

Н. В. БАЖАНОВА, Д. А. ОГАНЕСЯН

НАКОПЛЕНИЕ ПИГМЕНТОВ И ВЗАИМОПРЕВРАЩЕНИЯ КСАНТОФИЛЛОВ В ПРОЦЕССЕ ЗЕЛЕНЕНИЯ ПРОРОСТКОВ КУКУРУЗЫ, ВЫРАЩЕННЫХ В МИКРОГИДРОПОНИЧЕСКИХ УСТАНОВКАХ

За последнее время появились работы, посвященные роли каротиноидов в развитии фотохимической активности листьев в процессе их зеленения [1, 2, 3, 4]. Данные, полученные в этой области, показывают, что на ранних этапах зеленения в пластидах этиолированных проростков еще не сформировались условия, необходимые для осуществления полного цикла реакций взаимопревращения двух ксантофиллов: лютеина и виолаксантина. Отмечалось, что начало осуществления этих реакций тесно связано с образованием хлорофилла, хотя и не находится в прямой зависимости от его количества.

В процессе зеленения, когда происходит постепенное усложнение структуры и функции фотосинтетического аппарата, можно проследить за накоплением зеленых и желтых пигментов, а также за последовательностью возникновения и характером реакций взаимопревращения ксантофиллов. В этом сообщении приведены результаты изучения данных вопросов на разных этапах зеленения этиолированных проростков, выращиваемых в микрогидропонических установках на полной питательной смеси и с исключением из нее элемента магния, как одного из главных компонентов молекулы хлорофилла. Известно, что магний вовлекается в биосинтез порфиринового ядра. Предполагается, что новообразование каротиноидов протекает с участием ферментов, активируемых ионами магния.

Методика. Микрогидропонические установки, изготовленные по проекту Г. С. Давтяна, представляют собой компактные камеры (40×25×15 см), сделанные из винодур (см. рис. 1). Камера разделена на два горизонтальных отсека, в нижней половине которого помещается закрытый резервуар объемом до 5—6 л для питательного раствора. В верхней части камеры, типа открытого «ящика», устанавливается перфорированная прокладка для проращивания семян. Между этой прокладкой и дном ящика оставляется пространство в 1,5—2 см для развивающихся корешков. Питательный раствор накачивается грушей через небольшое отверстие в центре дна. Раствор подается до 2—3 раз в сутки, омывает корешки растений и затем стекает обратно в резервуар. Семена, предварительно облученные, проращивались в специальных растильнях в темноте и затем раскладывались на поддонах микрогидропонических установок для выращивания.

Повторность опыта двухкратная, повторность анализов в каждом из них—шестикратная. Все исследуемые пигменты пластид определялись методом Д. И. Сапожникова и сотр. [5].

Первая серия опытов. Семидневные зеленые и этиолированные проростки выращивались: I—на полной питательной смеси—(контроль); II—с исключением из нее магния—(опыт).

Данные содержания пластидных пигментов в этих проростках представлены в табл. 1.

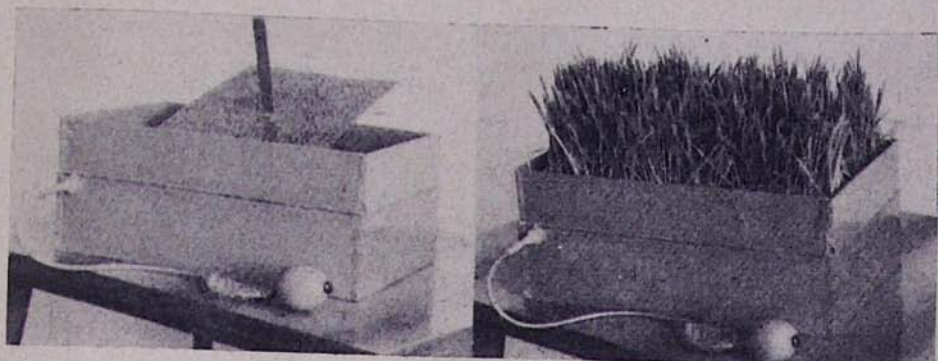


Рис. 1. Микрогидропоническая установка.

