

Heilbrunn (1928) leidis, et mõned raskemetallisoolad põhjustavad uute proteiiniterakeste tekkimist protoplasma hüaliinses põhimassis, mis pikemaajalisel mõjumisel viib valkainete täielikule väljasadestumisele.

Üldiselt on valkainete ühendid raskemetallisooladega ja hapetega kergesti denatureeruvad. Et valkude denaturatsioon ka temperatuuri tõstmisel kiiresti suureneb (Lepeschkin 1927), siis võib oletada, et valkude kuumuskoagulatsioon raskemetallisoolade lisandamisel tugevasti kiireneb, sest on ju valkude ühendid raskemetallisooladega ja hapetega kergemini denatureeruvad kui natiivsed valgud. Kuid teisest küljest on tähele pandud, et raskemetallisoolad võivad, peale kergesti denatureeruvate ühendite moodustamise, tihendavalt mõjuda eriti elusate rakkude protoplasmale, mille kandvam osa koosneb samuti valkudest. Selle tõttu on raskemetallisooladega võimalik rakkudes isegi plasmolüüsi esile kutsuda (Pringsheim 1924). Nähtavasti takistab kas plasma enese pindkile või raskemetallisoola poolt esilekutsutud tihendus soola edasist sissetungimist plasmasse ja seega seal kergesti denatureeruvate ühendite tekkimist.

Käesoleva töö eesmärgiks oli:

1) jälgida raskemetallisoolade ja hapete toimet plasma pindkillesse ja eriti nende ainete mõju taimeplasma koagulatsioonitemperatuurile ning

2) võrrelda raskemetallisoolade ja hapete toimet protoplasmasse nende toimega elututesse orgaanilistesse kolloididesse, nagu albumiin (*albumen ovi*), želatiin ja agar-agar, et jõuda selgusele, kuivõrd on õigusstatud elututel kolloididel esinevate nähtuste rakendamine raskemetallisoolade toime selgitamisel elusplasmasse.

Antotsüaani eraldumine kui protoplasma koagulatsiooni kriteerium.

Katseobjektina kasutati punase peedi (*Beta vulgaris*) tumepunase, nn. Egiptuse sordi juuretükikesi. Algava kuumuskoagulatsiooni tunnuseks oli antotsüaani hoogne eraldumine rakkudest.

Antotsüaani eraldumist on varemgi sageli protoplasma koagulatsiooni kriteeriumina kasutatud (vt. Nägeli 1855, Sachs 1892, Lepeschkin 1912, Collander 1924 jt.). Varasemad autorid leidsid, et antotsüaani eraldumine rakkudest toimub paralleelselt proto-

plasma denaturatsiooniga. Mikroskoobilisel kontrollil osutusid värvuse kaotanud rakud surnuteks.

Erineva seletuse antotsüaani eraldumisele annavad Hansteen-Craner (1922) ja Smits (1926). Hansteen-Craner väitis, et antotsüaani eraldumine on seotud vees lahustuvate fosfatiidide (resp. lipiidide) lahustumisega ja on tagasipöörduv — reversiibel — nähtus. Smits püüdis antotsüaani eraldumist seletada temperatuuri tõusuga kaasaskäiva permeaabluse suurenemisega. Ta väitis samuti, et antotsüaani eraldumine on tagasipöörduv nähtus, s. o. temperatuuri alandamisel antotsüaani eraldumine lakkab. Kuid Ramaer (1926) leidis Smits'i katsete kordamisel mikroskoobiliste preparaaside juures, et värvuse kaotanud rakud olid siiski juba surnud, mistõttu antotsüaani eraldumist tuleb pidada tagasipöördumatuks, irreversiiblikuks nähtuseks.

Kujutlus antotsüaani eraldumisest kui tagasipöörduvast nähtusest võis Hansteen-Craner'il ja Smits'il tekkida sellest, et peedi lõikude üleviimisel madalamale temperatuurile olid vigastatud ja vähema vastupanuvõimega rakud oma antotsüaani juba ära andnud, kuna vastupanuvõimelisemad rakud ei olnud selleks ajaks temperatuurist veel märgatavalt mõjustatud. Madalamale temperatuurile üleviimisel pidi selle tõttu ka antotsüaani eraldumine aeglustuma, sest madalatel temperatuuridel toimub plasma denaturatsioon pikaldaselt (Lepeschkin 1924). Seda näitavad ka Collander'i (1924) katsete tulemused. Ta määras oma katsetes aja, mille kestel pooled punase peedi rakud vastaval temperatuuril värvituks muutusid, ja leidis, et see on 45° C puhul ligikaudu sada korda pikem kui 55° C puhul. Värvuse kaotanud rakkude mikroskoobilisel uurimisel leidis ta need surnud olevat.

Kuigi antotsüaani eraldumise kohta valitsevad mitmesugused vaated, võib kokkuvõttes tänapäeval siiski tõestatuks pidada, et antotsüaani eraldumine saab toimuda ainult surnud taimerakkudest, mistõttu antotsüaani eraldumist on võimalik kasutada kriteeriumina taimeplasma koagulatsioonitemperatuuri määramisel. Arvestada võib siiski ainult massilist antotsüaani eraldumist, sest vähene eraldumine võib pärineda vigastatud või väheresistentsete rakkude plasma koagulatsioonist.

Metoodikast.

Punase peedi (*Beta vulgaris*) juurtest leidsid katsetel kasutamist ainult juurte keskmised osad, sest need osutusid nii morfoloogiliselt kui ka füsioloogiliselt kõige ühtlasemateks (vrd. Smits 1926). Üle-

mised ja alumised osad näitavad keskmiste osadega võrreldes koagulatsioonitemperatuuris väikesi lahkuminekuid.

Peale antotsüaanile läbilaskmatu plasmakile koaguleerumist toimub antotsüaani eraldumine rakkudest difusiooni teel. Teatavasti on aga difundeerinud aine hulk võrdeline difusiooniks vaba pinnaga, difusiooni kestusega ja kontsentratsioonide vahega. Omavahel võrreldavate andmete saamiseks tuli silmas pidada, et difundeerinud aine hulki määravad tegurid oleksid kõikidel katsetel võimalikult ühesugused.

Ühesuuruse difusioonipinna (sellega koos ka võrdse mahu ja ligikaudselt võrdse antotsüaanihulga) saamiseks valmistati hulgaliselt samamõdulisi peedilõikusi. Selleks lõigati peedijuure keskmisest osast hästi puhastatud, ühe cm läbimõeduga korgipuuri abil 1 kuni 1,5 cm kõrgused silindrikesed. Peale lühemaaegset veeshoidmist, mille jooksul silindrikesed muutusid täiesti turgestsentseiks, lõigati neist käsimikrotoomi abil 1 mm paksused kettakesed, millega saavutati ühtlane pind (ning maht) kõigile lõikudele.

Lõigud uhuti põhjalikult destilleeritud veega, kuni antotsüaani eraldumist enam märgata polnud, ja hoiti kuni tarvitamiseni klaaskupli all niiskel filterpaberil. Lõikude alalhoidmine vees ei ole soovitav, sest kestvam vees seismine mõjustab permeaablust (F i t t i n g 1915, 1917) ja ka koagulatsiooniaega (S m i t s 1926). Iga katseteseeria jaoks kasutati võrdset arvu lõikusi, harilikult 12 või 15. Kasutatud soolalahuse hulk oli igas katses 20 cm³.

Väljatunginud antotsüaanihulga kindlaksmääramiseks kasutas S m i t s kolorimeetrilist meetodit. Siin kirjeldatud katsete teostamiseks polnud see meetod sobiv, sest esiteks muutub väljatungiva antotsüaani värvusetoon olenevalt lisandatud soolast, eriti kõrgemal temperatuuril, ja teiseks pole antotsüaani eraldumine ühtlane, vaid muutub koagulatsioonitemperatuuri ületamisel järsku väga intensiivseks (L e p e s c h k i n 1912). Et siiski saavutada võrreldavaid andmeid, valmistati suurem hulk võrdlemisi kontsentreeritud standardlahust punase peedi antotsüaanist. Sellest standardlahusest võeti iga katse kontrolliks 10 cm³ ja lisandati sellele 10 cm³ vastavat soolalahust, nii et soolalahuse kontsentratsioon oli antotsüaanilahuses samasugune kui katseklaasis peeditükikestega. Mõlemaid katseklaase soojendati kõrvuti ühes ja samas soojendusanas. Katseklaas antotsüaanilahusega oli võrdluseks, sest ta sisaldas igal katsel samasuguse hulga antotsüaani. Koagulatsioonitemperatuurina arvestati seda temperatuuri, mille puhul

saavutati juurelõikudega katseklaasis antotsüaani väljadifundeerimise tagajärjel samasugune värvusetoon kui kontroll-lahusel.

