

УДК 581(132 + 174) + 58.035

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Член-корреспондент АН СССР А. А. ШЛЫК, В. И. ГАПОНЕНКО, Г. Н. НИКОЛАЕВА,
Е. М. СТАНИШЕВСКАЯ, С. Н. ШЕВЧУК, Т. В. ЛОСИЦКАЯ, С. А. МИХАЙЛОВА

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ГЕТЕРОГЕННОСТИ ХЛОРОФИЛЛОВ а И б В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ОСВЕЩЕННОСТИ

Обнаружение двух реакций фотосинтеза подчеркнуло роль форм хлорофилла а, различающихся состоянием молекул (1, 2). Установлено также (3, 4), что сосуществование разных форм хлорофилла связано с его метаболизмом. Новые молекулы хлорофилла а находятся в более лабильном состоянии: легче экстрагируются малополярным растворителем, гидролизуются хлорофиллазой, фотообесцвечиваются, разрушаются при затемнении или обработке ультразвуком (см. (5)). Метаболически различные формы найдены и для хлорофилла б, для которого доказательства неоднородности долгое время отсутствовали (см. осторожные высказывания Френча (6) и Фрея (7)).

Таблица 1

Сравнение удельных активностей (имп/мин·мг С) легкой (I) и труднее (II) извлекаемых фракций хлорофиллов из разных частей зеленого листа ячменя и из клеток хлореллы разного возраста. (Дополнительно показано процентное содержание пигментов в экстракте I)

Объект	Хлорофилл а				Хлорофилл б			
	I	II	I/II	%	I	II	I/II	%

А. Опыты с разными частями зеленого листа ячменя

Части листа								
Верх	30,6	20,0	1,5	33,9	14,4	4,4	3,3	5,9
Середина	88,4	54,1	1,6	28,2	11,6	8,6	1,4	5,1
Низ	133,3	100,9	1,3	11,2	35,3	17,0	2,1	2,8
Целый лист	25,0	21,0	1,2	19,3	7,6	3,4	2,2	5,8

Б. Опыты с синхронной культурой хлореллы

Возраст клеток								
Молодые	110,7	58,6	1,9	29,0	12,7	7,0	1,8	15,6
Смесь	58,0	31,0	1,9	29,6	5,9	5,4	1,1	15,3
Старые	10,9	5,3	2,1	29,9	2,4	1,8	1,3	15,6

Проявление метаболической гетерогенности хлорофилла не сводится к различиям между частями листа. В табл. 1А сопоставлены удельные активности (у.а.) фракций, полученных при экстракции ассимилировавшего C^{14} листа сначала петролейным эфиром (с 1% этанола), а затем ацетоном. Анализы велись по (5). Превышение у.а. первого экстракта из целого листа не больше, чем из частей листа, и процент пигментов в первой фракции из моделей ткани (где у.а. наибольшая) не выше. О сосуществовании метаболически различных форм хлорофиллов а и б в пределах одного хлоропласта говорит и различие экстрактов из синхронных клеток хлореллы (8). В табл. 1Б сопоставлены результаты, полученные с клетками в начале светового периода, с выросшими в течение 12 час. светового периода от 2,9 до 5,0 м и со смесью тех и других. В условиях, когда процент

извлечения петролейным эфиром (с 0,3% этанола) был выравнен, различия у.а. при анализе смеси клеток были не выше, чем при анализе одновозрастных.

Развито представление о том, что хлорофилл b образуется преимущественно из молодых молекул хлорофилла a (5). Оно было выдвинуто на

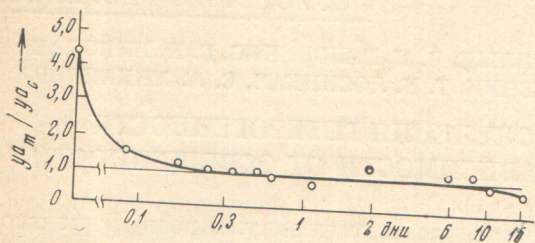


Рис. 1. Изменение отношения удельной активности хлорофилла b после 1-суточного затемнения ($u_{a,c}$) к удельной активности до затемнения ($u_{a,c}$) в зависимости от продолжительности (дни) пребывания кратковременно (10 мин.) ассимилировавших $C^{14}O_2$ зеленых растений ячменя при непрерывном освещении на воздухе в присутствии $C^{12}O_2$ ($u_{a,c} = 1$)

