

УДК 581(132+174) + 541.144.7+58.1.0,35 ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Член-корреспондент АН СССР А. А. ШЛЫК,
В. И. ГАПОНЕНКО, Г. Н. НИКОЛАЕВА, С. Н. ШЕВЧУК, Т. В. ЛОСИЦКАЯ

ОБ ОБНОВЛЕНИИ ХЛОРОФИЛЛА В ЛИСТЬЯХ, ЗАКОНЧИВШИХ РОСТ

Установлено, что как на ранних стадиях зеленения, так и на поздних этапах формирования фотосинтетического аппарата и даже в полностью выросших листьях обнаруживается процесс обновления хлорофилла (¹⁻⁷). Об этом свидетельствует, в частности, включение C^{14} в хлорофиллы листьев табака (⁸), верхней части листьев клвии и пшеницы, закончивших рост (^{1, 9}), а также листа хвойных (¹⁰), которое происходило в отсутствие накопления пигментов или на фоне снижения их содержания. Даже в самых старых частях зрелых листьев пшеницы и кукурузы обнаруживается накопление протохлорофиллида при затемнении, являющееся независимым доказательством обновления (¹). Однако отдельные авторы сообщали о весьма медленном протекании обновления хлорофилла или полном его отсутствии в нерастающих листьях пшеницы, сои и некоторых других растений (¹¹⁻¹⁴). Учитывая принципиальную важность этого вопроса в связи с современными представлениями о роли различных форм и подфондов хлорофилла в процессе фотосинтеза (¹⁵) и о формировании фотосинтетических единиц на основе особых центров биосинтеза хлорофилла (^{4, 5}), мы провели настоящее исследование обновления хлорофилла в закончивших рост листьях однодольных (пшеница, аспидистра) и двудольного (фикус) растений.

В первой серии опытов 14–27-дневные растения пшеницы «Харьковская 22» или «Минская», выращенные в лабораторных условиях, или 20–44-дневные листья пшеницы, выращенной в поле, экспонировали в камере с $C^{14}O_2$, а затем сразу или после различной экспозиции в обычной атмосфере экстрагировали пигменты, очищали их 5-кратным хроматографированием на бумаге и определяли по (¹) удельную радиоактивность (у.а.) хлорофиллов а и b (хл. а и хл. b) и фрагментов их молекул — фитола и хлорофиллина, а также содержание пигментов. Поскольку у листьев злаков базальный рост, то для анализа, как правило, использовали верхнюю, самую старую часть первого листа. В ряде опытов проводили двухступенчатую экстракцию хлорофиллов, извлекая сначала часть их петролейным эфиром (с добавлением этанола), а затем остальную часть ацетоном.

В опытах с 14-дневными растениями пшеницы, подвергнутыми 10 мин. экспозиции в атмосфере $C^{14}O_2$, изотоп отчетливо обнаруживался в составе обеих — как петролейно-эфирной, так и ацетоновой — фракций хлорофиллов первого листа (табл. 1). При последующей экспозиции растений в обычной атмосфере радиоактивность пигментов возрастала в 10–50 раз. Меньшие исходные значения у.а. обусловили более высокую кратность их возрастания, абсолютный же рост у.а. вдвое превышал рост у.а. В 27-дневных растениях пшеницы концентрация хл. а и хл. b убывала; в 44-дневных листьях снижалось как содержание хл. а, так и суммы пигментов (а + b). Поэтому включение C^{14} в молекулы обоих пигментов особенно интересно (табл. 1). Поскольку степень доказанности включения изотопа в препараты исследуемого вещества характеризуется, как уже отмечалось (¹), наряду с у.а. уровнем их радиоактивности по сравнению с фоном, следует подчеркнуть, что в наших опытах непосредственно измерен-

ная радиоактивность препаратов хлорофиллов и фрагментов их молекул была значительно выше фона, часто в десятки раз и регистрировалась вполне надежно, четко отличаясь от фона. Для доказательства обновления хлорофилла, особенно в старых, закончивших рост листьях, весьма важно отметить включение изотопа не только в состав пигментов вообще, но и во

Таблица 1

Удельная активность (имп/мин на 1 $\mu\text{г}$ С) хлорофиллов а и b верхней части первого листа пшеницы сорта «Харьковская 22» (I) и сорта «Минская» (II)