Koagulatsioonitemperatuuri määramine toimus klaasseintega vaskveenõus, mida soojendati gaasileegil. Vee ühtlane soojenemine saavutati elektrimootoriga ringiaetava segaja (propelleri) abil. Iga katset alustati toatemperatuurilise veega ja temperatuuri tõsteti pidevalt kuni koaguleerumispunktini.

Valkainete koagulatsioonitemperatuuri määramisel soovitas Wo. Ostwald kasutada nn. normaalset temperatuuritõusu kiirust, s. o. temperatuuritõusu 1° C võrra minutis. Et aga valkainete, samuti ka protoplasma põhiainese — vitaproteiidide denaturatsiooni kiirus temperatuuri tõusul, eriti kõrgematel temperatuuridel, väga kiiresti suureneb, siis osutub normaalne temperatuuritõusu kiirus liiga aeglaseks. Et denaturatsiooniga kaasuvad ka muutused rakkude permeaabluses, saaksime kujutluse liiga madalatest koagulatsioonitemperatuuridest, mille puhul plasma valgud veel tegelikult koaguleerunud ei ole (Lepeschkin 1935). Arvestades eeltoodut kasutati käesolevas töös kaks korda kiiremat temperatuuritõusu, s. o. 2° C minuti kohta. See kiirus võimaldab täpset võrdlust kontroll-lahusega ja õigeaegset temperatuuri äramärkimist.

Katsete tulemused.

1. Soolade kontsentratsiooni mõju koagulatsioonitemperatuurile. Nagu tabelites 1 ja 2 toodud andmetest nähtub, ei avalda raskemetallisoolad väga nõrkades kontsentratsioonides koagulatsioonitemperatuurile märgatavat mõju. Nende mõju ilmneb selgesti alles 0,01-moolise kontsentratsiooni korral ja tõuseb kontsentratsiooni suurenedes võrdlemisi kiiresti. 0,1-moolise kontsentratsiooni puhul on koagulatsioonitemperatuur Zn-nitraadi ja Zn-sulfaadi mõjul, võrrelduna kontrollkatsega, tõusnud $4,6^{\circ}$ C võrra, 0,01-moolise kontsentratsiooniga Zn-nitraadi lahuses aga $2,1^{\circ}$ ja Zn-sulfaadi lahuses ainult $1,3^{\circ}$ C võrra. Sellest nähtub, et Zn-soolad mõjuvad plasmale tihendavalt alles võrdlemisi tugevates kontsentratsioonides, kuna nõrkades kontsentratsioonides seesugune toime puudub. Põhjuseks võib siin olla kas lahjadest Zn-soolade lahustest liiga vähene katiooni adsorbeerimine plasma pinnakihtide poolt või nõrkades lahustes toimuva tugeva hüdrolüüsi tagajärjel vabanenud happe vastupidine mõju katiooni tihendavale toimele.

Et Zn-soolade mõju avaldub kõige tugevamini 0,1-moolise kontsentratsiooni puhul, siis korraldati järgnevad katsed peamiselt selle kontsentratsiooniga. (Palju kõrgemaid kontsentratsioone polnud võimalik kasutada, sest need kutsusid osas rakkudes esile plasmolüüsi, plasmolüüsitud rakkude resistentsus ultramaksimum-temperatuuril on aga tunduvalt erinev plasmolüüsimata rakkude resistentsusest. Üldiselt on

Tabel 1.

Zn-nitraadi kontsentratsiooni mõju punase peedi koagulatsioonitemperatuurile.

Kontsentratsioon moolides	Koagulatsioonitemperatuur					
	I	II	III	IV	V	Keskmine
0,0	62,5	62,5	62,3	63,0	62,6	62,6
0,0001	62,2	62,9	62,3	62,5	62,7	62,5
0,001	63,5	63,9	63,3	63,7	63,9	63,7
0,01	65,1	63,9	64,8	64,8	64,9	64,7
0,1	67,1	67,5	67,3	67,3	67,0	67,2

Tabel 2.

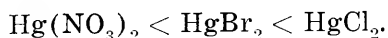
Zn-sulfaadi kontsentratsiooni mõju punase peedi koagulatsioonitemperatuurile.

Kontsentratsioon moolides	Koagulatsioonitemperatuur					
	I	II	III	IV	V	Keskmine
0,0	62,5	62,5	62,3	63,0	62,6	62,6
0,0001	61,9	62,4	62,3	62,6	62,7	62,4
0,001	63,1	62,4	—	62,6	62,5	62,5
0,01	63,8	64,5	63,4	64,0	63,5	63,8
0,1	67,5	67,1	67,2	66,9	67,1	67,2

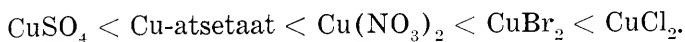
plasmolüüsitud rakkude koagulatsioonitemperatuur mõnevõrra madalam kui plasmolüüsimata rakkudel.

2. Raskemetallisoolade aniooni mõju koagulatsioonitemperatuurile. Raskemetallisoolade toime kohta taimedesse leidub erialalises kirjanduses rohkesti andmeid. Suurem osa neist käsitleb raskemetallisoolade stimuleerivat mõju. Kuid peaaegu kõikides vanemates töodes selgitatakse peamiselt raskemetallide katiooni toimet, kuna raskemetallisoolade aniooni mõju kohta leidub ainult üksikuid juhuslikke märkusi. Nii leidsid Paul ja Krönig

(1896), et Hg-soolade mürgine mõju bakteritele suureneb vastavalt järgnevale reale:



C o u p i n (1898) tõestab, et vesikultuurides Cu-soolade mõju kõrreliste suureneb järgneva mürgisuserea järgi:



Välja arvatud veel mõned juhuslikud tähelepanekud mürgisuse sõltuvuse kohta dissotsiatsiooni suuruselt, on see peaaegu kõik, mida leiame vanemate uurijate töödest raskemetallisoolade aniooni toime kohta. Üldiselt valitses arvamus, et raskemetallisoolade aniooni mõju on katiooni mõjuga võrreldes nii väike, et see katiooni toime poolt varjatuna üldse esile kerkida ei saa (K a h o, 1921, 1922).

T a b e l 3.

Zn-soolade mõju punase peedi koagulatsioonitemperatuurile. Soolalahuste kontsentratsioon 0,1 mooli.

Sool	Koagulatsioonitemperatuur					Keskmine
	I	II	III	IV	V	
Kontroll	62,5	62,5	62,3	63,0	62,6	62,6
ZnBr ₂	69,1	69,8	69,3	69,0	69,2	69,3
ZnCl ₂	67,6	68,1	68,0	67,9	68,9	68,1
Zn(NO ₃) ₂	67,0	67,4	67,2	67,2	66,9	67,1
ZnSO ₄	67,5	67,1	67,2	66,9	67,1	67,2
Zn-atsetaat	67,4	67,5	67,8	67,4	67,1	67,4

Uuematest töödtest käsitlevad raskemetallisoolade aniooni mõju T a l t s (1932) *Penicillium glaucum*'ile ja K a h o (1933) punase kapsa epidermisele. Nagu neist töödtest nähtub, on raskemetallisoolade mõju selgesti eristatav. K a h o andmetel suureneb raskemetallisoolade mürgine mõju, analoogiliselt neutraalsooladega, vastavalt anioonide lüotroopsele reale, kusjuures kõige mürgisemaiks osutuvad rodaniidid ja bromiidid. Anioonide toimes *Penicillium glaucum*'i eoste idanemisesse seesugust järjekindlust konstateerida ei saa, sest raskemetallisoolade anioonide mõju oleneb seal suuresti katsetatavate soolade kontsentratsioonist ja võib mõne kontsentratsiooni puhul olla peaaegu vastupidine lüotroopsele reale.

Raskemetallisoolade aniooni mõju jälgimisel koagulatsioonitempe-

ratuurile kasutati mitmesuguste anioonidega Zn-soolasid 0,1-moolises kontsentratsioonis, sest selle kontsentratsiooni puhul on, nagu nähtus tabelitest 1 ja 2, soola mõju kõigist katsetatud kontsentratsioonidest kõige tugevam. Katse tulemused on toodud tabelis 3.

