количество кислорода свободного и к концу хранения может обеспечить дыхание мякоти лимона в течение суток.

Вполне вероятно, что основная часть кислорода, содержащегося во внутренней атмосфере плода, возникает в результате разложения перекисных соединений. В пользу этого предположения говорят данные рис. 118, поскольку ход кривых содержания перекисей сходен с ходом кривой содержания кислорода во внутренней атмосфере лимона.

Экспериментально показано, что способность образовывать перекисные соединения присуща только тканям кожуры. Вместе с тем, содержание перекисных соединений в мякоти, аэрация которой наиболее затруднена, значительно превышает соответствующие величины для кожуры (см. рис. 118).

Определения органических перекисей в яблоках, обладающих сравнительно хорошо проницаемой для газов кожурой и имеющих пронизанную межклетниками мякоть, показали практически полное отсутствие этих соединений. Вместе с

тем, плоды хурмы, имеющие плотную кожуру и очень сочную паренхиму с межклетниками, частично заполняющимися клеточным соком при созревании, содержат значительные количества перекисей.

Приведенные материалы показывают, что в снабжении кислородом внутренних тканей цитрусовых плодов, а также других сочных плодов, имеющих ко времени созревания мало воздухоносных тканей (типа хурмы, томатов и т. п.), существенная роль может принадлежать перекисным соединениям, образующимся в поверхностных тканях.

Наличие затрудненного доступа кислорода к внутренним тканям массивных органов позволяет предположить, что дыхательные системы этих тканей должны быть приспособлены к осуществлению нормального дыхательного процесса в условиях пониженного парциального давления кислорода. Детальное изучение зависимости дыхательного газообмена таких тканей от кислородного фактора подтверждает правильность такого предположения.

На рис. 119 представлены результаты определений интенсивности поглощения кислорода кусочками ткани мякоти яблок (объемом 120—150 мм³) в различных смесях азота и кислорода на фоне трех температур (10, 20 и 30°). Результаты определений представлены в трехмерных диаграммах, позволяющих сравнивать влияние концентрации кислорода на интенсивность дыхания мякоти плодов, находящихся на разных фазах развития.

Максимальная для каждого срока наблюдений интенсивность дыхания отмечена черным кружком. Из рисунка видно, что кислородные оптимумы дыхания неодинаковы на разных этапах развития плода, а также смещаются под воздействием температурного фактора.

В начале июля, когда плоды едва достигали четвертой части веса спелых плодов, интенсивность поглощения кисло-

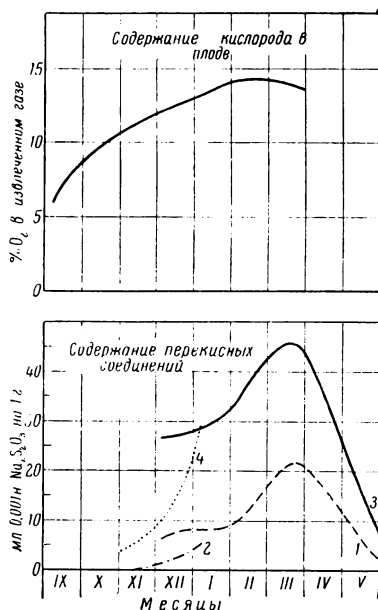


Рис. 118. Изменения содержания кислорода и перекисных соединений в плодах лимона Новогрузинского на протяжении роста и хранения:

1 — кожура (1948/49 г.), 2 — кожура (1949/50 г.), 3 — мякоть (1948/49 г.), 4 — мякоть (1949/50 г.) (по Арциховской и Рубину, 1953б)

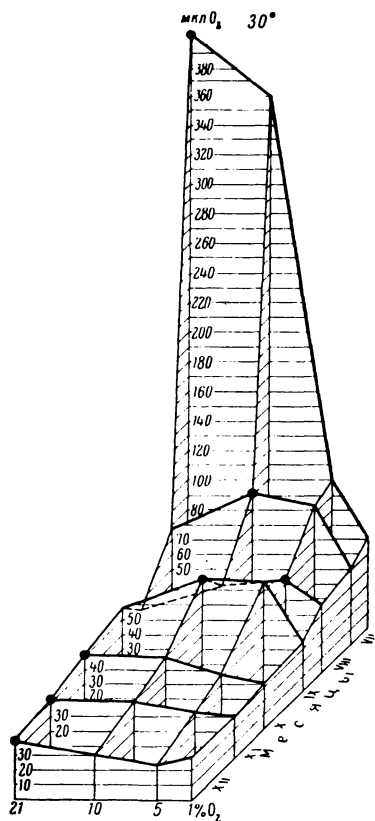
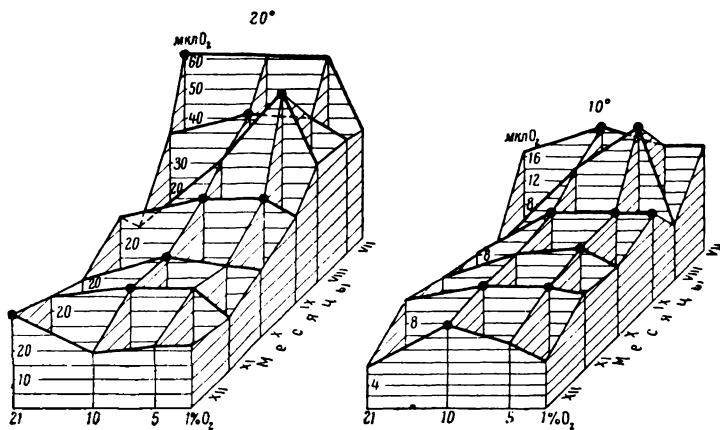


Рис. 119. Изменения зависимости дыхания мякоти яблок Антоновка от температуры и концентрации кислорода, сопровождающие развитие плодов. Черные кружки — кислородные оптимумы дыхания (по Арциховской и Рубину, 1955)



рода при 30°C находится в прямой зависимости от концентрации кислорода. Но уже через 16 дней картина изменяется — наиболее благоприятной для дыхания мякоти оказывается 10%-ная концентрация кислорода, причем снижение процента O₂ до пяти лишь незначительно снижает поглощение кислорода.

Еще сильнее смещается кислородный оптимум к 23/VIII, когда оптимальной оказывается 5%-ная концентрация кислорода, а воздух подавляет поглощение кислорода сильнее, чем атмосфера с 1% O₂.

С момента съема плодов начинается смещение кислородного оптимума дыхания (при 30°) в обратную сторону, и 20/X восстанавливается прямая зависимость процесса поглощения кислорода от его концентрации.

В определениях, проводившихся при 20°, происходят аналогичные смещения кислородного оптимума, однако ход кривых позволяет судить о некотором уменьшении потребности в кислороде.

При 10° смещение оптимумов в сторону пониженных концентраций кислорода становится явным — на всем протяжении развития плода 21% кислорода влияет на дыхание мякоти угнетающим образом, а во время сбора плодов оптимум дыхания отмечен при 1% O₂. При 10° и у хранящихся плодов оптимальными для дыхания мякоти остаются пониженные концентрации O₂.

Следовательно, способность внутренних тканей плода поглощать кислород из атмосферы с пониженной его концентрацией по мере роста плода возрастает, а также находится в тесной зависимости от температурных условий. В связи с этим встает принципиальный вопрос — при какой температуре должна изучаться зависимость дыхания от концентрации кислорода?

Развитие плодов, как известно, происходит на фоне закономерно изменяющихся температур, к которым, как это было показано выше, и приспособлено их дыхание на отдельных фазах развития. Очевидно, степень приспособленности дыхания к тому или иному кислородному режиму должна изучаться при температурах, к которым приспособлено дыхание плода на данной фазе развития.

Руководствуясь этим положением, легко убедиться, что оптимальной для дыхания концентрацией кислорода является у мякоти мелких зеленых плодов 21%, а у созревающих плодов — 5%.

Аналогичные определения, проведенные на кожуре яблок, показали, что смещения кислородных оптимумов дыхания в ходе развития плодов имеют те же направления, что и для мякоти. Однако клетки кожуры приспособлены к лучшему снабжению кислородом, на что указывает расположение оп-

тимумов при более высоких концентрациях кислорода — при 20 и 30° кислородный оптимум дыхания не спускается ниже 10%, а при 10° — лишь до 5%.

Изменения кислородных оптимумов вполне согласуются с изменениями проницаемости тканей яблока в ходе его развития и с соответствующими изменениями состава внутренней атмосферы плода.

Степень приспособленности к внешним условиям значительно выше для процесса поглощения кислорода, чем для процесса выделения CO_2 . В результате при концентрациях кислорода, к которым ткань на данной фазе развития не приспособлена, так же как и при неблагоприятных температурах, возрастает относительная доля анаэробных процессов и соответственно величина дыхательного коэффициента. Таким образом, для мякоти созревающих плодов создается своего рода парадоксальное положение — уменьшение аэробности среды (от 21 до 5% O_2) приводит к возрастанию аэробности дыхания.

В связи с этим уместно остановиться на отравляющем действии, оказываемом на растение высокими концентрациями кислорода. Еще в 1881 г. И. П. Бородин установил, что дыхание растений, помещенных в атмосферу чистого кислорода, вначале активизируется, вслед за чем наступают подавление этого процесса и гибель растения. К настоящему времени в литературе накоплено большое количество экспериментальных данных, показывающих, что кислород, особенно если его парциальное давление превышает атмосферное, оказывает губительное действие на растение. При этом в окислительно-восстановительной системе происходят серьезные нарушения. Так, было установлено (Barker, Marson, 1955), что у клубней картофеля, помещенных в атмосферу 100% O_2 при 0°, через 12—20 суток начинает снижаться интенсивность выделения CO_2 , доходя до минимума через 35—40 суток (от $\frac{1}{3}$ по сравнению с контролем до величины, близких нулю). При этом обнаружено блокирование цикла трикарбоновых кислот между изоцитратом и α -кетоглутаратом. Причиной такого блока может служить ингибирование дегидразы изолимонной кислоты, вызванное высокими концентрациями O_2 . Нарушение этого звена в трикарбоновом цикле связано со снижением скорости регенерации НАДФ. Это, в свою очередь, может явиться причиной наблюдаемого постепенного перехода окислительно-восстановительной системы *аскорбиновая кислота — глутатион* в более окисленное состояние.