Таблица 1

Содержание зеленых и желтых пигментов в листьях проростков кукурузы (в мкг на г сырого веса листьев. Указаны средние величины из 6 повторений)

Пигменты	Контроль		С исключением магния	
	этиолированные	зеленые	этиолированные	зеленые
Каротин	9±2	63±4	8±1	58±4
Лютеин	32±5	70±4	32±1	62±4
Виолаксантин	42±2	46±3	40±2	51±4
Неоксантин	9±1	46±1	9±1	37±4
Хлорофиллы				
«а»		820±25		650±12
«б»		330±15		240±6
хл—лы (а+б)				
каротиноиды (а+б)		6		4
$\frac{а}{б}$		1150±40		890±18
		3		3

В зеленых проростках обоих вариантов отсутствие магния в растворе на содержании каротиноидов не отразилось. На этих же проростках было показано, что они характеризуются полным циклом световых и темновых реакций превращения ксантофиллов. Следовало ожидать [6, 7, 8, 9], что синтез хлорофиллов в отсутствие магния будет сильно заторможен. Однако в варианте без магния у зеленых проростков отмечается достаточное накопление хлорофиллов «а» и «б», хотя количество их несколько занижено по сравнению с контролем. На соотношении зеленых пигментов это снижение почти не отразилось, но отношение суммы хлорофиллов к каротиноидам становится меньше. Накопление хлорофиллов в зеленых проростках в варианте «без магния» можно объяснить присутствием довольно значительного количества

магния в самих семенах, главным образом в зародыше и слое клейковины [8], запасов которого вполне хватило на развитие семидневных растений. (Дальнейшее развитие растений при недостатке магния безусловно должно обостриться).

В этилированных проростках обнаружены незначительные количества каротина и неоксантина: вместе с тем в них отмечалось достаточное содержание легко превращаемых друг в друга ксантофиллов и особенно виолаксантина.

Во второй серии опытов семидневные этилированные проростки выставлялись на зеленение под лампы дневного света, интенсивностью в 2 тыс. лк. В процессе зеленения, через 1, 4, 8, 24 и 48 часов наблюдали за количественным накоплением хлорофилла.

В эти же часы фиксировали световую и темновую реакции взаимопревращения пигментной пары—лютеина и виолаксантина.

В анализ шел первый лист. Из трех навесок по 2 г первую, как исходную, сразу же фиксировали. Две следующие помещали в осветительную установку на яркий свет (35 тыс. лк), при температуре 22°C на 15 мин., после чего одну порцию анализировали—световой вариант, а другую—помещали в темноту на 40 мин.—темновой вариант, и затем определяли пигменты.

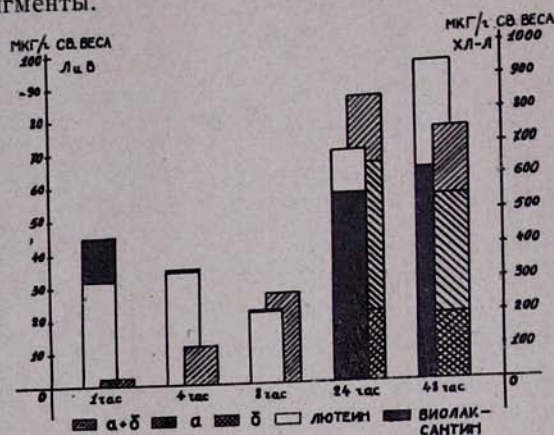


Рис. 2. Динамика в содержании зеленых и желтых пигментов в зеленеющих проростках.

По оси ординат отложены: слева—количество лютеина и виолаксантина, справа—количество хлорофиллов в мгк на г свежего веса листьев.

Светлый столбик соответствует количеству лютеина, светлый+темный (1, 4, 8 час) и только темный (24, 48 час)—количеству виолаксантина. Заштрихованные столбики—сумме хлорофиллов. По горизонтальной линии отложено время зеленения.

На рис. 2 показан характер изменения в содержании ксантофиллов и хлорофиллов в процессе зеленения. Как видно из рисунка, зеленение в течение 1, 4, 8 часов сопровождалось постепенным снижением количества лютеина и особенно виолаксантина с одновременным увеличением концентрации хлорофилла. Полученные данные совпадают с результатами работ А. С. Ходжаева [1], П. Н. Шияна и С. И.

Лебедева [10], которые объясняют это использованием желтых пигментов на синтез молекул хлорофилла.

Такое же предположение высказал Стрейн (Strein, 11), показавший, что излучения в тех участках спектра, которые наиболее эффективны для процесса образования хлорофилла, очень мало влияют на синтез каротиноидов.