Nagu toodud tabelist selgub, esineb teiste sooladega võrreldes ainult halogeensoolade — kloriidide ja bromiidide — lahustes koagulatsioonitemperatuuris väike erinevus. Nimelt tõuseb halogeensoolade toimel koagulatsioonitemperatuur 1—2° C võrra. Sellele koagulatsioonitemperatuuri tõusule tuleb vaadata kui suhteliselt tähtsusetule, kuid see esineb järjekindlalt, nagu näitasid vastavad kontrollkatsed. Nitraadi, sulfaadi ja atsetaadi mõjus temperatuuri tõusule pole erilisi lahkuminekuid märgata. Zn-bromiidi ja Zn-kloriidi lahustes on antotsüaan värvunud pisut kollakaks, Zn-atsetaadi lahuses kollakasroheliseks. See kollakasroheline värvus on väga sarnane leeliste mõjul esilekutsutud värvusemuutusega.

Kõik Zn-soolad põhjustavad aga, võrreldes kontrollkatsega vees, võrdlemisi tugevat koagulatsioonitemperatuuri tõusu.

Pisut suurem on vahe koagulatsioonitemperatuuris Zn-bromiidi ja Zn-sulfaadi vahel 0,01-moolise kontsentratsiooni korral (tab. 4).

T a b e l 4.

Zn-soolade mõju punase peedi koagulatsioonitemperatuurile. Soolalahuste kontsentratsioon 0,01 mooli.

Sool	Koagulatsioonitemperatuur					
	I	II	III	IV	V	Keskmine
Kontroll	62,5	62,3	63,0	62,5	62,6	62,6
ZnBr ₂	67,1	66,9	66,7	67,0	66,8	66,9
ZnSO ₄	63,4	64,5	63,8	64,0	63,5	63,8

Siin esineb samasugune kontsentratsiooniefekt nagu Zn-soolade toimes *Penicillium glaucum*'i eoste idanemisesse (Talts 1932). Ka siin nähtub, et anioonide mõju ei ole proportsionaalne soola kontsentratsiooniga, vaid iga anioon toimib iga kontsentratsiooni puhul isesuguselt. Kontsentratsiooni suurendamine võib ühe aniooni mõju tugevasti tõsta, kuna see teise aniooni toimele ainult vähe mõju avaldab. See vahekord ei tarvitse aga konstantne olla, ja edasine kontsentratsiooni suurendamine võib anioonide toimele täiesti ümberpöörduvalt mõjuda. Nii näeme, et tsinkbromiid 0,01-moolise kontsentratsiooni puhul tõstab

koagulatsioonitemperatuuri kontrollkatsega võrreldes 4,3° C, samal ajal kui tsinksulfaat põhjustab ainult 1,2° C tõusu. Suurendades aga kontsentratsiooni 0,01 moolilt kuni 0,1 moolini, mõjustab Zn-bromiid koagulatsioonitemperatuuri tõusu 2,4° C võrra, Zn-sulfaat aga 3,4° C võrra. Siin näeme Zn-bromiidi mõju suuremat juurdekasvu nõrgemates kontsentratsioonides, Zn-sulfaadil aga tugevamates.

Järgnevalt katsetati Co-bromiidi (CoBr₂) ja Co-sulfaadi (CoSO₄) lahustega. Et Co-soolad ise on värvilised, oli võimalik katsetada võrdlemisi nõrkade soolalahustega. Nende soolade 0,01-moolise kontsentratsiooni mõju koagulatsioonitemperatuurile näitab tabel 5.

Tabel 5.

Co-soolade mõju punase peedi koagulatsioonitemperatuurile. Soolalahuse kontsentratsioon 0,01 mooli.

Sool	Koagulatsioonitemperatuur					
	I	II	III	IV	V	Keskmine
Kontroll	62,3	62,9	63,1	62,6	62,3	62,6
CoBr ₂	62,5	63,1	62,8	62,6	63,0	62,8
CoSO ₄	62,5	62,6	61,5	63,0	62,8	62,5

Nagu tabelis toodud andmetest nähtub, ei mõjusta katsetatud Co-soolad 0,01-moolises kontsentratsioonis üldse koagulatsioonitemperatuuri ja kuumuskoagulatsioon toimub samal temperatuuril kui kontrollkatse puhul. Co-bromiidi lahuses on antotsüaani värvus ainult pisut kollakam normaalsest.

Üldiselt näivad Co-soolad raskemetallisoolade hulgas omavat erikohta. Nii andsid peedilõigud, mis mõned päevad olid seisnud Co-soolade lahustes, hiljem teiste plasmolüütikumidega korrapärase plasmolüüsi. Ka ei kutsu Co-soolad, vastandina teistele raskemetallisooladele, kanamuna albumiini koagulatsiooni esile. Võib-olla on seesugune Co-soolade erinev toime tingitud sellest, et nad ei anna valkudega kindlaid, s. o. mittedissotsieeritud ühendeid (Schorn 1928) ega võta selle tõttu märgatavalt osa ka protoplasma denaturatsioonist.

3. Hapete mõju punase peedi kuumuskoagulatsioonile. Et raskemetallisoolade lahustes tekib hüdrolyüsi tagajärjel alati ka pisut vaba hapet, siis on oodata, et koagulatsioonitemperatuuri mõjustavad ka tekkinud happe hulk ja happe anioon. Happe mõju kindlaksmääramiseks korraldati katsed sool- ja väävelhappega

mitmesugustes kontsentratsioonides. Tulemused on toodud tabelites 6 ja 7.

Katsete resultaatidest selgub, et ekvimolaarsetest happelahustest mõjub väävelhape tugevamini koagulatsioonitemperatuuri alandavalt kui soolhape. Väävelhappe temperatuuri alandav mõju on eriti nõrge-

T a b e l 6.

Soolhappe mõju punase peedi kuumuskoagulatsioonile.

Kontsentratsioon moolides	Koagulatsioonitemperatuur					
	I	II	III	IV	V	Keskmine
0,0	62,0	62,6	62,4	62,0	62,6	62,3
0,0001	61,0	61,2	61,5	61,0	60,8	61,1
0,001	58,6	58,3	58,9	58,6	58,9	58,7
0,005	45,0	45,3	45,4	46,1	44,4	45,2
0,01	43,0	43,1	42,6	42,1	41,8	42,5
0,1	koagulatsioon toatemperatuuril peaaegu kohe					

T a b e l 7.

Väävelhappe mõju punase peedi kuumuskoagulatsioonile.

Kontsentratsioon moolides	Koagulatsioonitemperatuur					
	I	II	III	IV	V	Keskmine
0,0	62,8	62,0	62,8	61,6	61,5	62,1
0,0001	60,9	60,6	61,4	60,2	60,6	60,7
0,001	50,4	51,2	51,4	49,6	49,9	50,5
0,005	39,6	39,6	40,0	40,2	40,2	39,9
0,01	32,5	32,7	32,3	32,5	32,2	32,4

mates kontsentratsioonides tugevam, nii et see ei või tingitud olla ainuüksi suuremast H-ioonide hulgast neis. Kuid ka tugevamate kontsentratsioonide puhul on vahe silmapaistev. Vahe jääb püsima ka ekvinnormaalsetes lahustes. Nii on 0,01-moolise soolhappega ekvinnormaalsetes 0,005-moolises väävelhappes keskmine koagulatsioonitemperatuur 39,9° C, 0,01-moolises soolhappes aga 42,5° C. Sellest järeldub, et Cl-ioonid avaldavad H-ioonidele tugevamat antagonistlikku mõju kui SO₄-ioonid.

Ka hapete koaguleeriva toime suurenemine ei ole võrdeline nende kontsentratsiooni suurenemisega. Samuti kui raskemetallisoolade puhul,

esineb ka hapetel teatavas kontsentratsioonis happe mõju järsk tõus. Nii põhjustab soolhape tugeva koagulatsioonitemperatuuri alanemise 0,005-moolise, väävelhape aga 0,001- ja 0,005-moolise kontsentratsiooni puhul.

4. Raskemetallisoolade ja hapete mõju albumiini kuumuskoagulatsioonile. Teatavasti on protoplasmas denatureeruvaks ja kuumuse mõjul koaguleeruvaks komponendiks peamiselt mitmesugused valkained. Seetõttu võiks oodata teatavat paralleelismi raskemetallisoolade toimes protoplasma ja valkude vahel. Mõningate teiste nähtuste ning biokolloidide vahel on seesugust paralleelismi ka tähele pandud. Nii leidis K a h o (1933) võrdlemisi suure sarnasuse raskemetallisoolade mürgisuse ja nende mõju vahel agar-agar'i paisumisele; nimelt mõjusid paisumist soodustavad soolad mürgisemalt ka taime rakkudele.

