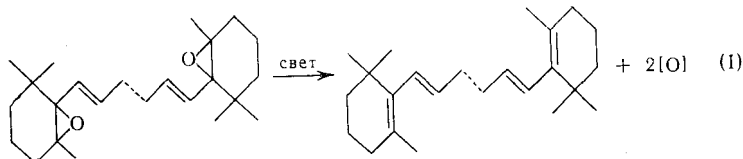


Д. И. САПОЖНИКОВ, М. И. ЗЕЛЕНСКИЙ, Т. Г. МАСЛОВА,
О. Д. БЫКОВ, В. С. ПОДИНЬ

**О СВЯЗИ МЕЖДУ ИЗМЕНЕНИЕМ СОДЕРЖАНИЯ
КСАНТОФИЛЛОВ И ВЫДЕЛЕНИЕМ КИСЛОРОДА
ПРИ ФОТОСИНТЕЗЕ ХЛОРЕЛЛЫ**

(Представлено академиком А. Л. Курсановым 4 VI 1971)

В пластидах зеленых растений наблюдаются реакции взаимопревращения ксантофиллов, известные под названием виолаксантинового цикла (1-5). Этот цикл состоит из индуцированных светом реакций дезэпоксидации виолаксантина и обратных реакций эпоксидации зеаксантина, совершающихся как на свету, так и в темноте. В ходе дезэпоксидации молекула виолаксантина теряет два атома кислорода:



Имеются указания на то, что эпоксидный кислород виолаксантина является источником кислорода, выделяющегося при фотосинтезе (6-8). Однако многие стороны этого вопроса изучены недостаточно. В частности, отсутствуют данные о количественном соотношении между изменением содержания ксантофиллов и скоростью фотосинтетического выделения кислорода при различных температурах. В предыдущих работах (9, 10) было показано, что понижение температуры до 2—5° практически останавливает реакцию эпоксидации в темноте. Исходя из этого, можно было ожидать, что при пониженной температуре удастся более четко выявить связь реакции дезэпоксидации с выделением кислорода.

Опыты проводились с хлореллой (*Chlorella pyrenoidosa* Chick, штамм 82), суспендированной в карбонатном буфере Варбурга № 8 (0,1 M) при температурах 5, 10, 15 и 20°. Порция суспензии хлореллы 9,5 мл (700 млн клеток на 1 мл, $2,8 \cdot 10^{-3}$ г сухой биомассы на 1 мл) вводилась в плоскопараллельную термостатированную ячейку, толщиной 1 см. Ячейка герметизировалась, и суспензия выдерживалась в темноте в течение 10—20 мин. до достижения стационарной темновой концентрации кислорода $1 - 2 \cdot 10^{-5}$ мол/л. После этого включалось освещение и полярографическим методом (11) записывалось изменение концентрации кислорода в результате фотосинтеза. Освещение производилось проекционной лампой накаливания (300 вт, 220 в), дававшей освещенность ячейки $2,4 \cdot 10^5$ эрг/см² · сек, ~50 тыс. лк. Фиксация проб суспензии хлореллы, извлечение пигментов и разделение каротиноидов проводили по описанному ранее методикам (12, 13).

Использованная для работы суспензия хлореллы характеризовалась следующими средними темновыми концентрациями пигментов: хлорофилла $(5,84 \pm 0,7) \cdot 10^{-5}$ мол/л, виолаксантина $(1,09 \pm 0,08) \cdot 10^{-6}$ мол/л и зеаксантина $(8,03 \pm 0,09) \cdot 10^{-7}$ мол/л.

