

А. М. КУЗИН и Н. Г. ДОМАН

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОСИНТЕЗА МЕТОДОМ ИОНОФЕРЕЗА

(Представлено академиком А. И. Опариным 23 II 1950)

Ионофорез широко применяется для введения в ткани различных ионов, начиная от простейших ионов минеральных солей и кончая сложными ионами органических соединений. В значительно меньшей степени ионофорез применялся для извлечения ионов из тканей. А. А. Шмук ⁽¹⁾ показал применимость этого метода для извлечения никотина и лимонной кислоты из мертвых табачных листьев. А. А. Шмуку и Г. С. Ильину ⁽²⁾ принадлежит разработка этого метода для извлечения витамина В₁ из клеток дрожжей.

Нам казалось перспективным применить метод ионофореза для изучения метаболизма живого листа растения. Применяя невысокое напряжение и малую силу тока, можно, не нарушая структуры листа, извлекать из него проходящие через полупроницаемую оболочку клеток ионы и тем самым следить за реакциями обмена, идущими в живом неповрежденном листе. Нам казалось особенно целесообразным применить этот метод для изучения фотосинтеза, как известно, особо чувствительного к нарушению морфологических структур. Для применения ионофореза была сконструирована аппаратура, изображенная на рис. 1.

Камеры для исследования образовывались путем складывания 5 рамок 16, сделанных из флинтгласа. Камеры 1 были предназначены для поддержания постоянной температуры и снабжены устройством для притока и оттока воды (не изображенном на чертеже). Наружная и внутренняя стенки камер 1 сделаны из стекла. Камера 4 отделялась от камер 2 и 3 целлофаном. Камера 4 наполнялась исследуемыми листьями и была снабжена капилляром, подводящим смесь угольного ангидрида с воздухом. Камеры 2 и 3 содержали пластинчатые платиновые электроды (10 × 7 см) и имели постоянный приток воды 15, удаляемой сифонами 6 и собираемой в анодный 7 и катодный 8 приемники. Все камеры скреплены 4 металлическими пластинками с винтовыми зажимами 5.

Остальные обозначения на рис. 1: 9 — источник света — 500-ваттная лампа, расположенная на расстоянии 20 см от исследуемых листьев,

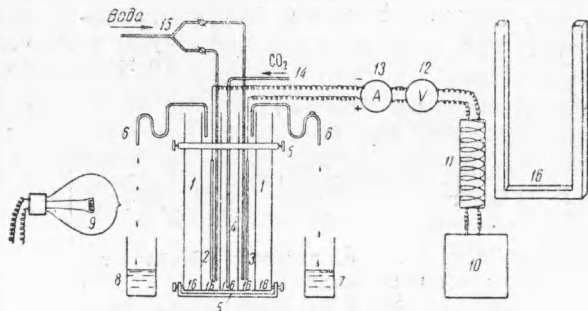


Рис. 1

Таблица 1

№ опытов	Характер испытания	Анодный раствор		Катодный раствор	
		свет	темнота	свет	темнота
1	рН среды	4	4	>8	>8
2		4	4	>8	>8
3		4	4	>8	>8
	Реакции на угле- воды:				
1	С α -нафтолом в конц. серной кислоте (экстинкция)	0,856	0,214	0,167	0,130
2		0,744	0,180	0,130	0,086
3		0,346	0,102	0,075	0,080
1	С резорцином в конц. серной кислоте (экстинкция)	0,283	0,080	0,075	0,065
2		0,602	0,086	0,050	0,065
3		0,236	0,086	0,065	0,020
1	С нафторезорцином в 18% соляной кислоте	Сильное покрасн.	Следы	Следы	Следы
2		То же	Нет	Нет	Нет
3		" "	"	"	"
1	То же, извлечение бен- золом	Фиолетово- бурое	Желто- бурое	Желто- бурое	Желто- бурое
2		То же	То же		
	Реакции восста- новления				
1	Восстановление раствора Фелинга	Следы	Нет	Нет	Нет
2		Нет	"	"	"
3		"	"	"	"
1	Восстановление раствора Фелинга после гидролиза Восстановление сулемы	Восстанавл.	"	"	"
2		Слабо восстанавл.	"	"	"
3		Энергично восстанавл.	Следы	Следы	Следы
1	Восстановление по Кемп- беллу (экстинкция)	1,30	0,28	0,30	0,24
2		1,10	0,16	0,15	0,06
3		0,45	0,09	0,12	0,07
	и на кето- кислоты				
1	С <i>n</i> -нитрофенилгидрази- ном при извлечении раство- ром соды	Положит.	Отрицат.		
2		"	"		
1	* На пировиноградную кис- лоту с салициловым альде- гидом	Нет	Нет		
2		"	"		
1	На глиоксилевую кисло- ту	Следы	"		
2		"	"		
1	Осадок с <i>n</i> -нитрофенил- гидразином после промыва- ния раствором соды дает со спиртовой щелочью	Чисто синее окрашив.	Бурое окрашив.		
1	Реакция по Фиске-Суба- роу на фосфорную кислоту	Нет	Нет	Нет	Нет
2		"	"	"	"