Сорта	Возраст листьев и экспозиция	Хлорофилл а	Хлорофилл b
I	14-дневные листья, 10 мин. C^{14}O_2	$15,0 \pm 0,4$	$2,1 \pm 0,3$
		$10,1 \pm 0,2$	$1,4 \pm 0,1$
	14-дневные листья, то же + 3 суток на воздухе	$164,0 \pm 2,8$	$74,8 \pm 2,8$
II		$162,4 \pm 1,2$	$71,9 \pm 1,7$
	27-дневные листья 3 часа C^{14}O_2 , (опыт А)	$19,4 \pm 0,03$	$4,0 \pm 0,05$
	27-дневные листья 1 сутки обычной атмосферы (опыт Б)	$37,0 \pm 1,1$	$8,2 \pm 0,1$
	44-дневные листья, 4 часа C^{14}O_2 , затем 1 сутки обычной атмосферы (опыт В)	$9,6 \pm 0,5$	$1,8 \pm 0$

Примечание. Над чертой — цифры для фракции, извлеченной петролевым эфиром + 0,5% этанол, под чертой — для остального пигмента, извлеченного ацетоном.

Таблица 2

Удельная активность (имп/мин. на 1 $\mu\text{г}$ С) фрагментов молекул хлорофиллов а и b верхней части первого листа 27-дневных растений пшеницы, а также 44-дневных листьев (условия опытов те же, что в табл. 1)

Фрагменты молекулы хлорофиллов	Опыт А	Опыт Б	Опыт В	Фрагменты молекулы хлорофиллов	Опыт А	Опыт Б	Опыт В
Хлорофилл а				Хлорофилл b			
Фитол	27,2	52,9	14,6	Фитол	5,5	15,0	2,1
Форбин	15,0	26,3	7,7	Форбин	3,1	4,3	1,6
Хлорофиллин	0,5	1,3	0,5	Хлорофиллин	0,1	0,6	0,4
Метоксил	417,3	927,5	260,4	Метоксил	105,0	134,3	46,7

все части их молекулы. Табл. 2 показывает, что в наших опытах изотоп включался не только в фитольную цепь, но и в хлорофиллиновое ядро молекул хл. а и хл. b. Особенно радиоактивной была метоксильная группа. Следует подчеркнуть, что такой же тип распределения C^{14} в молекулах пигментов наблюдался ранее в опытах с растущими зелеными листьями и хлореллой (¹, ¹³).

Следующие серии опытов проведены с 4—5-летними листьями фикуса и 2-летними листьями аспидистры. С растения фикуса высотой более 1 м, на котором было 16 листьев, срезали самый старый, нижний лист и, поместив черешком в воду, выдерживали его 2 часа при естественном освещении в лаборатории, после чего 1,5 часа экспонировали на свету в атмосфере C^{14}O_2 , а затем от 1 до 6 суток в обычной атмосфере. Периодически из листа брали высечки для определения содержания пигментов, у.а. хлорофиллов и фрагментов их молекул. Второй снизу срезанный лист этого же растения фикуса экспонировали в течение 2 мес. на рассеянном свету с целью наблюдения за изменением содержания пигментов. На третьем листе, остающемся на растении, размечали три зоны и периодически измеряли их длину и ширину. В опытах с аспидистрой экспонировали в камере с C^{14}O_2 отделенную от растения часть корневища с корневой системой и листом. Листья, которые использовали для наблюдений за изменениями их размеров и содержания пигментов, также не отделяли от корневища.

Измерения показали, что опытные листья фикуса и аспидистры не росли ни в длину, ни в ширину. Они характеризовались также постоянным количеством хл. b и снижением содержания хл. a, убыль которого к концу наблюдений составляла 15%. У.а. хл. a многолетнего листа фикуса, экспонированного 1,5 час. в присутствии $C^{14}O_2$, а затем сутки в обычной атмосфере, была довольно значительной. Во время последующей экспозиции на воздухе эта величина возрастала (рис. 1, A, I). Максимум у.а. хл. a наблюдался уже на вторые сутки, а у.а. хл. b повышалась вплоть до 6 суток. В опытах с аспидистрой (рис. 1B, I) у.а. как хл. a, так и хл. b была