Кроме того, ткани клубня в атмосфере кислорода приобретают коричневую окраску. Потемнение тканей клубней картофеля, яблок и т. п. наступает вследствие усиления деятельности полифенолоксидазы без соответственного активирова-

ния дегидрогеназ и в особенности при их ингибировании (Рубин и Салькова, 1955; Рубин и Аксенова, 1957). Накопление хинонов оказывает, как известно, ингибирующее действие на ряд ферментов, в том числе на дегидразы.

Подавление цикла трикарбоновых кислот, аналогичное наблюдавшемуся у картофеля, обнаружено под влиянием высокого парциального давления кислорода (5 атм) у гороха (Turner, Quartley, 1956) и у моркови (Barker, 1961). Баркер нашел, что блокирование реакций на упаковке между лимонной и α -кетоглутаровой кислотами, достигающее максимума через полтора суток эксперимента, сопровождается усиленным выделением CO_2 . Затем (на пятые сутки) происходит резкое торможение окисления пировиноградной кислоты.

Изменения в окислительной системе, вызванные необычными условиями кислородного режима, наблюдаются у внутренних тканей массивных органов при свободном доступе к ним воздуха. Указания на это имеются в работе Шаде и др. (Schäde и др., 1949), которые нашли, что при длительном промывании водопроводной водой в тонких срезах клубней картофеля происходит смена завершающих оксидаз. Активность цитохромоксидазы, которой принадлежит большая роль в активировании молекулярного кислорода интактных тканей клубня, в этих условиях падает и функция завершающей оксидазы переходит к ферменту, названному авторами «оксидазой х». Оксидаза эта, в отличие от цитохромоксидазы, не чувствительна к пониженному парциальному давлению кислорода.

Все рассматриваемые материалы убеждают в том, что нарушения кислородного режима, к которому адаптирована ткань на определенном этапе ее развития, приводят к нарушениям нормального хода дыхательного газообмена, сводящимся в основном к уменьшению активности дыхания и повышению относительной роли анаэробных процессов. Это действие может быть вызвано как понижением, так и повышением парциального давления кислорода по сравнению с давлением, нормальным для данной ткани.

Степень приспособленности дыхательного процесса к тому или иному газовому режиму связана со строением дыхательной системы, с ферментами, принимающими участие в окислительно-восстановительных реакциях. Соответственно изменения зависимости дыхания от кислородного фактора, наблюдающиеся в ходе развития растения, его органов или тканей, определяются закономерными качественными изменениями в дыхательной системе.

Известно, что отдельным оксидазам свойственно различное отношение к кислороду. Наибольшим сродством к кислороду обладает цитохромоксидаза, сохраняющая высокую активность при весьма пониженных его концентрациях (Green,

1940). Аскорбиноксидаза имеет более низкое сродство с кислородом (рис. 120). Аналогичная зависимость от концентрации кислорода свойственна флавопротеиновой оксидазе спадика *Arum*, тогда как дыхание цветоносного стебля этого растения (роль завершающей оксидазы в котором принадлежит, согласно цитированным выше авторам, цитохромоксидазе и полифенолоксидазе) достигает максимума при более низких концентрациях O_2 (рис. 121).

Данные по зависимости полифенолоксидазы и цитохромоксидазы от концентрации кислорода получены для тканей яб-

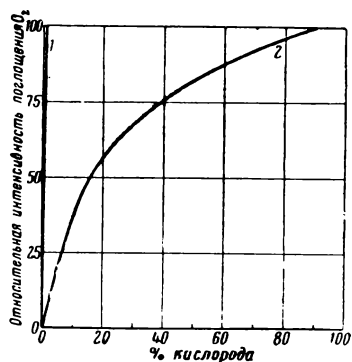


Рис. 120. Зависимость от концентрации кислорода процесса поглощения кислорода препаратами цитохромоксидазы (1) и аскорбиноксидазы (2) (по Thi-mann, Yocum, Hackett, 1954)

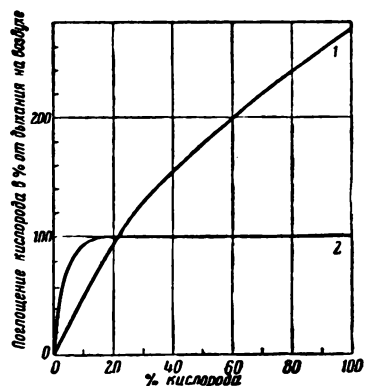


Рис. 121. Влияние концентрации кислорода на дыхание спадика (1) и цветоносного стебля *Arum* (2) в процентах от поглощения кислорода на воздухе (по James, Beevers, 1950)

лока (рис. 122, 123). Активность полифенолоксидазы возрастает с увеличением концентрации O_2 до 21%. Цитохромоксидаза достигает в тканях яблока максимальной активности при весьма низких концентрациях кислорода. Повышение содержания кислорода в атмосфере, окружающей тонкие срезы яблока, до 5% оказывает на цитохромоксидазу ингибирующее действие, усиливающееся при дальнейшем повышении концентрации O_2 .

Изучение зависимости от кислородного фактора «остаточного» дыхания яблок показало, что характер этой зависимости различен для кожуры и мякоти, а также изменяется в ходе развития плодов. Как видно из кривых рис. 124, активность остаточного дыхания кожуры возрастает с повышением концентрации кислорода до 21%, тогда как для мякоти подобная зависимость отмечается лишь для мелких зеленых плодов в июле. По мере роста и созревания яблок активиро-

вание остаточного дыхания при повышении концентрации O_2 от 5 до 21% ослабляется и у спелых плодов, снятых с дерева, 21%-ное содержание O_2 оказывает на остаточное дыхание ингибирующее влияние. Аналогичные изменения наблюдались, как указано выше, и для температурной зависимости остаточного дыхания яблок в ходе их развития. Материалы

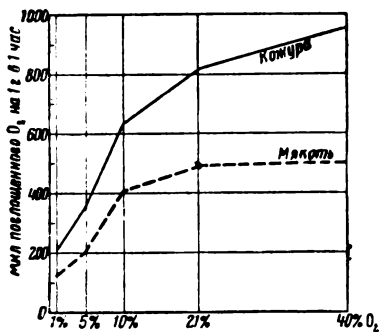


Рис. 122. Зависимость действия полифенолоксидазы в срезах кожуры и мякоти яблок Антоновка от парциального давления кислорода (по Арциховской и Рубину, 1955)

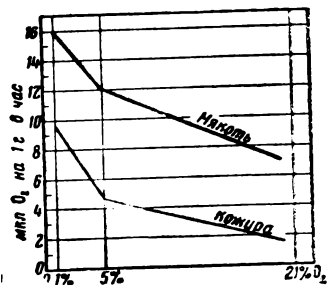


Рис. 123. Зависимость действия цитохромоксидазы в срезах кожуры и мякоти яблок Антоновка от парциального давления кислорода (по Арциховской и Рубину, 1955)

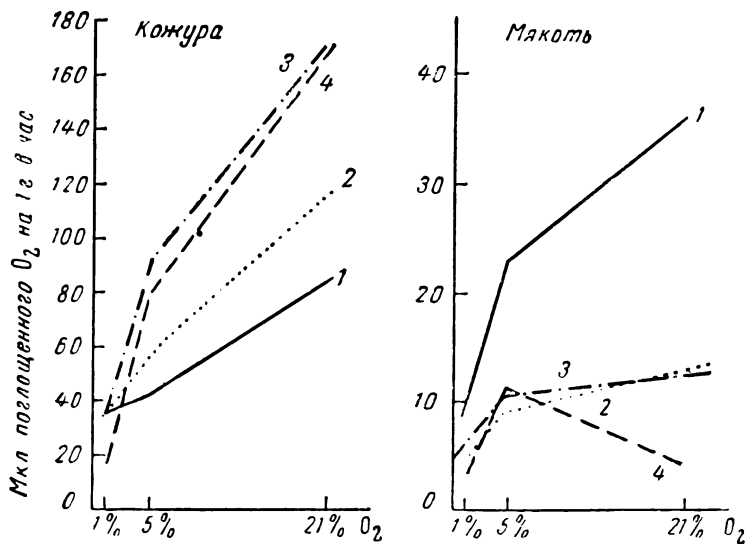


Рис. 124. Зависимость остаточного дыхания срезов кожуры и мякоти яблок Антоновка от парциального давления кислорода при 20°C: 1—июль; 2—август; 3—сентябрь; 4—октябрь (по Арциховской, 1956)

эти позволяют считать, что остаточное дыхание яблок связано с действием не менее двух флавопротеиновых оксидаз, отличающихся друг от друга по характеру зависимости от факторов среды; соотношение активности этих ферментов неодинаково в кожуре и мякоти и изменяется в процессе роста и созревания плодов.

Соотношение активности отдельных оксидаз в тканях яблока связано не только с зависимостью дыхания от температуры, о чем говорилось выше, но и с зависимостью дыхания от кислородного фактора. Так, для дыхания кожуры благоприятны более высокие концентрации кислорода, чем для дыхания мякоти. Соответственно в кожуре большая роль принадлежит полифенолоксидазе и в особенности флавопротеиновым оксидазам, которые представлены в этом случае ферментами, обладающими невысоким сродством с кислородом. Активность же цитохромоксидазы, действию которой благоприятны низкие концентрации кислорода, значительно выше у мякоти.

Снижение кислородного оптимума дыхания у созревающих плодов связано с возрастанием цитохромоксидазной активности тканей. Смещение оптимума дыхания в сторону более высоких концентраций кислорода у плодов, достигших зрелости, связано с возрастанием активности полифенолоксидазы и флавопротеиновых оксидаз (см. рис. 109).

Безусловно, характер зависимости дыхания от факторов среды определяется не только особенностями ферментов, катализирующих завершающий этап окисления. На этой зависимости может сказаться любая реакция, входящая в цепь окислительно-восстановительных превращений, если скорость ее оказывается фактором, лимитирующим уровень дыхательной активности тканей. Весьма существенная роль в процессе дыхания принадлежит дегидрогеназам, зависимость действия которых от факторов среды может также влиять на степень приспособленности дыхательного процесса к тем или иным условиям среды. Как показали В. Е. Соколова и О. Н. Савельева (1958), температурная зависимость активности неодинакова у отдельных дегидрогеназ (табл. 36).

