

ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕРМОИНДУЦИРОВАННОГО ИЗМЕНЕНИЯ
ВЫХОДА ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ НЕКОТОРЫХ
ХЛОРОФИЛЛСОДЕРЖАЩИХ СИСТЕМ

ДЖ. М. ДЖАВРШЯН, Н. М. ХАЧАТРЯН

Исследовали термоиндуцированное изменение флуоресценции молекул хлорофилла у некоторых фотосинтетических систем.

Показано, что для каждой хлорофиллсодержащей системы (различной сложности и нативности) характерны свои специфические кривые термоиндуцированного изменения флуоресценции.

Ключевые слова: хлорофиллсодержащие системы, термоиндуцированные изменения.

Изучению термоиндуцированного изменения флуоресценции (ТИФ) хлорофилла *in vivo* посвящен ряд работ [1—3, 7], данные которых свидетельствуют о том, что интенсивность флуоресценции хлорофилла изменяется как во время температурного воздействия, так и после него. Ход кривых при этом в принципе одинаков [1].

Работы последних лет, касающиеся данного вопроса, свидетельствуют о том, что ход кривых термоиндуцированного изменения флуоресценции во многом зависит от предыстории объекта (температуры и освещенности при росте) и фотосинтетической активности [5].

Мы предполагаем, что исследование ТИФ хлорофилла может служить хорошим тестом для характеристики состояния мембран хлоропластов у функционирующих клеток. Оно может явиться одним из лучших методов изучения конформационных перестроек мембран и одним из подходов к исследованию фотофизических и фотохимических стадий фотосинтеза.

В настоящей работе нами изучены и сопоставлены кривые ТИФ некоторых хлорофиллсодержащих систем.

Материал и методика. Объектом исследований служили фотосинтетические системы различной сложности и нативности: высечки листьев растений (шпината, сахарной свеклы, фасоли, лаврового листа), целые клетки (*Chlorella pyrenoidosa*, *Anacystis nidulans*), изолированные хлоропласты, смесь пигментов и нелистовые ткани, содержащие хлоропласты (зеленые клубни картофеля и стебли традесканции). Хлореллу выращивали при комнатной температуре на твердой питательной среде (1%-ном агаре, приготовленном на среде Тамия). Сине-зеленые водоросли—на среде Гомаса, растения—в оранжевых условиях (исследовались листья трехнедельных проростков). Хлоропласты выделялись с использованием 0,3 М раствора NaCl в 0,6 М фосфатном бу-

фере. pH 6.9. Смесь пигментов получали в ацетоне, эвакуировали с помощью форвакуумного насоса и ресуспендировали в касторовом масле.

Для исследования флуоресценции использовали спектрофлуориметр с двумя монохроматорами, сконструированный в нашей лаборатории Дж. М. Джавршяном. Для возбуждения флуоресценции использовали ртутную лампу СВД-120А со стабилизированным источником питания. Возбуждающий луч с длиной волны 436 нм выделяли с помощью монохроматора от спектрофотометра СФ-4. Для регистрации флуоресценции использовали монохроматор УМ-2. Излучение образца через монохроматор при длине волны 685 нм направлялось на фотоумножитель ФЭУ-38, сигнал которого усиливался с помощью усилителя постоянного тока и регистрировался на электронном потенциометре КСП-4. Температура образца измерялась при помощи медно-константановой термпары. Регистрация температуры и флуоресценции велась синхронно, что позволяло непрерывно следить за изменениями интенсивности флуоресценции в зависимости от температуры. Нагрев осуществлялся со скоростью 3° в минуту.

Результаты и обсуждение. Полученные результаты представлены на рис. 1 и 2. Непрерывная запись изменения интенсивности флуоресценции в максимуме (при длине волны 685 нм) под действием постепенного увеличения температуры позволила установить сложный характер кинетической кривой флуоресценции у различных живых фотосинтезирующих объектов.

На рис. 1 представлены кривые термоиндуцированных изменений флуоресценции листьев различных растений, значительно различающиеся по форме.