Таблица 1 (продолжение)

№ опытов	Характер испытания	Анодный раствор		Катодный раствор	
		свет	темнота	свет	темнота
1	Та же реакция после 30 мин. гидролиза с 1 N HCl	Нет	Нет		
1	Общий фосфор (после сжигания) (экстинкция)	0,21	0,19	0,22	0,30
1	Реакция на перекись с	Посинен.	В следах	В следах	В следах
2	KJ + крахмал	"	" "	" "	" "
1	Реакция на фенолы с хлорным железом	Отрицат.	Отрицат.		

10 — система аккумуляторов, 11 — реостат, 12 — вольтметр, 13 — амперметр. Ток воды в анодном и катодном пространстве был отрегулирован так, что за время опыта, длящегося 24 часа, как через анодное, так и катодное пространство протекало до 1000 мл воды.

Постановка опыта. В качестве исследуемого объекта брались листья водного растения рдеста остролистного (*Potamogeton perfoliatus*). Свежие листья в количестве 6,5 г загружались в камеру 4 параллельно плоскостям целлофана. Все камеры скреплялись винтами и заливались воском. После сборки прибора и установки равномерного тока воды через анодное и катодное пространство через систему пускался ток 0,5 ма, напряжением 6 в. Одновременно включалась лампа 9.

Освещение и соби́рание оттекающих от электродов растворов продолжалось 24 часа. Чтобы иметь суждение о том, какие метаболиты, извлекаемые этим путем, имеют непосредственное отношение к фотосинтезу, ставился аналогичный контрольный опыт при полном затемнении камер. Полученные анодные и катодные растворы, световые и темновые, сгущались в вакууме до 5 мл при температуре не выше 40° и после этого подвергались исследованию. Полученные результаты представлены в табл. 1.

Как видно из приведенных результатов, во время фотосинтеза ионофорез извлекает из листа вещества, отличные от веществ, извлекаемых в темновом опыте. Это различие наблюдается в анодном пространстве, т. е. относится к кислотам. Кислоты, образующиеся во время фотосинтеза, дают реакции, свойственные сахарам, кетокислотам. Они восстанавливают в кислой среде по Кемпбелу (3), восстанавливают окись серебра в аммиачном растворе и сулему, но плохо восстанавливают раствор Фелинга до их гидролиза в кислой среде.

Реакция на альдуроновые кислоты слабо положительна. Все сказанное заставляет предполагать, что в процессе фотосинтеза принимают непосредственное участие кислоты, производные углеводов. Предположение, что здесь образуются фосфаты сахаров, не подтвердилось, так как легко гидролизуемый фосфор не был обнаружен. Трудно гидролизуемый фосфор присутствует в одинаковом количестве в темновом и световом опыте. Также не удалось показать наличие пировиноградной кислоты, принимаемой рядом авторов за промежуточный продукт фотосинтеза. В следах обнаружена глиоксилевая кислота в световом опыте. Интересно, что при фотосинтезе в анодном пространстве присутствуют перекисные соединения, обнаруживаемые реакцией с иодистым калием.

Сопоставляя полученные данные с наблюдениями, известными из литературы (4-7), мы приходим к выводу, что не исключена возможность фиксации и восстановления угольного ангидрида на молекулах

простого или сложного углевода с образованием альдурановых кислот. Если допустить, что отщеплению восстановленного угольного ангидрида предшествует конденсация трех или шести его молекул (образование триозы и гексозы), то получение определенных оптических изомеров синтезируемых сахаров можно объяснить влиянием определенной оптической конфигурации тех углеводов, которые принимают участие в фотосинтезе.

Поступило
21 II 1950

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ А. А. Шмук, Сб. работ по химии табака, в. 6, 47 (1935). ² А. А. Шмук и Г. С. Ильин, Биохимия, 10, 155 (1945). ³ W. Campbell, Journ. Biol. Chem., 67, 59 (1926). ⁴ Е. А. Бойченко, ДАН, 64, 545 (1949). ⁵ S. Ruben, M. Kamen and W. Hassid, Journ. Am. Chem. Soc., 62, 3443 (1940). ⁶ A. Brown, E. Fager and H. Gaffron, Arch. Bioch., 19, 447 (1948). ⁷ А. М. Кузин и Р. И. Школьник, ДАН, 65, 527, 719 (1949).