

О. ОСИПОВА

ОБ ИЗВЛЕКАЕМОСТИ ХЛОРОФИЛЛА ИЗ ЗЕЛЕННЫХ РАСТЕНИЙ

(Представлено академиком Н. А. Максимовым 4 II 1947)

Уже давно было установлено, что хлорофилл в органическом растворителе отличается от хлорофилла в живом листе по положению главной полосы поглощения, светостойкости и флюоресценции. Исходя из наблюдений, исследователи пришли к заключению (1, 2), что свойства хлорофилла живого листа обуславливаются тем, что хлорофилл в естественном состоянии находится в соединении с белком и липоидами (3).

Можно считать установленным (2, 4, 5), что связь хлорофилла с коллоидным комплексом очень лабильна и легко разрушается органическими растворителями, действие которых в данном случае сводится, по видимому, к денатурации белка, благодаря чему нарушается связь его с пигментом.

Решение ряда вопросов, касающихся механизма фотосинтеза, требует тщательного изучения свойств комплекса хлорофилл — белок. В настоящее время мы имеем достаточно сведений относительно свойств хлорофилла как органического вещества, но очень мало знаем о белке хлоропластов, с которым хлорофилл, образуя своеобразный комплекс, приобретает новые качества.

В. Н. Любименко (6) указывал на неоднородность белкового компонента в комплексе у различных растений. Это положение подтверждается работами М. Fishman и L. Moyer (7) при определении изоэлектрических точек комплексов из целого ряда бобовых и *Aspidistrum*. Согласно полученным данным, автор делает заключение, что свойства комплексов близких видов идентичны, и различия увеличиваются по мере удаления видов в филогенетическом развитии.

Настоящая работа имела целью установить, насколько прочно связан хлорофилл с коллоидным комплексом у растений разных систематических групп и у растений разного возраста. При извлечении хлорофилла из листьев спиртом или ацетоном, очевидно, происходит свертывание белка, разрыв связи с хлорофиллом и переход последнего в молекулярный раствор. От скорости свертывания белка зависит последующая та или иная легкость извлечения хлорофилла.

Как известно, процесс извлечения хлорофилла спиртом или ацетоном высокой концентрации (85—90%) совершается в очень короткий срок, поэтому при экстракции совершенно невозможно учесть разницу в скорости извлечения у разных растений. Мы в своих опытах (по предложению Т. Н. Годнева) использовали более разбавленный (60%) ацетон. Обычное извлечение отсасыванием на стеклянном фильтре мы заменили настаиванием растертой листовой массы с 60% ацетоном в темноте в течение 30 мин. Параллельно с настаиванием произво-

дилось обычное извлечение 85% ацетоном с целью определения общего количества хлорофилла.

О прочности связи хлорофилла с коллоидным комплексом мы судили по количеству экстрагированного хлорофилла из измельченной листовой массы в разбавленный ацетон в одинаковые промежутики времени (30 мин.). Хлорофилл количественно определялся на

Таблица 1
Сезонные изменения извлекаемости хлорофилла у растений разных систематических групп

| Объекты | Извлечение хлорофилла 60% ацетоном в % от всего хлорофилла | |
|----------------------------------------|------------------------------------------------------------|---------|
| | июнь | октябрь |
| • Споровые | | |
| <i>Marchantia polymorpha</i> | 95 | 93 |
| <i>Aspidium filix mas</i> | 98 | 90 |
| <i>Equisetum arvense</i> | 96 | 94 |
| Семенные | | |
| <i>Pinus silvestris</i> | 83 | 66 |
| <i>Tilia parvifolia</i> | 85 | 53 |
| <i>Syringa vulgaris</i> | 96 | 66 |
| <i>Fraxinus excelsior</i> | 100 | 73 |
| <i>Phaseolus vulgaris</i> | 93 | 63 |
| <i>Vaccinium vitis idaea</i> | 95 | 64 |
| <i>Helianthus annuus</i> | 90 | 63 |
| <i>Lappa tomentosa</i> | 96 | 76 |

спектрофотометре системы Кениг — Мартенса по заранее установленному максимуму поглощения раствором чистого кристаллического хлорофилла *a + b*.

Результаты опытов показывают, что путем настаивания измельченной листовой массы с 60% ацетоном мы могли уловить некоторую разницу в извлекаемости хлорофилла из споровых и семенных растений в разное время их вегетационного периода. У взятых нами споровых растений (маршанция, хвощ и папоротник) извлекаемость хлорофилла почти не изменяется от июня до октября, тогда как у семенных растений к осени наблюдается уменьшение извлекаемости хлорофилла.

Далее мы проследили извлекаемость хлорофилла из листьев различных возрастов независимо от сезона. Результаты этих опытов показали, что из молодых семенных растений хлорофилл извлекается легче, чем из старых (табл. 2).

Материал измельчался очень тщательно и наблюдения под микроскопом показывали отсутствие неизмельченных частей клеток. Кроме того, извлечения хлорофилла 85% ацетоном при отсасывании на стеклянном фильтре служили нам также контролем на полноту измельчения материала. Изменение структуры тканей при старении листа, по нашему мнению, не влечет за собой изменения извлекаемости хлорофилла.

Наблюдаемую нами разницу в извлекаемости хлорофилла (см. табл. 2), очевидно, нужно объяснять различием свойств белково-хлорофиллового комплекса. Один из компонентов этого комплекса, т. е. пигмент, как известно, не изменяется в период развития растения, а изменяются, повидимому, физико-химические свойства белкового компонента, с которым связан хлорофилл.

Белки споровых и молодых листьев семенных растений, как видно, легче подвергаются воздействию 60% ацетона, чем белки старых листьев семенных растений, благодаря чему мы и наблюдаем различие в извлекаемости хлорофилла. Не исключена также возможность,

Таблица 2

| Объекты | Извлекаемость хлорофилла 60% ацетоном в % от общего количества хлорофилла | Время опыта |
|------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|---------------|
| <i>Pinus silvestris</i> , хвоя 1945 г. | 83 | 25 VI 1945 г. |
| » » хвоя 1944 г. | 68 | |
| » » хвоя 1943 г. | 68 | |
| <i>Fraxinus excelsior</i> , первая пара листьев от верхнего побега | 100 | 7 VI 1945 г. |
| То же, вторая пара листьев | 85 | |
| » третья пара листьев | 83 | |
| <i>Helianthus annuus</i> , верхний лист | 90 | 8 IX 1945 г. |
| » » нижний лист | 63 | |

что форма связи хлорофилла с белком изменяется так или иначе в зависимости от свойств самого белка. В одном случае она более лабильна, в другом более прочна и, может быть, имеет различный характер.

Автор выражает благодарность руководителям Л. А. Иванову и Т. Н. Годневу.

Институт физиологии растений
им. К. А. Тимирязева
Академии Наук СССР

Поступило
4 III 1947

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ М. Цвет, Тр. Об-ва естествоисп. Казанск. ун-та, 35 (1901). ² В. Любименко, Изв. Росс. Ак. Наук (1923). ³ W. Palladin, Ber. deutsch. botan. Ges., 23 (1910). ⁴ A. Stoll, 6 Intern. botan. Congr., 2 (1935). ⁵ K. Noack, Biochem. Z., 183 (1927). ⁶ В. Любименко, Изв. Росс. Ак. Наук (1919). ⁷ M. Fishman and L. Moyer, J. Gen. Physiol., 25 (1942).