

Е. П. ЖОГОВА, И. А. ЧЕРНАВИНА

**ВЛИЯНИЕ МЕДЬХЕЛАТИРУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ НА ЦИКЛИЧЕСКОЕ
ФОТОФОСФОРИЛИРОВАНИЕ РАСТЕНИЙ ОВСА
С РАЗЛИЧНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ХЛОРОФИЛЛА**

(Представлено академиком А. Л. Курсановым 28 VI 1971)

Электронно-транспортная цепь фотосинтеза включает железо- и медь-содержащие белки — ферредоксин, цитохромы b_6 и b_7 , цитохром f и пластоцианин. Ферредоксин (белок с низким окислительно-восстановительным потенциалом) располагают обычно после I фотосистемы. Локализация цитохромов b_6 и b_7 в цепи переноса электрона окончательно не установлена. О месте в цепи цитохрома f и пластоцианина можно говорить более определенно — их связывают обычно с I фотосистемой. Спорным является лишь вопрос о взаимном расположении этих белков в системе транспорта электрона, так как оба компонента, как известно, имеют очень близкий окислительно-восстановительный потенциал. Экспериментальные данные позволяют обсуждать следующие возможности: цитохром f и пластоцианин расположены последовательно в электронно-транспортной цепи (¹, ²) или действуют в цепи параллельно и могут являться альтернативными донорами электронов для I фотосистемы (фотосистем) (³). Последняя возможность подробно обсуждается в работе (⁴). Авторы полагают, что в определенных условиях в растениях может преобладать путь транспорта электрона либо через железо-, либо через медь-протеиды, и это прежде всего будет определяться характером обмена железа и меди в тканях растений. О замене железосодержащих компонентов электронно-транспортной цепи на переносчики иной природы сообщали Требст и Боте (⁵). Они показали, что культура *Anacystis* в среде с малым содержанием железа синтезирует фитофлавиин, который так же эффективен при фотовосстановлении НАД-Ф хлоропластами *шината* и *Anacystis*, как и ферредоксин. Еще ранее работами кафедры физиологии растений Московского университета на примере дыхательных систем была показана альтернативность путей использования железа и меди в процессах биосинтеза. Например, при нарушении обмена Fe избытком Mn можно было наблюдать снижение активности Fe-содержащих катализаторов, заметную активацию Cu-оксидаз и резкое падение содержания хлорофилла (⁶). Значение Cu-протеидов в дыхании еще более возрастало при внесении в питательную среду комплексона на фоне избытка Mn; при этом образование хлорофилла почти достигало нормального уровня. Аналогичные приемы нарушения обмена железа были использованы в настоящей работе. Для оценки доли участия Cu-содержащих белков в электронно-транспортной цепи фотосинтеза в этих условиях мы изучали действие медьхелатирующих веществ — салицилальдоксима (СА), тиомочевины (ТМ), диэтилдитиокарбамата Na (ДДТК-Na) и этилксантогената K (ЭКК) на циклическое фотофосфорилирование с пуроцинином. Эти соединения, как было впервые показано Грином (⁷), ингибируют фотосинтез у хлореллы. Кроме того, *in vitro* СА является ингибитором циклического фотофосфорилирования у одноклеточных водорослей (⁸) и в изолированных хлоропластах (⁹). ДДТК-Na, как сообщалось, влияет на адсорбционный спектр суспензии хлоропластов, изменяя интенсивность поглощения при 591 м (максимум поглощения окисленного пластоцианина) (¹⁰).

Объектом наших опытов служили 10—11-дневные проростки овса, сорт Немчиновский, выращенные в водной культуре на $\frac{1}{5}$ смеси Кнопа с добавлением микроэлементов (без Mn) по Хогленду.

