

Агу ЛАЙСК, Велло ОЯ

ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ ИНТЕНСИВНОСТЬ ФОТОСИНТЕЗА ЛИСТА ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ РЕАКЦИЯМИ РЕСИНТЕЗА РИБУЛОЗОДИФОСФАТА

Хотя в природе фотосинтетический аппарат высших растений в большинстве случаев функционирует в условиях недостатка CO_2 , для понимания регуляции фотосинтеза необходимо исследовать фотосинтез и при насыщающих концентрациях CO_2 . О. Заленским введен термин «потенциальный фотосинтез» (Заленский, 1963), обозначающий интенсивность фотосинтеза при углекислотном насыщении. Мы включаем в значение «потенциальная интенсивность фотосинтеза», кроме углекислотного, и световое насыщение. Следовательно, эта величина характеризует максимальную мощность фотосинтетического аппарата при достаточном снабжении его энергией и субстратом. В целях выяснения процессов, определяющих потенциальную интенсивность фотосинтеза, в этой работе изучена кинетика переходных явлений фотосинтеза при внезапном изменении условий внешней среды.

Материал и методика

В опытах использовались листья осины (*Populus tremula* L.) и калины гордовины (*Viburnum lantana* L.), растущих в природных условиях.

Подопытный лист отрезали и, черешком в воде, помещали в листовую камеру трехканальной газометрической аппаратуры (Лайск, Оя, 1970; Laisk, Oja, 1971). Устройство представляет собой открытую газовую систему для измерения интенсивности CO_2 -газообмена листа с возможностью резко и в широких пределах изменять условия в листовой камере: интенсивность света, концентрацию CO_2 и кислорода, температуру листа. Быстродействие аппаратуры достаточно для воспроизведения без искажений колебаний фотосинтеза периодом 50 сек и более. Регистрируется и интенсивность транспирации, что позволяет определять открытость устьиц и забирать опыты, в ходе которых устьица закрывались. Поэтому интерпретация результатов на базе фотохимических и биохимических процессов фотосинтеза оказывается оправданной.

Результаты

Опыты начинали с наблюдения за потенциальной интенсивностью фотосинтеза немедленно после резкого перехода от лимитирующей к насыщающей концентрации CO_2 (рис. 1). Из рис. 1 видно, что переход фотосинтетического аппарата листа от состояния CO_2 -ограничения к состоянию CO_2 -насыщения происходит через одно (осина) или несколько (калина гордовина) колебаний интенсивности фотосинтеза на фоне возрастающего среднего значения. Колебания возникают одинаково при блокировании фотосинтеза либо выключением света, либо CO_2 (рис. 2а, б). Период колебаний составляет 55 сек при температуре листа

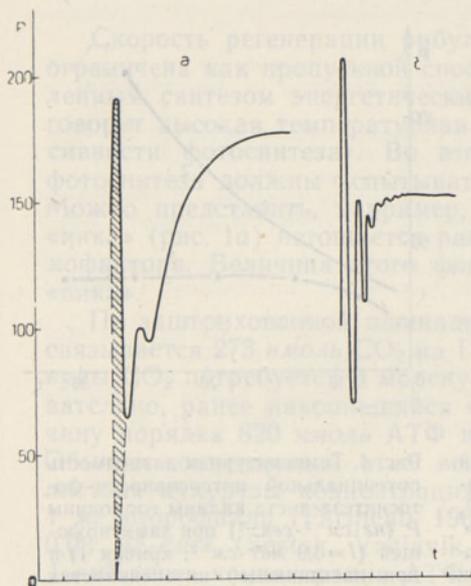


Рис. 1. Колебания потенциальной интенсивности фотосинтеза у листьев осины (а) и калины гордовины (б) после перехода от лимитирующей ($C_a=0$ $\text{нг}\cdot\text{см}^{-3}$) к насыщающей ($C_a=4300$ $\text{нг}\cdot\text{см}^{-3}$) концентрации CO_2 . P — интенсивность газообмена ($\text{нг}\text{CO}_2\cdot\text{см}^{-2}\cdot\text{сек}^{-1}$), интенсивность света $I=54$ (а) и 39 (б) $\text{мвт}\cdot\text{см}^{-2}$, температура листа $t_1=26^\circ\text{C}$, отметки времени t через 3 мин.