Наиболее узкая температурная зона действия отмечается у сукциндегидрогеназы, активность которой удалось уловить только в интервале 30—40°; повышения температуры до 45°; так же как понижение до 20°, полностью инактивируют этот фермент. Напротив, изоцитрикодегидрогеназа, обладая ясно выраженным оптимумом при 10—20°, сохраняет высокую активность при всех изучавшихся температурах. Довольно широкий диапазон действия наблюдается у α -глицерофосфатдегидрогеназы и глюкозодегидрогеназы. Однако активность последней неуклонно возрастает при повышении температуры от 20 до 45°, тогда как температурный оптимум α -глицеро-

Влияние температуры на активность дегидрогеназ прорастающих семян фасоли (в $\mu\text{кЛ O}_2$ на 1 г сырого веса в час) (по Соколовой и Савельевой, 1958)

Дегидрогеназы	5°	10°	20°	30°	40°	45°
α -Глицерофосфатдегидрогеназа . . .	—	0	111	106	89	70
Алкогольдегидрогеназа	—	—	—	117	157	73
Изоцитрикодегидрогеназа	397	847	849	642	491	—
Сукциндегидрогеназа	—	—	0	79	145	0
Глюкозодегидрогеназа	—	—	51	121	173	208

фосфатдегидрогеназы расположен при 20—30° и при дальнейшем повышении температуры активность этого фермента падает. Сходные данные были получены и по дегидрогеназам яблок.

Указания на различную зависимость от факторов среды были получены для отдельных звеньев анаэробного дыхания яблок. Известно, что дыхание спелых плодов характеризуется следующими особенностями: разобшением дыхания от фосфорилирования, отсутствием пастеровского эффекта, связанных с присутствием аэробной ферментации. Изучение хода накопления продуктов брожения в срезах тканей спелых яблок показало, что накопление этилового спирта идет с одинаковой скоростью в интервале концентраций кислорода от 1 до 21%. Это показывает, что процесс образования спирта в зрелом яблоке развивается независимо от аэробности условий. Вместе с тем, количество ацетальдегида в кожуре яблока при снижении концентрации кислорода от 21 до 1% возрастает вдвое. Иначе ведут себя срезы мякоти — в них некоторое возрастание количества ацетальдегида наблюдается лишь в условиях 1%-ного содержания кислорода в атмосфере. Различия эти обусловлены, вероятно, тем, что процессы обмена веществ в мякоти протекают в естественных условиях при низком парциальном давлении кислорода. Поэтому концентрации 10 и даже 5% кислорода не могут сдвинуть обмен в сторону анаэробноза, что удается лишь при 1% O_2 .

Также различно отношение двух рассматриваемых процессов к температуре. Процесс образования этилового спирта характеризуется весьма низкими величинами температурного коэффициента, тогда как накопление ацетальдегида весьма возрастает с повышением температуры (Арциховская и Соколова, 1952).

Рассмотренные экспериментальные данные по зависимости дыхания от температуры и концентрации кислорода подчиняются общей закономерности: для процесса дыхания ока-

зываются благоприятными те условия, к которым приурочена данная фаза развития объекта.

Приспособление дыхания к условиям среды достигается путем качественных изменений в окислительно-восстановительной системе. Существенная роль принадлежит при этом завершающему этапу окисления, который катализируется у растений несколькими оксидазами. Для каждого из этих ферментов характерна своеобразная зависимость от условий среды. Некоторые оксидазы способны успешно осуществлять свои каталитические функции при пониженных температурах, как, например, полифенолоксидаза яблок и флавопротеиновые оксидазы цитрусовых. В противоположность этому, действию цитохромоксидазы благоприятны лишь повышенные температуры. Неоднозначно также отношение отдельных оксидаз к уровню парциального давления кислорода в газовой среде.

Наличие набора оксидаз, отличающихся по характеру зависимости от факторов среды, позволяет растению осуществлять завершающий этап окисления в широких границах изменения внешних условий. Приспособление дыхательного газообмена к изменению окружающих условий связано не только с изменением относительной роли отдельных оксидаз. Не меньшее значение могут иметь качественные изменения в системе ферментов, катализирующих другие звенья окислительного обмена (дегидрогеназы, декарбоксилазы и т. д.).

Помимо «смены» ферментных систем средством усиления пластичности каталитических систем у растения служат закономерные изменения характера распределения оксидаз между отдельными элементами протопласта. Об этом говорят данные по изменению внутриклеточной локализации полифенолоксидазы яблок, а также материалы по влиянию локализации оксидаз на их отношение к субстрату.

Одновременное существование в клетке группы ферментов, катализирующих одну и ту же реакцию, но отличающихся по отношению к субстрату и по характеру зависимости от фактора среды, увеличивает гибкость дыхательного аппарата, его способность осуществлять жизненно необходимые процессы в непрерывно изменяющихся условиях.

Кроме того, существенная роль в гетерогенности окислительной системы должна принадлежать множественности форм одного и того же фермента, отличающихся как по иммунохимическим и электрофоретическим свойствам (так называемые изозимы), так и по субстратной специфичности. Существование различных форм фермента, впервые показанное для пероксидазы, установлено в дальнейшем для многих ферментов (см., например, сводку Kaplan, 1963). Соотношения между формами одного и того же фермента различны в отдельных органах растения и в разных частях клетки, изме-

няются с возрастом растения и под влиянием внешних воздействий.

Многообразие форм одного и того же катализатора имеет важное физиологическое значение и является, очевидно, одним из факторов пластичности и приспособляемости процесса дыхания.

Так, например, согласно данным Фукуды (Fukuda, 1954), термостабильность каталазы неодинакова у различных объектов и тесно связана с обычными для них температурами. У рыб, живущих в холодных водах, инактивация каталазы наступает уже при 40°, тогда как у рыб тепловодных активность этого фермента при повышении температуры от 25 до 40° возрастает.

Все эти материалы указывают на большое приспособительное значение, принадлежащее гетерогенности окислительной системы растений.

ЛИТЕРАТУРА

- Арциховская Е. В. Автореф. докт. дисс. М., 1956. Арциховская Е. В. и Рубин Б. А. ДАН СССР, 1950а, 21, № 3; 1950б, 74, № 1, 1; Биохимия плодов и овощей, 1955, 3. Арциховская Е. В. и Соколова В. Е. ДАН СССР, 1952, 84, № 4, Березнеговская Л. Н. Изв. Воронежск. пед. ин-та, 1939, 5, вып. 2. Бородин И. П. Bot. Ztg., 1881, 39, № 8. Жолкевич В. И. ДАН СССР, 1958, 121, № 6. Костычев С. П. Ber. Deut. Bot. Ges. 1913, 31, H. 2. Кротович В. Л. Основы биохимии растений. Высш. шк., М., 1964. Кричевская А. А. и Лященко. И. Ф. Укр. биохим. журн., 1954, 26, № 3. Курсанов А. Л., Благовешенский А. Н. и М. Н. Казакова. Бюл. Моск. о-ва испыт. прир., 1933, 42. Максимов Н. А. Избранные работы по засухоустойчивости и зимостойкости растений. т. 2. М., Изд-во АН СССР, 1952. Палладин В. И. Изв. Варшавск. ун-та, 1899, № 3. Понтович В. Э. Физиол. раст., 1954, 1, № 2. Ракитин Ю. В. Реф. трудов учрежд. ОБН АН СССР. М., Изд-во АН СССР, 1944. Рубин Б. А. Биохимические основы хранения овощей. М., Изд-во АН СССР, 1945; Рубин Б. А. «Тимирязевские чтения», 19. М., Изд-во АН СССР, 1960. Рубин Б. А. и Аксенова В. А. Биохимия, 1957, 22, вып. 1—2. Рубин Б. А. и Арциховская Е. В. ДАН СССР, 1950, 71, № 3. Рубин Б. А., Арциховская Е. В., Иванова Т. М., Сб. «Биохимия плодов и овощей», 1, 1942; 2, 1951. Рубин Б. А. и Панасенко Н. П. Изв. АН СССР, сер. биол., 1956, № 1. Рубин Б. А. и Салькова Е. Г. ДАН СССР, 1955, 102, № 3. Сент-Дьердьи А. Биохимия, 1937, 2. Соколова В. Е. и Савельева О. Н. ДАН СССР, 1958, 120, № 5. Солдатенков С. В. Роль кислорода в созревании плодов. Изд-во ЛГУ, 1941. Baker H., Hutner S. H. a. Sobotka H. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1955, 62, № 14. В., 1955, 143, № 913. Barker J. Proc. Roy. Soc., 1961, 154, № 956. Barker J. a. Mapson L. W. Proc. Roy. Soc., Ser., B., 1955, 143, № 913. Berry L. J. Cell. Comp. Physiol., 1949, 33. Berry L. J. a. Norris W. E. Biochim. et Biophys. Acta, 1949, 3, № 5. Brown A. H. Amer. J. Bot., 1953, 40, № 9. Brown J. C. a. Steinberg R. A. Plant Physiol., 1953, 28. Burton W. G. New Phytol., 1950, 49, № 1. Chevallard I., Hamon F., Mayer A. a. Planteful L. Physicochim. Biol., 1930, 6. Choudhury J. K. Proc. Roy. Soc., 1939, 127. Denny F. E. Contr. Boyce Thomps. Inst., 1946; 14, № 5; 1947, 14, № 9. 1948, 15, № 2.

