

УДК 581.132 + 541.144.7:581.19

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

В. С. СААКОВ

О СВЯЗИ РЕАКЦИИ ДЕЭПОКСИДАЦИИ КСАНТОФИЛЛОВ С ЭЛЕКТРОНТРАНСПОРТНОЙ ЦЕПЬЮ ФОТОСИНТЕЗА

(Представлено академиком М. Х. Чайлаханом 18 III 1971)

Легкая уязвимость циклических реакций ксантофиллов при воздействии ингибиторов фотосистем на фотосинтетический аппарат указывает на зависимость превращений ксантофиллов в листе от активности электронтранспортной цепи (э.т.ц.) фотосинтеза (¹⁻⁵). В то же время не имеется обоснованного объяснения, в каком месте э.т.ц. подключаются реакции ксантофиллов. На основании ряда работ можно было допустить, что превращения компонентов системы ксантофиллов связаны с процессом фотофосфорилирования (¹⁻³). Благодаря методическим возможностям производной спектрофотометрии, нами были получены новые доказательства в пользу этого предположения (⁶).

Реакция Хилла, а именно фотосинтетическое выделение кислорода при восстановлении акцептора электронов, подавляется диуроном (ДХММ). Это ингибирующее действие ДХММ на фотосинтетическое восстановление НАДФ⁺ в изолированных хлоропластах может быть нейтрализовано добавлением в инкубационную среду дихлорфенолиндифенола с аскорбатом (ДХФИФ/Ас). При этом происходит восстановление НАДФ⁺ за счет электронов системы ДХФИФ/Ас (^{7, 8}). В ряде работ установлено, что N,N,N',N'-*p*-фенилендиамины могут быть использованы при фотосинтетическом восстановлении НАДФ⁺ как донаторы электронов, снимающие ингибирующее действие ДХММ (^{8, 9}). При этом было доказано, что снятие ингибирующего действия ДХММ при использовании ДХФИФ/Ас связано с образованием АТФ (^{7, 10, 11}). В то же время восстановительные НАДФ⁺ при использовании *p*-фенилендиамина (ПФД) не связано с образованием фотосинтетического АТФ (^{8, 12}). На основании этих данных был сделан вывод о том, что ПФД является донатором электронов в э.т.ц. фотосинтеза после звена ФФ.

Требст установил, что диаминодиурол (2,3,5,6-тетраметил-*p*-фенилендиамин, ДАД) снимает ингибирующее действие ДХММ при восстановлении НАДФ⁺ в изолированных хлоропластах и этот процесс сопровождается ФФ с образованием АТФ. При этом подчеркивается, что ДАД является несравненно лучшим донатором электронов, чем ДХФИФ и N,N,N',N'-тетраметил-*p*-фенилендиамин (ТМПД) (¹²).

Таким образом, представлялось возможным, применяя различное сочетание ингибиторов фотосистем с искусственными донаторами электронов, расчленив э.т.ц. на звенья и уточнить, в каком месте э.т.ц. подключается исследуемая система ксантофиллов. В ранее опубликованной работе изучена реакция звена ксантофиллов на действие ингибиторов 1-й и 2-й фотосистемы (⁶).

Объектом исследования служили мутанты ячменя сорта «Донария», не содержащие хлорофилла *b*. Мутанты были получены в Центральном институте генетики и изучения культурных растений ГАН, Гатерслебен, ГДР.

Оценку реакции ксантофиллов при воздействии ингибиторов, разобщителей ФФ и восстановителей проводили путем определения изменений

спектра 2-й производной коэффициента поглощения в области λ 460 мμ (⁶, ¹³). На основании большого числа экспериментов световая реакция дезоксидации считалась достоверной (при взятом масштабе усиления) при изменении величины пика абсорбции $\Delta E_{460} = 0,3$ относительных единицы плотности. Для получения сравнимых величин при работе с разными масштабами усиления ввели оценку эффективности реакции дезоксидации через отношение изменяемой величины световой реакции ксантофиллов (ΔE_{460}) к неизменяемой при действии света величине экстинкции пика при λ 500 мμ (E_{500}).

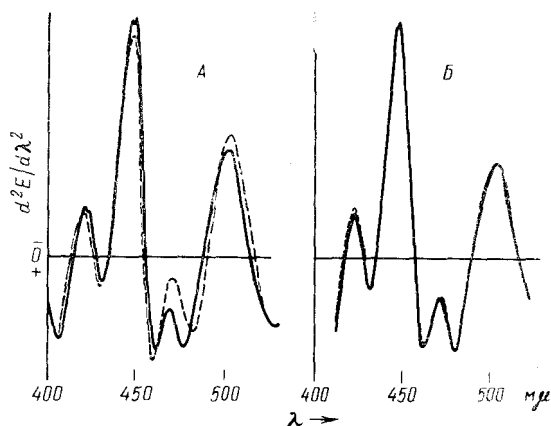


Рис. 1. Изменение 2-й производной экстинкции при действии света на лист ячменя (мутант 3613), инфильтрированного водой (А) и ингибитором 2 фотосистемы DXMM (В). Сплошная линия — до освещения листа. Штриховая линия — после освещения