Вначале было проведено исследование зависимости обратной реакции эпоксидации в темноте от температуры суспензии хлореллы. В этих опытах пробы хлореллы начала выдерживались 10 мин. на свету, а затем помещались в темноту на два часа. Как видно из рис. 1, при температурах 15—20° в затемненной после световой экспозиции суспензии хлореллы наблюдалось прохождение обратной реакции — содержание виолаксантина возрастало, а зеаксантина падало. При более низких температурах (5 и 10°) содержание виолаксантина в темноте после освещения оставалось на световом уровне, т. е. реакция эпоксидации не проходила. Содержание же зеаксантина даже немного возрастало за период затемнения. Таким образом, в хлорелле, как и в листьях высших растений, обратная реакция тормозится при пониженной температуре.

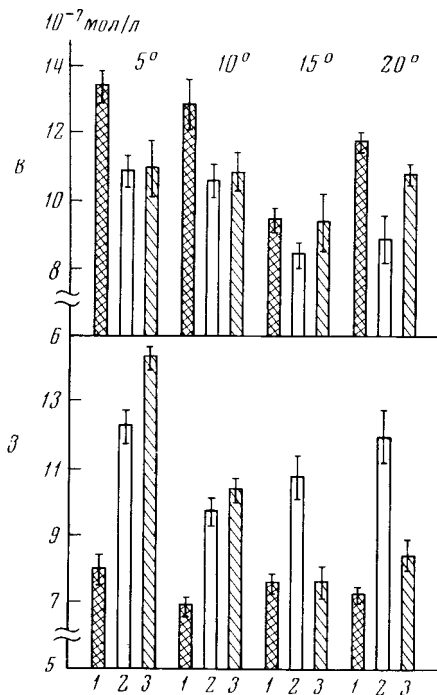


Рис. 1. Изменения концентрации виолаксантина (B) и зеаксантина (Z) при освещении и последующем затемнении суспензии хлореллы при разных температурах. 1 — исходная темновая; 2 — в освещенной суспензии, 3 — при повторном затемнении

концентраций ксантофиллов в ходе световой экспозиции при различных температурах. Там же приведены изменения скорости выделения кислорода; скорость рассчитывалась с помощью графического дифференцирования соответствующих кривых $[O_2] - t$, аналогичных показанной на рис. 2.

Из рис. 3 видно, что изменения содержания виолаксантина и зеаксантина во времени описываются кривыми, обладающими максимумами, которые расположены тем дальше от момента начала экспозиции, чем ниже температура суспензии. Максимальные значения скорости выделения кислорода с уменьшением температуры также достигаются через все большие интервалы времени, так что во всем исследованном временном интервале при всех температурах наблюдается некоторая корреляция между скоростью выделения кислорода, с одной стороны, и изменением концентрации ксантофиллов, с другой.

Интересно отметить, что наибольшие скорости изменения содержания ксантофиллов, как и наибольшие увеличения скоростей выделения кислорода, приходятся на первые минуты световых экспозиций. Понижение концентрации зеаксантина после прохождения максимума в ходе длительных экспозиций, вероятно, связано с возрастанием скорости реакции эпоксидации при увеличении концентрации кислорода в замкнутой ячейке в

световом уровне, т. е. реакция эпоксидации не проходила. Содержание же зеаксантина даже немного возрастало за период затемнения. Таким образом, в хлорелле, как и в листьях высших растений, обратная реакция тормозится при пониженной температуре.

На рис. 2 приведена типичная кривая (полярграмма), отражающая увеличение концентрации кислорода в суспензии хлореллы при освещении. Как видно из рис. 2, концентрация кислорода, пониженная в темноте в результате дыхания хлореллы, уже ко второй минуте освещения достигает величины, равновесной с воздухом ($2,85 \cdot 10^{-4}$ мол/л), а к концу световой экспозиции превосходит ее в четыре раза. Скорость выделения кислорода в ходе освещения вначале возрастает, сохраняется некоторое время постоянной и затем понижается. Аналогичный ход кривых наблюдался и при более низких температурах, однако увеличение концентрации кислорода происходило медленнее.

На рис. 3 представлены результаты опытов по изменению концен-

результате фотосинтеза (¹⁴); независимо от температуры это понижение происходит при одной и той же концентрации кислорода $2,5 \cdot 10^{-4}$ мол/л.