В течение 24 и 48 часов освещения, когда уже завершилось формирование фотосинтетического аппарата, в проростках отмечается интенсивное накопление всех пластидных пигментов. Усовершенствуя методику работы и обработку цифрового материала, О. Ф. Попова [3, 4] обнаружила полное прохождение этой реакции, сбалансированное по увеличению лютеина и уменьшению виолаксантина только через 4 часа зеленения. Интересный факт был отмечен в работах А. А. Шлыка и сотр. [12, 13], растения, освещаемые в течение 5 часов, уже содержат ферментативную систему, способную осуществлять превращение хлорофилла «а» в хлорофилл «б».

В наших опытах мы пытались зафиксировать начало световой и темновой реакций взаимопревращения ксантофиллов и накопления хлорофиллов у проростков, выращиваемых в гидропонических установках на питательных смесях с магнием и без него.

Об эффективности световой реакции судили по увеличению абсолютного содержания лютеина и уменьшению виолаксантина от исходной величины. Степень прохождения темновой реакции вычислялась по уменьшению количества лютеина и соответственному увеличению виолаксантина в сравнении со световым вариантом.

Данные хода этих реакций в листьях проростков на полной питательной среде изображены на рис. 3. Из рисунка видно, что в одно- и четырехчасовых зеленеющих проростках при измерении световой реакции наблюдалось лишь уменьшение содержания виолаксантина, без изменений содержания лютеина, только после 8 часов зеленения зафиксированы изменения в содержании ксантофиллов, аналогичные наблюдаемым в нормальных зеленых листьях.

Через 24 и 48 часов зеленения эффект световой реакции достигает своей максимальной величины.

Полное прохождение темновой реакции зафиксировано позднее световой. У 8-часовых зеленеющих проростков отмечается темновая реакция только по увеличению количества виолаксантина. Содержание лютеина остается на световом уровне.

Данные по взаимопревращению ксантофиллов в листьях растений, выращенных в условиях дефицита магния (рис. 4), при сравнении с контролем (рис. 3) указывают на еще большее нарушение цикличности исследуемых реакций; полный цикл световой и темновой реакций в наших опытах растянут, по-видимому, из-за слабого освещения (2 тыс. лк.). От интенсивности освещения зависит также способность насыщения темнового баланса.

Наблюдения за динамикой образования хлорофиллов у проростков, произраставших на питательной среде с магнием и без него, показали, что в проростках обоих вариантов в процессе зеленения шел синтез хлорофиллов, однако через 24 и 48 часов наблюдалось отставание в синтезе зеленого пигмента у растений без магния.

Пятнадцатиминутная экспозиция на свету большой интенсивности ощутимых изменений в количестве хлорофилла не дала, однако, при выдерживании этих растений в темноте у контрольных листьев продолжался синтез хлорофиллов «а» и «б».

В варианте без магния, при выдерживании листьев в темноте,

наблюдалась некоторая тенденция к уменьшению хлорофилла, что, по-видимому, связано с его частичным разрушением.

Можно предположить, что недостаток магния не только замедляет накопление хлорофилла, но и подавляет образование промежуточных агентов, инициирующих темновой синтез хлорофилла [14].

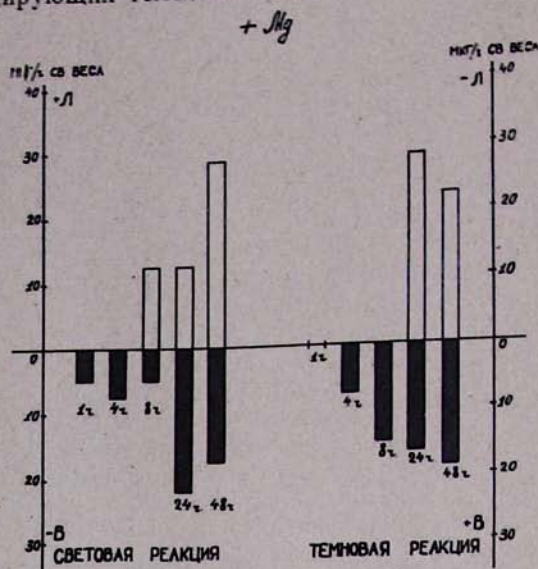


Рис. 3. Возможность прохождения световой и темновой реакций в процессе зеленения проростков на полной питательной смеси.

От горизонтальной линии вверх и вниз отложена разность абсолютного количества лютеина и виолаксантина в мкг на г свежего веса. Слева вверх по оси ординат отложено увеличение лютеина, вниз—уменьшение виолаксантина—степень световой реакции.