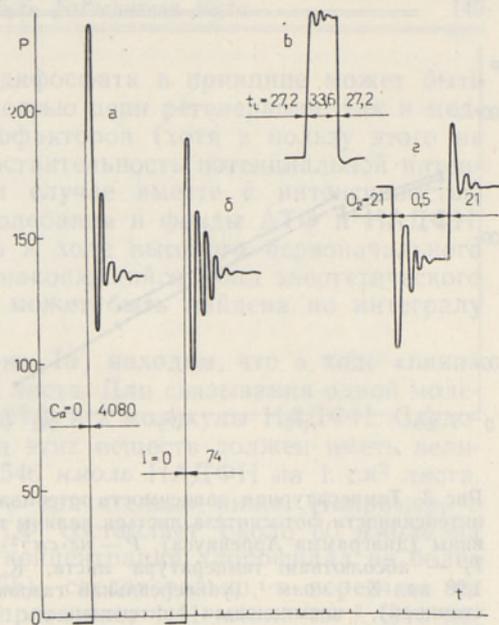


Рис. 2. Колебания потенциальной интенсивности фотосинтеза у листа калины гордовины, возникающие: а — при переходе от нулевой к насыщающей ($C_a=4080$ $\text{нг}\cdot\text{см}^{-3}$, $I=74$ $\text{мвт}\cdot\text{см}^{-2}$) концентрации CO_2 , б — от темноты к насыщающей интенсивности света ($I=74$ $\text{мвт}\cdot\text{см}^{-2}$, $C_a=4080$ $\text{нг}\cdot\text{см}^{-3}$), в — при повышении температуры листа от $27,2$ до $33,6^\circ\text{C}$ ($C_a=4320$ $\text{нг}\cdot\text{см}^{-3}$, $I=75$ $\text{мвт}\cdot\text{см}^{-2}$) и г — при изменении концентрации кислорода от 21% до $0,5\%$ и обратно ($C_a=4320$ $\text{нг}\cdot\text{см}^{-3}$, $I=75$ $\text{мвт}\cdot\text{см}^{-2}$).

26°C . Интересно, что колебания с такой же частотой возникают и при изменении температуры листа или концентрации кислорода в листовой камере (рис. 2в, г).

Температурная зависимость потенциальной интенсивности фотосинтеза помогает выяснить, находится лимитирующая реакция в фотохимической, или биохимической стадии фотосинтеза.

На рис. 3 представлена диаграмма Аррениуса, полученная из опытов с листьями калины гордовины при насыщающих интенсивности света и концентрации CO_2 . В пределах от 5 до 25° температурная зависимость потенциальной интенсивности фотосинтеза соответствует теоретической с энергией активации 11 $\text{ккал}\cdot\text{моль}^{-1}$, в области более высоких температур энергия активации несколько уменьшается. При световом ограничении потенциальная интенсивность фотосинтеза от температуры не зависит (рис. 4). Полученные результаты позволяют сделать некоторые выводы, касающиеся реакций, лимитирующих потенциальную интенсивность фотосинтеза листа.

Обсуждение результатов

Потенциальная интенсивность фотосинтеза имеет высокую температурную чувствительность — энергия активации $E_a=7\div 11$ $\text{ккал}\cdot\text{моль}^{-1}$, что является типичным для ферментативных реакций (Пасынский,