Для того чтобы исключить влияние повышенной концентрации кислорода на скорости изменения концентраций ксантофиллов, сопоставление их со скоростью выделения кислорода производилось по значениям скоростей за первую минуту освещения (табл. 1).

Из табл. 1 видно, что с увеличением температуры возрастает как скорость выделения кислорода V_{O_2} , так и скорость дезэпоксидации виолаксантина V_V , причем последняя растет с температурой медленнее, а при 20° даже несколько понижается. Еще резче падение скорости дезэпоксидации при 20° выражено при оценке ее по увеличению зеаксантина.

При однократном прохождении реакции (¹), когда убыль виолаксантина не пополняется за счет эпоксидации, отношение V_{O_2}/V_V должно было бы равняться единице. Наиболее подходящие для этого условия создаются при пониженной температуре, так как обратная реакция эпоксидации при 5° не протекает, по крайней мере в темноте (рис. 1). Однако из табл. 1 видно, что отношение V_{O_2}/V_V при 5° равно приблизительно 100. Это отношение можно рассматривать как указание на то, что и при пониженной температуре процесс взаимопревращения ксантофиллов имеет циклический характер, и реакция эпоксидации, представляющая собой часть цикла, благодаря действию света совершается и при 5° .

Величина отношения скорости выделения кислорода к скорости превращения отдельных пигментов виолаксантинового цикла V_{O_2}/V и

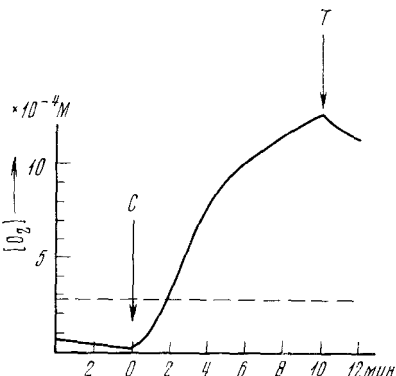


Рис. 2. Зависимость концентрации кислорода в суспензии хлореллы от длительности освещения (при $t = +20^\circ$). Пунктиром показан уровень концентраций кислорода в воде, находящегося в равновесии с воздухом $2,85 \cdot 10^{-4}$ мол/л. Стрелками показаны моменты включения (C) и выключения (T) света

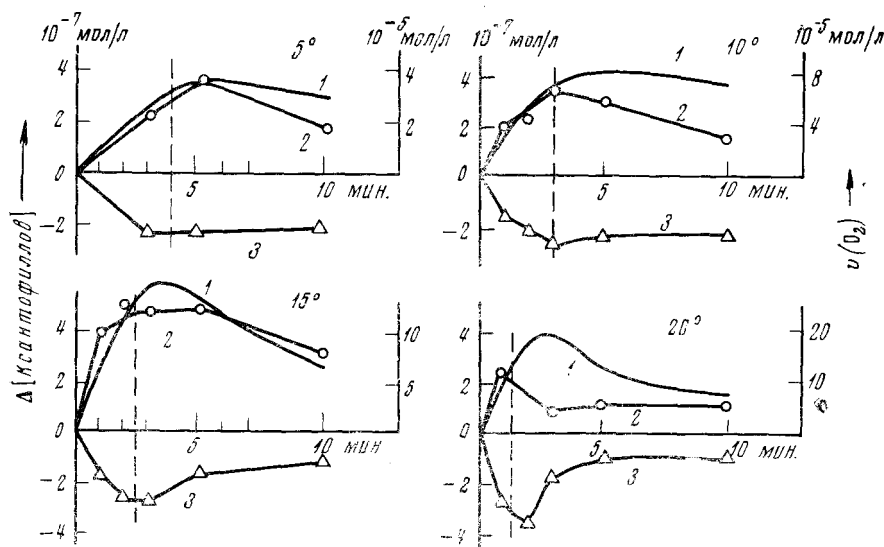


Рис. 3. Изменения содержания ксантофиллов и скорости выделения кислорода в ходе световых экспозиций при разных температурах. Пунктиром отмечены моменты времени, к которым достигалась концентрация кислорода в суспензии $C_{O_2} 2,85 \cdot 10^{-4}$ мол/л. 1 — кислород, 2 — зеаксантин, 3 — виолаксантин