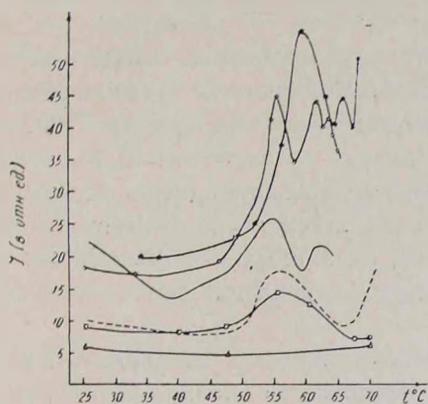


Рис. 1.

Рис. 1. Термоиндуцированное изменение флуоресценции хлорофилла у листьев и нелистных тканей. ★—★ лист шпината, — лист фасоли, ○—○ лист сахарной свеклы, Δ—Δ лавровый лист, — — — клубень картофеля, □—□ стебель традесканции.

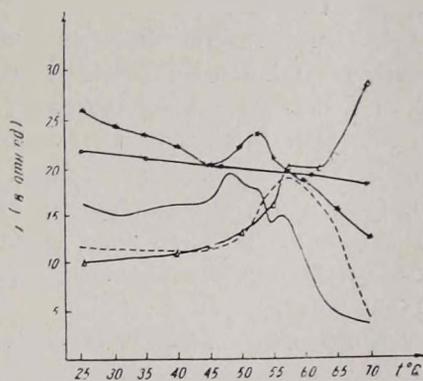


Рис. 2.

Рис. 2. Термоиндуцированное изменение флуоресценции хлорофилла в клетках и в растворе — хлорелла, ★—★ хлоропласты, ○—○ смесь пигментов, Δ—Δ *Anacystis nidulans* (при 16°), — — — *Anacystis nidulans* (при 27°).

На кривых ТИФ интактных листьев растений в пределах 47—67° обнаруживается увеличение интенсивности флуоресценции в несколько раз по сравнению с первоначальным уровнем ее.

Для каждого вида растений при этой температуре характерно оп-

ределенное количество пиков с определенной интенсивностью и положением относительно оси температур. Кривые ТИФ высушенных листьев (например, лаврового листа) не имеют аналогичных пиков.

Существенно, что кривые ТИФ хлорофиллсодержащих нелистовых тканей (зеленых клубней картофеля и стеблей традесканции) аналогичны кривым нормальных листьев растений, но менее структурированы.

На рис. 2 приведены кривые ТИФ интактных клеток водорослей (*Anacystis nidulans*, *Chlorella pyrenoidosa*) изолированных хлоропластов и смеси пигментов, полученной из листьев, ресуспендированных в касторовом масле. Ход кривых ТИФ у водорослей и хлоропластов носит менее структурированный характер по сравнению с таковым у листьев растений.

Кривые ТИФ изолированных хлоропластов в области сравнительно невысоких температур (25—43°) имеют довольно высокую интенсивность флуоресценции, а в районе температурного максимума — неинтенсивный пик. Кривые ТИФ водорослей отличаются от описанных выше кривых и друг от друга. Интересно, что у сине-зеленых водорослей *Anacystis nidulans* этот показатель сильно изменяется при инкубировании ее клеток при 16°.

Сравнение кривых ТИФ смеси пигментов в касторовом масле с кривыми интактных клеток показало, что кривая ТИФ смеси пигментов не имеет максимума и минимума, а интенсивность с увеличением температуры подавляется.

Таким образом, анализ полученных нами данных свидетельствует о том, что для каждой хлорофиллсодержащей системы (различной сложности и нативности) характерны свои специфические кривые ТИФ.

Интактным функционирующим клеткам свойственны более сложные кривые ТИФ. Наличие нескольких выраженных температурных максимумов на кривых ТИФ фотосинтезирующих объектов, по-видимому, можно объяснить наложением ряда эффектов, вызванных многофазностью термoinдуцированных изменений структуры и функций фотосинтетического аппарата.

