

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Д. И. САПОЖНИКОВ

**ФОТОРЕДУКЦИЯ АЗОТНОКИСЛОГО СЕРЕБРА НАТУРАЛЬНЫМ
ХЛОРОФИЛЛОМ ЛЮБИМЕНКО (ФИТОХРОМОПРОТЕИД
ПЛАСТИДЫ)**

(Представлено академиком Н. А. Максимовым 17 V 1948)

Как было показано работами В. Н. Любименко (^{1,2}), фитохромы пластиды высших зеленых растений (хлорофилл, каротин, ксантофилл) находятся в живом листе в состоянии связи с липопротеидом. Им впервые было установлено, что при растирании с водой листьев аспидистры этот фитохромопротеидный комплекс переходит в водный раствор. В. Н. Любименко назвал этот комплекс „натуральным хлорофиллом“. Растворы натурального хлорофилла обладали оптическими свойствами, аналогичными свойствам в живом листе, и были термостабильны. Спирт и ацетон разрушали этот комплекс, осаждали белок и переводили пигменты в раствор.

В одной из наших работ (³) было показано, что в ходе фоторедукции угольной кислоты в определенных условиях (выключение темновой реакции) листья конского боба превращают каротин в ксантофилл.

В настоящей работе мы поставили себе задачу исследовать вопрос о способности растворов фитохромопротеида аспидистры осуществлять фоторедукцию азотнокислого серебра за счет системы каротин — ксантофилл, имеющейся в этом комплексе.

Методика постановки опытов

1. Получение растворов фитохромопротеида. Листья аспидистры нарезались на кусочки в 1 см² и растирались под водой в фарфоровой ступке с битым стеклом. Получаемые суспензии темно-зеленого цвета фильтровались через чистое полотенце для отделения от крупных механических частиц. После фильтрования суспензия центрифугировалась для осаждения крахмала и обрывков клеточных стенок. Слитые декантацией растворы подвергались кипячению в течение 2—3 мин., после чего фильтровались через плотный бумажный фильтр. Спектроскопическое исследование фильтрата показало наличие следующих характерных полос поглощения:

I	II	III	IV	V
680—630 мμ	616—608	590—570	555—533	519 — конечное поглощение

Полученные таким образом растворы использовались либо как таковые, либо в виде агар-агаровых пластинок.

2. Приготовление агаровых пластинок. Кусочки агар-агара вымачивались 3 дня в проточной воде, затем были многократно промыты в дистиллированной воде. Из такого агара готовились 3% растворы с различным содержанием азотнокислого серебра и без него.

К еще не застывшему агару добавлялся равный объем раствора натурального хлорофилла. После тщательного перемешивания одинаковые объемы агар-агара разливались в чашки Петри, которые затем хранились в темном месте.

3. Анализ каротиноидов производился по методам, описанным нами в (4).

4. Источник света. Освещение производилось 150-ваттной лампой накаливания. Расстояние от источника света выбиралось с таким расчетом, чтобы свет достигал силы, которая вызывала в селеновом фотоэлементе (ФАИ тип К-20 диаметр в 5 см) эффект, приводящий к отклонению стрелки гальванометра на 85 делений*.

Описание опытов

Опыт № 1. Две агаровые пластинки, не содержащие азотнокисло-го серебра, освещались в течение 24 час., после чего производился анализ каротиноидов. Контролем служили две другие пластинки, не подвергавшиеся освещению (табл. 1).

Таблица 1

Условия	Каротин в γ	Ксантофилл в γ	Отношение каротин : ксантофилл
Неосвещенная . .	15,4	32,1	0,480
» . .	15,2	31,9	0,476
Освещенная . . .	15,3	31,3	0,488
» . . .	15,0	31,5	0,476

Как показал этот опыт, освещение в течение 24 час. не производит каких-либо заметных изменений ни в абсолютных количествах каротиноидов, ни в их соотношении. Спектроскопическое исследование освещенных пластинок также не обнаружило различия с контролем в оптических свойствах.

Опыт № 2. Две агаровые пластинки с 0,05% азотнокислого серебра освещались в течение 24 час. Контрольные пластинки также содержали 0,05% азотнокислого серебра, но не освещались. Как показал этот опыт, вся агаровая пластинка, подвергавшаяся освещению, равномерно почернела от выпавшего серебра. Анализ на каротиноиды приведен в табл. 2.

Таблица 2

Условия	Каротин в γ	Ксантофилл в γ	Отношение каротин : ксантофилл
Неосвещенная . .	15,2	31,3	0,486
» . .	15,7	31,8	0,493
Освещенная . . .	0	47,5	0
» . . .	0	47,9	0

Как видно из табл. 2, за 24 часа освещения весь каротин превратился в ксантофилл.

