

В. С. СААКОВ

ДЕЙСТВИЕ АТФ, ИНГИБИТОРОВ И РАЗОБЩИТЕЛЕЙ
ФОТОФОСФОРИЛИРОВАНИЯ НА ПРЕВРАЩЕНИЕ
КСАНТОФИЛЛОВ В ЛИСТЕ

(Представлено академиком А. Л. Курсановым 1 VII 1970)

Обширный экспериментальный материал указывает на возможность взаимопревращения каротиноидов в растительной клетке и на зависимость эффективности этого превращения от действия света на растение (¹⁻⁵). В качестве отправного пункта превращений ксантофиллов рассматривают наиболее окисленный ксантофилл листа — виолаксантин. Было показано, что изменения 2-й производной оптической плотности листа в области λ 460 м μ при действии света могут быть обусловлены уменьшением содержания виолаксантина, т. е. световой реакцией ксантофиллов (⁶). В литературе встречается незначительное число работ, в которых сделана попытка связать реакцию превращения ксантофиллов с деятельностью фотосинтетических систем, с энергетикой фотосинтеза (⁷⁻⁹).

В настоящем сообщении рассматривается зависимость изменения 2-й производной спектра поглощения ксантофиллов в живом листе от действия экзогенной АТФ, разобщителей фотофосфорилирования и ингибиторов 2-й фотосистемы, а также салицилальдоксима, ингибирующего реакцию Хилла в области пластоцианина.

Работа проводилась путем измерения второй производной оптической плотности ($d^2E/d\lambda^2$) живого листа при λ 460 м μ . Нами использовался спектрофотометр, позволяющий регистрировать оптическую плотность, ее 1-ю или 2-ю производную светорассеивающих объектов (¹⁰). Важной конструктивной особенностью прибора (особенно для биологических объектов с низкой абсорбционной способностью) является возможность изме-

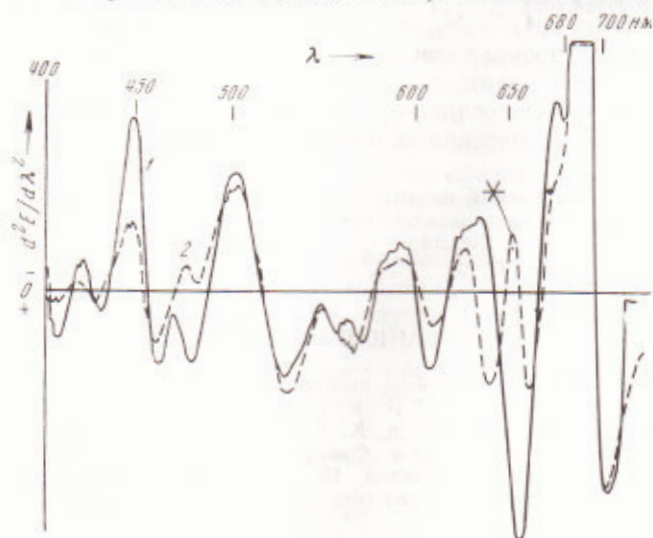


Рис. 1. Вторая производная спектра абсорбции листьев мутанта ячменя 2800, не содержащего хлорофилл b (1), и исходного сорта Donagia, содержащего хлорофилл b (2). Звездочкой отмечен красный максимум хлорофилла b у исходного сорта

нения масштаба усиления в широких пределах, что позволяет уловить крайне малые изменения показаний экстинкции. Так, при наиболее чувствительном усилении ширина ленты самописца (20 см) отвечает показателю экстинкции $E = 0,02$. Преимущество данного прибора, характерное для производной спектрофотометрии, заключается в возможности с лучшей разрешающей способностью отдифференцировать частично или полностью перекрывающиеся друг друга полосы поглощения разных пигментов (^{11, 12}).

Объектом исследования служили мутанты ячменя 2800, 2807, 3613, полученные в Центральном институте генетики и изучения культурных растений, Гатерслебен, ГДР, из сорта *Dopagä*. Особенностью и, для наших исследований, преимуществом данных мутантов является отсутствие в их пластидах хлорофилла *b*. Это заведомо позволяет быть уверенным, что полосы поглощения хлорофилла *b* не будут маскировать спектры поглощения ксантофиллов (см. рис. 1).

Большим преимуществом примененной методики исследования явилась возможность измерять реакции ксантофиллов в интактном листе, в краткие интервалы времени, без погрешностей и потерь пигментов, возможных и характерных при хроматографическом анализе.

Введение ингибиторов и АТФ в листовые пластинки проводилось методом вакууминfiltrации. При этом уменьшалось рассеяние листа и увеличивался коэффициент пропускания. Предварительными опытами была установлена оптимальная продолжительность темновой экспозиции листьев после инфильтрации ингибитора до освещения (10 мин.). Методика измерения реакции дезоксидации описана в (⁶). Изменение высоты пика уже на три деления указывает на осуществление световой реакции ксантофиллов. При использовании ингибиторов и разобцителей в качестве контроля за ходом световой реакции использовались аналогичные листья мутантов, инфильтрированные водой. Среднее статистическое достоверное значение показателя световой реакции при инфильтрации листа водой для избранного интервала усиления составляет пять делений шкалы самописца; каждое деление соответствует 0,1 относительных единиц плотности (табл. 3).