основе анализа кинетики у.а. (9) и развито при изучении темнового биосинтеза хлорофилла b, когда было найдено, что 1) увеличение у.а. хлорофилла b (у.а.б) сопровождается уменьшением у.а. хлорофилла a (у.а.а), т. е. избирательной потерей его молодых молекул; 2) период быстрого увеличения у.а.б соответствует периоду до уравнения у.а.а разных фракций и 3) если затемнение проводится не сразу после ассимиляции C^{14} , а после дополнительной ассимиляции $C^{12}O_2$, когда новые молекулы хлорофилла а ста-

новятся менее мечеными, чем весь его фонд в среднем, то у.а.б не увеличивается, а снижается: хотя средняя у.а.а все еще выше, чем у.а.б, у фонда молодых молекул хлорофилла а она, по-видимому, ниже (5, 10). Достаточно менее суток освещения ассимилировавших $C^{14}O_2$ растений на воздухе, чтобы темновой рост у.а.б прекратился. Рис. 1 показывает, как в зависимости от времени повторной ассимиляции $C^{12}O_2$ до затемнения темновое увеличение у.а.б постепенно исчезает вплоть до обратного изменения.

Лабильность молодых молекул существенна и для понимания особенностей метаболизма хлорофилла в разных условиях (11, 12), в частности в зависимости от освещенности. 7—12-дневные проростки ячменя помещали на 5—10 мин. в камеру для ассимиляции $C^{14}O_2$, а затем выдерживали 2 суток в темноте, либо при непрерывной освещенности лампами накалывания от 40 до 100 000 лк (240—600 000 эрг/см²·сек) при 19—21°. Уровень у.а. оказался наибольшим при 1000 лк (рис. 2). Таков был и максимум общего содержания C^{14} в хлорофиллах и их количество через 2 суток (рис. 3). Хотя эти закономерности могут отражать и общефизиологические связи, они доступны и конкретной интерпретации. Ускоренное включение C^{14} в хлорофилл а при умеренной освещенности легко отнести за счет улучшения условий фотовосстановления протохлорофиллида. Меньшую у.а. при сильном освещении нельзя объяснить увеличенным разбавлением C^{14} позднее ассимилируемым C^{12} , ибо она видна уже в начале кривых у.а., имеющих максимумы за пределами 2 суток. Для объяснения выцветанием предшественника нужно значительное время жизни его молекул. Значит, наиболее существенно влияние частичного выцветания самого хлорофилла. Действительно, содержание пигментов при 100 000 лк меньшее и иногда снижалось к концу опыта. Преимущественное выцветание молодых молекул (4, 5, 13) снижает у.а. остатка.

Сближение у.а., отражающее скорость превращения хлорофилла а в хлорофилл b, происходит при умеренной освещенности скорее, чем в темноте или при 100 000 лк (рис. 4). Хотя количества пигментов не прямо зависят от скорости метаболизма (5, стр. 152), их отношение имеет сходный минимум. Меньшее отношение у.а.а/у.а.б при 10 000 лк, чем при меньшей освещенности, отмечено Фалуды с сотр. (14), хотя авторы варьировали освещенность (от 5 до 10 000 лк) во время ассимиляции $C^{14}O_2$.

