Доклады Академии наук СССР
1973. Том 208, № 4

УДК 581.1+577.150.3

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

А. С. САИДОВ, В. В. ПОЛЕВОЙ, А. М. МАХЛИНА

ВЛИЯНИЕ КРАСНОГО И ДАЛЬНЕГО КРАСНОГО СВЕТА НА ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ И СОДЕРЖАНИЕ СУЛЬФГИДРИЛЬНЫХ ГРУПП В ИЗОЛИРОВАННЫХ ЛИСТЬЯХ ЭТИОЛИРОВАННЫХ ПРОРОСТКОВ МАША (PHASEOLUS AUREUS ROXB.)

(Представлено академиком М. Х. Чайлахяном 18 VI 1972)

За последнее десятилетие установлено, что в растительных тканях присутствует хромопротеид фитохром, обратимо изменяющийся под действием красного (к.с.) и дальнего красного (д.к.с.) света, причем его активная форма ($Ф_{730}$) оказывает влияние на многие физиолого-биохимические и морфогенетические процессы ([1–7]). Предложено несколько гипотез, объясняющих механизм действия фитохрома на обмен веществ растительных тканей. В частности, имеются предположения, что активная форма фитохрома может функционировать в качестве восстанавливающей системы ([8]).

В нашей работе изучалось влияние к.с. ($10{,}7 \cdot 10^3$ эрг/(см^2·сек)) и д.к.с. ($17 \cdot 10^4$ эрг/(см^2·сек)) на *Eh*, pH и содержание свободных и связанных SH-групп в изолированных первичных листочках 5-дневных этиолированных проростков маша. Условия выращивания материала и постановка опытов описаны ранее ([9]). Листья (1 г) гомогенизировали с 15 мл дистиллированной H_2O и в полученной водной суспензии определяли pH и окислительно-восстановительный потенциал на ЛПМ-60 при 22°.

Для определения свободных и белковых сульфгидрильных групп использовали метод Колтоффа ([10]) с некоторой модификацией. Листья (0,5 г) растирали в жидком азоте и добавляли 10 мл 5% метафосфорной кислоты. Пробы разводили водой таким образом, чтобы конечная концентрация кислоты была равна 2,5%. Гомогенат центрифугировали и в надосадочной жидкости определяли свободные (кислоторастворимые) SH-группы. Остаток ткани экстрагировали 2,5% раствором аммиака и снова центрифугировали. В надосадочной жидкости определяли белковые SH-группы с помощью амперометрического титрования 0,001 *М* раствором сулемы. Повторность опытов 6-кратная. На графиках и в таблицах приведены средние ошибки опытов.

Проведенный нами анализ окислительно-восстановительных потенциалов в гомогенатах растертых листьев показал, что облучение изолированных листьев маша к.с. (3 часа) способствует увеличению восстановленно-

Таблица 1

Содержание свободных и связанных SH-групп (в μг на 1 г исх. сырого веса) в изолированных листьях этиолированных проростков маша через 10 мин. (А) и через 6 час. (Б) после начала освещения к.с. и д.к.с.

Варианты	Свободные	Белковые	Варианты	Свободные	Белковые
А. Исходные	87,2±0,87	76,2±2,16	К.с. + т.	90,2±0,87	67,9±0,63
к.с.	87,8±1,34	73,7±2,61	Д.к.с. + т.	99,5±0,66	73,9±0,70
Б. Исходные	106,2±0,55	83,1±0,41	К.с. + т. + д.к.с.	99,0±0,52	77,2±1,00
т.	98,0±0,34	72,0±0,63	Д.к.с. + т. + к.с.	91,5±0,63	66,0±0,99

Примечание. А — к.с., 10 мин., Б — к.с., 10 мин.; д.к.с., 3 мин.: т. между к.с. и д.к.с. 1 мин.

сти тканей (рис. 1). Д.к.с. (2 часа) сам по себе не влиял на *Eh*, не устранял действие к.с., если был последним. В вариантах д.к.с. + т. + к.с. проявлялся эффект только к.с. Величина pH гомогенатов составляла 5,89—5,97 и была одинаковой во всех вариантах.

