

М. С. БАРДИНСКАЯ

К ВОПРОСУ ОБРАЗОВАНИЯ ЛИГНИНА В РАСТЕНИЯХ

(Представлено академиком А. И. Опариным 4 V 1950)

Одревеснение растительных тканей — один из распространенных процессов, протекающих в живых растениях. Этот процесс приводит к качественным изменениям клеточных стенок, которые связывают с появлением в одревесневающих стенках нового компонента — лигнина. Одревеснение растительных тканей широко распространено среди древесных пород, у которых одревесневшие ткани занимают наибольшую часть растительного организма.

Химические исследования установили, что из лигнина спелой древесины могут быть выделены различные ароматические соединения (ванилин, сиреневый альдегид, протокатеховая кислота и некоторые производные фенилпропана⁽¹⁾). Аналогичные исследования ряда травянистых растений, проведенные в последнее время, показали, что из лигнина молодых растений могут быть получены ванилин и *n*-оксибензальдегид⁽²⁾.

Процесс образования лигнина в растениях вызывает в настоящее время большой интерес. В литературе имеются указания, что химический состав лигнина изменяется по мере развития растений. Одним из признаков изменения лигнина является увеличение в нем числа метоксильных групп (CH_3O). А. М. Палеев⁽³⁾ показал, что метоксильная группа присутствует в лигнине на всех стадиях развития соломины ржи, но процент содержания метоксильных групп увеличивается с возрастом с 4,1 до 15%.

Класон⁽⁴⁾, исследуя этиолированные ростки картофеля, не обнаружил в них обычных цветных реакций на лигнин, а выделенный из этих ростков препарат лигнина содержал лишь следы метоксильных групп. На основании этих данных Класон считал, что образование лигнина связано с процессом фотосинтеза.

Данные Класона были проверены Кратцлем⁽⁵⁾, получившим обычные цветные реакции на лигнин в этиолированных ростках картофеля. Лигнин, выделенный им из этих ростков, содержал, по его данным, 4,2—4,4% CH_3O и по другим признакам соответствовал лигнину взрослых растений. Кратцль считает, что образование лигнина не зависит от фотосинтеза.

Задачей нашего исследования являлось наблюдение (с помощью микрохимических и химических методов) над распространением одревеснения в растительных тканях. Мы исходили при этом из основного положения Т. Д. Лысенко⁽⁶⁾, что развитие растений связано с глубокими качественными изменениями, происходящими на каждой стадии и обуславливающими нормальный жизненный цикл растения.

В качестве объекта нами были выбраны световые и этиолированные ростки картофеля Лорх. По мере роста ростков исследовалось одревеснение сосудов в них микрохимическими реакциями и с помощью люминесцентного микроскопа.

Картофель проращивался в разные сроки (январь — декабрь, апрель — май, май — июнь). Срезы ростков световых и этиолированных делались по всей длине ростка, начиная от верхушки ростка к его основанию (зона корневых бугорков). Ростки всегда брались с верхушки клубня.

Полученные срезы окрашивались флороглюцином + H_2SO_4 по Бояркину (7), сернокислым анилином, сульфаниловой кислотой, сафранином + NH_3 + HCl (по Комарову) и, кроме того, неокрашенные срезы в глицерине просматривались в люминесцентном микроскопе. Эти исследования показали, что наиболее удобной для сравнительных данных является реакция с флороглюцином и H_2SO_4 , рекомендуемая А. Бояркиным. Интенсивность окраски увеличивается с возрастом и может быть отмечена по предложенной им шкале (см. табл. 1). Данные, приведенные в табл. 1, показывают, что при развитии ростков сосуды их одревесневают, т. е. приобретают способность к окрашиванию и люминесцируют в ультрафиолете, при этом не наблюдается отличия между этиолированными и световыми ростками.

Было также установлено, что с увеличением интенсивности флороглюциновой реакции увеличивается интенсивность люминесценции сосудов, которая изменяется от слабой зелено-голубой до яркой темно-голубой. Такое изменение люминесценции соответствует изменению интенсивности флороглюциновой реакции по шкале Бояркина от 1 до 5.

