

Член-корреспондент АН СССР А. А. ШЛЫК, Н. Н. КОСТЮК

ВЛИЯНИЕ δ -АМИНОЛЕВУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА НАКОПЛЕНИЕ ПРОТОХЛОРОФИЛЛИДА И ОБРАЗОВАНИЕ ХЛОРОФИЛЛА В ЗЕЛЕННЫХ ЛИСТЯХ ЯЧМЕНЯ

Известно, что этилированные (¹⁻³) и зеленые (⁴⁻⁶) листья, снабжаемые в темноте ключевым предшественником хлорофилла — δ -аминолевулиновой кислотой (АЛК), накапливают значительные количества протохлорофиллида (П). При освещении вспышками высокой интенсивности (^{3, 7}) или непрерывным светом низкой интенсивности (^{8, 9}) пигмент, накопившийся в темноте за счет экзогенной АЛК и условно называемый АЛК-протохлорофиллидом, способен частично превращаться в хлорофиллид и далее в хлорофилл (Х). Указанные условия освещения учитывают

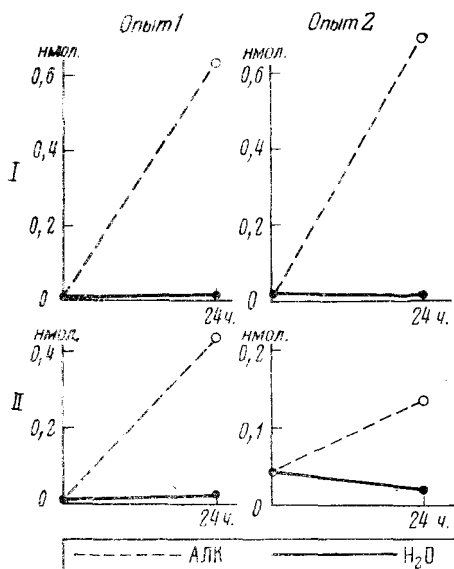


Рис. 1. Содержание протохлорофиллида в верхних (I) и нижних (II) отрезках зеленых листьев, которые инкубировались в растворе АЛК или воде в течение 24 час. при периодическом освещении. Расчет на отрезок листа

лированных, а с затемненными зелеными листьями ячменя (^{4, 5}), наблюдалось ингибирование под действием накапливаемого при затемнении АЛК-П дальнейшего превращения экзогенной АЛК в П.

Если допустить, что высокое содержание АЛК-П способно нарушать деятельность системы центров биосинтеза хлорофилла, то наибольшего использования экзогенной АЛК для образования Х следовало бы ожидать при введении ее в лист непосредственно на свету, когда возникающие молекулы П могли бы сразу же подвергаться фотовосстановлению. Учитывая, кроме того, что опыты с введением АЛК в зеленые листья проведены пока только в работах (²⁻⁶), мы предприняли настоящее исследование образования Х в целых зеленых проростках при поступлении в них экзогенной АЛК на свету.

фотолабильность АЛК-П. Сислер и Кляйн (⁸) показали, что при освещении этилированных бобовых листьев с высоким содержанием АЛК-П образуется больше Х, чем у не обработанных АЛК. Позднее это наблюдали и другие авторы (^{3, 7, 10}). Вместе с тем, в ряде работ (^{11, 12}) отмечено неоднозначное влияние АЛК-П на образование Х. Сир (¹¹) нашел, что в срезах этилированных листьев, содержащих АЛК-П, синтез Х у овса был выше контрольного уровня, а у ячменя — ниже. Сундквист (¹²) наблюдал, что по мере повышения содержания АЛК-П в этилированных листьях пшеницы его положительное влияние на образование Х сменялось отрицательным. Граник отмечал, что накопление АЛК-П в этилированных листьях ячменя приводит даже к гибели клеток при последующем освещении (¹); правда, при учете более поздних данных этот эффект кажется связанным лишь с очень большим количеством АЛК-П. В наших опытах, проведенных, в отличие от всех предыдущих, не с эти-

