

В. М. КУТЮРИН, М. В. УЛУБЕКОВА

**ОБ ОСОБОМ МЕХАНИЗМЕ РАЗЛОЖЕНИЯ ВОДЫ И ПЕРЕХОДЕ
ФОТОРЕДУКЦИИ ВОДОРОСЛЕЙ В ФОТОСИНТЕЗ
В ДЛИННОВОЛНОВОЙ ОБЛАСТИ СПЕКТРА ($\lambda > 700$ м μ)**

(Представлено академиком А. П. Виноградовым 14 I 1971)

При освещении водорослей длинноволновым светом ($\lambda > 700$ м μ) у них наблюдается в анаэробных условиях особый механизм выделения кислорода, зависящий от концентрации кислорода в среде и более чувствительный к действию ядов II фотохимической системы (^{1, 2}). Поскольку для белого света нами было установлено существенное различие в зависимости скорости переноса электрона по сравнению со скоростью выделения кислорода при действии ингибиторов и неблагоприятных факторов внешней среды (³), то следовало выяснить, идет ли речь о специфическом механизме выделения кислорода в этих условиях или ингибиторы затрагивают и механизм окисления воды и переноса электрона.

Объектом исследования служили суспензии зеленой водоросли *Scenedesmus obliquus*, у которой механизм выделения кислорода в длинноволновой области спектра был относительно более эффективен, чем у водоросли *Chlorella rupestris* (⁴). Ингибиторами служили гидроксилламин и ортофенантролин. Свет фильтровали с помощью интерференционного фильтра с максимумом пропускания 730 м μ и полушириной 12 м μ ; ин-

Таблица 1

Усвоение углекислоты водорослями на белом и длинноволновом свете и при переходе фоторедукции в фотосинтез, % к весу клеток в час

№№ опытов	Освещенность, тыс. эрг/см ² /сек	Фотосинтез	Переход
1	5	0,60	0,52
		0,00	0,28
2 ^a	5	0,02	0,50
		0,00	0,22
3	15	0,76	0,46
		0,16	0,15
4	50	3,41	2,12
		0,60	0,77
5 ^b	50	1,30	0,46
		0,00	0,06
6 ^a	50	0,03	0,01
		0,00	0,02
7 ^b	50	0,34	—
		0,06	—

Примечания. В опыт вносили: гидроксилламин ($1 \cdot 10^{-2}$ М) (^a); ($4 \cdot 10^{-3}$ М) (^b) и ортофенантролин ($5 \cdot 10^{-4}$ М) (^b). Темновая фиксация углекислоты составляла ~0,01%. Здесь и в табл. 2 числа над чертой — при белом свете, под чертой — при $\lambda > 700$ м μ .

Таблица 2

Выделение кислорода водорослями на белом и длинноволновом свете при фотосинтезе и при переходе фоторедукции в фотосинтез, % к весу клеток в час.

Освещенность, тыс. эрг/см ² /сек	Фотосинтез	Переход	Переход при >700 м μ , гелий
15	0,56	0,28	0,10
	0,08	0,06	
25	0,84	0,40	0,22
	0,18	0,14	
50	2,80	0,72	0,36
	0,38	0,16	
50	1,00*	0,44	0,28
	0,20	0,00	
50	1,40*	0,70	0,36
	0,42	0,00	
50	1,00*	0,48	0,80
	0,41	0,00	

* Водоросли с пониженной начальной активностью фотосинтеза из-за неблагоприятных факторов внешней среды.

фрактальный свет поглощали водным экраном, для более равномерного освещения ячейка освещалась с двух сторон. Скорость переноса электрона определяли по усвоению углекислого газа, меченого C^{14} . Количество углекислого газа в ячейке составляло 1% по объему. Кислород фотосинтеза определяли с помощью метода газовой хроматографии по схеме, указанной ранее (4). Газом-носителем служил специально очищенный гелий.

Как видно из табл. 1, гидроксилламин, взятый в концентрациях, достаточных для подавления скорости выделения кислорода (определено в параллельных опытах), полностью подавлял скорость переноса электрона при освещении водорослей длинноволновым светом. Эти же ингибирующие клетки, но освещенные белым светом, сохраняли способность к восстановлению углекислого газа. Ингибитор ортофенантролин также сильнее подавлял усвоение углекислоты на длинноволновом свете, чем на белом.

Таким образом, можно говорить о том, что на длинноволновом свете у водорослей существует не только специфический механизм выделения кислорода, но и механизм

окисления воды, т. е. механизм разложения воды в целом. Его чувствительность к ядам II фотохимической системы исключает принадлежность этого механизма к первой фотохимической системе, ответственной за осуществление фоторедукции водорослей (5).

В связи с этим нам казалось целесообразным проверить возможность перехода фоторедукции водорослей в фотосинтез на длинноволновом свете, так как предполагалось (6), что на длинноволновом свете инверсии фоторедукции в фотосинтез не должно быть.

Для адаптации клеток водорослей к фоторедукции водоросли помещались в темноте в атмосферу водорода на 18—20 час. Опыты по фоторедукции проводили при освещенности $3-4 \cdot 10^3$ эрг/см²·сек. Для проверки перехода фоторедукции в фотосинтез увеличивали интенсивность освещения до пределов, указанных в таблицах, и о переходе судили по тому, выделяют ли водоросли кислород или нет.

