

В. С. СААКОВ, Г. Д. НАЗАРОВА

РЕАКЦИИ ПИГМЕНТНОЙ СИСТЕМЫ ЭВГЛЕНЫ В УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННО СОЗДАННОЙ ГЕТЕРОТРОФНОСТИ

(Представлено академиком М. Х. Чайлахяном 26 V 1971)

Установлено наличие изменений в содержании пигментного состава и структурных элементов аппарата фотосинтеза эвглены при создании этиолированной формы водоросли (^{1, 2}). В определенных условиях иногда возможно обратимое зеленение культуры водоросли, сопровождающееся восстановлением фотосинтетической способности и исходного пигментного состава (³⁻⁶).

В ряде экспериментов получены результаты, интерпретация которых позволила выдвинуть предположение о существовании автономного цикла окислительно-восстановительных реакций, охватывающего систему каротиноидов (⁷). За последние годы появляются сведения, указывающие на связь реакций цикла каротиноидов с электронтранспортной цепью (э.т.ц.) фотосинтеза (⁸⁻¹⁰).

В предлагаемой работе приведены результаты изучения длительного влияния фотосинтетических ингибиторов и разобщителей ф.ф. на изменение содержания каротиноидов и хлорофиллов в клетках эвглены. Подавление отдельных фотосистем ингибиторами приводит к нарушению процесса фототрофности. В случае факультативного фотосинтетического организма, каковым является эвглена, возможно существование организма за счет гетеротрофного усвоения органических веществ питательного раствора. Это позволило нам предложить прием быстрого перевода организма от фототрофного к гетеротрофному типу питания посредством отключения фотосинтетических систем или процесса фотофосфорилирования без одновременной этиоляции объекта.

Оценка физиологического воздействия ингибиторов на пигментный аппарат необходима потому, что в обильном потоке работ с ингибиторами забывают характеризовать их специфическое влияние не на процесс и кинетику реакций при их действительно кратковременном воздействии, а на реакцию клетки и комплекса соединений, на состояние и изменение содержания веществ в пластиде в условиях подавления фотосистем или длительного контакта клеточных систем с ингибитором.

Для каждого опыта использовали 100 мл концентрированной суспензии водоросли. Центрифугат суспензии эвглены ресуспендировали в питательном растворе, содержащем один из ингибиторов: диурон (ДХММ, 10^{-6} — 10^{-4} мол/л), салицилальдоксим (СА, 10^{-6} — 10^{-3} мол/л) *о*-фенантролин (10^{-5} — 10^{-2} мол/л), хлоркарбонилцианидфенилгидразон (ХКЦФГ). Содержание пигментов анализировали до и сразу после введения ингибитора, а затем через интервалы в 1, 2, 4, 8, 16, 24 и 48 час. Суспензию эвглены с ингибитором взбалтывали порциями по 2,5 или 1,6 мл переносили в пробирки, где ее выдерживали необходимое время в оптимальных условиях освещения и температуры. Содержание пигментов определяли по принятой в лаборатории методике (¹¹). Зная исходное содержание пигментов в нашем объеме суспензии, мы могли сравнивать изменение концентрации пигментов в постоянном объеме во времени в новых условиях существования объекта. При этом способе расчета нельзя сравнивать абсолютные значения содержания пигментов от опыта к опыту, но можно наблюдать общую

закономерность содержания пигментов под влиянием ингибитора. С каждым ингибитором проведено по 3—4 серии опытов при 4—6-кратной повторности проб в опыте.

Длительный контакт эвглены с ДХММ, приводит к заметному снижению содержания антраксантина и неоксантина (рис. 1). Возникающие изменения заметны через 2—4 часа и усиливаются во времени. Количественное снижение содержания эпоксидных ксантофиллов сопровождается одновременным увеличением фракции пигмента, обозначаемого нами как Z-ксантофилл. Этот пигмент занимает на хроматограмме местоположение, сходное с зеаксантином. Его спектр поглощения характеризуется тремя максимумами в синей области (410, 431, 457 μm , ацетон). Сдвига максимумов поглощения при действии HCl не было. Изменение состава и содержания каротиноидов под влиянием некоторых ингибиторов отражено в табл. 1. Действие повышенных концентраций ингибиторов в первую очередь сказывается на снижении концентрации неоксантина и антраксантина, причем летальные для суспензии водорослей дозы ингибиторов выявляют изменения в пигментной системе в более короткий срок (2—4 часа).