Таким образом, фитохромная система не оказывает заметного влияния на pH тканей листьев маша, но определенно контролирует уровень окислительно-восстановительного потенциала. В связи с полученными в нашей работе данными о влиянии к.с. и д.к.с. на *Eh* интересно было исследовать действие фитохромной системы на свободные и связанные сульфгидрильные группы. На рис. 2 видно, что за 6 час. пребывания в темноте в изолированных листьях наблюдалось снижение содержания как свободных, так и особенно связанных сульфгидрильных групп. К.с. (3 часа) резко снижал содержание свободных и связанных SH-групп, а д.к.с. оказывал лишь незначительное действие. В варианте д.к.с.+ т.+ к.с. эффект зависел от последнего облучения, а в варианте к.с.+ т.+ д.к.с. облучение д.к.с. полностью (свободные SH-группы) или почти полностью (SH-группы белков) устраняло действие красного света. Сходные результаты были получены и в том случае, когда время облучения было сокращено (к.с. 10 мин.+ т. 1 мин. + д.к.с. 3 мин.), но материал фиксировали так же через 6 час. (табл. 1, Б). Однако при этом влияние к.с. на содержание сульфгидрильных групп белков было не столь четким, как при длительной обработке к.с. и д.к.с. Если в наших опытах фиксация материала проводилась сразу после выключения к.с. (10 мин.), то никаких изменений в содержании сульфгидрильных групп не было обнаружено (табл. 1, А). Таким образом, изменение содержания свободных и связанных SH-групп происходило не во время освещения к.с., а в последующий темновой период.

Уменьшение количества SH-групп под действием к.с. наблюдается как в свободной, так и в белковой фракциях. Следовательно, снижение кисло-

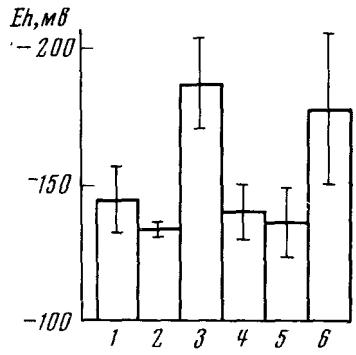

Рис. 1

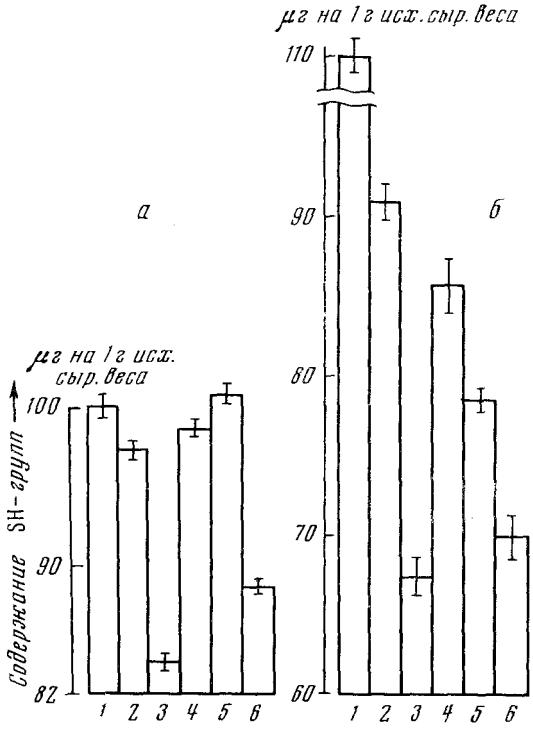

Рис. 2

Рис. 1. Изменение окислительно-восстановительного потенциала изолированных листьев этиолированных проростков маша при облучении к.с. и д.к.с. *1* — исходный материал; *2* — темнота (с.), 6 час.; *3* — к.с., 3 часа + т., 3 часа; *4* — д.к.с., 2 часа + т., 4 часа; *5* — к.с., 3 часа + т., 1 час. + д.к.с., 2 часа; *6* — д.к.с., 2 часа + т., 1 час + к.с., 3 часа

Рис. 2. Изменение содержания свободных (*а*) и белковых (*б*) сульфгидрильных групп в изолированных листьях маша. *1—6* — то же, что на рис. 1

торастворимых SH-групп не может быть просто результатом включения свободного цистеина в белки в процессе белкового синтеза. Более вероятно, что здесь мы имеем дело с частичным окислением SH-групп. В связи с этим важно вспомнить, что, по данным Мамфорда и др. ([11]), фитохромный белок может содержать 10—11 SH-групп. Макдоноу ([12]) сообщил, что ингибиторы SH-групп (иодацетамид и *n*-хлормеркурибензоат) изменяли спектр поглощения фитохрома и снижали активность $Ф_{730}$ в опытах с прорастанием семян салата-латука. Наконец, имеются данные о том, что облучение к.с. обусловливает изменение величин коэффициентов ионизации SH- и OH-групп белкового компонента фитохрома этиолированных проростков злаковых. Последующее облучение д.к.с. вызывало уменьшение сдвигов коэффициентов ионизации ([13]). Ряд авторов считает, что к.с. индуцирует конформационные изменения фитохрома, возможно переход типа «клубок — спираль» ([2, 14]).