Конформационные изменения белков мембран хлоропластов могут вызвать нарушение как электронтранспортной цепи, так и миграции энергии между пигментными системами [6].

Для изолированных из листьев хлоропластов характерна своеобразная кривая ТИФ. При сравнительно небольших температурах уровень флуоресценции довольно высок, что можно объяснить вымыванием ряда переносчиков, вследствие которого нарушается эффективность работы электронтранспортной цепи фотосинтетического аппарата.

О важности нативной конформации белков и мембран в целом для проявления ТИФ хлорофилла говорят опыты с сухими листьями, сине-зеленой водорослью *A. nidulans* и смесью пигментов.

При высушивании листьев происходит сильное изменение конформации мембран и их компонентов, что приводит к снятию эффекта термoinдуцированного увеличения флуоресценции. При отсутствии нативной

высокоупорядоченной структуры и электронтранспортной цепи в смеси пигментов исчезает температурный максимум на индукционных кривых.

Что касается своеобразных кривых ТИФ *A. nidulans* при экспозиции 16 °, то это можно объяснить глубокими перестройками в фотосинтетической мембране [4].

Приведенные нами кривые ТИФ хлорофиллсодержащих клубней картофеля и стеблей традесканции свидетельствуют о том, что термоиндуцированное увеличение флуоресценции не может коррелировать с фотосинтезом в целом, а первоначальный подъем может информировать о нарушениях в первичном процессе фотосинтеза.

Обобщая полученные в работе данные, можно сделать заключение, что термоиндуцированные изменения флуоресценции обусловлены конформационными изменениями в мембранах хлоропластов.

Ереванский государственный университет,
кафедра биофизики

Поступило 21.V 1980 г.

ՔԼՈՐՈՅԻԼ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՂ ՈՐՈՇ ՀԱՄԱԿԱՐԳԵՐԻ ԹԵՐՄՈՒՆԴՈՒԿՅԱԾ
ՖԼՈՐԵՍԵՆՑԻԱՅԻ ԵՎ ԹԻ ՓՈՓՈԿՈՒԹՅԱՆ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒՄԸ

Ջ. Մ. ՋԱՎՈՇՅԱՆ, Ն. Մ. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է ըլորոֆիլի մոլեկուլի ֆլուորեսցենցիայի թերմոինդուցված փոփոխությունը որոշ ֆոտոսինթետիկ համակարգերի մոտ:

Ցույց է տրվում, որ ամեն մի ըլորոֆիլ պարունակող համակարգին, կախված նրա բարդության աստիճանից և նատիվությանից, բնորոշ է իր ֆլուորեսցենցիայի չորահաստուկ թերմոինդուցված փոփոխության կորը:

STUDY OF THERMOINDUCED CHANGES OF FLUORESCENCE
OF SOME CHLOROPHYLLCONTAINING SYSTEMS

J. M. JAVRSHYAN, N. M. KHACHATRYAN

Thermoinduced changes of fluorescence (TCF) of chlorophyll molecules in some photosynthetic systems have been studied. It has been shown that to every chlorophyll-containing system of different complication degree and activity corresponds its specific TCF curve.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Кикнадзе Г. С. Цитология, 7, 2, 1965.
2. Рабинович Е. Фотосинтез, 2, М., 1953.
3. Metzner P. Lecture before Botanical Society Darmstadt, quoted from Frey-Wysling, Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas, 1938.
4. Peschek G. A., Schmetterer G. FEMS-Microbiol Lett, 3, 5, 295—297, 1978.
5. Schreiber U., Berry G. Annual Report of the Director Department of Plant Biology, Carnegie institution, 323—327, 1977.
6. Schreiber Ulrich, Armond Paul A. Annual Report of the Director Department of Plant Biology, Carnegie institution, 341—346, 1977.
7. Leybold A., Egle K. Botan. Arch., 41, 578, 1940.