Количественное содержание хлорофилла а и b снижается сравнительно с контрольной пробой. Обработка эвглены ДХММ приводит к большему разрушению хлорофилла, чем при обработке более мягко действующими ингибиторами. За время эксперимента этиоляция суспензии не наступала. При этом отношение хлорофилл а/хлорофилл b при обработке объекта ДХММ и о-фенантролином снижается примерно в 2 раза, что свидетельствует о большей лабильности фондов хлорофилла а. Из сравнения абсолютных данных о содержании хлорофилла b видно, что его изменение во времени значительно меньше. При обработке проб СА количественное содержание хлорофиллов уменьшается, однако их соотношение остается почти без изменения (табл. 2). С увеличением концентрации используемого ингибитора характер обнаруженных изменений в пигментной системе усиливается.

Итак, длительное воздействие на эвглену исследованных ингибиторов приводит к противоположному по знаку изменению количества антраксантина и Z-ксантофилла, снижению содержания неоксантина и хлоро-

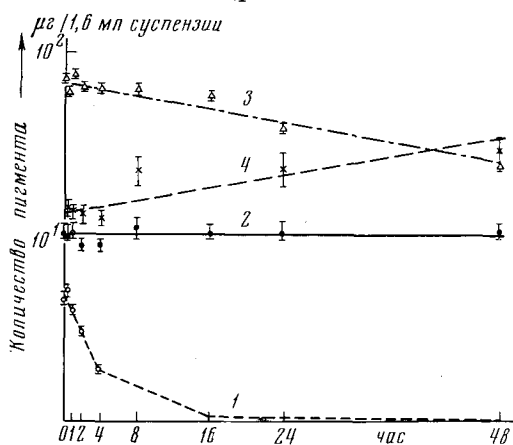


Рис. 1. Влияние ДХММ (10^{-4} мол/л) на динамику количественного содержания каротиноидов эвглены. 1 — неоксантин; 2 — каротин; 3 — антраксантин; 4 — Z-ксантофилл

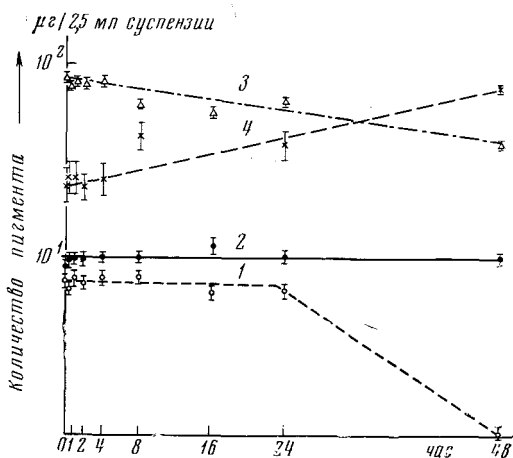


Рис. 2. Совместное действие ДХММ и искусственных донаторов электронов на динамику количественного содержания каротиноидов у эвглены. Обозначения как на рис. 1

Таблица 1

Влияние ингибиторов фотосистем на содержание каротиноидов в суспензии эвглены
($\mu\text{г}/2,5 \text{ мл}$)

