

УДК 581.132.581.192,7

Н. Е. ЗАКАРЯН, Ж. В. ЦОВЯН, А. Р. ВИРАБЯН

### О ЗНАЧЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ХЛОРОФИЛЛА В ПРОЦЕССЕ ФОТОСИНТЕЗА

Вопрос о зависимости фотохимической активности хлоропластов от степени прочности связи хлорофилла с липопротеидами исследовали путем проведения параллельных определений обоих показателей. При этом использовались три методические возможности: 1) растения обрабатывались в течение вегетации раствором кинетина различных концентраций путем полива почвы; 2) на 24 часа изолированные от растения листья погружались в раствор кинетина в концентрации 20 мг/л; 3) из изолированных хлоропластов удалялась термолabileльная форма хлорофилла и фотохимическая активность определялась на базе только термостабильной фракции. Полученные данные позволяют заключить, что за фотохимическую реакцию ответственна термолabileльная форма хлорофилла.

В настоящее время общепризнанно, что молекулы хлорофилла «а» в процессе фотосинтеза выполняют неодинаковую функцию. Коротковолновые его формы несут вспомогательную роль, а длинноволновые, улавливая кванты, осуществляют фотохимическую реакцию. Существование различных спектральных форм хлорофилла «а» объясняется одними исследователями [1] степенью агрегации пигмента, другими [2, 3]—свойствами белков и характером связи хлорофилла с носителем. Если учесть, что максимум поглощения хлорофилла сдвигается в длинноволновую область при увеличении степени агрегации, так и при ослаблении степени прочности связи хлорофилла с липопротеидами, то можно предположить, что агрегированный хлорофилл и является слабо связанным в комплексе пигментом. С агрегацией пигмента возрастает взаимодействие молекул друг с другом и, возможно, в связи с этим ослабевает его связь с носителем. Впервые о значении состояния хлорофилла в процессе фотосинтеза было отмечено Судьиной [4, 5]. Автором показано, что в молодых проростках злаковых в начале биосинтеза хлорофилла синтезируется прочно связанный с белком хлорофилл, а фотохимическая активность обнаруживается только после того, как появляется лабильная его форма. Нами вопрос о зависимости фотохимической активности хлоропластов от степени прочности связи хлорофилла с липопротеидами изучался путем проведения параллельных определений изменения обоих показателей у растений, обработанных гиббереллином (ГК) [6]. При этом обнаружено, что угнетение синтеза термолabileльной формы хлорофилла у получивших ГК растений сопровождается понижением фотохимической активности хлоропластов.

Определенное сходство в динамике изменения обоих показателей обнаружено в онтогенезе растений картофеля (*Solanum tuberosum*) [7]. Так увеличение и уменьшение содержания лабильной формы хлорофилла в различные периоды развития растений сопровождаются соответственно возрастанием и понижением активности реакции Хилла.

В первом опыте настоящей работы были проведены параллельные определения степени прочности связи хлорофилла с липопротеидами и определялась фотохимическая активность хлоропласта у растений картофеля, обработанных кинетином. Показателем степени прочности связи, как и в предыдущих исследованиях, служила термостабильность хлорофилл-белкового комплекса. Фотохимическая активность определялась по активности реакции Хилла.

Растения картофеля с фазы 3—4 листьев обрабатывались 5 раз раствором кинетина в концентрации 20 и 40 мг/л. В период 5—6 листьев и в фазе бутонизации были взяты пробы для анализов. Результаты анализа (рис. 1) показали стимуляцию синтеза термолабильной формы хлорофилла под действием кинетина. По содержанию термолабильной формы обработанные регулятором растения незначительно отличаются от контрольных. Увеличение количества лабильной формы пигмента, видимо, связано со стимуляцией под действием кинетина синтеза специфических для данной формы белков носителей. Активирование синтеза белков хлоропластов под действием цитокининов обнаружено рядом исследователей [8, 9], а на стимуляцию биосинтеза структурных белков хлоропластов и индукцию синтеза новых белковых форм, связанных с пигментами при участии кинетина, указывают Блохин и сотр. [10].