Devaux H. Rev. Gen. Bot., 1891, 3. Eaks I. L. a. Morris L. L. Plant Physiol., 1956, 31, № 4. Eppley R. W. Plant Physiol., 1960, 35, № 5. Farkas G. L., Konrad E. a. Kiraly Z. Physiol. Plantarum, 1957, 10. Fukuda, Bull. Japan. Soc. Sci., 1954, 20, № 6. Green D. E. Mechanisms of biological oxidations, Cambridge, 1940. Gustafson F. G. Amer. J. Bot., 1932, 19, № 10. Heiss R. Anleitung zum Frischhalten der Lebensmittel. Springer, Berlin, 1945. Huber B. u. Ziegler H. Handb. Pflanzenphysiol., 1960, XII, H. 2. Hunter N. W., Hunter R., King J. W. a. Pinkney A. V. Plant Physiol., 1956, 31, № 2. James W. O. a. Beevers H. New Phytologist, 1950, 49, № 3. Kaplan N. O. Bacteriol. Rev., 1963, 27, № 2. Kidd S. Proc. Roy. Soc., Ser. B., 1915, 89. Kidd F. a. West C. Dep. Sci. a. Indust. Res. Rep. of the Food Invest., 1934, 1935. Laing H. E. Amer. J. Bot., 1940, 27, № 7; Bot. Gaz., 1941, 102, № 4. Laties G. G. Arch. Biochem., 1950, 27, № 2. Ley de J. Ann. Acad. Sci. Fenn., Ser. A, 1955, 60. Marcellin P. C. R. Acad. Sci., Paris, 1955, 240, № 1. Miltitzer W., Sonderegger T. B., Tuttle L. C. a. Georgi C. E. Arch. Biochem., 1949, 24. Mothes K. Ber. Dtsch. Bot. Ges., 1933, 51. Peiniasek S. A. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 1943, 42. Petrucci D. Atti Acad. Nazl. Lincei, Classe sci., fis., mat. e. nat., 1950, 8. Pollock B. M. Physiol. Plantarum, 1953, 6, № 1. Ruhland W. a. Ramshorn K. Planta, 1938, 28. Ryall A. L. a. Aldrich W. W. J. Agr. Res., 1944, 68. Schade A. L., Levy H., Bergmann L. a. Harris S. Arch. Biochem., 1949, 20. Scholander P. F., Flagg W., Hock R. J. a. Irwing L. J. Cell. Comp. Physiol., 1953, 42 (Suppl. I). Smith W. H. Ann. Bot., 1947, 11, № 43; Rapp. et commun. Huitieme Congr. Int. Bot., Paris, Sec. 11—12, 1954. Steward F. C. a. Preston C. Plant Physiol., 1941, 16. Stich C. Flora (N. R. 49), 1891, 74. Stiles W. Handb. Pflanzenphysiol., 1960, 12/2. Stiles W. a. Dent K. Ann. Bot., 1947, 11. Syrett P. J. Handbuch Pflanzenphysiol. 1960, XII-2; Taylor D. Amer. J. Bot., 1942, 29. Thimann K. V., Yocum C. S. a. Hackett D. P. Arch. Biochem. Biophys., 1954, 55, № 1. Thornton N. C. Contr. Boyce Thomps. Inst., 1937, 9, № 2. Tomaszewski M. Flora, 1957, 145, № 1—2. Tombesi L. Ann. Sperim. Agrar. (Rome), 1949, 3, № 4. Turner E. R. a. Quartley Ch. E. J. Expt. Bot., 1956, 7. Ulrich H. Handb. Pflanzenphysiol., 1960, 12, H. 2. Ulrich R. La conservation par le froid des denrées d'origine végétale. Paris, 1954. Ulrich R. e. Marcellin P. J. rech. Centre nat. sci., 1955, № 31. Waring W. S. a. Werkman C. S. Arch. Biochem., 1944, 4.

РОЛЬ ДЫХАНИЯ В ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ РАСТЕНИЯ

СВЯЗЬ ДЫХАНИЯ С ДРУГИМИ ЗВЕНЬЯМИ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ

Дыхание является фокусом, объединяющим белковый, углеводный и жировой обмен организмов. При окислении субстрата дыхания образуется большое разнообразие промежуточных соединений; многие из них могут служить исходными веществами для осуществления тех или иных сторон обмена.

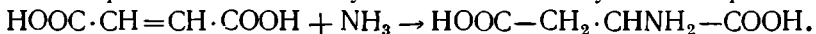
В общем русле процессов окисления существуют этапы, где происходит переключивание углеводного обмена с процессами обмена жиров и белков. Взаимосвязь и сопряженность различных сторон обмена веществ в организме растения могут быть проиллюстрированы многочисленными примерами, из которых мы приведем лишь некоторые.

Местом пересечения углеводного и липоидного обмена в первую очередь является 3-фосфоглицериновый альдегид, образующийся в процессе дихотомического распада и являющийся исходным продуктом для синтеза глицерина, входящего в состав молекулы жира. На следующем этапе окислительных превращений триоз, при окислительном декарбоксилировании пировиноградной кислоты, образуется ацетил-КоА, который является основным строительным материалом при биосинтезе жирных кислот и стеролов. Кроме того, активный ацетат служит исходным веществом для построения каротиноидов, терпенов и каучука. Наоборот, при β -окислении жирных кислот образующийся ацетил-КоА присоединяется непосредственно к шавелевоуксусной кислоте и далее участвует в цепи превращений цикла Кребса. При прямом аминировании пировиноградной кислоты образуется аланин —

аминокислота, которая лежит в основе построения фенилаланина, тирозина, серина и других аминокислот.

Второй пример: α -кетоглутаровая кислота, образующаяся на одном из этапов цикла Кребса, служит основным предшественником глутаминовой кислоты, которая в свою очередь может давать начало таким аминокислотам, как пролин, оксипролин и гистидин.

Источником другого важнейшего метаболита белкового обмена аспарагиновой кислоты также являются два компонента цикла Кребса: щавелевоуксусная и фумаровая кислоты. Первая реакция осуществляется в результате прямого восстановительного аминирования щавелевоуксусной кислоты. Фумаровая кислота превращается в аспарагиновую с помощью фермента аспартазы, обнаруженного в высших растениях и грибах. Реакция осуществляется следующим образом:



В результате процессов окислительного распада образуются соединения, являющиеся исходными веществами для биосинтеза ароматического кольца. Такими веществами являются фосфоэнлопировиноградная кислота, возникающая в процессе дихотомического распада, и эритрозо-4-фосфат, образующийся в результате апотомического окисления. Конденсируясь, эти вещества замыкаются в 6-членное кольцо шикимовой кислоты (Davis, 1955; Tatum и др., 1954; Srinivasan и др., 1955). Шикимовая кислота в организме служит предшественником целого ряда ароматических соединений. К их числу относятся такие аминокислоты, как фенилаланин, тирозин, триптофан; последний, в свою очередь, дает начало некоторым ауксинам. Таким же образом образуется кольцо различных фенольных соединений, лигнина, антоцианов и многих других веществ.

Процессы окисления в живом организме осуществляются при непосредственном участии различных витаминов. Последние являются коферментами важнейших энзимов, осуществляющих дегидрирование субстрата дыхания. В этом проявляется неразрывное единство процессов ассимиляции и диссимилиации в живом организме. Процесс дыхания сейчас уже нельзя рассматривать только как процесс диссимилационного распада органического вещества. В такой же мере дыхание является процессом ассимиляции, процессом, в результате которого образуются различные продукты, необходимые для биосинтеза важнейших компонентов протоплазмы.

ИСТОЧНИКИ ЭНЕРГИИ ДЛЯ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ ОРГАНИЗМА

Связь между дыханием и другими звеньями обмена веществ отнюдь не ограничивается использованием промежуточных продуктов этого процесса для синтеза биологически

важных органических соединений. Второй и, возможно, главной стороной процесса дыхания является его способность поставлять энергию, необходимую для жизнедеятельности организма.

У гетеротрофных организмов дыхание является единственным источником энергии в организме. Гетеротрофы поглощают извне готовое органическое вещество. Это вещество разлагается в процессе дыхания, а освобождающаяся энергия используется на различные потребности гетеротрофного организма, в том числе и на процессы биосинтезов. Однако гетеротрофные организмы способны осуществлять сравнительно ограниченное число биосинтезов. Для создания тех или иных соединений гетеротрофному организму в целом ряде случаев необходимы готовые углеродные скелеты тех или иных веществ. Млекопитающие, например, не способны синтезировать некоторые аминокислоты (такие аминокислоты получили название «незаменимых»), витамины и целый ряд других необходимых соединений.

Автотрофные организмы, к числу которых принадлежат растения, обладают значительно более широкими возможностями биосинтезов. Растительные организмы способны синтезировать органическое вещество за счет простейших неорганических соединений, таких, как H_2O , CO_2 воздуха, аммиак и нитраты. Для того чтобы осуществить первичный синтез такого рода, необходимы значительные количества энергии, много больше, чем это требуется для ограниченных процессов биосинтеза у животных.

Таким мощным дополнительным источником энергии, который позволяет растению осуществлять первичный биосинтез органического вещества, является процесс фотосинтеза.

Таким образом, в зеленых растениях поставщиком энергии являются два столь противоположных по существу процесса, как дыхание и фотосинтез. Энергия, освобождающаяся как в результате окислительного, так и фотосинтетического фосфорилирования, фиксируется в виде макроэргических связей. Одним из основных потребителей энергии являются различного рода биосинтезы, протекающие в живом организме. Такие процессы, как биосинтезы белка, жирных кислот и полисахаридов, восстановление углекислого газа до уровня углеводов и бесконечное количество других реакций в обмене, осуществляются только при непосредственном участии энергии макроэргических соединений.

Однако не все биосинтетические процессы для своего осуществления требуют именно энергии АТФ.

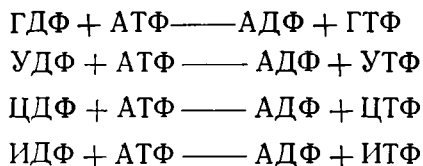
В течение долгого времени в биохимии господствовало представление, что в организмах из всех известных рибонуклеотидов в свободном виде содержатся лишь адениновые нуклеотиды. Считалось, что рибонуклеотиды с другими основа-

ниями — гуанином, урацилом, цитозином и др., находятся в связанном виде в составе рибонуклеиновых кислот. Однако начиная с 1950 г. в самых разнообразных тканях как животного, так и растительного происхождения было обнаружено присутствие свободных рибонуклеотидов (Ballio и др., 1956). Трифосфаты этих соединений, подобно АТФ, несут в себе большие запасы энергии, которая может быть использована на различные потребности клетки. Среди них в первую очередь следует назвать уридинтрифосфат (УТФ), гуанозинтрифосфат (ГТФ), цитидинтрифосфат (ЦТФ) и инозинтрифосфат (ИТФ) (Котельникова, 1957).

Большинство реакций, требующих определенных затрат энергии, специфичны к определенным нуклеотидам. Так, в синтезе белка используется энергия АТФ; УТФ является источником энергии при синтезе ди- и полисахаридов, ЦТФ играет важную роль в липоидном обмене (в частности, в синтезе фосфолипидов).