В разные месяцы проращивания одревеснение сосудов наступает в разные сроки, т. е. в зимние месяцы та же степень одревеснения наступала значительно медленнее, чем в весенние (табл. 1, №№ 5—6 и 12—13 для световых ростков и №№ 18—19 и 24—25 для ростков этиолированных).

Степень одревеснения оказывалась очень близкой в пределах одного периода развития для ростков световых и этиолированных, несмотря на то, что рост в длину у них значительно отличался.

В табл. 1 приводятся две цифры флороглюциновой реакции: первая соответствует интенсивности одревеснения сосудов в верхней части ростка, вторая — в нижней. Приведенные данные показывают усиление одревеснения от верхней части ростка к нижней.

Наши наблюдения дают возможность заключить, что одревеснение сосудов в ростках картофеля связано с общим развитием ростков.

Далее мы провели выделение препаратов лигнина из световых и этиолированных ростков картофеля сорта Лорх. Период роста с 11 V по 24 VIII 1949 г. Интенсивность окраски сосудов к концу этого периода (срок взятия пробы) соответствовала 3—5 (по шкале Бояркина) — одинаково для световых и этиолированных ростков.

Для выделения лигнина мы применяли метод Бонди и Майера как более мягкий. Сущность метода заключается в следующем. Измельченное растительное сырье извлекается эфиром, сушится и извлекается при нагревании 0,5 N NaOH. Экстракция многократная. Полученный щелочной экстракт упаривается в вакууме до небольшого объема, подкисляется, фильтруется. Полученный осадок растворяется в $NaOH + C_2H_5OH$ и раствор слабо подкисляется. Выпавший осадок отделяется. Полученный спиртовой раствор упаривается. Выпавший лигнин отделяется и повторно очищается растворением в NaOH и осаждением H_2SO_4 . Из осадков, содержащих гемицеллюлозы, последующей обработкой также получают лигнин.

Мы получили лигнин по этому методу, введя еще одну водную экстракцию после эфирной. Сырье извлекалось сначала эфиром, потом водой, высушивалось и обрабатывалось по указанному способу. После эфирной, водной и щелочной экстракции сырье анализировалось микрохимически и в люминесцентном микроскопе. В эфирном и водном экстракте, после соответствующей обработки, были обнаружены цветные

реакции, близкие к реакциям, даваемым веществами типа кониферина и ванилина.

Детальное исследование и выделение этих веществ составляет задачу дальнейшего исследования. В ростках, подвергшихся обработке эфиром и водой, не наблюдалось изменений в окраске сосудов и их люминесценции.

После щелочной экстракции сохранившие форму сосуды не окрашивались флороглюцином + H_2SO_4 и сернокислым анилином и давали нехарактерную от золотисто-желтой до желто-зеленой люминесценцию (см. табл. 2).

Таблица 1

Одревеснение сосудов ростков картофеля Лорх
(световых и этиолированных)

№№	Время исследования	Средн. т-ра помещения в °С	Возраст ростка в днях	Длина ростка в мм	Интенсивность флороглюциновой реакции (по Бояркину)* сосудов от верхн. части ростка к нижней
Ростки световые					
1	Декабрь—январь	12—14	1—2	3	0
2			6—8	4—4,5	0
3			14—16	8,5	0—2
4			27—30	12	1—3
5			30—40	13,5	2—4
6			56—58	16	3—5
7	Апрель—май	17—19	3—4	3—4	0
8			7—8	6—6,5	1—3
9			16—17	8—8,5	3—5
10	Май—июнь	20—25	3	3—4	0
11			5	5—6	1—3
12			9—10	8—9	2—4
13			14—16	11—12	3—5
Ростки этиолированные					
14	Декабрь—январь	12—14	2	5	0
15			8	10	0
16			21	19	0—2
17			30	20	1—3
18			48	25	2—4
19			60	30—28	3—5
20	Апрель—май	17—19	3—4	6—7	0
21			13—14	12—15*	2—4
22			17	15—18	3—5
23	Май—июнь	20—25	3—4	7—8	0
24			9—10	15—20	2—4
25			14—16	20—25	3—5

* 0 — оболочки бесцветные, 1 — чуть заметная розовая окраска, 2 — розовая окраска, 3 — несильная красная окраска, 4 — красная окраска, 5 — интенсивно красная окраска.