На основании всего изложенного можно предположить, что при возбуждении пигмента под действием к.с. происходят кооперативные конформационные изменения в белковой структуре фитохрома. Затем в темновой период активируется окисление SH-групп при взаимодействии свободных сульфгидрильных групп и SH-групп белков. При сопряжении окисления SH-групп с восстановлением каких-то других соединений на базе активной формы фитохрома начинает функционировать окислительно-восстановительная цепь реакций, с помощью которой фитохром оказывает влияние на обмен веществ. В работе Клейна и Идсела ([8]) было показано, что активирующее действие к.с. на рост дисков из первичных этиолированных листьев бобов могло быть имитировано дачей в темноте НАД-Н, цистеина или аскорбиновой кислоты. Д.к.с. устранял активирующее действие веществ с высоким восстановительным потенциалом. Авторы высказывают предположение, что $Ф_{730}$ действует как восстанавливающая, а $Ф_{660}$ — как окисляющая система.

В наших опытах с изолированными листьями маша было обнаружено, что к.с. увеличивает восстановленность тканей на 38%, а д.к.с. полностью устраняет действие к.с. Таким образом, предположение о том, что активная форма фитохрома функционирует как восстанавливающая система, находит некоторое подтверждение. В связи с этим нужно отметить, что к.с. в наших опытах с изолированными листьями маша способствовал увеличению содержания восстановленных ксантофиллов во фракции лютеин + + зеаксантин ([15]), при этом наблюдалась тенденция к снижению содержания виолаксантина. Д.к.с. устранял действие к.с., если был последним. Вполне можно предположить, что $Ф_{730}$ способствует синтезу лютеина и зеаксантина за счет активации восстановительных процессов. В работе Сапожникова и сотрудников ([16]) было показано, что глютатион, цистеин и аскорбиновая кислота оказывают в темноте положительное влияние на содержание восстановленных форм ксантофиллов в растительных тканях.

Ленинградский государственный университет
им. А. А. Жданова

Поступило
6 V 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] H. Borthwick, S. Hendricks, M. Parker, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A., **38**, 9, 924 (1952). [2] W. Hillman, Ann. Rev. Plant Physiol., **18**, 301 (1967). [3] H. Mohr, Photochem. and Photobiol., **5**, 469 (1966). [4] H. Borthwick, S. Hendricks, Sci., **132**, 1223 (1960). [5] С. Хендрикс, Биологические часы, М., 1964, стр. 403. [6] M. Furuya, Progr. Phytochem., **1**, London — N. Y.— Sydney, 1968, p. 347. [7] S. Hendricks, Dev. Biol., Suppl. 3, 227 (1969). [8] R. M. Klein, P. C. Edsall, Plant. Physiol., **41**, 6, 949 (1966). [9] А. С. Саидов, В. В. Полевой, Г. Б. Максимов, Физиол. и биохим. культурн. раст., Киев, **3**, 5, 508 (1971). [10] M. Kolthoff, S. Watter, Z. Morren, Anal. Chem., **26**, 366 (1954). [11] F. E. Mumford, E. J. Jenner, Biochemistry, **5**, 11, 3657 (1966). [12] W. T. McDonough, Radiation Res., **31**, 1, 74 (1967). [13] В. И. Бабенко, А. К. Кваснюк, ДАН, **195**, № 1, 229 (1970). [14] H. Siegelman, B. C. Turner, S. B. Hendricks, Plant Physiol., **41**, 8, 1289 (1966). [15] А. С. Саидов, В. В. Полевой, Вестн. Ленингр. унив., **21**, 5, 140 (1971). [16] Д. И. Сапожников, С. А. Дилова, Л. В. Иванцова, ДАН, **180**, № 3, 742 (1968).