На рис. 2А представлена характерная картина изменения 2-й производной экстинкции при действии света на лист. Следует особенно подчеркнуть, что в других областях видимого спектра характерных и достоверных изменений 2-й производной оптической плотности при световом воздействии на лист не обнаружено. Данные рис. 2Б отображают типичное отсутствие изменений в спектре 2 производной экстинкции при инфильтрации листа хлоркарбонилцианидфенилгидразоном (СССР) и воздействии на него светом. Аналогичным образом были проведены опыты с метиламином, также разобцющим фотофосфорилирование; 2,4-динитрофенолом, ингибирующим транспорт электронов и фотофосфорилирование в хлоропластах, и ингибиторами второй фотосистемы. Отдельные результаты опытов проведены в табл. 1 и 2.

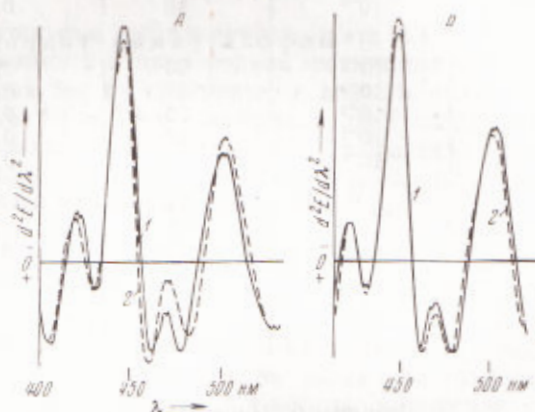


Рис. 2. Изменение второй производной экстинкции при действии света на лист ячменя (мутант 3613), инфильтрированного водой (А) и хлоркарбонилцианидфенилгидразоном (СССР) (Б). 1 — абсорбция до освещения, 2 — после освещения

Таблица 1

Действие ингибиторов второй фотосистемы на изменение второй производной спектра абсорбции листа при освещении

№ опыта	Концентрация инфильтрируемого р-ра ингибитора, <i>M</i>	Время инфильтрации до освещения листа, мин.	Изменение (ΔE_{500}) $d^2E/d\lambda^2$ при λ 460 м μ после освещения	Показатель (E_{500}) 2-й производной экстинкции листа при λ 500 м μ	
				до освещения	после освещения
Инфильтрация диуроном (ДЦМУ)					
1	10^{-3}	30	0,7	3,5	3,3
2	10^{-5}	45	0,5	2,5	2,5
3	10^{-6}	240	0,7	3,6	3,5
4	10^{-5}	10	0,2	2,8	2,9
5	10^{-5}	20	0,00	3,0	3,0
6	10^{-4}	10	0,00	3,4	3,4
7	10^{-4}	5	0,00	3,4	3,3
Инфильтрация фенаントролином					
1	10^{-3}	30	0,05	3,4	3,4
2	10^{-3}	20	0,00	3,0	3,0
3	10^{-3}	20	0,00	2,5	2,6
4	10^{-3}	10	0,00	2,6	2,5
Инфильтрация гидроксиламиноном					
1	10^{-2}	90	0,00	3,8	3,8
2	10^{-2}	45	0,00	4,1	4,1
3	10^{-2}	20	0,00	3,7	3,6
4	10^{-2}	10	0,00	4,2	4,2
5	10^{-2}	5	0,2	3,6	3,7
Инфильтрация салицилальдоксимом					
1	10^{-2}	105	0,3	3,9	4,0
2	10^{-2}	10	0,6	2,0	2,0
3	10^{-2}	30	0,3	2,1	2,1
4	10^{-2}	45	0,3	2,0	2,2
5	10^{-1}	10	0,2	2,1	2,1
6	10^{-1}	23	0,35	2,2	2,1

Таблица 2

Действие разобщителей фотофосфорилирования на изменение второй производной спектра абсорбции листа при освещении

№ опыта	Концентрация инфильтрируемого р-ра разобщителя хлоркарбонилдвандифенигидразоном	Время инфильтрации до освещения листа, мин.	Изменение (ΔE_{500}) $d^2E/d\lambda^2$ при λ 460 м μ после освещения	Показатель (E_{500}) 2-й производной экстинкции листа при λ 500 м μ	
				до освещения	после освещения
Инфильтрация					
1	0,005 %	20	(-0,1)	2,7	2,6
2	0,005	10	0,00	2,5	2,45
3	0,005	10	(-0,2)	2,1	2,1
4	0,005	10	0,1	2,3	2,6
5	0,005	10	0,00	2,2	2,2
Инфильтрация метиламиноном					
1	10^{-1} <i>M</i>	10	(-0,1)	2,2	2,1
2	10^{-1}	10	0,1	1,8	1,8
3	10^{-2}	10	0,1	2,6	2,5
4	10^{-2}	10	0,00	2,3	2,3
Инфильтрация динитрофенолом					
1	10^{-2} <i>M</i>	25	(-0,1)	1,8	1,7
2	10^{-2}	25	0,00	2,6	2,6
3	10^{-2}	10	0,00	2,0	2,0
4	10^{-2}	10	0,00	2,0	2,0