7-дневные проростки ячменя выращивали на вате при 14-часовом световом периоде ($13-18 \text{ вт/м}^2$), отбирали по одинаковой длине ($7 \pm 0,5 \text{ см}$) над coleoptилем, помещали корнями в непрозрачные сосуды с 10 мМ раствором АЛК или водой и переносили в условия низкой освещенности ($0,9 \text{ вт/м}^2$) с тем же световым периодом. Через 24 часа (обычно в середине светового периода) пробы по 100 растений фиксировали 2 мин. паром, используя затем для анализа верхние (без крайних $0,5 \text{ см}$) и нижние, прилегающие к coleoptилю, участки листа по 2 см. Опыты других серий отличались использованием света низкой интенсивности уже при выращивании. Инкубацию на растворе АЛК проводили в них в течение либо 24 час. при периодическом освещении, либо 4 час. при непрерывном освещении. Для анализа использовали и отрезки листа, и целые листья. Количества X_a и X_b определяли в этаноловых экстрактах двухволновым методом по (¹³), а П — спектрофлуорографическим методом по (¹⁴).

На рис. 1 представлены результаты двух типичных экспериментов по определению содержания П в зеленых листьях, инкубированных в течение 24 час. при периодическом освещении на растворе АЛК или воде. В одном из них растения водного варианта еще накапливали П, а во втором уже началась его убыль. В варианте с АЛК неизменно накапливалось количество АЛК-П, в десятки раз превышавшее содержание эндогенного П.

В наших прежних опытах с темновой инкубацией зеленых растений (⁵) предельный уровень накопления АЛК-П в 50 раз превышал наблюдаемый без внешней АЛК. Количество АЛК-П достигало 2—4% от содержания X. В данной работе сравнение количества П, образовавшегося за 24 часа инкубации на растворе АЛК при периодическом освещении, с соответствующим содержанием X дает для верхних частей листа в среднем 6%, а для нижних 9%. Эти величины даже несколько выше, чем полученные при темновой инкубации листьев, что может свидетельствовать о более эффективном использовании экзогенной АЛК при освещении растений.

На рис. 2 приведены данные другой серии опытов, которые показали, что в зеленых листьях ячменя, получавших АЛК при периодическом или непрерывном освещении и накапливающих эндогенный П, образуется больше, чем в листьях контрольного (водного) варианта, также и обоих X. Увеличение содержания X_a и X_b , отчетливо проявляющееся уже при 4-часовой инкубации на растворе АЛК с непрерывным освещением, оказывается еще значительно в втором исследованном варианте — с 24-часовой инкубацией. Этот эффект отмечается и при расчете на всю листовую пластинку, и при анализе количества пигмента в верхних и нижних участках листа, причем в верхней части листа он выражен более четко.

Ранее при темновой инкубации зеленых листьев на растворе АЛК с последующим освещением их белым светом низкой интенсивности была показана (⁵) способность к фотовосстановлению части АЛК-П. Результаты настоящей работы показали, что инкубация целых зеленых растений ячменя на растворе АЛК при непрерывном или периодическом освещении низкой интенсивности приводит к фотопревращению части АЛК-П и повышению содержания X_a и X_b . Следовательно, образование П из экзогенной АЛК в описываемых условиях сказывается положительно на процессе биосинтеза X.

Для фотопревращения П необходимо, чтобы он был связан с соответствующим белковым носителем, который, по мнению некоторых авторов (^{3, 9, 15}), играет роль фотоэнзима и, может быть, одновременно служит донором водорода. Данные Гассмана и Богорада (⁷) об отсутствии влияния хлорамфеникола и пуромидина на восстановление АЛК-П, накапливающегося в этиолированных листьях, интерпретированы в пользу предположения о реутилизации уже существующих молекул голохрома. Вполне вероятно, что и при образовании дополнительного П из АЛК часть его подвергается фотовосстановлению за счет повторного использования нормально присутствующего белка голохрома.