T a b e l 8.
Zn-soolade mõju albumiini koagulatsioonitemperatuurile.

Sool	Kontsentratsioonmoolides	Koagulatsioonitemperatuur					
		I	II	III	IV	V	Keskmine
Kontroll	—	54,5	54,7	54,5	54,0	54,8	54,5
ZnBr ₂	0,0001	54,8	54,7	54,9	55,0	54,8	54,8
"	0,001	48,4	48,5	48,5	48,0	48,6	58,4
ZnCl ₂	0,0001	54,5	54,7	54,0	54,9	54,5	54,5
ZnSO ₄	0,0001	54,4	54,5	54,4	54,0	55,0	54,5
"	0,001	47,5	48,5	48,6	47,6	48,0	48,2

Katseteks kasutati puhast muna-albumiini (*albumen ovi* Merck) 2%-list lahust 0,7%-lises keedusoolalahuses. Keedusoola lisandamine takistab albumiini želatineerumist, mis muidu soola lisandamisel ja soojendamisel kergesti esile tuleb (H e y m a n n ja O p p e n h e i m e r 1928). Ka tõstab keedusoola lisandamine koagulatsioonitemperatuuri. Nii on puhta albumiini koagulatsioonitemperatuur ca 50,2° C, 0,7%-lises keedusoolalahuses aga keskmiselt 54,5° C.

Zn-sooladest on võimalik kasutada ainult tugevasti lahjendatud lahuseid, sest tugevama kontsentratsiooni puhul kutsuvad nad otsekohe esile albumiini sadestumise. Co-soolad võis seevastu kasutada igasuguses kontsentratsioonis, sest need üksinda albumiini koagulatsiooni esile ei kutsu. Paremal juhul esineb ainult vaevaltmürgatav opalestsents. Samasugune nähtus ilmneb Ni-soolade puhul. Alkoholi abil on võima-

lik albumiini Co-soolade lahustest niisama hästi välja sadestada kui puhtast albumiinilahusest.

Nagu katsete tulemused näitavad, põhjustavad Zn-soolad juba 0,001-moolises kontsentratsioonis albumiini koagulatsioonitemperatuuri märgatavat alanemist, kuna nad samas kontsentratsioonis on punasele peedile mõjuta või põhjustavad väikest koagulatsioonitemperatuuri tõusu. Tugev koagulatsioonitemperatuuri tõus esineb aga siis, kui albumiinile lisandada Zn-sulfaati liiaga, nii et tekkinud sade uuesti lahustub. Soojendamisel toimub siis algul albumiini želatineerumine. Teiskordselt ilmub sade alles 65,6° C temperatuuril. Kas siin toimub kolloidse albumiini ümberlaadimine Zn-ioonide toimel või annab Zn-sulfaat albu-

T a b e l 9.
Co-soolade mõju albumiini koagulatsioonitemperatuurile. Soolalahuse kontsentratsioon 0,1 mooli.

Sool	Koagulatsioonitemperatuur					
	I	II	III	IV	V	Keskmine
Kontroll	54,5	54,7	54,5	54,0	54,8	54,5
CoBr ₂	51,7	51,3	51,7	51,5	51,6	51,5
CoCl ₂	56,8	56,5	56,0	57,1	56,6	56,6
Co(NO ₃) ₂	51,0	52,0	51,7	51,5	51,2	51,5
CoSO ₄	56,1	55,9	56,3	55,8	56,0	56,0
Co-atsetaat	55,4	55,5	55,4	55,1	55,9	55,5

miiniga ühendi, mille kuumusresistentsus on suurem kui puhtal albumiinil, on esialgu selgusetu. Tõenäolisem on viimane oletus, sest mitte kõigi raskemetallisoolade, samuti ka hapete lisandamisel liiaga ei toimu tekkinud sademe lahustumist, mis viitaks albumiini ümberlaadimisele katiooni toimet.

Co-sooladest mõjuvad Co-kloriid, Co-sulfaat ja Co-atsetaat albumiinile koagulatsioonitemperatuuri pisut tõstvalt, Co-bromiid ja Co-nitraat aga seda veidi alandavalt. Seesugusele Co-soolade omapärasele toimele on praegu vaevalt võimalik rahuldavat seletust anda. On tähelepanuväärne, et seesugused ebakorrapärasused Co-soolade anioonide toimes esinevad ka teistes bioloogilistes protsessides, nagu kolloidide paisumine, mürgisus (K a h o 1933) ja hallitussente eoste idanemine (T a l t s 1932). Seejuures on Co-soolade toimele sageli mõõduandva tähtsusega kasutatud soola kontsentratsioon, mille muutmisega muutub ka aniooni toime.

Hapete mõju muna-albumiini koagulatsioonitemperatuurile (tab. 10 ja 11) on sarnane hapete mõjuga punasele peedile. Punasel peedil põhjustavad happed siiski nii suhteliselt kui ka absoluutsetes arvudes palju suuremat koagulatsioonitemperatuuri alanemist kui albumiinil. Edasi on tähelepanuväärne, et soolhappe ja väävelhappe toimes albumiinis ei ole nõrgemates kontsentratsioonides märgata üldse mingisugust

Tabel 10.
Soolhappe mõju albumiini kuumuskoagulatsioonile.

HCl moolides	Koagulatsioonitemperatuur					
	I	II	III	IV	V	Keskmine
Kontroll	54,5	54,7	54,5	54,0	54,8	54,5
0,0001	53,0	53,5	53,3	53,1	52,9	53,2
0,001	52,6	52,4	52,0	52,8	52,5	52,5
0,005	48,4	48,5	48,8	48,0	48,4	48,4
0,01	46,8	47,0	46,2	46,9	46,4	46,7

Tabel 11.
Väävelhappe mõju albumiini kuumuskoagulatsioonile.

H ₂ SO ₄ moolides	Koagulatsioonitemperatuur					
	I	II	III	IV	V	Keskmine
Kontroll	54,5	54,7	54,5	54,0	54,8	54,5
0,0001	53,1	53,5	53,0	52,8	53,2	53,1
0,001	52,2	52,6	52,0	52,1	52,7	52,3
0,005	48,3	48,6	48,9	48,1	48,1	48,4
0,01	41,2	41,5	41,7	41,0	41,3	41,3

vahet, nagu see esines nende mõjus peedilõikude koagulatsioonitemperatuurile. Näib, et hapete anioonid nõrgemates kontsentratsioonides, vastupidiselt elusale protoplasmale, albumiinilahustes happealbumiini tekkimisele ja selle denatureerumisele temperatuuri mõjul mingisugust mõju ei avalda.

5. Aluminiumi mõju punase peedi kuumuskoagulatsioonile. Omapärane on Al-kloriidi (AlCl₃) mõju punase peedi koagulatsioonitemperatuurile, eriti Zn-soolade juuresolekul (tab. 12).

Al-kloriidi lahus üksinda põhjustab juba väga nõrgas kontsentrat-

sioonis (0,001 mooli) märgatavat koagulatsioonitemperatuuri alane- mist. Seejuures ei avalda Al-kloriidi kontsentratsiooni suurendamine enam mingisugust mõju koagulatsioonitemperatuuri edasisele alanemi- sele. Kombineeritud lahustes koos Zn-kloriidiga või Zn-sulfaadiga alan- dab Al-kloriid tugevasti nende soolade poolt põhjustatud koagulatsiooni- temperatuuri tõusu. On märkimisväärne, et juba minimaalne Al-klo- riidi lisandamine säilitab peedilõikudel Zn-kloriidi ja Zn-sulfaadi lahus- tes nende normaalse värvuse, mis puhastes Zn-soolade lahustes tavali- selt muutub pruunikaspunaseks. Teisest küljest põhjustab Al-kloriidi lisandamine aga peedilõikude kiiremat värvusekaotust (denaturat- siooni) toatemperatuuril kui puhas Zn-kloriid.

Tabel 12.

Alumiiniumkloriidi ja tsink-kloriidi mõju punase peedi koagulatsioonitemperatuurile.