Однако это ни в коей мере не умаляет роль АТФ как основного источника энергии в организме. АТФ занимает ключевую позицию в энергетическом обмене; в настоящее время не обнаружено других форм запасаения энергии, освобождающейся в результате фосфорилирования, и АТФ считается единственной формой фиксации энергии.

Далее, независимо от того, какой именно нуклеозидтрифосфат включается в процесс активирования субстрата в той или иной реакции, перезарядка отработанного нуклеозида происходит только при помощи АТФ, который непрерывно поставляется в процессе фосфорилирования согласно следующим реакциям:



БИОСИНТЕЗ ВАЖНЕЙШИХ КОМПОНЕНТОВ ПРОТОПЛАЗМЫ

Ниже мы коротко остановимся на процессах биосинтеза белков, жирных кислот, ди- и полисахаридов.

Биосинтез белка. В последнее время экспериментально подтверждена правильность «матричной» теории биосинтеза белка. Согласно этой теории, синтез осуществляется на поверхности матрицы, структура которой определяет собой строение синтезируемого белка. Роль матрицы играет рибонуклеиновая кислота (РНК). Последовательность расположения

нуклеотидов в цепи рибонуклеиновой кислоты определяет собой порядок чередования аминокислот в молекуле синтезируемого белка. Однако, для того чтобы аминокислота могла присоединиться к нуклеотиду, карбоксильная группа аминокислоты должна быть предварительно активирована. Процесс активирования осуществляется с помощью АТФ. Однако в составе самих продуктов биосинтеза не обнаруживается ни одного атома, принадлежащего АТФ. Роль аденозинтрифосфата заключается в том, чтобы, присоединившись к одному из партнеров синтеза, придать ему способность взаимодействовать с другим партнером. В ходе этого активирования сам аденозинтрифосфат, теряя энергию, как бы «разряжается» и выходит из реакции в виде аденозинди- или монофосфата. Реакция осуществляется по следующему уравнению:

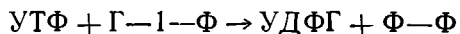
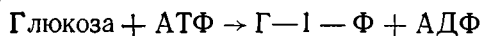


В результате реакции образуется богатая энергией связь между АМФ и карбоксилем аминокислоты и выделяется свободный пирофосфат. Затем комплекс АМФ~активированная аминокислота переносится на РНК с образованием богатой энергией эфирной связи. Далее эфирная связь превращается в пептидную связь $-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-$. Однако механизм этого превращения пока еще представляется не вполне ясным.

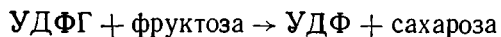
Биосинтез ди- и полисахаридов. Растения отличаются чрезвычайным разнообразием углеводов, которые представлены в виде моно-, ди- и полисахаридов. Между тем вопрос о синтезе полисахаридов, несмотря на многочисленные исследования в этой области, пока еще недостаточно ясен.

Дело в том, что для того, чтобы синтезировать гликозидную связь ди- или полисахарида (т. е. связь, с помощью которой соединяются между собой отдельные моносахара в цепочке полисахарида), необходимо значительное количество энергии (от 2000 до 4000 кал). Прямое участие АТФ в синтезе полисахаридов до сих пор еще не удалось показать.

В 1952 г. Лелюа обнаружил участие уридиновых нуклеотидов в синтезе дисахаридов. Было идентифицировано особое вещество уридиндифосфатглюкоза (УДФГ), которое может образовываться из глюкозы-1-фосфата и УТФ (Paladini, Leloir, 1952):

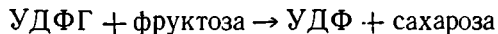
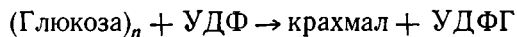


Уридиндифосфатглюкоза передает далее глюкозу фруктозе, в результате чего образуются сахароза и свободный уридиндифосфат:

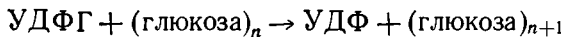


Таким образом, происходит биосинтез сахарозы в высших растениях.

Источником глюкозы для образования УДФ может служить не только Г-1-Ф. В равной степени им может оказаться какой-либо ди- или полисахарид. Этот факт позволяет объяснить чрезвычайно легкие взаимопревращения крахмала и сахарозы:



Несколько позднее было показано, что УДФГ может присоединять глюкозу не только к фруктозе, но и к цепочке молекулы гликогена или декстрина:



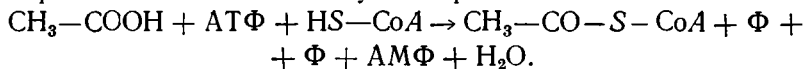
В этом случае происходит синтез полисахаридов. Однако механизм этого синтеза в настоящее время все еще представляется достаточно гипотетичным. Наиболее вероятно, что синтез полисахаридов в растениях осуществляется не одним, а несколькими путями.

Необходимо отметить, что УДФГ также играет первостепенную роль в процессе биосинтеза глюкозидов, глюкотеинов и мукополисахаридов.

Биосинтез жирных кислот. Биосинтез жирных кислот является процессом, прямо противоположным процессу их β-окисления.

Поскольку выше уже подробно разбирался вопрос о β-окислении, не будем останавливаться на механизме их биосинтеза.

Исходным соединением для биосинтеза жирных кислот является ацетил-КоА. АТФ не участвует непосредственно в реакциях самого биосинтеза. Однако образование «активного» ацетила из уксусной кислоты происходит только при участии энергии АТФ согласно следующей реакции:



Помимо синтеза соединений, составляющих основу компонентов протопласта, в живом организме протекает бесчисленное количество биосинтезов вторичных веществ, для осуществления которых также необходима энергия.

ДРУГИЕ ПРОЦЕССЫ, ИДУЩИЕ С ПОТРЕБЛЕНИЕМ ЭНЕРГИИ

Биосинтезы потребляют только часть энергии, образующейся в процессе дыхания. Помимо биосинтезов в организме существует целый ряд процессов, которые нуждаются в не-

прерывном притоке энергии. Сюда относится потребность клетки в энергии, необходимой для поддержания структуры протопласта, процессов деления, поступления и передвижения питательных веществ и для многих других процессов.

Так, показано (Lettre, Schleich, 1955), что при добавлении к клеткам фибробластам дыхательных ядов, так же как и красителя виктория синяя, в них начинается движение протоплазмы, сначала тонкое поверхностное, а затем более энергичное. В опытах, когда одновременно с дыхательными ядами клеткам давали АТФ, движение начиналось лишь после того, когда весь АТФ был расщеплен до АДФ. Авторы пришли к выводу, что тонус клетки, позволяющий ей сохранять форму и внешний покой, требует потребления энергии, поставщиком которой является АТФ. В отсутствие АТФ тонус нарушается, наступает хаотическое движение и распад клетки.

Потребность клетки в энергии резко возрастает во время деления. По подсчетам Фрей-Висслинга (Frey-Wyssling, 1953) для дробления яйца необходимы количества энергии в три раза большие, чем те, которые выделяются за это время в процессе дыхания. Это позволило предположить, что в период, предшествующий делению, в клетке накапливаются богатые энергией соединения.

Поступление веществ из окружающей среды в клетку против градиента концентрации является активным процессом, идущим с потреблением энергии дыхания. Действие дыхательных ядов (прекращающих окислительно-восстановительные процессы) приводит к тому, что активное поглощение веществ и движение их через клеточную оболочку начинает идти лишь по законам диффузии. В результате легко диффундирующие вещества, содержащиеся в клетке в концентрациях более высоких, чем во внешней среде, начинают выходить наружу (Гизе, 1959).

Процессы поглощения и передвижения органических веществ в растении теснейшим образом связаны с дыханием, как это показано в серии работ А. Л. Курсанова и его сотрудников. Так, в 1948 г. А. Курсанов, Н. Крюкова и Д. Седенко установили, что адсорбция ферментов в клетке представляет собой результат сложной биологической деятельности протоплазмы, источником энергии для которой является дыхание. Также с потреблением энергии идет и поглощение органических веществ (рис. 125).

Движение пластических веществ в проводящих тканях, согласно А. Л. Курсанову (1952), осуществляется путем переноса молекул в протоплазме, образующей через плазмодесмы непрерывный путь. Для передвижения веществ по сосудам необходима энергия, освобождающаяся при дыхании. В связи с этим сосуды обладают мощным окислительно-восстановительным аппаратом и интенсивность дыхания клеток сосу-

дистой системы может доходить до 5000 мкл поглощенного кислорода на 1 г/час, т. е. до уровня дыхания, свойственного прорастающим семенам некоторых растений, обладающих наибольшей интенсивностью дыхания (Курсанов, 1952). При передвижении веществ по сосудам флоэмы интенсивность дыхания их клеток возрастает. Из рис. 126 можно видеть, что в условиях, обеспечивающих градиент концентрации сахаров на концах сосудов, дыхание в последних усиливается.

Выход ассимилятов из клеток мезофилла листа в сосудистую систему также представляет собой метаболический про-

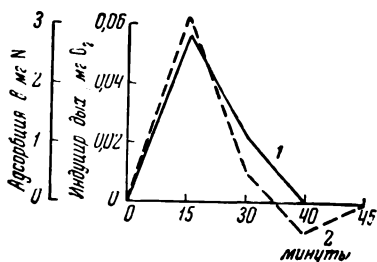


Рис. 125. Интенсивность дыхания и адсорбция гликокола у ростков ячменя (на 10 г сырого веса):

1 — адсорбция гликокола в мг, 2 — индукцированное дыхание в мг (по Курсанову, Крюковой и Седенко, 1948)

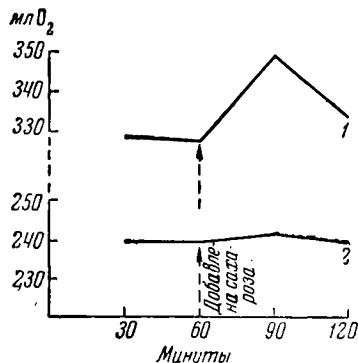


Рис. 126. Влияние сахарозы на интенсивность дыхания лубз однолетних побегов:

1 — подвешенные образцы, 2 — полностью погруженные образцы (по Курсанову, 1952)

цесс, связанный с использованием энергии АТФ. Обогащение листовых пластинок аденозинтрифосфатом ускоряет отток ассимилятов (табл. 37).