Фракция пигмента	До введения ингибитора	После введения ингибитора	1 час	2 часа	4 часа	8 час.	16 час.	24 часа	48 час.
$5 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ салицилальдоксим									
Каротин	8,3	8,0	7,6	6,8	7,4	6,4	—	7,3	6,7
Неоксантин	5,0	5,8	6,1	5,9	5,6	3,9	—	4,4	3,7
Антраксантин	77,6	74,0	74,8	64,3	70,4	62,9	—	61,0	46,3
Z-ксантофилл	18,9	22,7	20,7	17,6	20,0	22,7	—	23,3	25,6
10^{-4} М о-фенантролин									
Каротин	11,0	10,7	10,1	10,9	10,9	10,7	10,4	9,5	9,5
Неоксантин	5,5	3,9	6,2	5,3	6,1	—	6,1	6,6	5,9
Антраксантин	99,4	87,0	—	59,2	82,4	—	83,0	76,5	61,1
Z-ксантофилл	14,2	13,3	13,0	26,4	19,7	22,0	28,2	34,6	44,5
0,00025% хлоркарбонилцианидфенилгидразон									
Каротин	8,7	8,2	6,8	6,8	5,5	5,6	5,6	Не опр.	
Неоксантин	5,1	5,2	6,5	5,8	5,1	4,5	Her		
Антраксантин	63,3	65,0	53,2	—	44,0	28,7	18,0		
Z-ксантофилл	19,8	20,0	28,8	42,5	48,0	56,1	61,0		

филлов. Концентрация каротина во всех вариантах эксперимента оставалась почти неизменной.

Концентрации ингибиторов, тормозящие работу фотохимических систем, не вызывают гибели клеток эвглены за интервал опыта (48 час.). Выдерживание эвглены на питательном растворе, содержащем ДХММ ($5 \cdot 10^{-6}$ или 10^{-5} мол/л), не приводит в течение 10 суток к полной гибели водорослей.

Представленные экспериментальные данные позволяют допустить, что наблюдаемые изменения в пигментном аппарате являются, по-видимому, ответной реакцией организма на подавление деятельности э.т.ц. фотосинтеза и возникновение гетеротрофного типа питания. В этой связи интересно поведение неоксантина, процесс биосинтеза которого при зеленении связывают с лаг-фазой фотосинтеза⁽⁵⁾. В наших опытах обнаружена значительная скорость деструкции неоксантина при действии ДХММ и высоких концентраций других ингибиторов. В попытке объяснить это явление проведены следующие эксперименты.

Известно, что ингибирующее действие ДХММ можно снять добавлением ряда метаболитов, обеспечивающих циклический поток электронов с образованием АТФ фотосинтеза⁽¹²⁾. На рис. 2 представлена динамика изменения содержания пигментов при инкубации суспензии водоросли в растворе: ДХММ (10^{-4} мол/л), диаминодурол (ДАД, $5 \cdot 10^{-4}$ мол/л) и аскорбат (10^{-2} мол/л). Общая картина направленности изменения содержания каротиноидов остается такой же, как в случае действия только раствора ДХММ. Однако, в отличие от рис. 1, в данном случае исчезновение неоксантина отмечается только на вторые сутки экспозиции с ингибитором.

Представленные результаты позволяют сделать заключение о связи содержания неоксантина с активностью функции фотофосфорилирования объекта. Таким образом, несвойственные организму условия существования немедленно вызывают определенную реакцию, выраженную в данном случае в перестройке фотосинтетического аппарата. Хагером обнаружено снижение содержания виолаксантина в темноте у хлореллы (вместо его обычного накопления) в присутствии динитрофенола, NaF ХКЦФГ, хлор- и гидроксимеркурибензоата. При этом автор подчеркивает зависимость

Влияние ингибиторов на изменение содержания хлорофиллов в суспензии эвглены ($\mu\text{г}/2,5 \text{ мл}$)