В случае инфильтрации листа DXMM (10^{-5} мол/л) изменения 2-й производной экстинкции при действии света полностью заторможены (рис. 1). Добавлением DXMM мы отсекаем от э.т.ц. фотосинтеза 2-ю фотосистему до пластохинона. Эксперименты, проведенные с инфильтрацией в лист растворов грамицидина метиламина, хлористого аммония, хлор-

карбонилцианидфенилгидразона (ХКЦФГ) и дигитонина, нарушающих процесс ФФ, показали также подавление световой реакции ксантофиллов (табл. 1).

Следующий этап работы посвящен выяснению возможности нейтрализации воздействия ингибиторов 2-й фотосистемы на реакции ксантофиллов. С этой целью использовали системы искусственных донаторов электронов.

В предварительных экспериментах обнаружили стимуляцию световой реакции дезоксидации ксантофиллов при действии света и одновременной инфильтрации листа раствором ДАД (10^{-3} мол/л) (табл. 2). Данные по водному контролю приведены в табл. 1 и 3. Таким образом, было показано усиливающее действие ДАД на эффект дезоксидации виолаксантина. Аналогичным образом проверили специфическое действие аскорбата (2×10^{-2} и 10^{-3} мол/л) и сочетания аскорбата (10^{-2} мол/л) с ПФД (10^{-3} мол/л) на изменение 2-й производной абсорбции при световом воздействии на лист. При инфильтрации аскорбата и смеси ПФД/Ас эффективность изменения пика в области 460 мμ не отличалась

Таблица 1

Влияние разобщителей фотифосфорилирования на изменение 2-й производной экстинкции листа в области λ 460 мμ при действии света

Инфильтрированное соединение и его концентрация	Длительность инфильтрации листа до освещения, мин.	Число опытов	Среднее значение изменения 2-й производной экстинкции
Контроль H_2O	10	8	$0,5 \pm 0,1$
Грамицидин (0,01%)	10—30	11	$0,2 \pm 0,026$
Метиламин (10^{-2} мол/л)	5—20	8	$0,05 \pm 0,02$
NH_4Cl (10^{-3} мол/л)	10—20	8	$0,1 \pm 0,04$
ХКЦФГ (0,005%)	5—20	21	$(-0,25) \pm 0,14$
NaF ($2 \cdot 10^{-3}$ мол/л)	10—40	13	$0,19 \pm 0,07$
Дигитонин ($5 \cdot 10^{-4}$ мол/л)	10—20	8	$0,2 \pm 0,05$

значимо от водного контроля. Итак, мы могли быть уверены, что ДАД, аскорбат и ПФД не нарушают реакцию дезоксидации виолаксантина.

Одновременное введение в лист ДХММ, ДАД (для обоих соединений 5×10^{-4} мол/л) и аскорбата (10^{-2} мол/л) позволило показать, что несмотря на высокую концентрацию ингибитора имеет место изменение 2-й производной экстинкции в области λ 460 мμ при световом воздействии на лист. Согласно литературным данным, эти изменения спектра абсорбции могут быть связаны с образованием фотосинтетического АТФ (^{7, 8, 12}). Эффективность реакции дезоксидации виолаксантина при одновременном введении ингибитора и донаторов электронов близка к эффективности реакции при инфильстрации листа водой (табл. 3). Результаты опытов статистически обработаны и достоверность расхождений оценена при помощи *t*-теста критерия Стьюдента. Представленные данные свидетельствуют о том, что поток электронов к месту осуществления реакции ксантофиллов начал поступать после узла э.т.п., ингибированного ДХММ. В опытах с ДХММ и ПФД (для обоих соединений: 5×10^{-4} мол/л) и аскорбатом (10^{-2} мол/л) реакции ксантофиллов, связанной с изменением 2-й производной абсорбции при 460 мμ при действии света, обнаружено не было. Таким образом, совместное применение ДХММ и системы донаторов электронов, подающих электроны в э.т.п., но уже после места, где осуществляется ФФ, не реактивирует реакцию дезоксидации виолаксантина. Эта часть наших экспериментов также соответствует данным о месте включения системы ПФД/Ас в э.т.п. фотосинтеза (¹²).