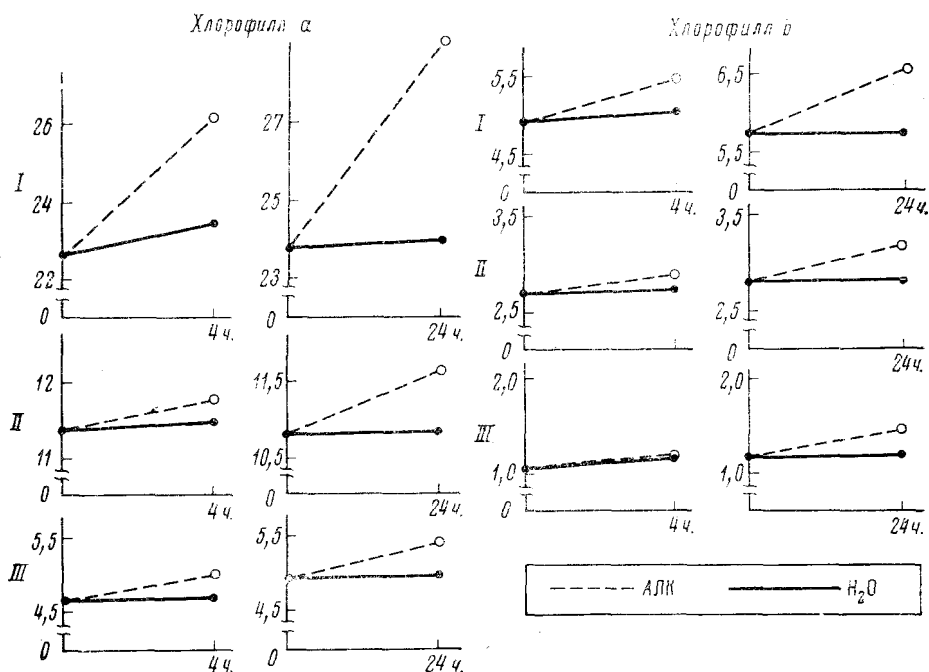


Рис. 2. Содержание хлорофиллов а и b в целых зеленых листьях ячменя (I) или в верхних (II) и нижних (III) их отрезках при инкубировании на растворе АЛК в течение 4 час. непрерывного или же 24 час. периодического освещения. Расчет в нанолях на лист или отрезок листа

Другая возможность заключается в том, что в условиях увеличения содержания Π или X может происходить дополнительный синтез белковых компонентов голохрома. При изучении совместного действия АЛК и хлорамфеникола на темновое накопление и последующее превращение АЛК- Π в зеленых листьях ячменя (⁵) было найдено, что в присутствии хлорамфеникола АЛК- Π оказывается еще менее активным, чем обычно, т. е. обработка ингибитором приводит к дефициту белка, необходимого для активации и фотовосстановления пигмента. Эти данные могут указывать на значение дополнительного синтеза белка для превращения АЛК- Π в X .

Материалы проведенной работы, показавшие увеличение образования X в условиях избытка АЛК, наряду с результатами других авторов (¹¹, ¹²), которые нашли, что присутствие экзогенного Π может либо вызывать угнетение синтеза X , либо приводить к увеличению его содержания, позволяют предположить, что АЛК- Π способен играть некоторую регуляторную роль в процессе своего превращения в X , например каким-то образом вызывать или подавлять синтез белка, необходимого для этого процесса.

Институт фотобиологии
Академии наук БССР
Минск

Поступило
20 VI 1975

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ S. Granick, In: Proc. V Intern. Congr. Biochem., v. 6, 1963, p. 176. ² M. Gassman, L. Bogorad, Plant Physiol., v. 42, 774 (1967). ³ C. Sundqvist, Plant Physiol., v. 22, 147 (1969). ⁴ А. А. Шлык, Н. Н. Костюк, ДАН, т. 202, 707 (1972). ⁵ А. А. Шлык, Н. Н. Костюк, ДАН, т. 206, 1002 (1972). ⁶ Н. Н. Касцюк, А. А. Шлык, Вестн АН БССР, № 5, 42 (1972). ⁷ M. Gassman, L. Bogorad, Plant Physiol., v. 42, 781 (1967). ⁸ E. C. Sisler, W. H. Klein, Physiol. Plant., v. 16, 315 (1963). ⁹ B. T. Steer, D. A. Walker, Plant Physiol., v. 40, 577 (1965). ¹⁰ K. Nadler, S. Granick, Plant Physiol., v. 46, 240 (1970). ¹¹ B. T. Steer, Physiol. Plant., v. 23, 505 (1970). ¹² C. Sundqvist, Physiol. Plant., v. 28, 464 (1973). ¹³ J. F. Winternans, A. de Mots, Biochim. et biophys. acta, v. 109, 448 (1965). ¹⁴ А. А. Шлык, Г. Е. Савченко, Н. Г. Аверина, Биофизика, т. 14, 119 (1969). ¹⁵ J. T. Kirk, R. L. Allen, Biochem. Biophys. Res. Commun., v. 21, 523 (1965).