

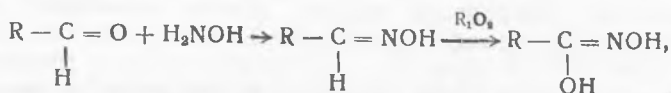
А. М. КУЗИН и Р. Я. ШКОЛЬНИК

**О ЗНАЧЕНИИ НЕСТОЙКИХ ПЕРЕКИСЕЙ ЗЕЛЕННОГО ЛИСТА  
РАСТЕНИЯ ДЛЯ ФОТОСИНТЕЗА**

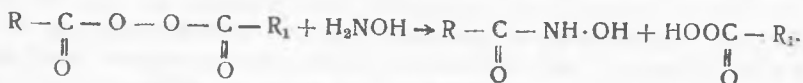
(Представлено академиком А. И. Опариным 2 II 1949)

Еще в 1893 г. А. Н. Бах (1) высказал гипотезу об участии органических перекисей в процессе фотосинтеза. В многочисленных теориях те или иные перекиси допускались в качестве промежуточных продуктов при фотосинтезе. Однако экспериментальные данные по этому вопросу весьма немногочисленны (2).

В предыдущем сообщении (3) нами было показано присутствие в зеленом листе непрочных перекисей, распадающихся при нарушении структуры листа, перекисей, обуславливающих появление гидроксамовой кислоты при растирании листа в присутствии гидроксилamina. Гидроксамовая кислота может образоваться или за счет окисления перекисью первоначально образующихся оксимов:



или за счет непосредственной реакции органической перекиси с гидроксилaminом:



В настоящей работе мы использовали реакцию образования гидроксамовой кислоты, чтобы проследить наличие связи между процессом фотосинтеза и наличием в листе непрочных перекисей.

Метод исследования. Исследуемый растительный материал в количестве 2 г помещался в фарфоровую ступку, содержащую 3 мл ацетатного буфера (рН = 5,4) и 0,5 мл раствора гидроксилamina (получавшегося смешением равных объемов 28% солянокислого гидроксилamina и 14% раствора NaOH).

Растирание материала осуществлялось в присутствии гидроксилamina и небольшого количества нейтрального стекла в течение 1 мин. После 10-минутного стояния к реакционной смеси добавляли 5 мл 12% трихлоруксусной кислоты и отфильтровывали. Фильтрат в отдельных опытах трижды извлекали изоамиловым спиртом, чтобы удалить следы фенольных веществ, мешающих при дальнейшем колориметрировании (в случае традесканции, подсолнечника). К 1 мл полученного фильтрата добавляли 0,5 мл 5% раствора хлорного железа в 0,1N соляной кислоте, и интенсивность окрашивания определялась в ступенчатом фотометре Пульфриха со светофильтром S-50.

В контроле листья подвергались той же обработке, только 0,5 мл раствора гидроксилamina заменялись 0,5 мл ацетатного буфера. Как сообщалось ранее (4), растирание листьев без гидроксилamina и прибавление последнего спустя 20 мин. приводило к исчезновению или сильному ослаблению реакции, что и говорило о нестойкости исследуемых перекисей,

Изучение локализации непрочных перекисей в различных частях растения дало результаты, представленные в табл. 1.

Таблица 1

Растение, взятое в опыт	Исследуемая часть	Количество образующейся гидроксилановой кислоты в $\mu\text{M} \cdot 10^3$ на 100 г	Растение, взятое в опыт	Исследуемая часть	Количество образующейся гидроксилановой кислоты в $\mu\text{M} \cdot 10^3$ на 100 г
Пшеница	Семена	0	Элодея	Листья	54
	Проростки (4-й день)	30		Стебли	0
Подсолнечник (10-й день прорастания)	Листья	65	Традесканция	Листья	130
	Стебельки	0		Стебли	0
	Корешки	10	Горох	Семена	0
Подсолнечник (20-й день прорастания)	Листья	122		Листья	75
	Стебельки	0	Стебель	0	
	Корешки	0			

Как видно из полученных данных, наблюдаемые вещества сосредоточены в листьях растений, отсутствуя в стеблях, корнях и семенах.

Как известно, нагревание элодеи (*Elodea canadensis*) до  $50^\circ$  полностью прекращает процесс фотосинтеза, хотя растение и продолжает дышать.

Проведенные наблюдения показали, что нагревание веточек элодеи до  $50^\circ$  приводило к полному исчезновению наблюдаемых перекисей. В листьях рдеста также прогревание в течение 1 часа до  $45^\circ$  не вызвало изменения количества перекисей, прогревание же при  $50^\circ$  в течение 30 мин. приводило к уменьшению их количества, а в течение 1 часа — к полному исчезновению. Для традесканции требовалось прогревание до  $55-60^\circ$  для достижения того же эффекта.

Наиболее удобным для дифференциации дыхания и фотосинтеза является фенилуретан. Как показали исследования Варбурга (5), 0,05% раствор фенилуретана полностью угнетает процесс фотосинтеза, не оказывая влияния на дыхание.

Исследование наличия нестойких перекисей в листьях элодеи и рдеста, находящихся в 0,05% растворах фенилуретана, привело нас к результатам, сведенным в табл. 2.