Поглощение минеральных веществ корнями также представляет собой активный процесс, идущий с затратой энергии и, следовательно, отражающийся на течении окислительно-восстановительных процессов в тканях корня. Связь между поглощением корнями солей и дыханием на протяжении около 30 лет изучает Лундегард (Lundegårdh, 1960), которым создана концепция анионного дыхания. Согласно этой концепции, накопление солей происходит путем активного транспорта анионов, неразрывно связанного с деятельностью цитохромной системы и, следовательно, с дыханием. Избыточное дыхание корней, связанное с переносом анионов, ингибируется цианидом и моноокисью углерода, не влияющим на основное дыхание корней. Однако некоторые положения Лундегарда являются спорными и теория его встречает ряд воз-

**Влияние АТФ на перемещение ассимилятов (С¹⁴) из мезофилла
в проводящую систему сахарной свеклы (в имп/мин/г сырого вещества)
(по Курсанову и Бровченко, 1961)**

Объект исследования	Контроль	АТФ (0,06 М)
Мезофилл	138 080	114 123
Проводящие пучки черешков (см от листовой пластинки):		
3—4	936	1 163
5—6	331	953
7—8	214	340
9—10	166	339
11—12	138	226
13—14	91	169
Сумма ассимилятов (С ¹⁴) в проводящих пучках	1 846	3 190

ражений. В частности, имеется много фактов, указывающих на преимущественную роль в солевом дыхании катиона, а не аниона. В кратковременных опытах природа аниона сказывается мало. Различные катионы оказывают неодинаковое воздействие на дыхание клетки. Соли натрия и калия сильнее активируют дыхание, чем соли лития; среди двухвалентных катионов, оказывающих меньшее действие, чем одновалентные, Mg эффективнее Ca, который иногда подавляет дыхание (Handley, Overstreet, 1955).

Энергия дыхания необходима для осуществления разнообразных функций растительного организма. Так, имеются данные о потреблении энергии в процессе движения растений. Исследования в этой области показали, что биохимическая природа процессов, обуславливающих сокращение мышц у животных и движения у растений, имеет много общего. Из плазмодия слизневой плесени *Physarum polycephalum* было изолировано вещество, сходное с актомиозином, обуславливающим сокращение мышц животных (Loewy, 1952). Вещество это, названное миксомиозином, снижает вязкость при добавлении АТФ, после чего, в процессе дефосфорилирования АТФ, вязкость постепенно восстанавливается, аналогично тому, как это наблюдается для актомиозина животных. Сходную роль играет потребление энергии АТФ в движении *Mimosa pudica*, *Desmodium girans* и некоторых акаций (Поглазов, 1957). В. А. Энгельгардт и Любимова (см. Энгельгардт, 1957) установили, что миозин — компонент белка мышечных волокон — актомиозина, представляет собой аденозинтрифосфатазу, непосредственно использующую энергию АТФ для производства мышечного сокращения.

Представляет интерес установленная Н. С. Турковой связь между дыханием растения и его геотропизмом. Основной

причиной полегания хлебных злаков, приносящего большие убытки сельскому хозяйству, считали до последнего времени изменения механических свойств стеблей. Исследуя этот вопрос, Н. С. Туркова и др. (Туркова и Лиепиня, 1953; Туркова и Меркис, 1958) установили, что большую роль в полегании играет ослабление отрицательного геотропизма стеблей, которое в значительной мере определяется характером окислительно-восстановительного режима тканей. Существенное значение при этом принадлежит энергетическому обмену тканей, о чем говорят данные по применению ингибиторов окислительного фосфорилирования (табл. 38).

Таблица 38

**Влияние 2,4-динитрофенола на состояние стеблей овса
(по Турковой и Меркису, 1958)**

Применяемое воздействие	Восстановительная активность (0,01 н. иод, мл на 100 г сырого веса)	Аскорбиновая кислота, мг %	Состояние стеблей через 48 час
Контроль	52,0	22,1	Вертикальны Полегли, изгибы в первом и втором узлах
2,4-Динитрофенол (0,01 М) . .	41,1	17,0	
2,4-Динитрофенол (0,01 М) + H ₂ O ₂	48,0	19,0	Вертикальны

Обработка ДНФ (а также некоторыми другими дыхательными ядами) вызывает наряду с полеганием нарушения в окислительно-восстановительной системе растений. Об этом можно судить по снижению восстановительной активности узлов стеблей и уменьшению содержания аскорбиновой кислоты. Обработка растений 0,2%-ным раствором H₂O₂ через 2 час после опрыскивания ингибитором приводит к предотвращению вредного действия последнего.

Действие дыхательных ядов на изгибы стеблей сходно с изменениями, вызываемыми гетероауксином. Полегание стеблей под воздействием гетероауксина связано с сильным активированием аденозинтрифосфатазы (рис. 127), что указывает на связь между явлениями геотропизма и энергетическим обменом. Вероятно, одним из результатов изменений в энергетическом обмене является и изменение величины отношения РНК/ДНК, связанное с искажением геотропической реакции (Туркова и др., 1960).

В отдельных случаях существенное значение для растений может иметь тепло, выделяющееся в процессе дыхания. Известно, например, что энергия дыхания зацветающих соцветий

тий (спадика) аroidных очень высока. Вспышка дыхательной активности сопровождается существенным повышением температуры внутри раскрывающейся цветочной обертки, что может иметь значение для привлечения насекомых. Рост подснежников сопровождается повышением температуры, что приводит к таянию снега, окружающего растение. Аналогичное явление можно наблюдать у арктических растений, начинающих рост весной, под снежным покровом.

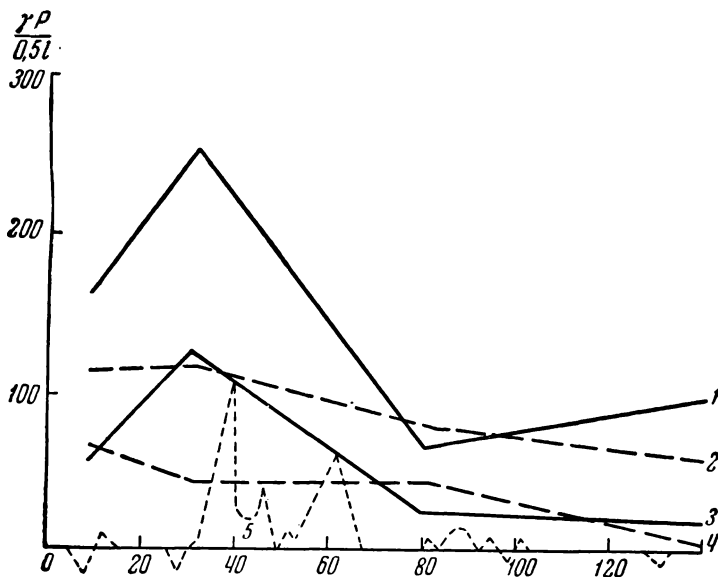


Рис. 127. Изменения активности аденозинтрифосфатазы при полегании овса под действием ИУК ($M \cdot 10^{-3}$):
 1 — листья (ИУК), 2 — листья (контроль), 3 — стебли (ИУК), 4 — стебли (контроль), 5 — скорость отклонения стебля книзу в относительных единицах (по Турковой и др., 1960)

СВЯЗЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ С БИОЛОГИЧЕСКИМИ ОСОБЕННОСТЯМИ РАСТЕНИЯ

Особенности дыхательного процесса, этого источника энергии и пластического материала для разнообразных синтезов, неизбежно должны находиться в тесной связи с особенностями обмена веществ, в свою очередь определяющими важнейшие биологические свойства организма.

Поскольку на различных путях дыхания, в отдельных звеньях этих путей образуются различные промежуточные соединения, есть все основания предполагать, что качественные особенности окислительной системы должны накладывать определенный отпечаток на химический состав расти-

тельных тканей. Однако вопрос этот экспериментально почти не исследован.

Более определенные данные имеются в отношении связи, существующей между интенсивностью окислительных превращений и продуктивностью растения. Было установлено (Рубин и Арциховская, 1937 а, 1937 б, 1940), что активирование окислительных процессов, достигавшееся как увеличением парциального давления кислорода, так и обогащением тканей веществами, принимающими участие в дыхательном процессе в качестве переносчиков кислорода (аскорбиновая и хлорогеновая кислоты, глутатион, особенно в окисленной форме), приводило одновременно к усилению дыхательного газообмена и к смещению равновесия в системе *моносахара — дисахара* в сторону синтеза дисахаров.

На большом количестве растительных объектов было показано, что высокая активность дыхания и отдельных окислительных ферментов совпадает, как правило, с преимущественной направленностью углеводного обмена в сторону синтеза, сахарозы и в результате с высокой сахаристостью тканей. Так, установлено, что у капусты общее содержание сахара, а также величина отношения $\frac{\text{сахароза}}{\text{моносахара}}$ выше у сортов, обладающих более активной окислительной системой (табл. 39).

Таблица 39

**Окислительная система и сахара в листьях кочанов капусты
(по Рубину, Арциховской и Спиридоновой, 1939)**

Сорт капусты	Перокси- даза	Аскорби- нооксидаза	Дыхание	рН	% сахаров	сахароза монозы
Амагер (поздний)	44,9	14,5	24,8	31,4	4,36	0,10
Номер первый (ранний)	23,6	10,6	17,4	27,7	3,57	0,04

Различия в активности окислительной системы наблюдаются не только у хранящихся кочанов, но и на всем протяжении роста и развития растения начиная с момента прорастания семян (табл. 40).

Не менее характерные данные получены при исследовании корней сахарной свеклы (табл. 41), листьев яблони (табл. 42), плодов арбуза и тыквы (Рубин, Арциховская и Иванова, 1939), лука (Рубин, 1936; Рубин и Лутикова, 1937) и ряда других культурных растений.