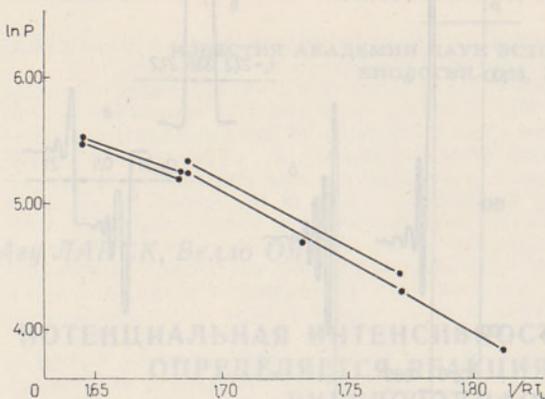


Рис. 3. Температурная зависимость потенциальной интенсивности фотосинтеза листьев калины гордовины (диаграмма Аррениуса). P — $\mu\text{г}\cdot\text{см}^{-2}\cdot\text{сек}^{-1}$, T_i — абсолютная температура листа, К; $R = 1,98 \text{ кал}\cdot\text{К}^{-1}\cdot\text{моль}^{-1}$ (универсальная газовая постоянная), насыщающая интенсивность света, Энергия активации лимитирующей реакции $E_a = 11 \text{ ккал}\cdot\text{моль}^{-1}$ при $t_i = 5-25^\circ\text{C}$ и $E_a = 7 \text{ ккал}\cdot\text{моль}^{-1}$ при $t_i = 25-34^\circ\text{C}$.

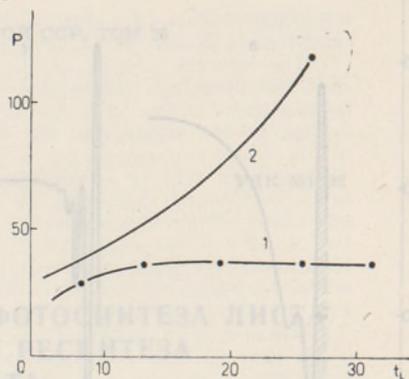


Рис. 4. Температурная зависимость потенциальной интенсивности фотосинтеза листа калины гордовины P ($\mu\text{г}\cdot\text{см}^{-2}\cdot\text{сек}^{-1}$) при лимитирующей ($I = 3,9 \text{ мвт}\cdot\text{см}^{-2}$, кривая 1) и при насыщающей интенсивностях света (кривая 2). t_i — температура листа $^\circ\text{C}$.

1963). При световом ограничении интенсивность фотосинтеза от температуры не зависит. Эти результаты свидетельствуют о том, что потенциальная интенсивность фотосинтеза ограничивается ферментативной реакцией.

Очевидно, что интенсивность фотосинтетической фиксации CO_2 у растений с C_3 -циклом фотосинтеза определяется скоростью реакции карбоксилирования рибулозодифосфата. В этой реакции принимают участие два субстрата (рибулозодифосфат и CO_2) и фермент (карбоксилаза рибулозодифосфата). Скорость реакции может быть лимитирована недостатком того или другого субстрата или — при насыщении реакции обоими субстратами — максимальной скоростью оборота фермента.

В наших условиях углекислый газ не лимитирует интенсивности фотосинтеза. Оказывается, что лимитирующей не может быть и скорость оборота фермента.

Во время переходного процесса потенциальная интенсивность фотосинтеза испытывает колебания со значительной амплитудой. Объяснить эти колебания через эндогенную регуляцию активности рибулозодифосфаткарбоксилазы трудно, так как они возникают как при включении света, так и при повышении концентрации CO_2 и кислорода, а также при изменении температуры листа. Кроме того, потенциальная интенсивность фотосинтеза с повышением концентрации кислорода растет от 0,5 до 21% (рис. 2г) (Вийль и др., 1972), что не согласуется с известной окислительной активностью рибулозодифосфаткарбоксилазы (Laisk, 1970; Lorimer и др., 1972). По-видимому, при насыщающей концентрации CO_2 скорость реакции карбоксилирования ограничивается скоростью регенерации рибулозодифосфата в пентозофосфатном цикле восстановления углерода. К такому же выводу мы пришли и ранее на основе экспериментов с импульсным снабжением листа углекислым газом (Лайск, Оя, 1974).