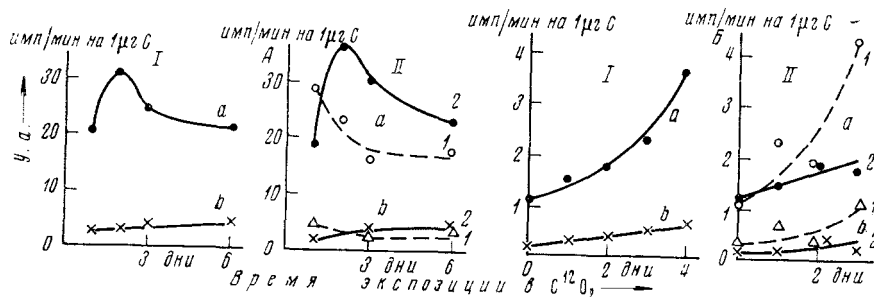


Рис. 1. Удельная активность хлорофиллов а и b (I), а также фитольной (II, I) и форбинной (II, 2) частей их молекул у закончивших рост листьев многолетнего фикуса (A) и 2-летней аспидистры (B), экспонированных 1,5 часа в присутствии $C^{14}O_2$, а затем до 6 суток (A) и до 4 суток (B) в обычной атмосфере

ниже, чем в опытах с фикусом, но и в этом случае четко регистрировалось включение C^{14} в состав обоих пигментов, которое обнаружилось сразу после экспозиции листа в присутствии $C^{14}O_2$, а затем все более возрастало. Как и в других случаях ⁽¹⁾, в листьях фикуса и аспидистры у.а. хл. b ниже аналогичной величины для хл. a. Как уже отмечалось, более ярким свидетельством новообразования хлорофиллов а и b является включение C^{14} в состав форбинных частей их молекул. Данные по у.а. различных фрагментов молекул хлорофиллов приведены на рис. 1, II и 2. Фитольные группы обоих пигментов листа фикуса (рис. 1A) имели наибольшую у.а. в самом начале наблюдений, в последующий период она уменьшалась. Изменение у.а. форбинной части молекулы хл. a листа фикуса во времени (рис. 1A, II, 2) повторяет ход кривой у.а. молекулы пигмента в целом. Кривая у.а. форбина достигает максимума через двое суток и снижается к концу опыта, оставаясь, однако, в этот период выше кривой для фитила. Учитывая результаты прежних исследований ⁽¹⁾, в которых в первые часы постэкспозиции в $C^{14}O_2$ у.а. фитила была выше, чем у.а. форбина, и раньше достигала максимума, приведенные на рис. 1 A, II данные следует объяснить быстрым прохождением максимума у.а. фитольной цепи хл. a в интервале времени ранее суток. Это же относится и к у.а. фитила хл. b. Аналогичная величина для форбинной части молекулы этого пигмента возрастала в течение 6 суток, свидетельствуя о более позднем расположении максимума. Точка пересечения кривых у.а. форбина и у.а. фитила для хл. b наблюдается позже, чем для хл. a. Изменение у.а. этих фрагментов молекул хлорофиллов а и b в старом листе аспидистры (рис. 1 B, II) также убедительно говорит об их возникновении в течение опыта и у этого однодольного растения. В многолетних листьях фикуса и аспидистры, как и в листьях пшеницы, а также других растений ⁽¹⁾, наибольшую у.а. имела метоксильная группа хлорофиллов а и b (рис. 2). Радиоактивность хлорофиллина была невысокой, но уверенно регистрировалась и несомненно свидетельствовала о новообразовании и этой части молекулы хлорофилла.

На рис. 3 показано, что в старых, многолетних листьях фикуса и аспидистры распределение C^{14} между фитольной и форбинной, хлорофиллиновой и метоксильной частями молекул хл. a фактически было одинаковым

с распределением радиоизотопа внутри молекулы хл. в. Это также соответствует данным, полученным ранее в опытах с молодыми, растущими листьями и отражает общность биосинтеза обоих пигментов (¹).

