

А. М. КУЗИН и Н. Г. ДОМАН

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОСИНТЕЗА МЕТОДОМ ИОНОФОРЭЗА

(Представлено академиком А. И. Опариним 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. Шмку 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 флинтгласса. 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, удалляемой 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,

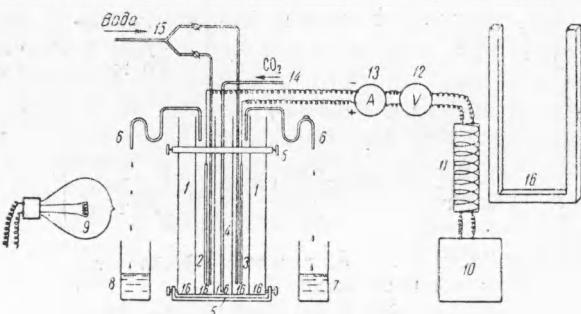


Рис. 1

Таблица 1

№ опытов	Характер испытания	Анодный раствор		Катодный раствор	
		свет	темнота	свет	темнота
1	pH среды	4	4	>8	>8
2		4	4	>8	>8
3		4	4	>8	>8
	Реакции на углеродные волды:				
1	С α-нафтолом в конц. серной кислоте (экстинкция)	0,856 0,744 0,346	0,214 0,180 0,102	0,167 0,130 0,075	0,130 0,086 0,080
1	С резорцином в конц. серной кислоте (экстинкция)	0,283 0,602 0,236	0,080 0,086 0,086	0,075 0,050 0,065	0,065 0,065 0,020
1	С нафтрезорцином в 18% соляной кислоте	Сильное покрасн. То же " "	Следы	Следы	Следы
2			Нет	Нет	Нет
3			"		
1	То же, извлечение бензоловым	Фиолетово-буровое То же	Желто-буровое То же	Желто-буровое	Желто-буровое
	Реакции восстановления				
1	Восстановление раствора Фелинга	Следы Нет "	Нет " "	Нет	Нет
2					
3					
1	Восстановление раствора Фелинга после гидролиза	Восстановл.	"	"	"
2	Восстановление сулемы	Слабо восстановл.	"	"	"
3	Восстановление окиси серебра в аммиачном растворе	Энергично восстановл.	Следы	Следы	Следы
1	Восстановление по Кемпбеллу (экстинкция)	1,30 1,10 0,45	0,28 0,16 0,09	0,30 0,15 0,12	0,24 0,06 0,07
	Реакции на кето-кислоты				
1	С n-нитрофенилгидразином при извлечении раствором соды	Положит. "	Отрицат. "		
1	На пировиноградную кислоту с салициловым альдегидом	Нет "	Нет "		
1	На глиоксилевую кислоту	Следы "	" "		
2					
1	Осадок с n-нитрофенилгидразином после промывания раствором соды дает со спиртовой щелочью	Чисто синее окрашив.	Бурое окрашив.		
1	Реакция по Фиске-Субару на фосфорную кислоту	Нет "	Нет "	Нет "	Нет "

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 KJ + крахмал	Посинен. "	В следах "	В следах "	В следах "
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 собирание 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 восстанавливаются 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 альдуроновых 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, Сборн. 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. Bloow, E. Fager and H. Gaffron, Arch. Bioch., 19, 447 (1948). ⁷ А. М. Кузин и Р. И. Школьник, ДАН, 65, 527, 719 (1949).