Как видно из проведенных опытов, угнетение фотосинтеза фенилуретаном сопровождалось также исчезновением наблюдаемых перекисей. Так как дыхание в этих условиях продолжалось, то можно было думать, что изучаемые перекиси стоят в непосредственной связи с процессом фотосинтеза. Применение более сильных наркотиков, таких, как, например, эфир, приводило к быстрому и полному исчезновению перекисей, что еще раз подчеркивало их нестойкость (20-минутная экспозиция листьев традесканции в парах эфира).

Как известно из работ Варбурга,  $10^{-2}\text{M}$  раствор HCN также специфически угнетает фотосинтез, не действуя на дыхание растений.

Таблица 2

№ опыта	Условия опыта	Количество образующейся гидроксамовой кислоты в $\mu\text{M}\cdot 10^2$ на 100 г листа	
		после 2-час. освещения	после 20-час. стояния (фенилуретан удален)
1	Элодея в воде . . .	60	45
	Элодея в 0,05 % растворе фенилуретана . . . . .	5	0
2	Элодея в воде . . .	110	65
	Элодея в 0,05 % растворе фенилуретана . . . . .	32	0
3	Элодея в воде . . .	62	—
	Элодея в 0,05 % растворе фенилуретана . . . . .	0	—
4	Рдест в воде . . .	300	200
	Рдест в 0,05 % растворе фенилуретана . . . . .	150	0
5	Рдест в воде . . .	280	180
	Рдест в 0,05 % растворе фенилуретана . . . . .	200	0

Проведенные опыты с рдестом в растворе  $10^{-2}\text{M KCN}$  показали, что уже после 4-часовой экспозиции на свету количество изучаемых перекисей уменьшилось до 120 против 250 в контроле. Через 20 час. пребывания в растворе KCN наблюдалось полное исчезновение перекиси.

Исследование этиолированных листьев, получаемых при проращивании в темноте, в сопоставлении с листьями, развивающимися на свету, дало картину, представленную в табл. 3.

Таблица 3

№ опыта	Растение, взятое в опыт	Условия роста	Количество образующейся гидроксамовой кислоты в $\mu\text{M}\cdot 10^2$ на 100 г листа на:					
			3	5	7	9	11	13-й день вегетации
1	Пшеница	Темнота . . . . .	—	10	16	30	—	15
		Свет . . . . .	—	15	18	30	—	30
2	»	Темнота . . . . .	—	10	—	12	—	28
		Свет . . . . .	—	30	—	28	—	56
3	Горох	Темнота . . . . .	40	25	—	—	—	0
		Свет . . . . .	75	71	—	—	—	—
4	Подсолнечник	Темнота . . . . .	—	—	75	50	—	—
		Свет . . . . .	—	—	125	140	—	—
5	Овес	Темнота . . . . .	—	—	10	—	—	—
		Свет . . . . .	—	—	28	—	—	—

Как видно, нестойкие перекиси обнаруживаются и в темновых проростках, однако их количество в темноте всегда было несколько меньше, чем в световом контроле.

В ряде случаев отмечалась тенденция к их уменьшению, что наводило на мысль об их возникновении за счет энергетических ресурсов семени и постепенного исчезновения в отсутствие фотосинтеза.

Помещение нормальных, взрослых листьев на несколько часов в условия сильного освещения или полного затемнения не оказывало резкого влияния на количество наблюдаемых перекисей.

Суммируя полученные данные, мы видим, что обнаруженные нами перекиси присутствуют только в листе растения, разрушаются при нарушении структуры листа, при прогревании до  $50^{\circ}$ , при воздействии 0,05% раствором фенилуретана или  $10^{-2}M$  раствором KCN, т. е. при условиях, когда дыхание не прекращается, а нарушается только фотосинтез. Это, несомненно, указывает на тесную связь изучаемых перекисей с фотосинтезом. Обнаружение этих перекисей и при затемнении листа не противоречит высказываемому предположению, так как ряд стадий ассимиляции угольного ангидрида не зависит прямо от наличия освещения, в частности, как это показал Рубен и др. <sup>(6)</sup>, первичная реакция фиксации угольного ангидрида, угнетаемая, однако, 0,05% раствором фенилуретана и  $10^{-2}M$  раствором KCN.

На основании сказанного концепция А. Н. Баха об участии перекисных соединений в процессах фотосинтеза получила в проведенном исследовании некоторое экспериментальное подтверждение.

Лаборатория химии растительных веществ  
Института биохимии им. А. Н. Баха  
Академии наук СССР

Поступило  
2 II 1949

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> А. Н. Бах, *Moniteur Scientifique*, [4], 7, 669 (1893). <sup>2</sup> H. Gaffron, *Biol. Rev., Cambr. Phil. Soc.*, 19, 1 (1944). <sup>3</sup> А. М. Кузин и Р. Я. Школьник, *ДАН*, 65, № 4 (1949). <sup>4</sup> А. М. Кузин и Р. Я. Школьник, *ДАН*, 59, 941 (1948). <sup>5</sup> O Warburg, *Bioch. Z.*, 100, 230 (1919). <sup>6</sup> S. Ruben et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 62, 3443 (1940).