Таким образом, в опытах со старыми, 14–44-дневными листьями пшеницы и многолетними листьями фикуса и аспидистры, закончившими рост, получены данные, необходимые и достаточные для доказательства обнов-

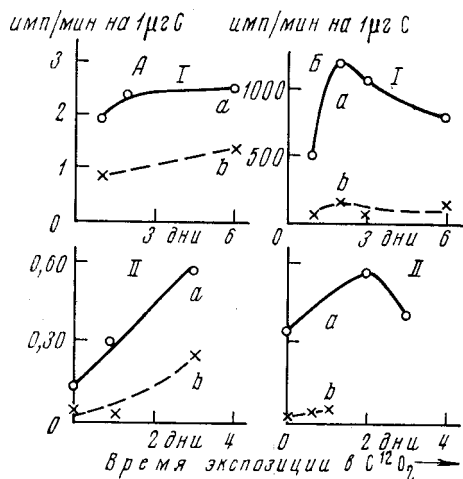


Рис. 2

Рис. 2. Изменение удельной активности хлорофиллинового ядра (А) и метоксильной группы (Б) форбина в молекулах хлорофиллов а и б, меченных $C^{12}O_2$, многолетних, закончивших рост листьев фикуса (I) и аспидистры (II) в зависимости от экспозиции в обычной атмосфере (см. также рис. 1)

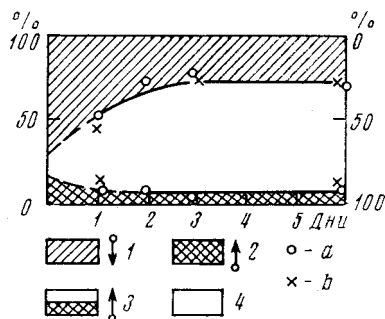


Рис. 3

Рис. 3. Изменение распределения C^{14} между фракциями молекул хлорофиллов а и б в опытах с многолетними листьями фикуса. 1 — фитол, 2 — хлорофиллин, 3 — форбин, 4 — метоксил. а — хлорофилл а, б — хлорофилл б

ления хлорофилла (¹): появление изотопа в составе хлорофилла при отсутствии накопления пигментов и даже уменьшении их содержания в опытных листьях. Это означает, что хотя скорость обновления хлорофилла замедляется с возрастом (^{1, 16}), этот процесс не прекращается и на поздних стадиях онтогенеза хлоропласта не только двудольных (фикус), но и однодольных растений (пшеница, аспидистра).

Лаборатория биофизики и изотопов
Академии наук БССР
Минск

Поступило
28 VII 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. А. Шлык, Метаболизм хлорофилла в зеленом растении, Минск, 1965.
- ² А. А. Шлык, В сборн. Биохимия и физиология растений, Минск, 1958, стр. 70.
- ³ А. А. Шлык, В сборн. Биохимия и биофизика фотосинтеза, М., 1965, стр. 170.
- ⁴ А. А. Шлык, В сборн. Метаболизм и строение фотосинтетического аппарата, Минск, 3, 1970. ⁵ А. А. Shlyk, I. V. Prudnikova et al., In: Progress in Photosynthesis Research, Tübingen, 2, 1969, p. 572. ⁶ А. А. Шлык, В сборн. Проблемы биосинтеза хлорофиллов, Минск, 1971, стр. 53. ⁷ В. И. Гапоненко, В сборн. Проблемы биосинтеза хлорофиллов, Минск, 1971, стр. 78. ⁸ А. А. Шлык, Метод меченых атомов в изучении биосинтеза хлорофилла, Минск, 1956. ⁹ А. А. Шлык, В. И. Гапоненко, Т. В. Кухтенко, Бюлл. Инст. биологии АН БССР за 1959 г., в. 5, Минск, 1970, стр. 131. ¹⁰ Э. В. Ходасевич, В сборн. Проблемы биосинтеза хлорофиллов, Минск, 1971, стр. 173. ¹¹ H. J. Perkins, D. W. A. Roberts, Biochim. et biophys. acta, 45, 613 (1960). ¹² H. J. Perkins, D. W. A. Roberts, Canad. J. Bot., 41, 221 (1963). ¹³ S. Aronoff, In: Radiation Biology and Medicine, Massachusetts, 1958, p. 634. ¹⁴ S. Aronoff, R. K. Ellsworth, Bot. Rev., 37, 263 (1971). ¹⁵ А. А. Красновский, В сборн. Биохимия и биофизика фотосинтеза, М., 1965, стр. 26. ¹⁶ А. А. Шлык, В. И. Гапоненко и др., Физиол. раст., 7, 625 (1960).