Из 15 г сухих ростков световых и такого же количества этиолированных было выделено 40—60 мг лигнина, что составляет 0,25—0,4% на сухой вес (необходимо отметить, что богатство крахмалом ростков создает затруднение при выделении и очистке и приводит к потерям).

Полученные лигниновые препараты представляют собой светлокориичневые аморфные порошки, легко растворимые в спиртовом растворе NaOH. Эти препараты, как и другие лигниновые препараты, выделенные при более жесткой обработке, не дают флороглюциновой реакции. Содержание метоксила в полученных нами препаратах около 3,5% как для световых, так и для этиолированных ростков (см. табл. 2).

Таблица 2

№№		Интенсивность флороглюциновой реакции сосудов ростков		Люминесценция сосудов ростков		Содержание $\text{C}_6\text{H}_4\text{O}$ в лигниновых препаратах
		до выделения лигнина	после выделения лигнина. экстракт лигнина NaOH по Бонди и Майеру	до выделения лигнина	после выделения лигнина экстракт. 0,5 N NaOH	
1	Ростки световые (целиком) 3,5-месячные	3—5	0	От яркой зелено-голубой до яркой темно-голубой	Яркая желто-зеленая	3,62 3,57
2	Ростки этиолированные (целиком) 3,5-месячные	3—5	0	От яркой зелено-голубой до яркой темно-голубой	Яркая желто-зеленая	3,28 3,47
3	Ростки этиолированные, 5-месячные	2	0	Неяркая зеленовато-голубая	Неяркая желто-зеленая	3,15 3,18
	а) верхняя часть б) нижняя часть	5	0	Яркая голубая	Яркая золотисто-желтая	3,91 4,01

Нами были получены также препараты лигнина из разных частей этиолированных ростков, выросших в подвале (период роста март — июль). Длина ростков достигала 1,5—2 м.

Были собраны отдельно верхняя часть ростков (интенсивность флороглюциновой реакции 2) и нижняя часть ростков (интенсивность флороглюциновой реакции 5). Из них получен лигнин описанным выше методом.

Данные по содержанию метоксильных групп в полученных лигниновых препаратах приведены в табл. 2. Полученные данные показали заметное увеличение метоксильного числа в нижней части ростка по сравнению с верхней. Из ростков было выделено до 2—3% лигнина на сухой вес. Содержание крахмала в этих ростках небольшое и потерь при выделении лигнина нет. Количество лигнина соответствует, в основном, количеству, полученному Бонди и Майером для зеленых молодых растений (1,5—4-месячных).

Проведенные нами исследования позволяют сделать следующие выводы.

1. Одревеснение растительных тканей является следствием тех сложных взаимосвязанных процессов, которые определяют развитие растения.

2. Разноречивые литературные данные (Класон, Кратцль) об одревеснении этиолированных ростков объясняется тем, что авторы не принимали во внимание физиологическое состояние ростков, взятых ими для исследования.

3. Свет не оказывает заметного воздействия на одревеснение сосудов ростков картофеля сорта Лорх.

4. Химический состав лигнина изменяется в процессе развития исследованных ростков картофеля.

Поступило
14 IV 1950

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ С. М. Манская, Автореферат диссертации, 1949. ² A. Bondy and H. Mueg, *Biochem. Journ.*, 2, 248 (1948). ³ А. М. Палеев, *Биохимия*, 2, в. 1, 3 (1937); 5, в. 1 (1940). ⁴ P. Klason, *Cellulosechemie*, 10 (1932). ⁵ K. Krazl, *Experientia*, IV, Fasc. 3, 110 (1948). ⁶ Т. Д. Лысенко, *Агробиология*, 1948. ⁷ А. Бояркин, *Тр. Ин-та нового луб. сырья*, 8, в. 1 (1934).