Soolad	Koagulatsioonitemperatuur					
	I	II	III	IV	V	Kesk- mine
Kontroll	61,8	62,4	62,3	62,6	62,0	62,2
0,1 mooli ZnCl ₂	67,6	68,1	67,9	68,5	68,2	68,1
0,1 mooli AlCl ₃	58,2	57,8	58,0	57,7	58,3	68,0
0,1 mooli ZnCl ₂ + + 0,01 mooli AlCl ₃	62,0	62,2	62,7	62,3	61,6	62,2
0,1 mooli ZnCl ₂ + + 0,001 mooli AlCl ₃	63,0	63,5	64,0	63,5	62,8	63,4
0,001 mooli AlCl ₃	58,0	58,2	58,1	58,5	58,0	58,2

Üldiselt omistatakse Al-kloriidile kaitsvat mõju vesinik-ioonide toime vastu (L e p e s c h k i n 1927). Käesoleval juhul on aga alumi- niumi mõju mitmeti erinev, sest kui alumiinium mõjuks ainult vesinik- ionide toimele allasuruvalt, siis oleks Al-kloriidi lisandamisel oodata Zn-soolade mõjul veel suuremat koagulatsioonitemperatuuri tõusu neile vastupidiselt mõjuvate vesinik-ioonide toime allasurumise tagajärjel. Et aga koagulatsioonitemperatuur Al-kloriidi lisandamisel tunduvat alaneb, siis peab oletama, et alumiinium mõjustab peamiselt raske- metallisoola katiooni toimet. Milles see mõjustamine seisneb, seda peav- dad selgitama edaspidised sellekohased katsed. Katsed kombineeritud Zn- ja Al-soolade lahustega näitavad, et hüdrolüüsi tagajärjel vaba- nenud hape vähemalt Zn-soolade puhul vaevalt mõjustab koagulat- sioonitemperatuuri. Selle oletuse poolt kõnelevad ka katsetatud soola- lahuste *pH* määramised. Seose puudumist lahuste ja *pH* väärtuste ning nende mürgisuse vahel märgib ka K a h o (1933).

6. *pH* muutumine taimekoe ja mõnede orgaaniliste kolloidide toimetel. Ülevaate saamiseks soolade hüdrolüüsiastmest ja selle muutumisest määrati nende lahuste happesuseaste. Happesuseastme määramine toimus elektromeetriliselt, küllastatud kalomel-elektroodiga. Algul määrati puhaste soolalahuste *pH*. Et

Tabel 13.

pH muutumine Zn-soolade lahustes punase peedi lõikude ja orgaaniliste kolloidide toimetel. Soolade kontsentratsioon 0,1 mooli. Peedilõikude arv 40.

Keskkond	<i>pH</i> määratud	Kontroll (vesi)	ZnBr ₂	ZnCl ₂	Zn(NO ₃) ₂	ZnSO ₄	Zn-atsetaat
Soolalahus 0,1 mooli	katse algul	6,15	5,41	3,83	4,79	4,77	6,35
	24 t. järel	6,21	5,36	3,80	4,65	4,62	6,19
Peedilõigud	katse algul	6,41	5,38	5,00	5,09	5,74	6,31
	24 t. järel	5,90	4,51	4,49	4,51	4,72	5,80
Albumiin 2 %	katse algul	6,45	5,28	5,20	5,55	5,60	6,10
	24 t. järel	7,05	5,34	5,25	5,41	5,53	6,05
Zelatiin 0,5 %	katse algul	6,16	5,60	4,91	4,98	5,04	6,19
	24 t. järel	6,41	5,47	4,77	4,79	4,81	6,14
Agar-agar 0,05 %	katse algul	5,88	5,20	3,81	4,55	4,70	6,29
	24 t. järel	6,24	5,07	3,86	4,51	4,65	6,27

juurelõigud aga võivad lahuste *pH* väärtust kas adsorptsiooni või protoplasma välimistes kihtides dissotsieerumata soolalühendite tekkimise tagajärjel oluliselt muuta, siis määrati *pH* suurus ka katse algul ja peale 24 tunni möödumist. Erilist tähelepanu pöörati sellele, et juuretükikeste adsorbeeriv pind oleks kõikide katsete puhul võimalikult ühesuurune. Juurelõigud valmistati samal viisil nagu koagulatsioonitem-

peratuuri katseteks. Iga katse jaoks võeti 30—40 lõiku. Samal viisil jälgiti *pH* muutumist 2%-lises albumiini-, 0,5%-lises želatiini- ja 0,05%-lises agar-agari-lahuses (tab. 13 ja 14).

Tabelites 3 ja 13 toodud andmete võrdlusest järeldub, et soolalahuste *pH* ei oma määravat tähtsust punase peedi rakuplasma koagulatsioonitemperatuuri suhtes. Nii põhjustavad Zn-bromiidi ja Zn-kloriidi lahused peaaegu ühesuguse tugevusega koagulatsioonitemperatuuri tõusu. Seejuures omab aga Zn-kloriid kõige väiksemat *pH* suurust, kuna Zn-bromiid oma happesuseastmelt asetseb Zn-nitraadi ja Zn-atsetaadi

Tabel 14.

pH muutumine Co-soolade lahustes punase peedi lõikude ja albumiini toimel. Soolade kontsentratsioon 0,1 mooli. Peedilõikude arv 30.

Keskkond	<i>pH</i> määratud	Kontroll (vesi)	CoBr ₂	CoCl ₂	CO(NO ₃) ₂	CoSO ₄	Co-atsetaat
Soolalahus 0,1 mooli	katse algul	6,21	4,93	5,11	4,91	4,29	—
	24 t. järel	6,21	4,67	4,96	4,80	4,49	—
Peedilõigud	katse algul	6,41	5,49	5,88	5,74	5,93	6,77
	24 t. järel	6,19	5,51	5,47	5,53	5,60	6,75
Albumiin 2 %	katse algul	6,45	5,75	—	—	5,78	—
	24 t. järel	7,05	5,75	—	—	5,76	—

vahel. Samuti omavad Zn-nitraat, Zn-sulfaat ja Zn-atsetaat peaaegu ühesugust toimet koagulatsioonitemperatuuri tõususse, olgugi et Zn-atsetaadi lahusel on palju suurem *pH* väärtus kui Zn-nitraadil ja Zn-sulfaadil. See näitab jällegi, et *pH* kontsentratsioon ei avalda taimeplasma kuumuskoagulatsioonile olulist mõju. Co-soolade kohta pole võimalik senikorraldatud katsete põhjal midagi kindlat öelda, sest vahed katsetatud soolalahuste vahel olid niihästi nende toimes koagulatsioonitemperatuurisse kui ka nende happesuseastmes tähtsusetud.

Juurelõikude, albumiini ja želatiini lisandamine vähendab algul mõnede Zn-soola lahuste, nagu Zn-kloriidi, Zn-nitraadi ja Zn-sulfaadi vesinik-ioonide kontsentratsiooni tunduvalt, kuna Zn-bromiidi ja Zn-atsetaadi *pH* jääb peaaegu muutumatuks. 24 tunni möödumisel aga

suureneb vesinik-ioonide kontsentratsioon kõigis Zn-soolade lahustes, kuhu olid lisandatud juuretükikesed. Samasugust H-ioonide kontsentratsiooni suurenemist näeme ka kontrollkatses, kus peeditükikestele oli soolalahuse asemel lisandatud vesi. Eriti suur on H-ioonide kontsentratsiooni tõus Zn-sulfaadis ja Zn-bromiidis.

Asjaolu, et H-ioonide kontsentratsiooni suurenemine enamikus soolalahustes on suuruseastmelt peaaegu võrdne kontrollkatse omaga, viitab eksosmoosile kui H-ioonide kontsentratsiooni suurenemise põhjustajale. Kuid osaliselt võivad pH muutused mõnedes soolalahustes tingitud olla ka ionide vahetusest rakkude ja lahuse vahel, raske-metallisoola katioonj adsorbeerimisest rakkude poolt ja raskesti lahustuvate raskemetallisoola ja protoplasma ühendite tekkimisest. Viimase oletuse vastu räägib asjaolu, et albumiin põhjustab algul H-ioonide kontsentratsiooni vähenemist, mis ka 24 tunni möödudes nimetamisväärselt ei muutu. Kõige vähem mõjustab pH muutumist agar-agar, kuna želatiinis võib katse kestel märgata väikest H-ioonide kontsentratsioonj suurenemist.

Co-soola lahuste toime on üldjoontes sarnane Zn-soola lahuste toimega. pH muutumine peedilõikude lisandamisel on üldiselt väiksem, kuid see võib olla tingitud ka vähemast lõikude arvust (30 lõiku igas katses). Albumiin põhjustab algul pH suurenemist, mis hiljem katse kestel enam ei muutu.