Изменение 2-й производной экстинкции листа при освещении и инфильтрации АТФ и воды

№ опыта	Инфильтрация листа АТФ			Показатели 2-й производной экстинкции при инфильтрации листа водой			
	Изменение (ΔE_{460}) $d^2E/d\lambda^2$ при λ 460 м μ после освещения	Показатель (E_{460}) $d^2E/d\lambda^2$ при λ 500 м μ после освещения	$\frac{\Delta E_{460}}{E_{460}}$				
1	0,85	2,2	0,39	0,6	2,35	0,27	
2	0,7	1,8	0,39	0,5	2,4	0,21	
3	0,65	2,0	0,32	0,3	2,2	0,14	
4	0,9	2,3	0,39	0,6	2,0	0,30	
5	0,7	2,1	0,33	0,4	2,5	0,16	
6	0,65	2,1	0,31	0,5	2,3	0,22	
7	0,7	2,1	0,33	0,7	2,0	0,35	
8	0,75	2,2	0,34	0,65	2,5	0,26	
9	0,6	2,3	0,26	0,3	2,0	0,15	
10	0,7	2,2	0,32				
11	0,8	2,4	0,33				
12	0,7	2,5	0,28				
Среднее	$\approx 0,72$		$\approx 0,33$	$\approx 0,5$		$\approx 0,23$	

Иная картина обнаруживается при инфильтрации листа АТФ. В этом случае световая реакция изменения 2-й производной экстинкции в области λ 460 м μ значительно увеличивается по сравнению с водным контролем. В табл. 3 приведены данные для 12 опытов с инфильтрацией листа АТФ и 9 контрольных опытов с инфильтрацией листа водой. Из сравнения средних значений для показателя эффективности реакции ΔE_{460} или $\Delta E_{460} / E_{460}$ можно заключить, что добавление экзогенной АТФ увеличивает вывод световой реакции не менее чем в 1,4 раза. Таким образом, можно сделать допущение, что АТФ фотосинтеза усиливает и ускоряет дезоксидацию виолаксантина, но от окончательного вывода в пользу такого допущения можно пока воздержаться.

Таким образом, фенантролин, диурон, гидроксилламин, ингибирующие электронтранспортную цепь (э.т.ц.) фотосинтеза до звена пластохинона, ингибируют световую реакцию ксантофиллов, т. е. реакцию дезоксидации; салицилальдоксим, ингибирующий э.т.ц. в области пластоцианина, не нарушает реакцию дезоксидации. Итак, можно предположить, что звено ксантофиллов находится между пластохиноном и пластоцианином. Ингибирование реакции дезоксидации разобщителями фотофосфорилирования указывает на тесную связь световой реакции с процессом фотофосфорилирования. Предположительно происходит активация дезоксидации АТФ-фотосинтеза.

Выражаю благодарность проф. д-ру Бёме, проф. д-ру Загромски и д-ру Мейстеру (Гатерслебен, ГДР) за дружескую помощь в работе.

Сибирский институт физиологии и биохимии растений
Сибирского отделения Академии наук СССР
Иркутск

Поступило
1 VII 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ A. Hager, *Planta*, 74, 1, 148 (1967). ² В. С. Сааков, И. Н. Коновалов, *Тр. Бот. садов АН КазССР*, 9, 81 (1966). ³ Y. H. Yamamoto et al., *Arch. Biochem. and Biophys.*, 97, № 1, 168 (1962). ⁴ C. Costes, *Ann. Physiol. Veg.*, 7, № 2, 105 (1965). ⁵ Д. И. Сапожников, *Усп. совр. биол.*, 64, 2 (5), 248 (1967). ⁶ A. Meister, T. G. Maslova, *Photosynthetica*, 2, № 4, 261 (1968). ⁷ З. М. Эйдельман и др., *Тр. Бот. инст. АН СССР*, сер. 4, 15, 224 (1962). ⁸ A. Hager, *Ver. dtsh. bot. Ges.*, 79, 94 (1966). ⁹ A. Hager, *Planta*, 89, № 2, 224 (1969). ¹⁰ A. Meister, *Exp. Techn. d. Phys.*, 14, № 3, 168 (1966). ¹¹ A. Meister, *Kulturpflanze*, 14, 235 (1966). ¹² Ф. Ф. Литвин, Б. А. Гуляев, *Научн. докл. высш. школы*, сер. биол. наук, 2, 118 (1969).