

Л. Н. ЧЕБОТАРЕВ, А. А. ЗЕМЛЯНУХИН

**ФОТОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПИГМЕНТОВ
ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ**

(Представлено академиком А. Л. Курсановым 27 X 1971)

Многие плесневые грибы чувствительны к воздействию видимого света. Эта чувствительность выражается в изменении скорости роста и развития, интенсивности метаболических процессов и содержания отдельных метаболитов в результате действия видимого света определенных длин волн. Рядом авторов отмечалось, что наиболее эффективен в этом отношении коротковолновый видимый свет (¹⁻³). Для выяснения механизма этого явления необходимы сведения о свойствах акцепторов электромагнитных колебаний видимой области у грибов — пигментов. В связи с этим настоящая работа посвящена изучению фотохимических свойств пигментов гриба *Penicillium roqueforti*, обнаруживающего указанные выше ответные реакции на воздействие видимого света. В работе исследовалось фотосенсибилизирующее действие спирторастворимых и водорастворимых пигментов указанного гриба на реакцию взаимодействия между донором и акцептором электронов (метиловый красный) при различных рН.

Способность растительных пигментов к сенсibilизации окислительно-восстановительных реакций изучена лишь в отношении аналогов хлорофилла (^{4, 6}). Это указывает на принципиальную важность изучения подобных реакций для других растительных пигментов.

Пигменты экстрагировались из растертого мицелия *P. roqueforti* трижды десятикратным количеством ацетона, воды и этанола в указанной последовательности. Полученные растворы высушивались под вакуумом, а остатки затем растворялись в соответствующих растворителях в оптимальных концентрациях. При проведении опытов с пигментами водорастворимой фракции в качестве растворителей использовались буферные растворы различных составов и рН. Для спирторастворимых пигментов рН растворов устанавливался добавлением насыщенных спиртовых растворов NaOH и концентрированной серной кислоты.

Фотохимические реакции проводились в вакуумных сосудах при освещении лампами СВД-120 А и накаливании мощностью 200 вт со светофильтрами, имеющими максимумы пропускания при 360, 410, 430, 470, 536, 550, 615, 660 мμ. Метиловый красный вносился в реакционную смесь в виде концентрированного раствора в той же среде, что и пигменты. Об изменении концентрации красителя в ходе фотореакции судили по изменению поглощения при длине волны 450 мμ. Начальная оптическая плотность в области измерения для растворов пигментов, использовавшихся для опытов, составляла 0,300, а в смеси с красителем 0,900—1,000.

В качестве донора электронов использовалась аскорбиновая кислота. Ее концентрация в реакционной смеси составляла величину порядка $1,2 \cdot 10^{-2}$ мол/л.

Спектральные измерения проводились на спектрофотометре СФ-44.

По данным наших опытов, способностью сенсibilизировать восстановление метилового красного аскорбиновой кислотой обладают спирторастворимые и водорастворимые пигменты гриба. Процесс восстановления

красителя аскорбиновой кислотой при действии видимого света осуществляется, как это видно из рис. 1, в соответствии с закономерностями, свойственными реакциям первого порядка. Поэтому в дальнейшем изложении мы будем характеризовать скорость фотосенсибилизированного восстановления метилового красного константами скорости процесса.

На рис. 2а представлена зависимость величины констант скорости восстановления метилового красного аскорбиновой кислотой в присутствии пигментов гриба при действии света в зависимости от длины волны последнего. Как видно из этих графиков, максимум спектра действия изучаемого явления лежит в сине-фиолетовой области. Различие в спектрах действия для спирторастворимых и водорастворимых пигментов незначительно, что, по-видимому, объясняется однотипной структурой их молекул. По всей вероятности, в данном случае мы имеем дело с различными аналогами одного и того же пигмента. Спектры поглощения водно- и спирторастворимых пигментов, приведенные на рис. 2б, также аналогичны спектрам действия фотосенсибилизированного восстановления метилового красного аскорбиновой кислотой, что подтверждает участие пигментов в изучаемом процессе.