Kui võrrelda raskemetallisoolade mõju taimeplasma kuumuskoagulatsioonile neutraalsoolade (leelis- ja leelismullametallide soolade) mõjuga, siis näeme siin põhilisi lahkuminekuid. Esiteks on üksikute anioonide toime neutraalsoolade puhul palju selgemini eristatav kui raskemetallisoolade puhul, teiseks väheneb nende mõju vastavalt Hoffmeister'i tuntud lüotroopreaale. Et neutraalsoolade sissetungimine taimerakku toimub sama lüotrooprea järgi, siis jõuab Kaho (1932) tulemusele, et ühendid, mis kergesti plasmasse tungivad, soodustavad ka kuumuskoagulatsiooni.

Raskemetallisoolade puhul on aniooni mõju mõnel juhul küll eristatav, kuid tema mõjumisviisis puudub korrapärasus. Sageli võib tema mõju olla hoopis vastupidine neutraalsoolade aniooni toimele. Nii alandab Kaho andmeil K-bromiidi lisandamine koagulatsioonitemperatuuri palju enam kui K-sulfaat, käesolevates katsetes aga põhjustab Zn-bromiid suuremat koagulatsioonitemperatuuri tõusu kui Zn-sulfaat. Peale selle oleneb raskemetallisoolade aniooni mõju palju enam katiooni

toimest ja soolalahuse kontsentratsioonist kui leelismetallisooladel. Kontsentratsiooni muutmine võib aniooni toime osaliselt või täiesti ümber pöörata (T a l t s 1932, K a h o 1933), mille tagajärjel esinevad raskemetallisoolade anioonide mõjumisviisis nn. „üleminekuread“. H ö b e r'i (1924) järgi on need read tingitud protoplasma elektrilise laengu iseloomust ja suurusel. Kui hapete või suuremate soolalahkade mõjul plasma elektrilise laengu suurus muutub või plasma ümber laetakse, siis muutub vastavalt ka katioonide ja anioonide toime. Et raskemetallid asetsevad elektrolüütilise pingerea algul, s. o. omavad tugevamat elektrilist laengut ja annavad selle kergemini ära, siis on nende mõju ka vastavalt suurem kui leelismetallidel, mis asetsevad elektrolüütilise pingerea lõpul.

Raskemetallisoolade katioonide väga erinevate füüsikalise-keemiliste omaduste tõttu tekib kahtlus, kas raskemetallisoolade puhul võib üldse kõnelda anioonide mõjust samas mõttes kui leelismetallisoolade anioonide puhul. Kõige enam võiks juttu olla raskemetallisoolade anioonide toimest ühe ja sama katiooni juures. Mitmesuguste katioonidega sooladel aga pole anioonidevaheline mõju võrreldav, nagu seda võime näha käesolevas töös toodud katsetest Zn- ja Co-sooladega.

Lõpuks on raskemetallisoolade toime, eriti nende mürgine mõju, palju enam katseobjektist olenev kui alkalisooladel (K a h o 1921, 1922, T a l t s 1932). Eriti silmapaistev on see Ni- ja Co-sooladel. Nii surevad kõik punase kapsa epidermiserakud K a h o andmeil 0,175-moolise kontsentratsiooniga Co-lahustes juba 18 tunni möödumisel; minu katsetes viibisid punase peedi lõigud aga kuni 4 päeva mitmesugustes Co-soolade 0,1-moolistes lahustes ja lasksid end peale seda veel hästi plasmolüüsida. Samuti on vetikatele äärmiselt mürgiselt mõjuvad Cu-soolad hallitusseentele võrdlemisi kahjutud.

Raskemetallisoolade toime mitmesugustesse orgaanilistesse kolloididesse, nagu albumiin, želatiin, agar-agar, on täiesti erinev nende toimest elusasse taimekoosse. Nii põhjustavad Zn-soolad juba nõrkades kontsentratsioonides albumiini koagulatsioonitemperatuuri alandamist ja tugevamat kontsentratsioonides albumiini kohest väljasadestumist. Punase peedi juurekoele mõjuvad Zn-soolad aga koagulatsioonitemperatuuri tõstvalt, mis suureneb kontsentratsiooni suurenemisega.

Albumiini koagulatsioonitemperatuuri tugevat tõusu põhjustab Zn-sulfaadi lisandamine liiaga, kusjuures algul tekkinud sade uuesti lahustub. Enne kuumuskoagulatsiooni toimub sel puhul albumiini želatinee-

rumine. H a n d o v s k y (1922) järgi on sademe lahustumine tingitud lahustuvate kompleksühendite tekkimisest, millised võivad omada täiesti teissuguseid füüsikalisi omadusi kui puhtad valgud. Võiks arvata, et analoogilised kompleksühendid tekivad ka rakkude protoplasma pinnakihtides, mille tagajärjel rakkude kuumusresistentsus suureneb. Selle oletusega on aga vastuolus asjaolu, et mitte kõik Zn-soolad, mis tõstavad taimekoe koagulatsioonitemperatuuri, ei lahusta ülikülluses võetuna kord juba tekkinud sadet. Nii ei lahustu albumiini sade protoplasma koagulatsioonitemperatuuri eriti tugevasti tõstva Zn-bromiidi liiaga võetud lahuses peaaegu mitte sugugi. Zn-kloriidis lahustub sade algul osaliselt, kuid suureneb varsti uuesti. Täielikult lahustub sade Zn-sulfaadis ja Zn-atsetaadis. Soolade ülikülluse mõjul biokolloidides toimivate muutuste üksikasjalisem uurimine võiks selles küsimuses lähemat selgust tuua.

Co-soolad, mis S c h o r 'n'i (1928) andmeil ei anna albumiiniga püsivaid ühendeid, ei mõjusta tõenäoliselt protoplasma muundumist, kuna ka protoplasma koagulatsioonitemperatuur jääb muutumatuks. Üldiselt on aga Co-soolade toime iseärasused esialgu selgitamata.

Varasemate autorite ja käesolevas töös toodud andmeid kokku võttes võime konstateerida, et raskemetallisoolade toimel taimeraku pinnakihid tihenevad, mistõttu on takistatud niihästi soolade edasine sissetungimine rakku kui ka antotsüaani väljatungimine. Milles seesugune tihenemine seisneb, pole praegu veel selge. On tõenäoline, et raskemetallisoolade toimel tekivad plasma pindkiilet moodustavas valkudelipoidide süsteemis uued kolloidsed kompleksühendid uute, erinevate füüsikaliste omadustega. Üheks seesuguseks omaduseks on nende koaguleerumine kõrgemal temperatuuril, kui seda teevad natiivsed valgud. Koagulatsioonitemperatuuri tõusu põhjuseks võib aga olla ka plasma pinnakihtide hüdratatsiooniastme vähenemine raskemetallisoolade mõjul, mille tagajärjel tõuseb protoplasma kuumusresistentsus.

Raskemetallisoolade puhul tuleb vahet teha nende toimes koagulatsioonitemperatuurisse ja protoplasma denatureerumisesse. Koagulatsioonitemperatuuris koaguleeruvad protoplasma koostisse kuuluvad valkained ja nende kompleksühendid silmapilkselt, vaatamata nende denaturatsiooniastmele. Denatureerumine ja sellega kaasnev koagulatsioon võivad aga pikema aja kestel toimuda ka sellisel temperatuuril, mis iseenesest veel valkude kuumuskoagulatsiooni esile ei kutsu. Denatureerumise põhjuseks peab L e p e s c h k i n (1935) protoplasma põhiaine (vitaproteiidide ehk lühidalt vitaiidide)

lagunemist, mis põhjustab protoplasma suremise. Raskemetallide ja protoplasma valkainete kompleksühendite kõrgem koagulatsioonitemperatuur ei mõjusta seejuures nähtavasti denaturatsiooni kiirust. Ka näib raskemetallisoola aniooni mõju denaturatsiooni kiirusele olevat palju suurem kui koagulatsioonitemperatuurile. Samuti ei ole raskemetallisoolade dehüdreeriv toime denaturatsioonile takistuseks, sest teatavasti võib denaturatsioon toimuda väga vähese vee juuresolekul.

Hapete alandav mõju koagulatsioonitemperatuurile seletub nende toimega peamiselt valkude dispersioonikeskkonnasse (põhiainesse), mille tagajärjel suureneb eriti tugevasti valkude denaturatsiooni kiirus. Nagu nähtub tabelite 6 ja 10 ning 7 ja 11 võrdlusest, toimub koagulatsioonitemperatuuri alanemine hapete mõjul nii punasel peedil kui ka albumiinil peaaegu paralleelselt. Sellest järeldub, et ka punase peedi protoplasma koagulatsioonitemperatuuri alanemine on tingitud hapete kiirendavast toimest denaturatsioonisse.

Kasutatud kirjandust.