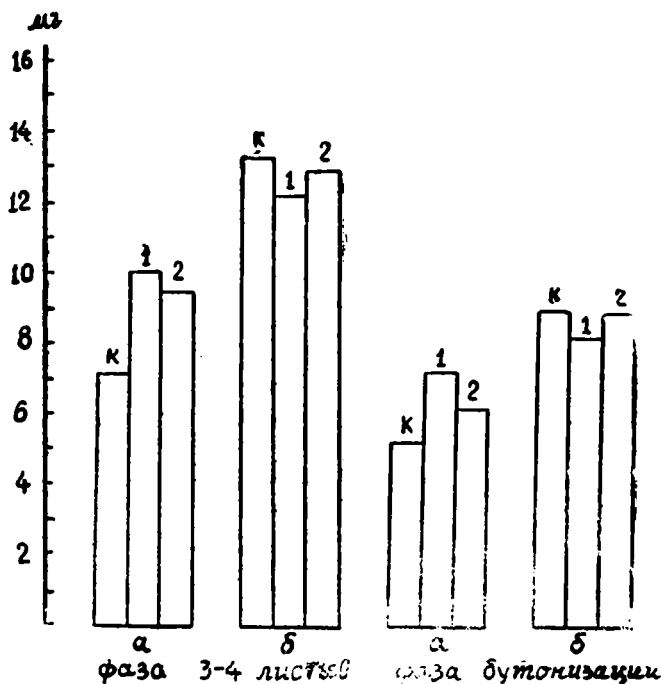


Рис. 1. Характер изменения содержания различных по прочности связи форм хлорофилла (мг/1 г сырого веса) в листьях растений картофеля при обработке растений кинетином: К—контроль, 1—20 мг/л кин.; 2—40 мг/л кин.; а—термолабильная форма хлорофилла; в—термостабильная форма хлорофилла.

В результате обработки кинетином значительно повышается активность реакции Хилла (рис. 2). Особенно четко это заметно у растений, обработанных слабой концентрацией регуляторов (20 мг/л). Коррелирующие изменения фотохимической активности хлоропластов и количества лабильной формы при незначительных изменениях содержания термостабильной формы пигмента являются еще одним косвенным свидетельством непосредственного участия лабильного хлорофилла в фотохимической реакции.

С целью установления степени универсальности полученных закономерностей исследования были проведены еще на двух объектах—герани (*Pelargonium*) и хризантеме (*Chrysanthemum indicum*). Однако в данном опыте кинетином обрабатывались молодые изолированные от растения листья путем погружения их на 24 ч. в раствор регулятора с концентрацией 20 мг/л. Как показывают данные (см. табл.), под действием кинетина возрастает содержание обеих форм хлорофилла, но в различной степени, а именно, содержание термостабильной формы—у герани в 2, а у хризантемы всего в—1,3 раза, тогда как количество термолабильного хлорофилла увеличивается в 4 и 3 с лишним раза соответственно.

В рассмотренном эксперименте кинетин заметно активизирует реакцию Хилла, особенно значительна эта стимуляция у растений герани. Так, фотохимическая активность хлоропластов в необработанных кинетином листьях составляет 4,5 ммоль восстановленного феррицианида на 1 мг хлорофилла за час, а у получивших кинетин листьев—12 ммоль/ч. Таким образом, и в данном эксперименте обнаруживается соответствие между изменением содержания слабо связанного с белками хлорофилла и активностью реакции Хилла, у получивших кинетин листьев, однако, оно выразилось не столь четко, как в первом опыте, когда регулятором обрабатывались целые растения.

Все сделанные до сих пор выводы в отношении значения лабильной формы хлорофилла в осуществлении фотохимической реакции основывались на результатах косвенных экспериментов. С целью еще более убедиться в правильности сделанных заключений в последующем опыте мы методически несколько иначе подошли к решению вопроса, а именно: лабильная форма хлорофилла после термической обработки листьев (при 70°C в течение 1 мин) удалялась из выделенных хлоропластов экстракцией нейрелейным эфиром, и таким образом фотохимическая активность хлоропластов определялась только при участии термостабильной формы хлорофилла. Контролем при этом служила фотохимическая активность суммы (термостабильной и термолабильной формы) хлорофилла.