Справа вверх—уменьшение лютеина, вниз—увеличение виолаксантина—темновой уровень.

В последней серии опытов исследовалось влияние ультрафиолетового облучения (зона А) на количественное накопление каротиноидов и хлорофиллов в листьях этилированных проростков в процессе их зеленения.

Ультрафиолетовое облучение получали с помощью лампы типа УФС-4 с рабочей длиной волны 365,5 нм.

Полученные данные представлены в табл. 3 и на рис. 5. Воздействие ультрафиолетом во всех вариантах опыта ведет к увеличению количества виолаксантина.

С увеличением концентрации виолаксантина у зеленеющих проростков отмечается некоторое увеличение и количества хлорофилла «б».

Таким образом, увеличение содержания виолаксантина и хлорофилла «б» при облучении служит косвенным доказательством того, что ультрафиолет благоприятствует синтезу более окисленных пигментов.

Таблица 2

Накопление хлорофилла при кратковременном освещении высокой интенсивностью и затемнении в процессе зеленения контрольных и опытных растений (хлорофиллы «а», «б» и их сумма а+б выражены в мкг на г свежего веса листьев)

Варианты	К о н т р о л ь									Без добавления Mg								
	З е л е н е н и е																	
	1 ч.	4 ч.	8 ч.	24 ч.			48 ч.			1 ч.	4 ч.	8 ч.	24 ч.			48 ч.		
	а+б	а+б	а+б	а	б	а+б	а	б	а+б	а+б	а+б	а+б	а	б	а+б	а	б	а+б
Исходный (после зеленения при 2 тыс. лк.)	30 ± 0,0	110 ± 3,0	270 ± 20,0	660 ± 6,5	220 ± 20,0	880 ± 26,5	550 ± 15,0	200 ± 10,0	750 ± 35,0	—	150 ± 1,0	330 ± 2,00	300 ± 10,0	110 ± 5,0	410 ± 15,0	500 ± 5,0	170 ± 10,0	670 ± 15,0
Световой (инт. 35 т. лк. 15 мин.)	33 ± 5,0	100 ± 0,0	370 ± 10,0	560 ± 7,5	170 ± 0,0	730 ± 7,5	550 ± 5,0	190 ± 5,0	740 ± 10,0	41 ± 8,0	170 ± 2,5	370 ± 15,0	340 ± 0,0	82 ± 3,5	422 ± 3,5	490 ± 15,0	170 ± 2,0	660 ± 17,0
Темновой (40 мин.)	31 ± 1,7	200 ± 10,0	450 ± 2,0	600 ± 10,0	186 ± 9,0	786 ± 19,0	620 ± 20,0	200 ± 9,0	820 ± 29,0	20 ± 1,5	145 ± 0,5	320 ± 15,0	310 ± 10,0	85 ± 8,0	395 ± 18,0	450 ± 10,0	150 ± 5,0	600 ± 15,0

Таблица 3

Влияние УФ-радиации на содержание желтых и зеленых пигментов пластид (средние величины из 10—12 повторностей в мкг/г свежего веса листьев)

Семидневные проростки	Каротин	Лютеин	Виолаксан- тин	Неоксантин	хл-л „а“	хл-л „б“	хл-лы а+б
Этилированные проростки	8,0±0,3	27,0±2,0	36,0±4,0	8,0±1,0	—	—	—
Этилированные проростки, подвер- гавшиеся ультрафиолетовому об- лучению в течение 1 ч.	7,0±0,7	33,0±3,0	44,0±1,5	12,0±1,0	—	—	—
Зеленение в течение 3 ч. (исходный)	11,0±1,5	35,0±2,5	38,0±4,0	10,0±2,0	82,0±1,5	22,0±2,0	104,0±3,5
Зеленение в течение 3 часов +УФ	10,0±1,0	30,0±2,0	50,0±2,0	12,0±2,0	72,0±4,0	27,0±1,5	99,0±5,5
1 час	26,0±0,5	45,0±1,5	50,0±3,0	26,0±1,5	345,0±2,0	135,0±2,0	480,0±4,0
Зеленение в течение 24 ч. Исходный	36,0±2,0	52,0±3,0	56,0±4,0	40,0±1,5	400,0±2,5	140,0±1,0	540,0±3,5
Зеленение в течение 24 ч. +УФ 1ч.							