- Collander, R., Beobachtungen über quantitative Beziehungen zwischen Tötungsgeschwindigkeit und Temperatur beim Wärmetot pflanzlicher Zellen. Societas Scientiarum Fennica, Commentationes biologicae, 1, 1 (1924). Helsinki.
- Coupin, H., Sur la sensibilité des végétaux supérieurs à des doses très faibles de substances toxiques. Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des Sciences, 132, 645—647 (1901). Paris.
- Fitting, H., Untersuchungen über die Aufnahme von Salzen in die lebende Zelle. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik, 56, 1—64 (1915). Leipzig.
- Fitting, H., Untersuchungen über isotonischen Koeffizienten und ihren Nutzen für Permeabilitätsbestimmungen. Sealsamas, 57, 553—612 (1917).
- Handovsky, H., Leitfaden der Kolloidchemie. Dresden und Leipzig, 1922.
- Hansteen-Cranner, B., Physiologie der Grenzschichten lebender Pflanzenzellen. Meldinger fra Norges Landbrukshøiskola, 2, 1—160 (1922). Oslo.
- Heilbrunn, L. V., The Colloid Chemistry of Protoplasm. Berlin, 1928.
- Heymann, H., u. Oppenheimer, F., Gleichgewichte zwischen Albumin und Metallsalzen. Biochemische Zeitschrift, 199, 468 (1928). Berlin.
- Höber, R., Physikalische Chemie der Zelle und Gewebe, V Auflage, I Hälfte 1922; II Hälfte 1924. Leipzig.
- Kaho, H., Ein Beitrag zur Giftwirkung der Schwermetallsalze auf das Pflanzenplasma. Biochemische Zeitschrift, 122, 39—42 (1921). Berlin.
- Kaho, H., Raskemetallsoolade kihvtisusest taimelasma kohta. Tartu Ülikooli Toimetused, seeria A. IV, 1—14 (1922).
- Kaho, H., Über einige Probleme der Protoplasmaforschung. Sitzungsberichte der Naturforscher Gesellschaft bei der Universität Tartu, 38, 33—43 (1932).
- Kaho, H., Das Verhalten der Pflanzenzelle gegen Schwermetallsalze. Planta / Archiv für wissenschaftliche Botanik, 18, 664—682 (1933). Berlin.
- Lepeschkin, W. W., Zur Kenntnis der Einwirkung der supramaximalen Temperaturen auf die Pflanze. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, 30, 247 (1912). Berlin.
- Lepeschkin, W. W., Kolloidchemie des Protoplasmas. Berlin, 1924.
- Lepeschkin, W. W., Über den Zusammenhang zwischen mechanischen und chemischen Schädigungen des Protoplasmas und die Wirkung einiger Schutzstoffe. Protoplasma, 2, 239—270 (1927). Berlin.
- Lepeschkin, W. W., Zur Kenntnis des Hitzetodes des Protoplasmas. Protoplasma, 23, 349—366 (1935). Berlin.

- Nägeli, C., u. Cramer, C., Pflanzenphysiologische Untersuchungen. Zürich, 1855.
- Paul, Th., u. Krönig, B., Über das Verhalten der Bakterien zu chemischen Reaktionen. Zeitschrift für physikalische Chemie, 21, 414 (1896). Leipzig.
- Pringsheim, E. G., Über Plasmolyse durch Schwermetallsalze. Beihefte zum Botanischen Centralblatt, Abt. I, 41, 1—14 (1924). Dresden-N.
- Ramæer, H., Nachtrag zu Smits „Einfluss der Temperatur auf die Protoplasma bei *Beta vulgaris* L“. Recueil des travaux botaniques Néerlandais, 23, 104 (1926). Amsterdam.
- Sachs, J., Gesammelte Abhandlungen über Pflanzenphysiologie. Erster Band, Leipzig, 1892.
- Schorr, H., Untersuchungen von Metallsalz-Albuminlösungen mittels der Auswaschmethode. Biochemische Zeitschrift, 199, 459 (1928). Berlin.
- Smits, H. de W., Einfluss der Temperatur auf die Permeabilität des Protoplasmas bei *Beta vulgaris* L. Recueil des travaux botaniques Néerlandais, 23, 104 (1926). Amsterdam.
- Talts, J., Einfluss der Schwermetallsalze auf *Penicillium glaucum* (mit besonderer Berücksichtigung der Anionenfrage). Protoplasma, 15, 188—238 (1932). Leipzig.

О влиянии некоторых солей тяжёлых металлов и кислот на термическую коагуляцию растительной протоплазмы.

Резюме.

Влияние солей тяжёлых металлов на растительную протоплазму чрезвычайно сложно и до сих пор ещё мало исследовано. Как известно, большинство солей тяжёлых металлов при растворении в воде сильно гидролизуются, вследствие чего образуется свободная кислота, и растворы принимают кислую реакцию. При сильно разбавленных растворах изменение рН незначительно, но при более концентрированных растворах часто бывает необходимо учитывать, наряду со специфическим действием солей тяжёлых металлов, и действие образовавшейся при гидролизе свободной кислоты.

Хотя во влиянии солей тяжёлых металлов существенным является действие их катионов, всё же не следует упускать из виду и действия их анионов. В некоторых случаях влияние анионов может быть даже весьма значительным (Гальтс, 1932; Кахо, 1933).

По Лепёшкину (1924) действие солей тяжёлых металлов зависит от их способности давать с протоплазмой легко денатурирующиеся соединения. Такие соединения действительно обнаружены при воздействии на альбумин некоторых солей тяжёлых металлов (Шорн, 1928; Гейман и Оппенгеймер, 1928). Аналогичные соединения дают с белками и кислоты. Полагают, что при этом кислоты оказывают непосредственное действие на дисперсионную среду, состоящую из т. н. витапротендов (короче витаидов), и, обуславливая её разложение, являются причиной отмирания протоплазмы (Лепёшкин, 1927).

Гейльбрунн (1928) нашёл, что некоторые соли тяжёлых металлов вызывают в основном глинистом веществе протоплазмы возникновение новых протенновых зёрнышек, что при длительном влиянии солей ведёт к необратимой коагуляции белков протоплазмы.

Так как белковые соединения солей тяжёлых металлов и кислот вообще легко денатурируются, и денатурация белков сильно ускоряется при повышении температуры, то следовало бы ожидать, что термическая коагуляция растительной протоплазмы также будет

значительно ускорена действием этих солей. Однако, помимо образования легко денатурирующихся соединений, соли тяжёлых металлов оказывают и уплотняющее действие на поверхностные слои протоплазмы растительных клеток, вследствие чего последние можно даже плазмолизировать крепкими растворами солей тяжёлых металлов (Прингсгейм, 1924).

Для выяснения соотношения между уплотняющим действием солей тяжёлых металлов и денатурацией, вызванной высокими температурами, была исследована коагуляционная температура красной свёклы (*Beta vulgaris L.*) в растворах некоторых солей тяжёлых металлов и кислот. Параллельные опыты были проведены и с некоторыми органическими коллоидами.

Признаком коагуляции служило ускоренное выделение антоциана из клеток свёклы. Выделение антоциана и раньше часто рассматривалось как признак начинающейся коагуляции (Нэгели, 1895; Сакс, 1892; Лепёшкин, 1912; Колландер, 1924 и др.). Было установлено, что выделение антоциана протекает параллельно денатурации протоплазмы и имеет необратимый характер. Иное объяснение дают этому процессу Ганстен-Краннер (1922) и Смитс (1926). Первый из них полагал, что выделение антоциана стоит в связи с растворением в воде растворимых фосфатидов (липоидов) и является обратимым процессом. Смитс же пытался объяснить выделение антоциана увеличенной проницаемостью протоплазмы при повышенных температурах и также считал процесс выделения антоциана обратимым. Но, как показали наблюдения Рамаера над микроскопическими срезами, обесцвеченные клетки всегда оказывались мёртвыми.

Кажущаяся обратимость выделения антоциана могла зависеть от того, что ко времени перенесения объекта в более низкие температуры повреждённые и менее устойчивые клетки уже отдали свой антоциан, в то время как более устойчивые клетки не были ещё заметно повреждены высокой температурой. Так как денатурация протекает при более низких температурах гораздо медленнее, то и выделение антоциана при этих условиях замедляется.

В настоящее время можно считать доказанным, что выделение антоциана происходит только из мёртвых клеток, т. е. является процессом необратимым, и поэтому может служить признаком коагуляции. Принимать в расчёт можно однако только массовое выделение антоциана, так как незначительное выделение его может зависеть от повреждённых клеток.