Схема опыта включала следующие варианты:

1. $\frac{1}{5}$ смеси Кнопа + 3 мг/л Fe + 1 мг/л Mn.
2. $\frac{1}{5}$ смеси Кнопа + 3 мг/л Fe + 100 мг/л Mn.
3. $\frac{1}{5}$ смеси Кнопа + 3 мг/л Fe + 100 мг/л Mn + 450 мг ЭДТА (двунатриевая соль).

Марганец вносили в виде $MnSO_4 \cdot 7H_2O$, железо — в виде $FeCl_3$. Растения выращивали при pH 5,6—5,8. Для анализа использовали первый лист снизу. Хлоропласты выделяли по методу Арнона (11) и суспендировали в 0,035 M NaCl. Реакционная смесь для определения циклического фотофосфорилирования содержала следующие компоненты (общий объем 1,5 мл) (в μ мол.): трис-HCl-буфер (pH 7,8) 20; KH_2PO_4 5; $MgCl$ 5; аскорбат натрия 5; пиоционин 0,05; АДФ 5; суспензия хлоропластов (50—100 μ г хлорофилла). Реакцию останавливали добавлением ТХУ (конечная концентрация 2,5%). Неорганический фосфор определяли по Лоури и др. (12). Содержание хлорофилла в суспензии хлоропластов — по Арнону (13).

Интенсивность фотофосфорилирования измеряли при 20°. Источником света служили 2 лампы мощностью 500 вт каждая. Расстояние от ламп до реакционных пробирок 30 см. Ингибиторы использовали в следующих молярных концентрациях: СА 0,05; ДДТК-Na 0,02; ТМ 0,02; ЭКК 0,05. Визуальные наблюдения показали, что наиболее низким содержанием хлорофилла отличались листья растений, получивших большой избыток Mn (2-й вариант). Количество хлорофилла в растениях 3-го варианта (комплексон на фоне токсических доз Mn), как правило, достигало уровня, характерного для нормальных растений (1-й вариант). Приводим данные по влиянию ингибиторов Си-содержащих компонентов на циклическое фотофосфорилирование (μ моли P на 1 мг хлорофилла за 10 мин.) в растениях всех трех вариантов для трех опытов:

Для СА

Вариант	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Интенсивность фотофосфорилирования									
— ингибитор	25,9	20,8	29,4	31,0	20,6	30,2	45,7	32,0	35,2
+ ингибитор	10,6	3,4	10,6	12,8	0,9	9,8	17,5	5,4	16,5
Ингибирование, %	59	83	64	58	95	67	61	83	53

Для ДДТК

Вариант	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Интенсивность фотофосфорилирования									
— ингибитор	54,0	28,3	50,4	40,0	29,8	41,1	42,5	19,0	51,8
+ ингибитор	41,8	4,2	43,3	26,8	9,2	26,6	30,2	4,1	33,6
Ингибирование, %	22	85	14	33	69	36	28	78	35

Для ТМ

Вариант	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Интенсивность фотофосфорилирования									
— ингибитор	54,0	28,3	50,4	42,5	19,0	51,8	42,0	34,6	36,1
+ ингибитор	49,6	7,0	41,3	34,4	9,0	39,9	32,2	16,5	12,9
Ингибирование, %	8	75	18	19	52	23	23	52	12

Для ЭКК

Вариант	1	2	3	1	2	3
Интенсивность фотофосфорилирования						
— ингибитор	36,1	15,2	45,7	43,9	23,7	39,1
+ ингибитор	27,8	1,9	25,4	32,0	11,7	23,8
Ингибирование, %	22	87	44	27	50	39