Таблица 2

Влияние диаминодурола (ДАД) на эффективность изменения 2-й производной экстинкции листа при действии света

Номера опытов	Длительность инфильстрации ДАД до освещения листа, мин.	Изменение (ΔE_{460}) 2-й производной абсорбции после светового воздействия	Показатель (E_{600}) 2-й производной абсорбции при $\Delta = 600$ мμ до и после освещения	Эффект реакции дезоксидации E_{460}/E_{600}
1	10	0,6	2,7	0,22
2	10	1,0	1,4	0,71
3	10	0,7	2,8	0,25
4	13	0,9	2,8	0,32
7	10	1,0	2,1	0,48
11	5	0,8	2,5	0,32
13	5	0,9	1,4	0,64
16	5	0,7	2,1	0,33
18	5	0,8	1,5	0,53
20	5	1,0	1,6	0,62
Среднее значение из 20 опытов		$\approx 0,8$		$\approx 0,43$

Таблица 3

Действие ДХММ и искусственных систем донаторов электронов на световую реакцию дезоксидации виолаксантина

Инфильтрированные соединения	Число опытов	Среднее значение отношения $\Delta E_{460}/E_{600}$	Средняя квадратичная ошибка	Отличие от контроля	Уровень значимости $W, \%$
Водный контроль	16	0,234	0,015	—	—
ДХММ (10^{-4} мол/л)	8	0,030	0,013	(-0,204)	0,1
ДХММ + ДАД/Ас	27	0,280	0,012	(+0,046)	> 20
ДХММ + ПФД/Ас	15	0,038	0,018	(-0,196)	0,1

Известен факт снятия разобщающего действия ХКЦФТ на фотофосфорилирование путем добавления в инкубационную среду цистеина (¹⁴, ¹⁵). Данные табл. 1 указывают на сильное подавление дезоксидации виолаксантина при инфильтрации листа раствором ХКЦФТ. Проведенные нами эксперименты с одновременным введением в среду инкубации ДАД/Ас и ХКЦФТ показали отсутствие световой реакции ксантофиллов. В следующей серии экспериментов листовые пластинки, инфильтрированные

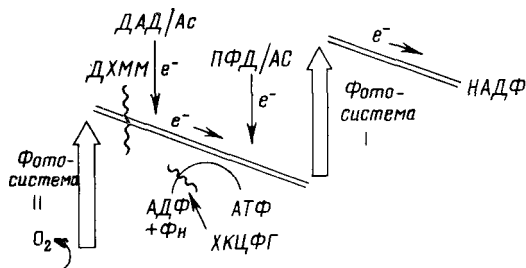


Рис. 2. Схема действия ингибиторов 2-й фотосистемы, разобщителя фотофосфорилирования и донаторов электронов в э.т.ц. фотосинтеза

100% в сравнении с водным контролем. Схема процессов представлена на рис. 2.

Таким образом, представленный в статье экспериментальный материал позволяет сделать вывод о тесной связи световой реакции дезоксидации ксантофиллов с процессом фотофосфорилирования.

В этой связи полученные нами данные не противоречат предположению о возможной роли эпокисоединений в фиксации фосфат-иона и осуществлении механизма ФФ через эпокисксантофиллы (¹⁶, ¹⁷), превращения которых осуществляются через реакции окислительно-восстановительного цикла системы каротиноидов (¹⁸).

В заключение считаю приятным долгом выразить благодарность коллегам из ГДР проф. д-ру Х. Загромски (H. Sagromsky, Gatersleben, DDR), д-ру А. Мейстеру (A. Meister) и д-ру К. Адлеру (K. Adler) за любезное содействие работе.

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

Поступило
10 III 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ З. М. Эйдельман и др., Тр. Бот. инст. АН СССР, сер. 4, **15**, 224 (1962).
- ² A. Hager, Ber. dtsch. Bot. Ges., **79**, 94 (1966). ³ A. Hager, Planta, **89**, 2, 224 (1969).
- ⁴ Д. И. Сапожников и др., ДАН, **127**, 1128 (1959). ⁵ K. Yamashita, Biochim. et biophys. acta, **172**, 3, 511 (1969).
- ⁶ В. С. Сааков, ДАН, **198**, № 4 (1971).
- ⁷ L. P. Vernon, W. S. Zaugg, J. Biol. Chem., **235**, 278 (1960). ⁸ A. Trebst, Zs. Naturforsch., **19**, 448 (1964).
- ⁹ J. S. C. Wessels, Biochim. et biophys. acta, **79**, 640 (1964).
- ¹⁰ M. Losada et al., Nature, **190**, 606 (1961). ¹¹ H. T. Witt et al., Nature, **192**, 967 (1961).
- ¹² A. Trebst, E. Pistorius, Zs. Naturforsch., **20**, 143 (1965).
- ¹³ A. Meister, T. G. Maslova, Photosynthetica, **2**, 4, 261 (1968).
- ¹⁴ P. G. Heytler, W. W. Prichard, Biochem. Biophys. Res. Commun., **7**, 272 (1962).
- ¹⁵ D. Y. DeKiwi et al., Biochem. et biophys. acta, **109**, 284 (1965).
- ¹⁶ Б. И. Бернштейн и др., Физиол. биохим. культ. раст., **1**, 1, 21 (1969).
- ¹⁷ С. Г. Петренко и др., Физиол. биохим. культ. раст., **2**, 2, 137 (1970).
- ¹⁸ В. С. Сааков, ДАН, **165**, № 1, 230 (1965).