Пигмент	До введения ингибитора	После введения ингибитора	1 час	2 часа	4 часа	8 час.	16 час.	24 часа	48 час.
$10^{-4} \text{ M } o\text{-фенантролин}$									
Хлорофилл а	35,8	33,5	29,3	31,4	32,8	24,0	25,3	23,1	14,8
Хлорофилл б	6,8	8,0	7,0	8,2	7,6	6,6	7,8	6,9	5,0
Хл а/Хл б	5,3	4,2	4,2	3,8	4,3	3,6	3,2	3,3	2,9
10^{-4} M ДХММ									
Хлорофилл а	80,0	76,4	59,5	61,5	38,4	19,1	—	19,0	5,9
Хлорофилл б	15,6	15,4	14,0	15,9	13,2	6,5	—	7,1	3,2
Хл а/Хл б	5,1	4,9	4,2	3,9	2,9	2,9	—	2,7	1,8
$5 \cdot 10^{-5} \text{ M салицилальдоксим}$									
Хлорофилл а	40,1	36,7	35,9	32,4	28,4	21,4	—	25,2	18,2
Хлорофилл б	8,8	9,9	8,7	7,9	5,6	4,3	7,6	6,1	4,7
Хл а/Хл б	4,6	3,7	4,1	4,1	5,1	5,0	—	4,1	4,0

процесса эпоксидации от увеличения рН инкубационной среды и не связывает уровень эпоксидации с нарушением условий фототрофности⁽¹³⁾. Мы думаем, что полученные данные можно рассматривать как экспериментальную проверку положения об изменении фотосинтетического аппарата и, в частности, содержания эпоксиксантофиллов при переходе от фототрофности к гетеротрофному питанию⁽¹⁴⁾.

Закономерность уменьшения содержания эпоксидных ксантофиллов при инкубации организма с фотосинтетическими ингибиторами и разобщителями ф.ф., обнаруженную различными способами и на разных объектах, можно считать достаточно достоверной. Вне зависимости от того, отключена ли только 2 фотосистема и возможна деятельность циклического фотофосфорилирования или разобщена работа циклического и нециклического ф.ф., обнаружены одинаковые изменения в пигментной системе. Они выражаются в уменьшении содержания эпоксидных форм ксантофиллов и сопровождаются увеличением содержания гидроксилированных форм. Мы связываем это с инактивацией у объекта фотофосфорилирующей функции э.т.п. фотосинтеза. Подобное противоположно направленное изменение концентраций пигментов предполагает возможность взаимопревращений компонентов цикла каротиноидов в ходе реакций метаболизма^(4, 7, 8, 13).

Таким образом длительное воздействие на эвглену исследованных ингибиторов, связанное с нарушениями э.т.п. фотосинтеза в области 2 фотосистемы (ДХММ, *o*-фенантролин) в районе звена пластоцианина (СА), или разобщение процесса ф.ф. приводит к одинаковому эффекту в изменении структуры аппарата фотосинтеза.

Сибирский институт физиологии
и биохимии растений

Сибирского отделения Академии наук СССР
Иркутск

Поступило
25 V 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ E. G. Pringsheim, O. Pringsheim, New Phytologist, **51**, 65 (1965).
² T. W. Goodwin, J. A. Gross, J. Protozool., **5**, 292 (1958). ³ A. J. Stern et al., Plant Physiol., **39**, 587 (1964). ⁴ N. J. Krinsky et al., Plant Physiol., **39**, 441 (1964).
⁵ N. J. Krinsky, A. Gordon, Federat. Proc., **22**, 587 (1963). ⁶ J. A. Schiff, C. S. French, Carnegie Inst., Washington Year Book, № 62, 375 (1963). ⁷ В. С. Сааков, ДАН, **165**, 230 (1965). ⁸ A. Hager, Planta, **74**, 148 (1967). ⁹ С. Г. Петренко, А. А. Ясников и др., Физиол. биохим. культ. раст., **2**, 137 (1970). ¹⁰ В. С. Сааков, ДАН, **198**, № 4 (1971). ¹¹ В. С. Сааков, Г. А. Ширяева, Тр. Бот. инст. АН СССР, сер. 4, **18**, 151 (1967). ¹² A. Trebst, E. Pistorius, Zs. Naturforsch., **20**, 143 (1965). ¹³ A. Hager, Planta, **89**, 224 (1969). ¹⁴ В. С. Сааков, Физиол. раст., **18**, 1088 (1971).