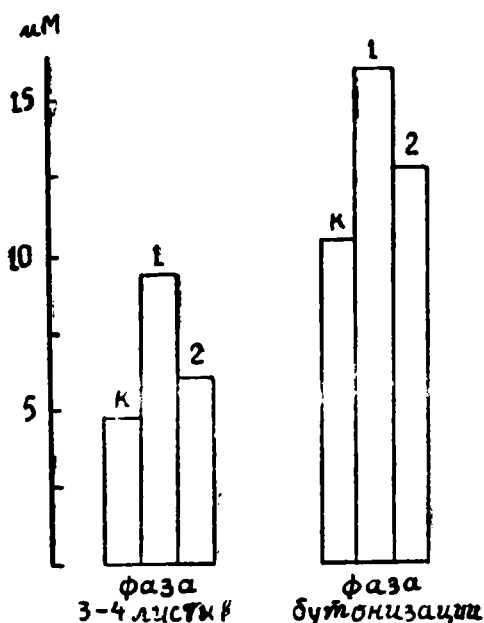


Рис. 2. Изменение активности реакции Хилла в листьях растений картофеля при обработке растений кинетином (в ммоль восстановленного феррицианида (1 мг/л за 1 ч.): К—контроль (вода); 1—20 мг/л кин.; 2—40 мг/л кин.

Содержание термостабильной и термолабильной форм хлорофилла и активность реакции Хилла у растений герани и хризантемы после предварительной обработки листьев раствором кинетина

Варианты	Термоста- бильная форма	Термоста- бильная форма, отношение кин./контр.	Термоста- бильная форма	Термоста- бильное отношение кин/контр.	Активность реакции Хилла в <i>моль</i> восстановл. феррицианида на <i>мг/хл.</i> за 1 ч.
герань, контроль	0,31	2,0	0,37	4,23	4,5
герань, кинетин	0,72		1,80		12,0
хризантема, контроль	0,46	1,3	0,55	3,25	9,75
хризантема, кинетин	0,61		1,28		15,0

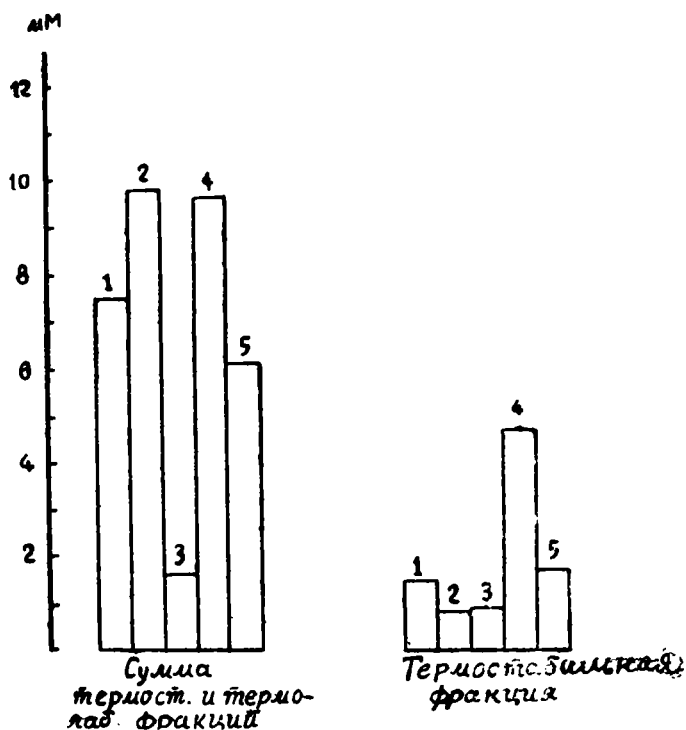


Рис. 3. Активность реакции Хилла в листьях различных растений (в *моль* восстановленного феррицианида на 1 *мг* хлорофоллом за 1 ч.).

Прежде чем перейти к постановке опыта, необходимо было удостоверить в том, что термическая обработка не влияет на активность

реакции Хилла. С этой целью были проведены специальные исследования, результаты которых показали, что подвергнутые термической обработке и не обработанные листья почти не отличаются по значениям фотохимической активности.

Опыт был поставлен на 5 растениях, относящихся к различным систематическим группам: картофеле (*Solanum tuberosum*), хризантеме (*Chrysanthemum indicum*), клевере /однолетнем (*Trifolium pratense*), герани (*Pelargonium*) и китайской розе (*Hibiscus rosa-sinensis*). Из полученных данных (рис. 3) следует, что в отсутствие лабильной формы хлорофилла фотохимическая активность хлоропластов по сравнению с контрольным вариантом, где присутствуют обе формы, резко понижается. Особенно заметно это у растений хризантемы, картофеля и герани, где фотохимическая активность понизилась в 5,4 и 13 раз соответственно. Полученные данные еще раз подтверждают сделанные на основании предыдущих опытов выводы о том, что за фотохимическую активность хлоропластов в основном ответственна лабильная форма пигмента. Обнаружение невысокой фотохимической активности хлоропластов, когда в наличии только прочносвязанная форма, на наш взгляд, можно объяснить тем, что при отсутствии лабильной формы пигмента функцию «ловушек» квантов берут на себя самые длинноволновые «антенные» молекулы прочносвязанного хлорофилла.