Сопоставление скорости выделения кислорода V_{O_2} и скорости превращения ксантофиллов V_{-B} и V_3 при разных температурах. (Скорости взяты за первую минуту световой экспозиции и выражены в 10^{-7} мол./л·мин $^{-1}$)

| T, °C | V_{O_2} | V_{-B} | V_{O_2}/V_{-B} | V_3 | V_{O_2}/V_3 |
|-------|-----------|-------------|------------------|-------------|---------------|
| 5 | 101 ± 27 | 0,81 ± 0,05 | 125 | 1,00 ± 0,22 | 101 |
| 10 | 173 ± 42 | 1,40 ± 0,37 | 157 | 1,61 ± 0,22 | 107 |
| 15 | 278 ± 36 | 1,54 ± 0,33 | 180 | 3,90 ± 1,60 | 71 |
| 20 | 660 ± 180 | 1,40 ± 0,38 | 471 | 1,83 ± 0,57 | 360 |

V_{O_2}/V_3 может косвенно характеризовать количество оборотов этого цикла в 1 мин. Как видно из табл. 1, с повышением температуры величина этого отношения растет, что объясняется увеличением эффективности работы виолаксантинового цикла. Последнее обстоятельство является следствием увеличения скорости как реакции дезэпоксидации, так и, главным образом, скорости обратной реакции эпоксидации с возрастанием температуры.

Дальнейшие исследования должны быть проведены с целью выявления более тесной корреляции между фотосинтетическим выделением кислорода и реакциями виолаксантинового цикла. Для этого необходимо, с одной стороны, использовать более короткие световые экспозиции и, с другой стороны, — более низкие температуры.

Ботанический институт им. В. Л. Комарова
Академии наук СССР
Ленинград

Поступило
2 VI 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ U. Blass, S. M. Anderson, M. Calvin, *Plant Physiol.*, **34**, 3, 329 (1959).
² Д. И. Сапожников, Т. А. Красовская, А. Н. Маевская, ДАН, **113**, № 2, 465 (1957). ³ H. I. Yamamoto, T. O. Nakayama, C. O. Chichester, *Arch. Biochem. and Biophys.*, **97**, 1, 53 (1962). ⁴ A. Hager, *Ber. d. Deut. Bot. Ges.*, **79**, 11, 94 (1969). ⁵ D. I. Sapozhnikov, *Progress in Photosyn. Res.*, **2**, 694 (1969).
⁶ C. D. Dorough, M. Calvin, *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 5, 2362 (1951). ⁷ E. Shneour, M. Calvin, *Nature*, **196**, 439 (1962). ⁸ Д. И. Сапожников, В. М. Кутюрин и др., ДАН, **175**, № 5, 1182 (1967). ⁹ Н. В. Бажанова, Д. И. Сапожников, ДАН, **151**, № 5, 1219 (1963). ¹⁰ Н. В. Бажанова, В. С. Подиный, Д. И. Сапожников, Исследования по фотосинтезу. Сборн. статей, Душанбе, 1967, стр. 19. ¹¹ М. И. Зеленский, Методы комплексного изучения фотосинтеза (Методич. сборн.), Л., 1969, стр. 102. ¹² Д. И. Сапожников и др., Бот. журн., **46**, 6, 890 (1961). ¹³ Г. А. Корнюшенко, Д. И. Сапожников, Методы комплексного изучения фотосинтеза (Методич. сборн.), Л., 1969, стр. 181. ¹⁴ S. A. Takeuchi, H. I. Yamamoto, *Biochim. et biophys. acta*, **153**, 2, 459 (1968).