В табл. 39—42 обращает на себя внимание корреляция между активностью окислительных процессов и сахаристостью, с одной стороны, и длиной вегетационного периода —

**Окислительная активность тканей проростков капусты
(по Рубину, Арциховской и Спиридоновой, 1939)**

Дни проращивания	Аскорбиноксидаза		Пероксидаза		Дыхание		rH	
	амагер	№ 1	амагер	№ 1	амагер	№ 1	амагер	№ 1
3-й	—	—	3,6	2,4	32,6	19,7	—	—
7-й	14,4	6,0	16,3	4,8	26,5	18,5	21,3	19,2
10-й	44,9	10,9	37,4	13,8	22,0	15,4	—	—
13-й	22,2	12,0	39,1	21,4	19,8	16,7	22,2	19,4

Таблица 41

**Активность аскорбиназы и содержание сахаров в различных расах свеклы
(данные Б. А. Рубина)**

Раса	Сахара				Активность аскорбиноксидазы
	монозы	сахароза	сумма	сахароза монозы	
Кормовая	1,0—1,5	3,5—4	5—6	3—4	24
Столвая	0,5—1,0	7—8	9,0	8—10	27
Сахарная	0,5	17,5	18,0	35,0	73,5

с другой. Существование (с небольшими исключениями) подобной корреляции, установленной для большого числа сортов различных растений, позволяет предполагать, что в данном случае мы имеем дело с причинно обусловленной закономерностью.

Взаимосвязь указанных свойств растения может определяться следующими причинами. В результате высокого уровня активности окислительных процессов на единицу отложенного в запас органического вещества должно расходоваться большое количество дыхательного субстрата, что, в свою очередь, может определить растянутые темпы роста и развития. Вместе с тем, в результате активных синтетических процессов моносахара, накапливающиеся в процессе фотосинтеза, используются на синтез полимерных углеводов и других соединений. Тем самым устраняется тормозящее действие, оказываемое моносахарами на фотосинтетический процесс в ассимилирующих органах. В запасяющих же органах преимущественная направленность углеводного обмена в сторону полимеризации облегчает приток пластических веществ из листьев.

Напротив, при ослабленной окислительной системе, связанной с невысокой синтетической активностью тканей, на

Активность пероксидазы и интенсивность синтеза и гидролиза сахарозы в живой ткани листьев яблони (средние данные) (по Рубину и Сисакиану, 1939)

Сорт	Превращения сахарозы			Пероксидаза
	синтез	гидролиз	синтез	
			гидролиз	
Славянка (зимний сорт)	10,2	8,5	1,20	14,1
Китайка золотая (летний сорт) . .	6,8	26,5	0,26	4,3
Папировка (летний сорт)	4,3	1,8	0,08	0,6

единицу образовавшегося органического вещества тратится меньше дыхательного субстрата, что и может служить одной из причин ускоренных темпов развития. Однако накопление значительных количеств моносахаров служит препятствием как для развития высокой фотосинтетической активности, так и для достижения высокого уровня сахаристости в запасующих органах.

Существование подобной связи между интенсивностью фотосинтеза и типом углеводного обмена показано для сортов капусты и рас сахарной свеклы (табл. 43).

Таблица 43

Суточные изменения интенсивности фотосинтеза и дыхания листьев капусты и свеклы (мг CO₂ за час) (по Рубину, Арциховской, Спиридоновой и Лутиковской, 1947)

Часы суток	Фотосинтез (на 100 см ²)				Дыхание (на кг сырого веса)			
	капуста		свекла		капуста		свекла	
	амагер	№ 1	сахарная	кормовая	амагер	№ 1	сахарная	кормовая
0	—	—	—	—	519	315	335	345
6	4,7	4,5	13,4	7,1	612	520	317	212
12	4,4	3,4	9,3	5,2	686	594	1022	792
18	3,3	2,7	3,6	2,4	612	477	535	451
24	—	—	—	—	519	317	368	315

При сравнительном изучении углеводного обмена сортов капусты, различающихся по скороспелости, Б. А. Рубин и В. Е. Трупп (1936) установили, что у скороспелых форм на дыхание тратится лишь незначительная часть углеводов, исчезающих из тканей кочана за время хранения (табл. 44).

Приведенные в таблице данные показывают, что потери сухих веществ, так же как и сахара, значительно выше у сорта амагер, обладающего более активной окислительной

Изменения в содержании углеводов и сухих веществ в кочках капусты за 6 месяцев хранения (в % от сырого веса) (по Рубину и Трупп, 1936)

Сорт	Листья		Кочерыги	
	общий сахар	сухое вещество	общий сахар	сухое вещество
Амагер	-2,23	-2,22	-2,18	-0,71
Номер первый	-0,62	-0,26	-1,8)	-0,12

системой. В листьях этого сорта капусты между потерями сахаров и сухих веществ не наблюдается разрыва, тогда как у сорта Номер первый около 70% (если приравнять сухое вещество к сахару) исчезнувшего сахара не сжигается до конечных продуктов распада и остается в тканях. В кочерыге, доступ кислорода внутрь которой по сравнению с листьями затруднен, количество недоокисленного сахара у сорта Номер первый превышает 90%. Существенный разрыв в потере сахаров и сухого вещества в кочерыге наблюдается и у капусты сорта амагер, однако относительная величина этого разрыва примерно в два раза меньше, чем для Номера первого.

К сожалению, природа веществ, образующихся при распаде сахаров, не установлена. Можно предположить, что разрыв в потерях сухого вещества определяется, по крайней мере частично, участием анаэробного распада в обмене веществ кочерыги, а также в листовой ткани капусты сорта Номер первый, т. е. в тканях с ослабленным аэробным окислением.

Разумеется, неправильно ставить знак равенства между процессами, протекающими в вегетирующем растении и в переживающих органах, какими являются хранящиеся кочки капусты. Однако, учитывая слабость окислительной системы у вегетирующих растений капусты сорта Номер первый, можно предположить, что и в этом случае «аэробное брожение» в какой-то мере принимает участие в дыхательном газообмене.

Известно, что незначительные количества продуктов анаэробного обмена — спирт, ацетальдегид и т. п. — способны ускорять процессы роста и развития, тогда как усиливающееся накопление подобных соединений приводит к дряхлению тканей и последующему их отмиранию. Не исключено, что связь между низкой активностью дыхательного процесса и скороспелостью в какой-то мере зависит от стимулирующего влияния, оказываемого продуктами брожения на развитие растения. Тем более вероятно, что быстрое «старение» и отмирание тканей, свойственное кочкам скороспелых сортов

капусты во время хранения, является результатом накопления продуктов анаэробного распада.

Такое важное в биологическом и в хозяйственном отношении свойство растения, как устойчивость к поражению фитопатогенными микроорганизмами, также в большой мере связано с интенсивностью и характером дыхательного процесса.

ЗНАЧЕНИЕ ДЫХАНИЯ ПРИ ХРАНЕНИИ ПЛОДОВ И ОВОЩЕЙ

Значение, которое имеет дыхание для характера обмена веществ, можно видеть на примере хранящихся овощей и плодов. В этом случае дыхание можно регулировать путем создания определенного температурного и газового режима, что практически невозможно при выращивании растений в поле.

Дыханию хранящихся органов растений — зерна, плодов, корнеплодов, клубнеплодов, луковиц и т. п. — уделяется большое внимание. В течение длительного времени считалось, что дыхание, потребляя питательные вещества, приносит лишь вред при хранении растительных объектов и что понижение интенсивности дыхания во всех случаях должно благоприятствовать сохраняемости. При этом не принимали во внимание того, что дыхание является необходимым условием жизни и нарушение его нормального хода приводит к отмиранию живых тканей, что в свою очередь вызывает окончательную порчу сохраняемых объектов. Это справедливо даже по отношению к такому продукту, как зерно.

В настоящее время хорошо известно, что хранение живых растительных объектов требует условий для нормального дыхательного газообмена, интенсивность которого должна быть невысокой, но обеспечивающей вместе с тем нормальный ход процессов обмена веществ.

Регулировка интенсивности дыхания при хранении осуществляется различными методами, определяемыми в первую очередь особенностями хранящегося объекта. Основная роль принадлежит при этом правильному температурному режиму.

Чем ниже температура хранения, тем ниже уровень дыхания и, следовательно, потери питательных веществ. Кроме того, низкие температуры препятствуют развитию возбудителей загнивания и уменьшают транспирацию, что имеет большое значение для сохраняемости сочных объектов. Однако предел, до которого может быть понижена температура, неодинаков для различных объектов. Температуры, резко отличающиеся от тех, к которым приспособлен хранящийся орган, вызывают искажения нормального хода обмена веществ, а это отражается, в свою очередь, на качестве про-

дукта. Так, хранение картофеля при температурах ниже 4°C усиливает гидролиз крахмала, в результате чего резко повышается содержание сахаров и вкусовые качества картофеля портятся.

Оптимальная температура хранения цитрусовых плодов еще более высока: хранение при температурах ниже $+6^{\circ}\text{C}$ приводит к преимущественному использованию на дыхание органических кислот, что увеличивает величину сахаро-кислотного коэффициента и ухудшает вкусовые достоинства плодов.

Напротив, для хранения капусты оптимальной является температура -1°C , а непосредственно после сбора кочны могут перенести небольшое подмораживание без снижения качества.

При хранении зерна наряду с температурой решающим фактором в регулировании дыхания является влажность зерна, о чем уже говорилось выше.

Существенным фактором в управлении дыхательным процессом является состав атмосферы хранилища. Понижение концентрации кислорода и повышение концентрации углекислого газа понижают интенсивность дыхания, одновременно препятствуя развитию патогенных микроорганизмов. Но и в отношении состава атмосферы границы допустимых концентраций CO_2 и O_2 сильно варьируют для различных объектов, что, несомненно, связано с анатомо-физиологическими особенностями тканей. Так, затрудненный доступ кислорода улучшает сохраняемость яблок, анатомическое строение которых обеспечивает сравнительно хорошую аэрацию внутренних тканей. Среди приемов, затрудняющих дыхательный газообмен яблок, применяют наряду с хранением в камерах с искусственно измененным составом атмосферы обертку плодов в промасленную бумагу или полиэтиленовую пленку, а также покрытие плодов различными масляными эмульсиями. Применением маслянистых веществ достигается, помимо замедления дыхания, поглощение летучих веществ, выделяемых плодом и оказывающих неблагоприятное воздействие на плоды.

Цитрусовые плоды, обладающие малой газопроницаемостью кожуры, значительно более чувствительны к недостатку кислорода при хранении.

