

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Д. М. МИХЛИН и К. В. ПШЕНОВА

**О МЕТОДЕ ВАКУУМ-ИНФИЛЬТРАЦИИ ПРИ ИЗУЧЕНИИ
КОРНЕВЫХ КАУЧУКОНОСОВ**

(Представлено академиком А. И. Опарным 19 V 1952)

Метод вакуум-инfiltrации, как известно, оказался очень полезным при изучении обмена веществ в растениях (1). Но практически применение его до сих пор было ограничено инfiltrацией в листовую пластинку или другие растительные ткани, обладающие достаточно развитым межклеточным пространством. Инfiltrирование жидкости в клубни или корни оказывается очень затруднительным. Изучение обмена веществ в таких органах по необходимости чаще всего производится в срезах или в растертой ткани (кашице). При этом резко меняются условия, связанные с присущей живой ткани структурой.

Инfiltrация в корень растения оказалась особенно необходимой при изучении обмена веществ у корневых каучуконосов. Опыты показали, что образование каучука идет в корнях каучуконосов, лишенных листьев (2). Следовательно, особенности обмена веществ, связанные с образованием каучука, следует искать, по крайней мере на некоторых этапах обмена, в корнях этих растений. Поэтому казалось интересным испытать метод инfiltrации в корень кок-сагыза.

Как показали опыты с раствором нитрита натрия, растворы самопроизвольно не проникают в толщу корня. Инfiltrировать удается лишь под давлением и лишь при определенных условиях, которые ниже приводятся.

Экспериментальная часть

Продольным разрезом каждый корень, после тщательного отмывания, делится на 2 видимо одинаковые половинки, которые нумеруются, раскладываются на фильтровальной бумаге плоскостями разреза кверху и оставляются в таком состоянии на 10—15 мин. При этом выступившая на поверхность жидкость (латекс) коагулирует и остается в фиксированном положении. Обычно 10 половинок служат для опыта, другие, соответствующие им по нумерации, для контроля. Опытные половинки корней погружаются в раствор вещества, превращение которого в корне подлежит исследованию. Контрольные инfiltrируются дистиллированной водой. Инfiltrация производится в вакуум-эксикаторе, защищенном предохранительной сеткой и присоединенном к масляному насосу. После разрежения, которое может быть не ниже 10—11 мм рт. ст., осторожно впускается воздух в эксикатор. Затем корни вынимаются, сушатся фильтровальной бумагой и оставляются на некоторое время — достаточное для того, чтобы введенное с раствором вещество могло вступить в реакцию. Если это время превышает 24 часа, то корни перед разрезанием должны быть стерилизованы 0,5% раствором гипохлорита

или другим каким-нибудь способом и затем тщательно отмыты. По истечении определенного времени корни контрольные и опытные подвергаются анализу на содержание того вещества или тех веществ, образование или превращение которых изучается. Для этого половинки корней фиксируются, сушатся при 60° и измельчаются. Из измельченной массы берется средняя проба.

Часто бывает достаточно взять пробу не из всей массы корней, а из отдельных сегментов. Высушенные половинки каждого корня складываются вместе, и затем вырезаются два одинаковых сегмента. Средние пробы берутся из опытных сегментов и из контрольных.

Возможность введения в корень кок-сагыза разных веществ описанным выше способом и распределение этих веществ в толще корня изучались нами посредством введения различных соединений. Здесь приведены данные по инфильтрации азотнокислого натрия.

Метод определения нитрита, как известно, отличается очень большой чувствительностью. В корни длиной 15—17 см инфильтрировался 0,0003 *M* раствор нитрита натрия. Через 10 мин. корни (половинки) разрезались на кусочки длиной по 3 см. Каждый кусочек взвешивался и анализировался после растирания с песком в 10 мл дистиллированной воды, фильтрования и осаждения уксуснокислым свинцом. При осаждении на каждые 4 мл фильтрата брались 2 мл 10% раствора уксуснокислого свинца. С реактивом Лунге обнаружены были следующие количества нитрита на 1 г сырого вещества в отрезках корня (по порядку от шейки корня): I—0,497 мг, II—0,440 мг, III—0,437 мг, IV—0,333 мг, V—0,353 мг. В контрольных пробах, инфильтрированных дистиллированной водой, нитрита обнаружено не было.

Как видно, нитрит распределяется по всей длине корня, но распределение это неравномерно. Содержание его уменьшается по мере удаления от шейки корня. Это снижение особенно заметно на участках, удаленных на 9—10 см от шейки корня. Повидимому, распределение вещества, введенного в корень, зависит от анатомической структуры корня.