* Гальванометр Физического института ЛГУ. Цена деления $2,2 \cdot 10^{-3}$ А и $26 \cdot 10^{-6}$ V.

Опыт № 3. В этом опыте мы исследовали зависимость скорости фоторедукции азотнокислого серебра от концентрации последнего. Для этого были взяты 7 пластинок с разной концентрацией азотнокислого серебра. Освещение производилось до почернения пластинки. Через определенные промежутки времени отмечались почерневшие пластинки.

В табл. 3 дано время наступления почернения в зависимости от концентрации азотнокислого серебра.

Таблица 3

Концентрация азотнокислого серебра в ‰	1,0	0,5	0,2	0,1	0,05	0,01	0,005
Время наступления почернения пластинки	20 мин.	40 мин.	60 мин.	65 мин.	70 мин.	2 часа	12 час.

Опыт № 4. Исследовалась зависимость фоторедукции азотнокислого серебра от интенсивности освещения. С этой целью 6 агаровых пластинок были помещены на различных расстояниях от источника света. В табл. 4 приведено время начала почернения как функция от интенсивности света. Интенсивность света выражена в делениях отклонения гальванометра, вызванных освещением фотоэлемента. Концентрация азотнокислого серебра составляла во всех пластинках 0,5‰.

Таблица 4

Интенсивность освещения	85	75	60	40	30	Темный контроль
Время наступления почернения в мин. . .	20	35	60	95	180	Не почернел

Опыт № 5 был поставлен с целью исследовать скорость превращения каротина в ксантофилл при фоторедукции азотнокислого серебра. Для этого 4 агаровых пластинки освещались различное время, после чего производился анализ на каротиноиды. Концентрация азотнокислого серебра 0,05‰. В табл. 5 приведены данные анализа каротиноидов.

Опыт № 6. Мы задались целью изучить связь между целостностью фитохромопротеидного комплекса и реакцией фоторедукции. Для денатурации был взят ацетон. В зависимости от концентрации взятого ацетона можно наблюдать либо только коагуляцию, не сопровождающуюся денатурацией, т. е. отщеплением фитохромной группы, либо коагуляцию с последующим отщеплением и растворением фитохромной группы. Для получения различных концентраций ацетона мы прибавляли к раствору натурального хлорофилла различные количества ацетона и дистиллированной воды. В табл. 6 сведены данные, полученные после 24-часового освещения (о степени восстановления серебра судили по побурению раствора; плюсами выражена интенсивность побурения).

Таблица 5

Время освещения в час.	Содержание каротина в γ	Содержание ксантофилла в γ	Отношение каротин : ксантофилл
0	15,0	28,5	0,526
6	13,0	30,0	0,433
12	11,0	33,0	0,333
18	10,0	35,0	0,286
24	0	45,0	0

Таблица 6

Прибавлено ацетона в мл	0	1	2	3	4	5	6
Прибавлено воды в мл	6	5	4	3	2	1	0
Коагуляция фитохромо- протеида	Нет	Слаб. Нет	Сильн. Слаб.	Не- полн. То же	Полн. Не- полн.	Полн. »	Полн. »
Денатурация	»						
Состояние фитохромов (по хлорофиллу) . . .	В комплексе	В комплексе	10% хлоро- филла в раство- ре	20% хлоро- филла в раство- ре	100% хлорофилла в растворе		
Восстановление азотно- кислого серебра . . .	+++++	+++++	+++++	+++++	++	Нет	Нет

Выводы

1. Фитохромопротеид пластиды, выделенный в раствор, обладает способностью к фоторедукции азотнокислого серебра.
2. Фоторедукция азотнокислого серебра совершается при одновременном превращении каротина в ксантофилл.
3. Способностью осуществлять эту фоторедукцию обладает лишь неденатурированный фитохромопротеид. После денатурации комплекс теряет эту способность.

В заключение приношу искреннюю благодарность проф. В. А. Бриллиант за ценные советы при постановке опытов.

Эколого-физиологическая лаборатория
им. В. Н. Любименко
Ботанического института им. В. Л. Комарова
Академии Наук СССР

Поступило
16 V 1948

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ В. Н. Любименко, С. Р., 173, 293 (1921). ² В. Н. Любименко, Rev. Gén. Bot., 39, 519 (1927) ³ Д. И. Сапожников, Биохимия, 2 (1937). ⁴ Д. И. Сапожников, ДАН, 60, № 6 (1948); 60, № 8 (1948).