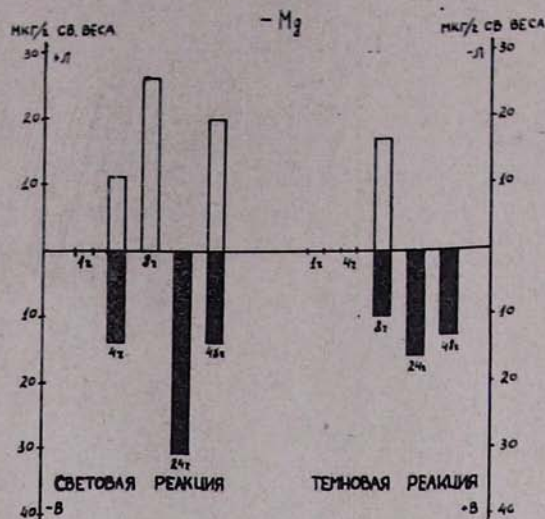


Рис. 4. Возможность прохождения световой и темновой реакций в процессе зеленения проростков на питательной смеси с исключением магния.

Расположение столбиков точно такое же, как на рис. 3.

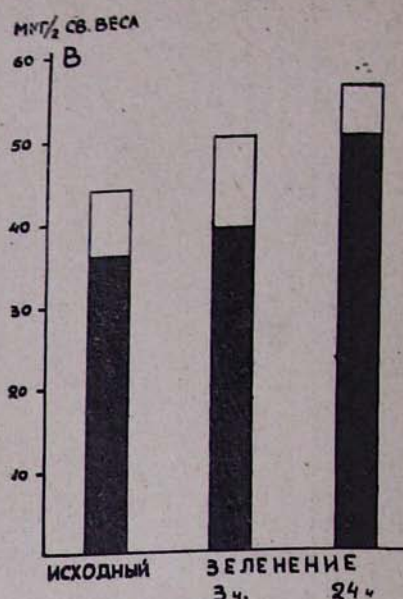


Рис. 5. Количественные изменения концентрации виолаксантина при воздействии ультрафиолетом. Весь столбик—количество виолаксантина после облучения листьев.

Темные столбики—количество виолаксантина до облучения листьев.

На основании наших данных можно прийти к следующему заключению.

1. Семидневные проростки без внесения в среду магния не теряют способности к синтезу хлорофилла, хотя накопление его явно отстает от контроля. Недостаток магния подавляет темновой синтез хлорофилла.

2. В зеленеющих проростках ход световой и темновой реакций взаимопревращения лютеина и виолаксантина имеет ступенчатый характер: в течение одного и 4 часов освещения отмечено прохождение световой реакции взаимопревращения ксантофиллов лишь по уменьшению содержания виолаксантина.

3. В 8-часовых зеленеющих проростках проходит двухсторонняя световая реакция, с увеличением лютеина и одновременным уменьшением виолаксантина.

Прохождение световой реакции взаимопревращения ксантофиллов, зафиксированное в зеленеющих проростках, является показателем фотохимической активности хлоропластов.

4. Полное прохождение темновой реакции зафиксировано гораздо позднее световой.

5. В листьях проростков, подвергавшихся ультрафиолетовой радиации, во всех вариантах опыта отмечается повышенное содержание более окисленных пигментов: виолаксантина и хлорофилла «б».

ՊԻԿՄԵՆՏՆԵՐԻ ԿՈՒՏԱԿՈՒՄԸ ԵՎ ՔՍԱՆՏՈՖԻԼՆԵՐԻ ՓՈԽԱԴԱՐՁ
ՓՈԽԱԿԵՐՊՈՒՄԸ ՀԻԳՐՈՊՈՆԻԿԱԿԱՆ ԵՂԱՆԱԿՈՎ ԱՃԵՑՎԱԾ
ԵԿԻՊՏԱՑՈՐՆԵՆԻ ԾԻԼԵՐԻ ԿԱՆԱԶԵՑՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ու մ

Հետազոտվել է կանաչ ու դեղին պիգմենտների կուտակումը, նրանց առաջացման հերթականությունը և քսանտոֆիլլների փոխադարձ փոխակերպման յուրահատկությունը հիդրոպոնիկական պայմաններում աճեցված եգիպտացորենի էթիոլացված ծիրերի կանաչեցման տարբեր էտապներում, լրիվ սննդաբար լուծույթի, ինչպես և առանց մագնեզիումի ավելացման դեպքում:

Մագնեզիումի պակասը լուծույթում չի ազդում յոթ օրական ծիրերում կարոտինոիդների և քլորոֆիլլների սինթեզի վրա, չնայած նրանց կուտակումն այդ ծիրերում ավելի պակաս է ստուգիչ բույսերի համեմատությամբ: Առանց մագնեզիում ստանալու բույսերի ծիրերը կուտակում են որոշ քանակությամբ պիգմենտներ, հավանորեն սերմի մեջ եղած մագնեզիումի հաշվին: Փորձական տվյալներից կարելի է ենթադրել, որ մագնեզիումի պակասը ոչ միայն արգելակում է քլորոֆիլլի կուտակումը, այլև ճնշում է խթան հանդիսացող ինչ-որ միջանկյալ ազնոտների առաջացումը քլորոֆիլլի մթալին սինթեզի համար: Լյուտեինի և վիոլաքսանտինի փոխադարձ փոխակերպման լուսային ռեակցիան ունի աստիճանական բնույթ:

N. V. BAZHANOVA, J. A. HOVHANISYAN

THE ACCUMULATION OF PIGMENTS AND THE INTERCONVERSION OF XANTHOPHYLLS IN THE PROCESS OF THE GREENING OF SPROUTS OF MAIZE GROWN UNDER HYDROPONIC CONDITIONS

Summary

Investigations were carried out on the accumulation of green and yellow pigments, the sequence of their occurrence, as well as the peculiarity of the inter-conversion of xanthophylls in the different phases of the greening of etiolated sprouts of maize grown under hydroponic conditions in the normal nutrient solution and without any addition of magnesium.

The 7 day old shoots of plants accumulate a certain amount of pigments without any supply of magnesium in the solution probably at the expense of magnesium found in the seed.

It might be supposed that the deficiency of magnesium hinders not only the accumulation of chlorophylls but also suppresses the appearance of some intermediary agents which should be stirring up the dark synthesis of chlorophylls.

The light reaction of the interconversion of lutein and violoxanthin takes place gradually.

1. Ходжаев А. С. О характеристике биосинтеза пигментов пластид и динамике световой реакции взаимопревращения ксантофиллов в процессе зеленения. Автореф. канд. диссерт., Л., 1964, стр. 1—20.
2. Попова О. Ф., Эйдельман Э. М. О превращении ксантофиллов в процессе становления пластид при зеленении. «ДАН СССР», т. 175, № 6, 1967, 1407.
3. Попова О. Ф. О превращении ксантофиллов при зеленении этиолированных проростков. Тезисы III биохим. конференции Белорусской и Прибалтийских респ. т. 2, 1968, стр. 21.
4. Попова О. Ф. Становление цикла превращения ксантофиллов в процессе зеленения этиолированных проростков. Автореф. канд. диссерт., Л., 1969, стр. 1—20.
5. Бажанова Н. В., Маслова Т. Г., Попова И. А. и др. Под редакцией Д. И. Сапожникова. Пигменты пластид и методика их определения. Л., 1964, стр. 1—108.
6. Зайцева А. А. О влиянии магния на накопление хлорофилла у некоторых водорослей и высших растений. Изв. Научн. Ин-та им. Лесгафта, т. XV, в. 1 и 2, 1929, стр. 137—175.
7. Валиханова Г. Ж. Сравнительное изучение физиологического действия внекорневых и корневых подкормок растений фасоли сульфатом магния. Автореф. канд. диссерт., Алма-Ата, 1966, стр. 1—19.
8. Валиханова Г. Ж. О физиологической роли магния в растениях. «Агрохимия», № 12, 1968, стр. 121—131.
9. Hinkle D. A., Eisenmenger W. S. Chloroplast pigments in relation to magnesium deficiency. Soil. Se. 70, 3, 1950, p. 213—220.
10. Шиян П. Н. О биохимических изменениях в этиолированных проростках кукурузы при их зеленении. «Физиол. раст.», т. 13, в. 5, 1966, стр. 775.
11. Strein, (Цит. по Е. Рабиновичу, «Фотосинтез», 1959).
12. Фрадкин Л. И., Шлык А. А., Коляго В. М. Темновой биосинтез хлорофилла «б» у коротковременно освещенных этиолированных проростков. «ДАН СССР», 171, № 1, стр. 222.
13. Шлык А. А. О соотношении удельных активностей хлорофиллов а и б у зеленющих этиолированных проростков. «Физиол. раст.», т. 14, в. 4, 1967, стр. 573.
14. Щербаков А. П. Влияние кальция и магния на содержание хлорофилла и желтых пигментов в листьях сои. «Биохимия», т. 14, в. 4, 1949, стр. 331—337.