Как видно из этих данных, циклическое фотофосфорилирование в хлоропластах растений, получивших избыток Mn, более чувствительно к медьхелатирующим агентам, чем фотофосфорилирование зеленых растений (1-й вариант). Хлоропласты растений в присутствии ЭДТА реагируют на эти ингибиторы почти так же, как и нормальные растения. Эти данные, прежде всего, позволяют сделать вывод о том, что Cu-компоненты связаны с фотофосфорилированием циклического типа, а также что в хлоропластах растений с низким содержанием хлорофилла (избыток Mn) возрастает доля участия медьсодержащих белков в циклической системе транспорта электронов. Можно думать, что одновременно с этим снижается активность железосодержащих переносчиков электронов. Подобное заключение отчасти подтверждают результаты опытов с антимицином А, который является ингибитором Fd⁽¹⁴⁾ и ФМС^(15, 16) катализируемого фотофосфорилирования. Влияние антимицина А ($2,5 \cdot 10^{-5}$ M) на интенсивность циклического фотофосфорилирования (μмоли Р на 1 мг хлорофилла за 10 мин.) в хлоропластах растений овса с разным содержанием хлорофилла видно из следующих данных (I—VIII опыты):

Вариант	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Интенсивность фотофосфорилирования*									
— ингибитор	47,6	26,0	55,6	29,6	14,1	34,1	25,7	14,9	20,2
+ ингибитор	30,1	26,5	40,8	18,6	14,1	25,3	14,7	9,7	17,8
Ингибирование, %	37	0	26	37	0	25	42	34	11

Вариант	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Интенсивность фотофосфорилирования*									
— ингибитор	35,3	9,9	37,3	30,2	7,9	18,9	30,4	18,0	16,0
+ ингибитор	29,0	9,3	27,2	19,0	4,6	14,1	18,4	13,0	10,2
ингибирование, %	17	6	27	37	42	23	39	28	36

Вариант	1	2	3	1	2	3	
Интенсивность фотофосфорилирования*							
— ингибитор		22,9	16,8	23,0	43,9	26,3	39,1
+ ингибитор		15,9	12,5	10,9	30,3	19,7	27,4
Ингибирование, %		30	25	52	31	25	30

В опытах с антимицином А получены менее однозначные результаты, однако можно видеть, что действие ингибитора несколько ослаблено при его введении в суспензию хлоропластов растений с большим содержанием Mn.

Работа в этом направлении продолжается.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступило
28 VI 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ D. S. Gorman, R. P. Levin, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., **54**, 1665 (1965).
² D. C. Fork, W. Urbach, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., **53**, 1307 (1965). ³ B. Kok, H. J. Rurainski, Biochim. et biophys. acta, **94**, 588 (1965). ⁴ E. Elstner, E. Pistorius et al., Planta, **79**, 146 (1968). ⁵ A. Trebst, H. Bothe, Ber. Dtsch. bot. Ges., **79**, 44 (1966). ⁶ И. А. Чернавина, Е. Р. Карташова, С.-х. биол., **3**, 358 (1967). ⁷ L. F. Green, J. F. McCarthy, C. G. King, J. Biol. Chem., **128**, 447 (1939). ⁸ W. Urbach, V. Simonis, Biochem. Biophys. Res. Commun., **17**, 39 (1964). ⁹ A. Trebst, H. Eck, S. Wagner, In: Photosynthetic Mechanisms of Green Plants, Washington, 1963. ¹⁰ J. de Kouchkovsky, D. C. Fork, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., **52**, 232 (1964). ¹¹ M. B. Allen, D. I. Arnon et al., J. Am. Chem. Soc., **77**, 4149 (1955). ¹² S. I. Honda, Plant Physiol., **31**, 62 (1956). ¹³ D. I. Arnon, Plant Physiol., **24**, 1 (1949). ¹⁴ K. Tagawa, H. J. Tsujimoto, D. I. Arnon, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., **49**, 567 (1963). ¹⁵ Z. Drechsler, N. Nelson, J. Neumann, Biochim. et biophys. acta, **189**, 65 (1969). ¹⁶ Т. Е. Кренделева, В. С. Коршунова, А. Б. Рубин, Вестн. Московск. ун-в. Биология, почвоведение, № 5, 59 (1968).

* Интенсивность освещения в 2 раза меньше, чем в предыдущих опытах.