Способность к сенсибилизации существенно зависит от pH среды. На рис. 3 представлены кривые зависимости констант скорости фотовосстановления метилового красного аскорбиновой кислотой, сенсибилизированного водно- и спирторастворимой фракциями пигментов, от pH среды. Как видно из обобщенных данных рис. 3, сенсибилизация наиболее значительна в кислых средах (при pH от 2 до 5). Увеличение pH от 5 до 8 способствует быстрому уменьшению скорости сенсибилизации. При дальнейшем увеличении pH среды (до 12) скорость сенсибилизации не сколько возрастает. Эта закономерность имеет место во всех случаях, если pH среды создавать при помощи различных по составу буферных растворов. Поэтому можно считать, что химический состав среды в нашем случае не играет существенной роли, а важна величина активной кислотности реакционной смеси.

Анализ кривых зависимости скорости фотосенсибилизированного восстановления метилового красного аскорбиновой кислотой в присутствии выделенных из гриба пигментов от pH среды обнаруживает сходство с указанным процессом для водных и спиртовых растворов аналогов хлорофилла (⁴, ⁵). По-видимому, этот факт свидетельствует об общности механизма фотосенсибилизированного восстановления красителя аскорбиновой кислотой. Возможно, что в нашем случае пигмент-сенсибилизатор в первичном фотохимическом акте может, в зависимости от условий, обратимо окисляться или восстанавливаться с образованием промежуточного окисленного или восстановленного соединения. Как известно, кислая среда препятствует проявлению восстановительных свойств аскорбиновой кислотой. В этом случае сенсибилизация может осуществляться путем первоначального перехода электрона от пигмента к метилому красному, а затем окисленный пигмент восстанавливается аскорбиновой кислотой. Таким образом, кислая среда располагает к отдаче пигментом электрона красителю. Снижение кислотности, по-видимому, понижает способность пигмента отдавать электрон. Поэтому в диапазоне pH от 7,5 до 9, когда восстановительная способность аскорбиновой кислоты еще незначительна, скорость сенсибилизированного восстановления красителя понижается. По мере увеличения pH восстановительные свойства аскорбиновой кислоты возрастают. Механизм процесса при высоких pH меняется. Теперь первичным фотохимическим актом является фотовосстановление пигмента аскорбиновой кислотой. Восстановленный пигмент взаимодействует с метиловым красным. При этом скорость фотосенсибилизированного восстановления красителя возрастает.

Наличие процессов окисления и восстановления водно- и спирторастворимых пигментов гриба легко наблюдать по изменению спектров погло-

щения соответствующих растворов пигмента. В результате воздействия коротковолнового видимого света на систему, включающую пигмент и аскорбиновую кислоту в отсутствие кислорода при pH 12, наблюдается значительное уменьшение оптической плотности в максимуме спектра поглощения пигмента. Воздействие света тех же длин волн на растворы пигмента в атмосфере кислорода вызывает увеличение оптической плог-

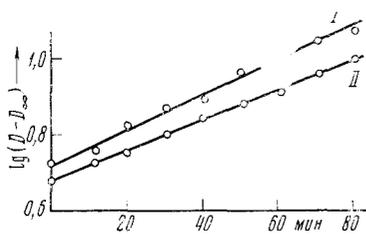


Рис. 1

Рис. 1. Логарифмические анаморфозы кинетических кривых фотовосстановления метилового красного аскорбиновой кислотой в присутствии спирторастворимого пигмента при pH 6, 7 (I) и водорастворимого пигмента при pH 6 (II). Длина волны действующего света 410 мμ