Скорость регенерации рибулозодифосфата в принципе может быть ограничена как пропускной способностью цепи регенерации, так и медленным синтезом энергетических кофакторов (хотя в пользу этого не говорит высокая температурная чувствительность потенциальной интенсивности фотосинтеза). Во втором случае вместе с интенсивностью фотосинтеза должны испытывать колебания и фонды АТФ и НАДФН. Можно представить, например, что в ходе высокого первоначального «пика» (рис. 1а) истощается ранее накопившийся фонд энергетического кофактора. Величина этого фонда может быть найдена по интегралу «пика».

По заштрихованной площади (рис. 1а) находим, что в ходе «пика» связывается $273 \text{ нмоль } \text{CO}_2$ на 1 см^2 листа. Для связывания одной молекулы CO_2 потребуется 3 молекулы АТФ и 2 молекулы НАДФН. Следовательно, ранее накопившийся фонд этих веществ должен иметь величину порядка 820 нмоль АТФ или 546 нмоль НАДФН на 1 см^2 листа. Обычно концентрации этих веществ значительно ниже. Например, в листьях кукурузы концентрация АТФ составляет около 50 нмоль на 1 мг хлорофилла (Farineau, 1969), концентрация хлорофилла не более $0,03 \text{ мг} \cdot \text{см}^{-2}$ (Šestak, Vaclavik, 1965), следовательно, в пересчете на 1 см^2 листа концентрация АТФ не превышает $1,41 \text{ нмоль} \cdot \text{см}^{-2}$. Это несравнимо меньше фондов, участвующих в колебаниях фотосинтеза.

Нами вместе с Ю. Вийль и Т. Пярником из Института экспериментальной биологии АН ЭССР методом ^{14}C определены фонды фосфорных эфиров в стационарно фотосинтезирующем листе осины. Оказалось, что при температуре листа 26° , концентрации кислорода 21% и насыщающих концентрациях CO_2 и интенсивности света суммарные фонды фосфорных эфиров в цикле Кальвина составляют $82,4 \text{ нмоль} \cdot \text{см}^{-2}$, а вместе с глюкозо-6- и глюкозо-1-фосфатом — $166 \text{ нмоль} \cdot \text{см}^{-2}$. По порядку величины эти фонды лучше согласуются с интегралом первого колебания фотосинтеза и свидетельствуют о том, что причиной колебаний интенсивности фотосинтеза могут быть колебания фондов промежуточных продуктов пентозофосфатного фотосинтетического цикла. Возможность колебаний в таком замкнутом химическом цикле как пентозофосфатный цикл фотосинтеза, теоретически подтверждается (Чернавский, Чернавская, 1967). По-видимому, потенциальная интенсивность фотосинтеза не лимитируется скоростью синтеза энергетических кофакторов.

Вывод

Потенциальная интенсивность фотосинтеза определяется пропускной способностью ферментной цепи регенерации рибулозодифосфата в пентозофосфатном восстановительном цикле углерода.

ЛИТЕРАТУРА

- Вийль Ю., Лайск А., Оя В., Пярник Т., 1972. Стимулирующее действие кислорода на фотосинтез. Докл. АН СССР **204** (5) : 1268—1271.
- Заленский О. В., 1963. Максимальная потенциальная интенсивность фотосинтеза растений Памира и других климатических областей. Тр. Памирской биол. ст. Душанбе **1** : 53—60.
- Лайск А. Х., Оя В. М., 1970. Трехканальная газометрическая аппаратура для детального исследования CO_2 -обмена листа. Тезисы докладов всесоюзного совещания по унификации методов и приборов для массовых измерений интенсивности фотосинтеза. Ленинград—Пушкин : 68—69.
- Лайск А., Оя В., 1974. Фотосинтез в коротких импульсах CO_2 . Реакция карбоксилирования *in vivo*. Физиол. раст. **21** (6) : 1123—1131.
- Пасынский А. Г., 1963. Биофизическая химия. М.