Однако различия в требованиях яблок и цитрусовых плодов к составу атмосферы зависят не только от условий проникновения кислорода к внутренним тканям, определяемым особенностями анатомического строения плодов. Как установлено для томатов С. В. Солдатенковым (1941), для прохождения процессов созревания плоду необходимо определенное количество кислорода. Увеличение интенсивности дыхания, вызванное повышением парциального давления O_2 или

температуры, ускоряет прохождение созревания, тогда как ослабление дыхательного газообмена приводит к противоположным результатам. Созревание зимних груш Williams Bon Cretion, хранящихся в недозрелом состоянии, вообще не наступает в условиях пониженных температур, низкого парциального давления O_2 и высокого CO_2 (т. е. в условиях, подавляющих дыхание) (Kidd, West, 1938). Если же переместить плоды в условия свободного доступа кислорода и температуры не ниже 10° , то созревание проходит за 11—13 дней независимо от продолжительности предыдущего хранения.

Зимние яблоки, как правило, закладываются на хранение в недозрелом состоянии и задержка созревания, вызванная снижением доступа кислорода, благоприятствует сохраняемости. Процесс созревания citrusовых плодов не связан со столь серьезными изменениями в химическом составе и направлении обмена веществ, как это имеет место у яблок и груш. Последние во время роста накапливают, в частности, большие количества крахмала, который во время созревания гидролизует, в результате чего возрастает содержание сахаров. У citrusовых же плодов с самого начала роста отложение запасных углеводов происходит лишь в форме растворимых сахаров. Характер углеводного обмена citrusовых наряду с другими особенностями обмена веществ является причиной того, что citrusовые не «дозревают» при хранении. Таким образом, подавление интенсивности дыхания не может оказать в данном случае влияния на темпы дозревания.

Неодинаково влияют недостаток кислорода и избыток CO_2 и на сохраняемость различных овощей. Если сохраняемость моркови в таких условиях улучшается, то для капусты, например, или картофеля лучшая сохраняемость достигается при свободном доступе воздуха.

Приведенные примеры показывают, что регулировка дыхательного процесса может играть большую роль при хранении сочного растительного сырья, однако в каждом отдельном случае необходимо учитывать индивидуальные особенности подлежащего хранению объекта.

* *
*

Из всего вышесказанного очевидно, сколь сложной и многообразной представляется роль дыхания в жизнедеятельности организмов уже в настоящий момент. При этом, однако, следует иметь в виду, что в вопросе о значении дыхания имеется еще много неразрешенных моментов.

Можно не сомневаться в том, что дальнейшие исследования в области биохимии в ближайшее время позволят еще

глубже и полнее раскрыть биологическую роль дыхания как одной из важнейших функций растительных и животных организмов.

ЛИТЕРАТУРА

- Гизе А. Физиология клетки. М., ИЛ, 1959. Котельникова А. В. Усп. совр. биол., 1957, 43, вып. 2. Курсанов А. Л. Бот. ж., 1952, 37, № 5. Курсанов А. Л. и Бровченко М. И. Физиол. раст., 1961, 8, вып. 3. Курсанов А., Крюкова Н. и Седенко Д. Биохим., 1948, 13, вып. 5. Поглазов Б. В. Автореф. канд. дисс. М., 1957. Рубин Б. А. Биох., 1936, 1, вып. 4. Рубин Б. А. и Арциховская Е. В. ДАН СССР, 1937а, 17, № 3; 1937б, Биох., 2, вып. 6. ДАН СССР, 1940, 27, № 1. Рубин Б. А., Арциховская Е. В. и Иванова Т. М. Докл. ВАСХНИЛ, 1939, вып. 23—24. Рубин Б. А., Арциховская Е. В. и Спиридонова Н. С. ДАН СССР, 1939, 85, № 5. Рубин Б. А., Арциховская Е. В., Спиридонова Н. С. и Лутикова О. Т. Докл. Всесоюзн. совещ. по физиол. раст., вып. 1. М., Изд-во АН СССР, 1947. Рубин Б. А. и Лутикова О. Т. ДАН СССР, 1937, 17, № 5. Рубин Б. А. и Сисакян Н. М. ДАН СССР, 1939, 25, № 4. Рубин Б. А. и Трупп В. Е. Тр. по прикл. бот., генет. и селекции, сер. III, 1936, № 15. Солдатенков С. В. Роль кислорода в созревании плодов, изд. ЛГУ, 1941. Туркова Н. С. и Лиепиня Г. Р. ДАН СССР, 1953, 43, № 1. Туркова Н. С. и Меркис А. И. Вестн. МГУ, сер. биол., почвовед., геол., георг., 1958, № 4. Туркова Н. С., Син Мей-Инь, Бернер Р. и Енина И. П. Вестн. МГУ, сер. VI, биол., 1960, № 1. Энгельгардт В. А. «Баховское чтение», XII. М., Изд-во АН СССР, 1957. Ballio A., Casinovi S. a. Serlupi-Crescenzi G. Biochim et Biophys. Acta, 1956, 20. Davis B. D. Advanc. Enzymol., 1955, 16. Frey-Wyssling A. Submicroscopic morphology of protoplasm, 2 Ed. Elsevier, Houston, 1953. Handley R. a. Overstreet R. Plant Physiol., 1955, 30. Kidd F. a. West C. Dep. Sci. a. Ind. Res., Rep. Food Invest. Board, 1937, 1938. Lettre H. a. Schleich A. Protoplasma, 1955, 44. Loewy A. J. Cell. Comp. Physiol., 1952, 40. Lundegårdh H. Handb. Pflanzenphysiol, 1960, XII, H. 2. Paladini A. C., Leloir L. F. Biochem. J., 1952, 51. Srinivasan P. R., Katagiri M., Sprinsson D. B. J. Amer. Chem. Soc., 1955, 77, № 18. Tatum E. L., Dross S. R., Ehrens-värd G. a. Garnjobst L. Proc. Nat. Acad. Sci., USA., 1954, 40.
-

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие	5
-----------------------	---

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

А. П. Дубров

Физико-химическая характеристика клетки	9
Физико-химическая организация протоплазмы	9
Физико-химические свойства протоплазмы	12
<i>Литература</i>	14

Н. Г. Потанов, А. П. Дубров

Структурная организация растительной клетки	15
Протоплазма	18
Органоиды растительной клетки	24
<i>Литература</i>	53

В. Б. Иванов

Деление и рост клетки	57
Деление клетки	57
Рост клетки	82
<i>Литература</i>	120

А. П. Дубров, Н. А. Сатарова

Новые методы изучения состава и свойств клетки	124
<i>Литература</i>	147

ФОТОСИНТЕЗ РАСТЕНИЙ

А. А. Красновский

Первичные процессы фотосинтеза растений	149
Структура хлоропластов и гранул	150
Различные формы пигментов в растительных организмах	154
Поглощение пигментной системой кванта света и люминесценция	165
Первичный фотохимический процесс и «запасание» энергии света	172
Фотохимические превращения пигментов в организмах	181

Фотосенсибилизирующее действие хлорофилла в процессах переноса водорода (электрона)	186
Исключение фотопродуктов в систему биохимических процессов	189
Исследование промежуточных продуктов с помощью изотопных методов	197
<i>Литература</i>	202
<i>Н. Г. Доман</i>	
Биохимические реакции фотосинтеза	207
Соотношение световой и темновой фаз фотосинтеза	208
Продукты ассимиляции CO ₂ при фотосинтезе	209
Новые методы исследования химизма фотосинтеза	212
Фиксация и восстановление CO ₂ при фотосинтезе	218
Фотосинтетическое фосфорилирование	235
Кислородный обмен при фотосинтезе	241
Основные особенности бактериального фотосинтеза (фоторедукции)	246
Хлоропласты как системы, осуществляющие фотосинтез	249
Пути ассимиляции углерода при фотосинтезе	251
Связь фотосинтеза с другими процессами обмена веществ	259
Общая схема биохимических процессов при фотосинтезе	262
<i>Литература</i>	264
<i>Т. Ф. Андреева</i>	
Физиология фотосинтеза	267
Эволюция фотосинтеза	267
Зависимость фотосинтеза от различных факторов	276
<i>Литература</i>	304
<i>А. А. Ничипорович</i>	
Пути управления фотосинтетической деятельностью растений с целью повышения их продуктивности	309
Перспективы использования принципов и механизмов фотосинтеза в искусственных системах	309
Фотосинтез растений и человек	311
Фотосинтез как основной процесс питания зеленых растений	312
Урожай как результат деятельности фотосинтетического аппарата растений	313
Солнечная радиация как фактор фотосинтеза	319
Рост площади листьев в посевах как фактор их продуктивности	327
Структура посевов как оптическая система	335
Фактически возможные коэффициенты использования энергии солнечной радиации на фотосинтез и формирование урожаев	341
Необходимые уровни обеспеченности посевов минеральным питанием и водой	345
Специальные методы использования фотосинтетической функции растений	346
<i>Литература</i>	353
<i>Б. А. Рубин, Е. В. Арциховская, О. Л. Озерецковская</i>	
ДЫХАНИЕ РАСТЕНИЙ	
Химизм и энергетика процесса дыхания	354
Химизм дыхания	354
Энергетика дыхания	394
<i>Литература</i>	413
	495

Зависимость дыхания от особенностей организма	415
Дыхание растений различных систематических групп	415
Зависимость дыхания от места произрастания растения	417
Особенности дыхания различных органов растения	418
Зависимость дыхания от возраста растения	419
<i>Литература</i>	429
Дыхание растений и внешняя среда	431
Вода	431
Свет	433
Минеральные вещества	435
Температура	438
Состав атмосферы	448
<i>Литература</i>	473
Роль дыхания в жизнедеятельности растения	475
<i>Литература</i>	493

ФИЗИОЛОГИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Том I

Переплет художника *И. С. Клейнарда*
 Редактор *О. Г. Гольцман* Технический редактор *Г. И. Георгиева*
 Корректоры *М. А. Гришаков, Г. И. Кудинова, Е. П. Утанина*
М. И. Эльмус

Сдано в набор 4/XI 1965 г.	Подписано к печати 5/IV 1967 г.
Л-83618 Формат 60×90 ¹ / ₁₆	Бумага типогр. № 1 Печ. л. 31,0+
+1 вклейка (0,08) усл. л.	Уч.-изд. л. 33,32 Изд. № 22
Заказ 925	Тираж 7000 экз. Цена 2 р. 30 к.

Издательство Московского университета
 Москва, Ленинские горы, Административный корпус.
 Типография Изд-ва МГУ. Москва, Ленинские горы