Кафедра физиологии и анатомии растений

Поступила 18.02.1987

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Тарческий И. А. Основы фотосинтеза. М.: 1977, с. 50.
2. Судьина Е. Г. Хлорофиллаза и биосинтез хлорофилла.—Автор. дисс. на соиск. уч. ст. док. биол. наук. Киев: 1974, с. 10.
3. Серебровская К. Б., Лазовая Г. И., Судьина Е. Г. Перспективы биологического моделирования для понимания взаимосвязи структуры и функции фотосинтетического аппарата.—Сб. АН УССР: Пути повышения интенсивности и продуктивности фотосинтеза, 1966.
4. Судьина Е. Г. Состояние хлорофилла и его фотохимическая активность.—I Всесоюз. съезд. Изд-во АН СССР, вып. II, 1963.
5. Судьина Е. Г., Лазовая Г. И. Значение молекулярной организации пигментсодержащих комплексов для проявления их функциональной активности.—Матер. II Всес. симп. по применению электронной микроскопии в бот. иссл. Киев: 1967, с. 11—114.
6. Захарян Н. Е., Вирабян А. Р. О зависимости фотохимической активности хлоропластов от степени прочности связи хлорофилла с липопротеидами.—Сб. материалов юбилейных научных лет к 60-летию ЕГУ. Ер.: 1981, с. 205—212.
7. Захарян Н. Е., Цювян Ж. Е., Вирабян А. Р. Влияние материнского клубня на некоторые показатели состояния и функции фотосинтетического аппарата листьев. Уч. зап. ЕГУ, 1983, № 3, с. 96—101.
8. Кулаев О. Н. Цитокинины их структура и функция. М.: Наука, 1973, с. 137—143.
9. Якушкина Н. И., Пушкина Г. П. Физиологические особенности хлоропластов растений, обработанных гиббереллином и цитокинином.—Науч. докл. высш. школы. Биол. науки: 1972, № 1, с. 75—78.
10. Блохин В. Г., Лазарева Н. В. Изменение состава структурных белков и состояния пигментов хлоропластов огурцов под влиянием экзогенного цитокинина.—Науч. тр. ГСХА, 1979, № 235, с. 90—92.

#### ԱՄՓՈՓՈՒՄ

Քլորոֆիլի լիպոպրոտեինների կապի ամրության աստիճանից կախված ֆոտոքիմիական ակտիվության հարցը ուսումնասրված է եղել երկու ցուցա-

նիշների զուգահեռ որոշման միջոցով: Օգտագործվել է 3 մեթոդական հնարավորություն:

1. Վեգետացիայի ընթացքում բույսերը մշակվել են կինետինի լուծույթով (այն հողին շաղ տալով):

2. Բույսից անջատված տերևները 24 ժամ ընկղմվել են կինետինի 20 մգ/լ խտության լուծույթի մեջ:

3. Մեկուսացված քլորոպլաստներից հեռացվել է քլորոֆիլի անկայուն ձևը, և ֆոտոքիմիական ակտիվությունը որոշվել է միայն կայունի առկայությամբ:

Ստացված տվյալները թույլ են տալիս եզրակացնել, որ ֆոտոքիմիական ակտիվությունը իրականացնում է քլորոֆիլի թերմոլաբիլ ձևը:

## Summary

The question of the dependence of chloroplast photochemical activity upon the degree of stability of chlorophyll-lipoproteid relation has been investigated by parallel determination of the both indices. Three methodical possibilities have been applied for this:

1) the whole vegetation long the plants have been treated by various concentrations of kinetin solution, pouring it on the soil;

2) the leaves isolated from the plant have been immersed for 24 hours in kinetin solution of 20 mg/l concentration;

3) the thermolabile form of the chlorophyll has been separated from the isolated chloroplasts and the photochemical activity has been determined on the basis of the thermostable fraction only. The received data permit to conclude that the thermolabile fraction is responsible for the photochemical reaction.