- Чернавский Д. С., Чернавская Н. М., 1967. О колебаниях в темновых реакциях фотосинтеза. В сб.: Колебательные процессы в биологических и химических системах. М.: 51—67.
- Farineau J., 1969. Pool sizes of phosphorylated compounds in maize leaves and their relation to the composition of gaseous medium and wavelengths of light. In: Progress in photosynthesis research, vol. III. Tübingen: 1141—1148.
- Laisk A., 1970. A model of leaf photosynthesis and photorespiration. In: Prediction and measurement of photosynthetic productivity. PUDOC, Wageningen. 295—306.
- Laisk A., Oja V., 1971. A three-channel apparatus for detailed investigation of the leaf CO₂-exchange. Estonian Contributions to the International Biological Programme II. Tartu. 113—128.
- Lorimer G. H., Andrews T. J., Tolbert N. E., 1972. Oxidative activity associated with ribulose 1,5-diphosphate carboxylase. Feder. Proceed. 31: 461.
- Sestak Z., Vaclavik J., 1965. Relationship between chlorophyll content and photosynthetic rate during the vegetation season in maize grown at different constant soil water levels. In: Water Stress in Plants. Prague: 210—218.

Институт астрофизики и физики атмосферы
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
8/V 1975

Agu LAISK, Vello OJA

LEHE FOTOSÜNTEESI POTENTIAALSE INTENSIIVSUSE MÄÄRAVAD RIBULOOSDIFOSFAADI RESÜNTEESI REAKTSIOONID

Resüme

Haava ja villase lodjapuu lehed allutati järskudele süsihappegaasi ja hapniku kontsentratsioonile, valguse intensiivsuse ja temperatuuri muutustele. Lehe süsihappegaasi vahetuse intensiivsus CO₂ ja valguse küllastuse puhul (fotosünteesi potentsiaalne intensiivsus) läheb uuele statsionaarsele väärtusele üle sumbuva võnkumise kaudu, mille periood on temperatuuril 26 °C ligikaudu 55 s. Fotosünteesi potentsiaalse intensiivsuse temperatuurisõltuvus vastab teoreetilisele, tema aktivatsioonenergia on 11 kcal·mool⁻¹. Nõrga valgustuse korral fotosünteesi intensiivsus temperatuurist ei sõltu. Võnkumise esimese poolperioodi jooksul pärast üleminekut süsihappegaasivabast õhust CO₂ küllastuskontsentratsioonile neeldub haava lehes 273 nanomooli CO₂ ühe cm² kohta, mis kaugelt ületab ATP ja NADPH fondi võimalikud suurused. Tehakse järeldus, et lehe fotosünteesi potentsiaalse intensiivsuse määrab ribuloosdifosfaadi sünteesi ahela läbilaskevõime.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Astrofüüsika ja Atmosfäärfüüsika Instituut

Toimetusse saabunud
8. V 1975

Agu LAISK, Vello OJA

PHOTOSYNTHESIS AT CO₂ AND LIGHT SATURATION IS LIMITED BY THE REACTIONS OF RIBULOSEDIPHOSPHATE RESYNTHESIS

Summary

Leaves of *Populus tremula* and *Viburnum lantana* were exposed to sudden changes of CO₂ and oxygen concentration, light intensity and leaf temperature. The rate of CO₂ exchange under CO₂ and light saturation conditions ("potential rate of photosynthesis") acquires a new stationary value via a series of damped oscillations of a 55-second period at 26 °C. The temperature-dependence of the potential rate of photosynthesis corresponds to the theoretical one with an activation energy 11 kcal·mole⁻¹; under light-limited conditions the rate of photosynthesis does not depend on the temperature. During the first half-period following the sudden rise of CO₂ concentration from zero to a saturating value, an aspen leaf assimilates 273 nmole CO₂ per 1 sq. cm of leaf, which exceeds the pools of ATP and NADPH by far.

It is concluded that the potential rate of photosynthesis is limited by reactions in the ribulosediphosphate resynthesis chain in the Calvin cycle.

Academy of Sciences of the Estonian SSR,
Institute of Astrophysics and Atmospheric Physics

Received
May 8, 1975