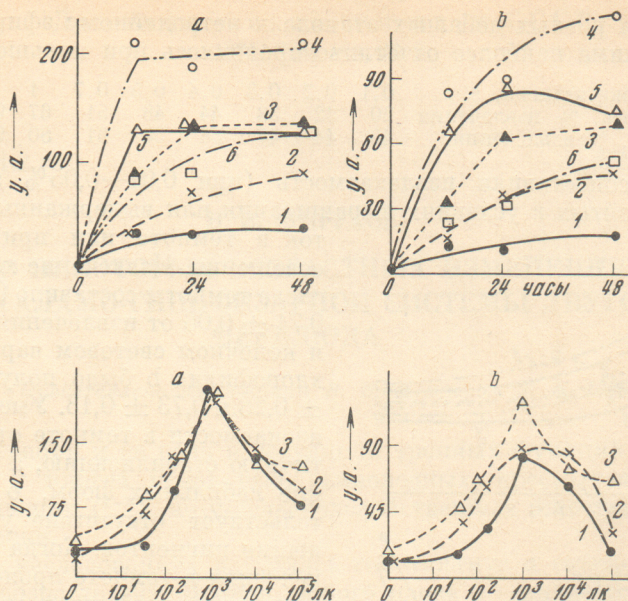


Рис. 2. Изменение удельных активностей (имп/мин на 1 $\mu\text{г}$ С) хлорофиллов а и б в зависимости от освещенности ассимилировавших C^{14}O_2 проростков ячменя. Освещенности (верхние кривые): 1—0 лк, 2—40, 3—150, 4—1000, 5—10 000, 6—100 000 лк. Продолжительность (нижние кривые): 1—12 час., 2—24 час., 3—48 час.

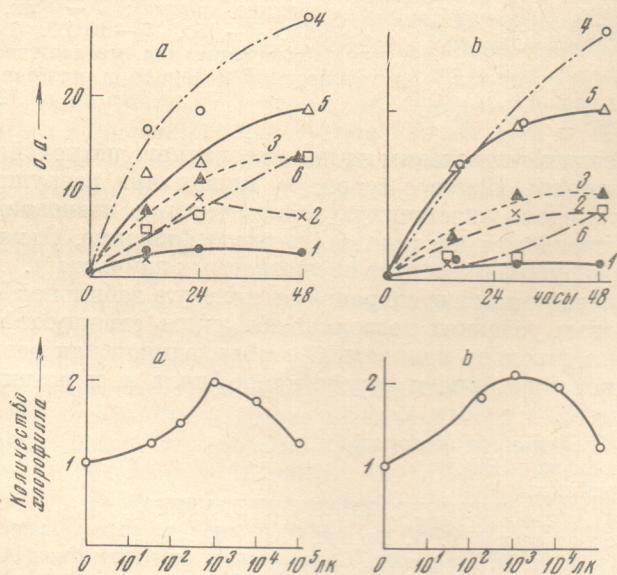


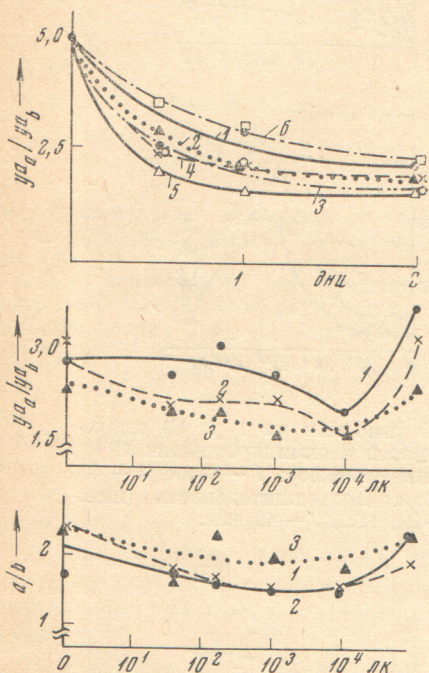
Рис. 3. Изменение общего содержания C^{14} (о.а.) в фондах хлорофиллов а и б (вверху, отн. ед.) и их количества (внизу, нормировано по темновому варианту) в зависимости от освещенности ассимилировавших C^{14}O_2 проростков ячменя. Обозначения для освещенностей (верхние кривые) те же, что на рис. 2

Образование хлорофилла б зависит от количества предшественника — лабильной формы хлорофилла а. Содержание хлорофилла, извлекаемого петролейным эфиром (с 0,1% этанола), составило после 2 суток темноты 31%, после 100 000 лк — 26%, а при 40 и 10 000 лк оно выше — 38—36%. В других опытах хлорофилл (а + б) извлекали после 2 суток темноты

или 40 лк при разных добавках этанола к петролейному эфиру. Влияние светового режима наиболее отчетливо проявилось при меньшей добавке:

Добавка этанола, %	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,7	1	2
Темнота, % извлечения	20	32	38	44	46	51	67	97
40 лк, % извлечения	40	44	47	54	56	61	80	98

Отдельно сопоставили извлекаемость (при 0,01—0,05% этанола) из проростков, взятых в условиях выращивания или выдержанных еще 2 сут-



ток в темноте или при умеренном освещении. Извлечение хлорофилла а после темноты составило $0,70 \pm 0,11$ и $0,71 \pm 0,06$ от извлечения в исходном и конечном световом вариантах. Для хлорофилла b было получено $0,82 \pm 0,28$ и $0,73 \pm 0,13$. Уменьшение извлекаемости в темноте отражает частичную стабилизацию, а не разрушение лабильных форм, о чем свидетельствует отсутствие убыли содержания пигментов. Когда же в других условиях в темноте происходило разрушение хлорофиллов, мы наблюдали

Рис. 4. Изменение отношения удельных активностей (у.а.) хлорофиллов а и b и их количеств в процессе экспозиции ассимилировавших $C^{14}O_2$ проростков ячменя при различной освещенности. Освещенности (верхние кривые): 1—0 лк, 2—40, 3—1000, 4—150, 5—10 000, 6—100 000 лк. Обозначения для продолжительности экспозиций (средние и нижние кривые) те же, что на рис. 2

процесс лабилизации с переходом из не извлекаемого петролейным эфиром фонда в извлекаемый. Попов с сотр. ⁽¹⁵⁾ нашли при разрушении хлорофилла в темноте преимущественную убыль труднее извлекаемого фонда, что объяснили переходом материала в первую фракцию. Отметим, что ее избирательное разрушение следует из изотропных данных ⁽⁵⁾.

Итак, учет образования и сохранения молекул лабильной формы хлорофилла а в разных условиях позволяет объяснить сложную физиологическую реакцию на довольно конкретной основе, единой для разных ее проявлений, включая поведение и самого хлорофилла а, и возникающего из него хлорофилла b.

Лаборатория биофизики и изотопов
Академии наук БССР
Минск

Поступило
28 I 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. А. Красновский, Г. П. Брин, ДАН, 63, 163 (1948). ² Т. Н. Годнев, М. В. Герентьева, К. П. Пармон, Сборн. научн. тр. Инст. биол. АН БССР, в. 1, Минск, 1950, стр. 3. ³ А. А. Шлык, И. В. Прудникова, Вестн АН БССР, сер. биол. наук, № 4, 129 (1961). ⁴ А. А. Шлык, Г. Н. Николаева, ДАН, 143, 460 (1962). ⁵ А. А. Шлык, Метаболизм хлорофилла в зеленом растении, Минск, 1965. ⁶ C. S. French, R. T. Elliott, Carnegie Inst. Wash. Year Book, 57, 278 (1958). ⁷ Y. F. Frei, Biochim. et biophys. acta, 57, 82 (1962). ⁸ А. А. Шлык, С. А. Михайлова, ДАН, 177, 236 (1967). ⁹ А. А. Шлык, Л. И. Фрадкин, Биофизика, 6, 424 (1961); 7, 281 (1962). ¹⁰ А. А. Шлык, Г. А. Ветохина, ДАН, 150, 924 (1963). ¹¹ А. А. Шлык, В. И. Гапоненко и др., В сборн. I Всесоюз. биохим. съезд. Тез. докл., в. 1, Изд. АН СССР, 1963, стр. 144. ¹² А. А. Шлык, В. И. Гапоненко и др., Физиол. раст. 16, 773 (1969). ¹³ А. А. Shlyk, I. V. Prudnikova et al., Progress in Photosynthesis Research, 2, Tübingen, 1969, p. 572. ¹⁴ B. Faludi, A. Faludi-Daniel, J. Gyurján, Acta Biol. Acad. Sci. Hung., 11, 3, 285 (1960). ¹⁵ K. Popov, N. Bakardshijeva, Studia biophysica, 5, 51 (1967). ¹⁶ А. А. Shlyk, I. V. Prudnikova, Photosynthetica, 1, 157 (1967).