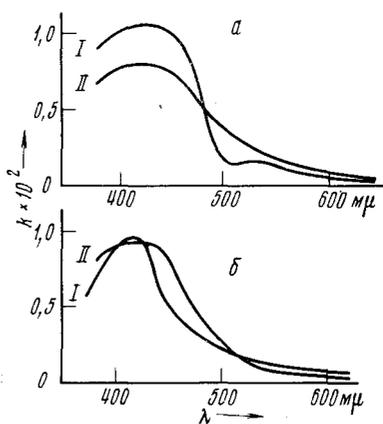


Рис. 2

Рис. 2. а — спектры действия фотовосстановления метилового красного аскорбиновой кислотой в присутствии спирторастворимых (I) и водорастворимых (II) пигментов гриба *P. roqueforti*; б — спектры поглощения водо-(I) и спирторастворимых (II) пигментов гриба *P. roqueforti*

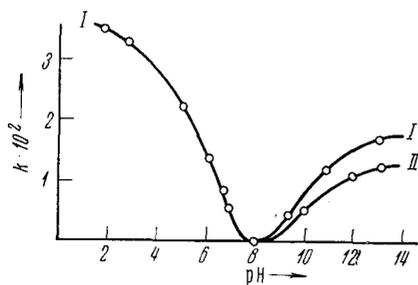


Рис. 3

Рис. 3. Зависимость скорости фотосенсибилизированного восстановления метилового красного (I) и фотовосстановления спирторастворимого пигмента (II) аскорбиновой кислотой от pH реакционной смеси при действии света с длиной волны 430 мμ

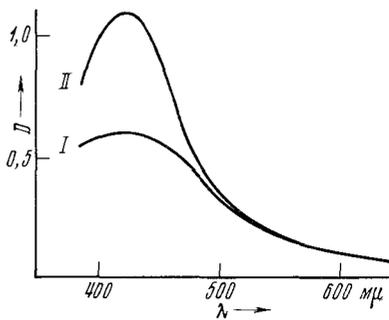


Рис. 4

Рис. 4. Спектры поглощения водорастворимых пигментов *P. roqueforti*, подвергнутых в течение 40 мин. воздействию света с длиной волны 410 мμ в вакууме с аскорбиновой кислотой при pH 12 (I) и в атмосфере кислорода при pH 4,7 (II)

ности в этой же области. Данные этих опытов обобщены на рис. 4. По-видимому, наблюдаемые изменения спектров поглощения пигмента можно объяснить различием в структуре его молекулы в окисленном и восстановленном состояниях.

Процесс фотовосстановления пигмента аскорбиновой кислотой протекает по уравнению реакций первого порядка. Зависимость величин констант скорости фотовосстановления пигмента аскорбиновой кислотой от

величины рН обобщена кривой II рис. 3. Как видно из этого рисунка, скорость фотовосстановления метилового красного и пигмента одинаковым образом зависит от рН реакционной смеси. Таким образом, существование водо- и спирторастворимых пигментов в окисленной и восстановленной формах получает прямое экспериментальное доказательство.

Приведенные факты свидетельствуют о наличии в мицелии гриба *P. roqueforti* пигментных систем, сенсibiliзирующих окислительно-восстановительные процессы, протекающие при воздействии видимого света. Возможно, что эти процессы служат основой разнообразных по способам проявления реакций на свет у фоточувствительных грибов.

Воронежский государственный
университет

Поступило
18 X 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ В. Лилли, Г. Барнет, Физиология грибов, М., 1953. ² А. А. Землянухин, Л. Н. Чеботарев, В сборн. Некоторые проблемы биологии и почвоведения, Воронеж, 1969. ³ Л. Н. Чеботарев, В. П. Лапеецкий, С. М. Набережных, Микология и фитопатология, 2, 5 (1968). ⁴ И. Г. Савкина, В. Б. Евстигнеев, Биохимия, 29, 5 (1964). ⁵ В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова, И. Г. Савкина, ДАН, 151, 227 (1963). ⁶ G. Oster, S. B. Brodyce. Report at Conference on Photosynthesis. CNRS, France, 1962.