Как видно из табл. 1—2, инверсия фоторедукции в фотосинтез наблюдается и при простом увеличении интенсивности освещения длинноволновым светом, начиная с 15 тыс. эрг/см²·сек, но не всегда по определению кислорода. У водорослей с пониженной начальной активностью фотосинтеза по выделению кислорода перехода не было, хотя усвоение углекислоты происходило и ингибировалось гидроксилламином. Каждый раз после проверки перехода фоторедукция — фотосинтез из реакционной системы удаляли водород гелием, после чего растения освещались вторично с той же интенсивностью освещения. Как указано в табл. 2, в этом случае кислород выделялся всегда. Следовательно, активация гидрогеназной системы водорослей и присутствие водорода в среде действуют ингибирующим образом на механизм выделения кислорода в длинноволновой области спектра. На белом свете переход фоторедукции в фотосинтез происходил при большей интенсивности освещения в тех случаях, когда на длинноволновом участке спектра этого перехода в атмосфере водорода не обнаруживалось. Это могло указывать на ингибирующее влияние водорода на механизм выделения кислорода и на белом свете. С целью проверки этого пред-

Таблица 3
Влияние анаэробных условий (водород, гелий) на выделение кислорода при фотосинтезе на белом свете

Освещенность, % тыс. эрг/см ² ·сек	% выделенного O ₂ к весу клеток в час		V* _{He} /V _{H₂}
	H ₂ , 20 час.	He, 1 час	
5	0,00	0,17	∞
15	0,18	1,26	7,00
25	0,30	1,50	5,00
50	0,54	1,96	3,60
125	0,88	2,20	2,50
50	—	2,60	—
50	—	1,80 **	—

* V — скорость выделения кислорода.

** Гелий в течение 20 час.

положения были поставлены опыты с водорослями на белом свете, когда предварительно клетки выдерживались в темноте в атмосфере водорода в течение 20 час. Одновременно были поставлены опыты по проверке действия инертной атмосферы, а именно гелия по сравнению с водородом. Атмосфера гелия в течение 20 час. гораздо меньше влияла на фотосинтез клеток, в то время как пребывание водорослей в атмосфере водорода резко снижало интенсивность выделения кислорода (табл. 3).

Оказалось, что действие водорода в значительной степени обратимо: достаточно выдуть водород гелием в течение часа, чтобы наблюдать заметный рост скорости выделения кислорода при той же интенсивности освещения. Кроме того, было обнаружено, что с ростом интенсивности освещения снижение скорости выделения кислорода в атмосфере водорода уменьшается.

В соответствии с этим последующая замена водорода на гелий не приводила уже к столь большим различиям в скорости выделения кислорода, как это наблюдалось при освещении $5-15 \cdot 10^3$ эрг/см²·сек.

Следовательно, трудность наблюдения перехода фоторедукции в фотосинтез в длинноволновой области спектра связана с инактивирующим действием атмосферы водорода на механизм выделения кислорода. Его активация происходит под действием света по сравнению с коротковолновой радиацией. Таким образом, можно говорить о том, что в длинноволновой области спектра, при действии света с $\lambda > 700$ мμ, у водорослей может функционировать особый механизм разложения воды, обладающий большой чувствительностью к ядам II фотохимической системы. Ясно, что его работа связана с существованием длинноволновых форм хлорофилла а, поглощающих свет в этой спектральной области.

Ранее этот механизм разложения воды растениями ускользал от внимания исследователей вследствие того, что его можно наблюдать только в анаэробных условиях. Поскольку в этой спектральной области существует и фотостимулированное поглощение кислорода, изменения наблюдаемой скорости выделения кислорода могли быть следствием только изменения механизма кислородного звена (обмена). Одновременное ингибирование гидроксиламином (10^{-2} M) как выделения кислорода, так и механизма окисления воды говорит об особом характере всего процесса разложения воды в этих условиях. Важно отметить, что в осуществлении этого механизма разложения воды участвуют иные формы (или форма) хлорофилла, чем при фоторедукции, связанные с цепью переноса электрона. Это подтверждается не только чувствительностью механизма к ядам II фотосистемы, но и опытами, показавшими, что с ростом освещенности в длинноволновой области спектра добавление гидроксилamina снижает интенсивность восстановления углекислого газа почти до уровня фотосинтеза. Так как процесс фоторедукции не тормозится гидроксиламином (табл. 1, опыт 2), то эти данные могут указывать только на то, что механизм разложения воды уже начал функционировать, но выделение кислорода еще не удается наблюдать. Является ли задержка в появлении кислорода следствием его связывания под действием гидрогеназы (оксигидрогенная реакция) или разложение воды происходит некоторое время без выделения кислорода, как предполагается для процесса фоторедукции, сказать еще трудно.

Институт геохимии и аналитической химии
им. В. И. Вернадского
Академии наук СССР
Москва

Поступило
30 XII 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. М. Кутюрин, Н. М. Назаров, И. Н. Анисимова, ДАН, 181, № 5, 1276 (1968). ² Н. М. Назаров, В. М. Кутюрин, Физиол. раст., 16, № 3, 414 (1969). ³ В. М. Кутюрин, М. В. Улубекова и др., Физиол. раст., 16, 2, 181 (1969). ⁴ В. М. Кутюрин, И. В. Матвеева и др., ДАН, 157, № 6, 1474 (1964). ⁵ М. В. Улубекова, Усп. совр. биол., 61, № 2, 294 (1966). ⁶ N. Bishop, H. Gaffron, Biochem. and Biophys. Res. Commun., 8, № 6, 471 (1962).