Убедившись в распределении инфильтрируемого вещества по всей длине корня кок-сагыза, мы попытались изучить судьбу введенной уксусной кислоты, с которой связывают образование каучука в гваюле⁽³⁾.

Хорошо промытые корни, у которых верхушки были срезаны, погружались на 20 мин. в 0,5% раствор гипохлорита натрия. Они тщательно отмывались сперва водопроводной, затем дистиллированной водой, сушились фильтровальной бумагой и затем разрезались на половинки по длине корня. В 10 половинок инфильтрировалась смесь, состоящая из 0,25 *M* растворов уксуснокислых солей калия, натрия, магния и кальция в соотношении (объемн.) 5:5:1:1. В другие 10 срезов инфильтрировалась дистиллированная вода. Поглощено было в одном опыте 6,2 г жидкости опытными половинками и 12,1 г контрольными, в другом опыте, соответственно, 16,2 и 13,3 г. Четыре опытных половинки и соответствующие им контрольные исследовались на содержание летучих кислот. Остальные были перенесены в эксикатор, на дне которого находилась вата, смоченная водой, и хранились в темном подвале при температуре 10—11°. На 6-й день еще 8 корней исследовались на содержание летучих кислот.

Определение производилось следующим образом. Корни растирались с песком, экстрагировались 25 мл горячей воды. Извлечение повторялось еще дважды. Экстракты смешивались. К смеси добавлялся раствор $\text{Ba}(\text{OH})_2$ до щелочной реакции на фенолфталеин. Через час выпавший осадок нерастворимых бариевых солей был удален центрифугированием. К жидкости добавлялась серная кислота до полного удаления бария. Прозрачная жидкость концентрировалась на водяной

бане, подкислялась серной кислотой. Летучие кислоты отгонялись с водяным паром в присутствии сернокислого магния и окиси ртути (4). Всего отгонялось 4×100 мл жидкости, которая титровалась $N/50$ NaOH. При этом сумма всех летучих кислот принимается условно за уксусную, которая является преобладающей.

Как видно из табл. 1 и других наших опытов, корень кок-сагыза при определенных условиях содержит 0,4—0,9 мг летучих кислот на 1 г сырого веса, но он удерживает некоторое количество инфильтрированной кислоты.

Введенная уксусная кислота обнаруживается вскоре после инфильтрации, но исчезает полностью через 6 дней, когда содержание ее оказывается одинаковым в контроле и в опыте. Возможно, что для полного расходования ее потребовалось гораздо меньше времени, чем было предусмотрено в наших опытах (6 дней). Связь ее с каучукообразованием еще не установлена.

При изучении возможной связи между инфильтрированным в корень веществом и образованием каучука имеет большое значение вопрос о распределении углеводов в толще корня. Известно, что их распределение по длине корня неравномерно. Максимум содержания каучука наблюдается в отрезке, находящемся на расстоянии 10—12 см от шейки корня. Различие в содержании его в 2 симметричных половинках, полученных при разрезании корня по длине, выяснилось в следующих опытах.

30—40 корней разрезались по длине. Половинки оставлялись по 10—15 мин. плоскостями разреза кверху, затем фиксировались паром, высушивались при 60—65°, взвешивались и анализировались щелочным методом (5). Такие же определения производились в сырых корнях. При этом содержание углеводов в соответствующих половинках корней кок-сагыза оказалось:

На 1 г сух. веса: 7,98 и 7,64%; 7,84 и 8,01%; 7,44 и 7,22%.

На 1 г сыр. веса: 1,78 и 1,76%; 1,63 и 1,56%; 1,82 и 1,66%

Как видно из этих данных, в суммарном содержании углеводов (каучука и смол) в половинках, полученных разрезанием корня по длине, обнаружили очень небольшие различия, обычно не превышающие 2—4% по отношению к общему содержанию этих веществ.

Таким образом, проведенные нами опыты показали, что метод вакуум-инфильтрации в корень кок-сагыза позволяет изучить биохимические превращения различных веществ в корневых каучуконосах. Найдено, что введенная в корень уксусная кислота расходуется. Изучение путей превращения этой кислоты и возможной связи ее с образованием каучука составляет предмет наших дальнейших исследований.

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР

Поступило
14 IV 1952

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. Л. Курсанов, Биохимия, 1, № 3 (1936). ² А. А. Прокофьев, Локализация, образование и состояние каучука в растениях, М., 1948. ³ J. Wopner, Arch. Biochem., 21, 109 (1949). ⁴ T. E. Friedmann, J. Biol. Chem., 123, 161 (1937). ⁵ Культура каучуконосов в СССР, Сборн. под ред. Д. И. Филиппова, А. А. Ничипоровича и Д. М. Аксельрода, М., 1948.