Для опытов были приготовлены при помощи маленького, т. н. ручного микротомы из средней части корня свёклы срезы одинаковой толщины. Для получения сравнимых данных при нагревании была приготовлена вытяжка антоциана, к которой прибавляли такое же количество испытуемой соли, как и к срезам свёклы. Обе пробирки, поставленные рядом, нагревались в одной и той же банке со стеклянными стенками. Вытяжка антоциана служила для сравне-

ния окраски, и за коагуляционную температуру принималась та температура, при которой интенсивность окраски в пробирке с кусочками красной свёклы приобретала такую же окраску, как и вытяжка. Прибавка соли и совместное нагревание пробирок оказались необходимыми ввиду того, что оттенок окраски изменяется от присутствия соли и от нагревания.

Очень слабые концентрации солей тяжёлых металлов не оказывают заметного влияния на коагуляционную температуру (см. таб. 1 и 2, стр. 8). Их явное действие проявляется при 0,01-молярном растворе и быстро увеличивается при повышении концентрации солей. 0,1-молярные растворы $Zn(NO_3)_2$ и $ZnSO_4$ вызывают повышение коагуляционной температуры на $4,6^\circ C$, 0,01-молярный раствор $Zn(NO_3)_2$ — на $2,1^\circ C$, а 0,01-молярный раствор $ZnSO_4$ только на $1,3^\circ C$. Из этого видно, что растворы цинковых солей обуславливают уплотнение протоплазмы только при применении достаточно концентрированных растворов.

Хотя о влиянии солей тяжёлых металлов на растения и существует довольно обширная литература, но большинство авторов рассматривает вопросы стимуляции и влияния катиона. О действии же анионов солей тяжёлых металлов попадаются только случайные заметки. В общем до последнего времени существовал взгляд, что влияние анионов солей тяжёлых металлов, в сравнении с влиянием их катионов, незначительно и не обнаруживается вследствие преобладания действия катиона (Кахо, 1921, 1922; Гандовский, 1922). Из новейших работ вопросу о действии анионов солей тяжёлых металлов на растительную протоплазму посвящены работы Гальтса (1932) и Кахо (1933). В этих исследованиях у некоторых объектов констатируется ясно обнаруживающееся влияние анионов, но это влияние зависит и от действия катиона, а также от концентрации раствора применяемой соли.

Как показывают опыты, все цинковые соли обуславливают заметное повышение коагуляционной температуры красной свёклы (таб. 3, стр. 9). Небольшое повышение коагуляционной температуры вследствие действия анионов вызывают, в сравнении с остальными, только соли галогенов — $ZnBr_2$ и $ZnCl_2$. Хотя эта разница и невелика, но она наблюдалась повторно при контрольных опытах.

Разница во влиянии на коагуляционную температуру между $ZnBr_2$ и $ZnSO_4$ несколько больше при 0,01-молярном растворе (таб. 4, стр. 10), в чём выражается опять-таки влияние концентрации на действие аниона.

Между нитратами, сульфатами и ацетатами цинковых солей особой разницы не наблюдается. От действия бромида и хлорида антоциан приобретает слегка желтоватую, а от действия ацетата — желтоватозелёную окраску, которая очень похожа на окраску, вызываемую щелочами.

Кобальтовые соли были применены в 0,01-молярных растворах. Так как эти соли имеют собственную окраску, то оказалось

невозможным при применяемой методике воспользоваться более крепкими растворами.

Как видно из таб. 5 (стр. 11), кобальтовые соли при этой концентрации не вызывают никаких изменений в коагуляционной температуре. Интересно отметить, что кобальтовые соли, в противоположность солям других тяжёлых металлов, не вызывают свёртывания яичного альбумина. По всей вероятности такое особое поведение кобальтовых солей объясняется тем, что они не дают с белками недиссоциированных и легко денатурирующихся соединений (Шорн, 1928).

Вследствие гидролиза в растворах солей тяжёлых металлов всегда образуется некоторое количество свободной кислоты, которая также принимает участие в действии на протоплазму. Для изучения действия кислот были проведены опыты с соляной и серной кислотами в различных концентрациях (таб. 6 и 7, стр. 12).

Как видно из этих опытов, HCl и H₂SO₄ обуславливают при всех применённых концентрациях понижение коагуляционной температуры протоплазмы красной свёклы. При эквимольных концентрациях заметно более слабое действие соляной кислоты. Эта разница обнаруживается и при эквинормальных растворах (0,01-мол. HCl и 0,005-мол. H₂SO₄), что указывает на более сильное антагонистическое действие Cl-ионов в отношении водородных ионов, по сравнению с SO₄-ионами.

Влияние солей тяжёлых металлов на коагуляционную температуру чистого яичного альбумина (применялся 2%-ный раствор альбумина — *albumen ovi Merck* — в 7%-ном растворе поваренной соли) совершенно иное, чем их влияние на красную свёклу (таб. 8 и 9, стр. 13 и 14). Так, цинковые соли уже в слабых концентрациях вызывают понижение коагуляционной температуры. Повышение температуры наблюдается в том случае, если к раствору альбумина прибавить соли в избытке, так что появляющийся осадок альбумина снова растворяется. По всей вероятности, альбумин образует при этом с солями тяжёлых металлов растворимые комплексные соединения, которые имеют иные физические и химические свойства, в том числе и повышенную коагуляционную температуру.

Из кобальтовых солей CoCl₂, CoSO₄ и Co-ацетат обуславливают небольшое повышение коагуляционной температуры альбумина, а CoBr₂ и Co(NO₃)₂ — некоторое её понижение сравнительно с контрольным опытом. Причина такого поведения кобальтовых солей пока не выяснена. Интересно отметить, что такое различие во влиянии кобальтовых солей заметно и при других биологических процессах (см. Тальтс, 1932; Кахо, 1933) и часто вызывается изменением концентрации применяемой соли. Влияние кислот на коагуляционную температуру альбумина аналогично их влиянию на коагуляционную температуру красной свёклы (таб. 10 и 11, стр. 15),

Алюминиевым солям приписывают защитное действие против влияния водородных ионов (Лепёшкин, 1927). В проведённых

опытах хлористый алюминий оказался резко понижающим коагуляционную температуру красной свёклы, как в чистых растворах, так и в смешанных с хлористым цинком (таб. 12). Ясно, что здесь алюминий влияет не на действие водородных ионов, а на действие катиона, в данном случае цинка. В чём заключается это влияние, пока неизвестно.

В общем, как это видно из сопоставления таб. 3 и 13, концентрация водородных ионов не имеет определяющего влияния на коагуляционную температуру протоплазмы красной свёклы. Так, например, $ZnBr_2$ и $ZnCl_2$ обуславливают почти одинаковое повышение коагуляционной температуры, хотя концентрации водородных ионов растворов этих солей весьма различны. То же самое можно наблюдать и при $Zn(NO_3)_2$, $ZnSO_4$ и Zn -ацетате. Такая же независимость была найдена между ядовитостью солей тяжёлых металлов и величиною их рН у красной капусты.

Прибавление срезов красной свёклы сначала уменьшает концентрацию водородных ионов в растворах цинковых солей, но через 24 часа эта концентрация опять повышается. Так как такое же повышение концентрации водородных ионов наблюдается и в чистой воде, то представляется весьма вероятным, что это повышение зависит от экзосмоса органических соединений (кислот) из клеток. Вероятность экзосмоса подтверждается ещё тем обстоятельством, что изменение рН, за исключением $ZnBr_2$ и $ZnSO_4$, в растворах солей почти такое же, как и в воде.

Изменение рН в растворах кобальтовых солей (таб. 14, стр. 18) несколько меньше, чем в растворах цинковых солей, но возможно, что это обусловлено меньшим числом взятых для опытов кусочков (30 шт.) свёклы.

Органические коллоиды, напр. альбумин и желатин, сначала несколько уменьшают концентрацию водородных ионов, а потом её уже больше почти не изменяют. Агар-агар вообще не вызывает изменений в величине рН.

При сравнении влияния солей тяжёлых металлов на коагуляционную температуру с влиянием нейтральных (щёлочных и щёлочноземельных) солей бросаются в глаза некоторые различия. Во-первых, действие анионов обнаруживается у нейтральных солей гораздо яснее, чем у солей тяжёлых металлов, и во-вторых, интенсивность их действия уменьшается по лиотропическому ряду анионов Гофмейстера. Так как при скорости прохождения солей через протоплазматическую перепонку наблюдается тот же лиотропический ряд, то Кахо (1932) делает отсюда вывод, что соли, легче поступающие в протоплазму, способствуют и термической коагуляции.

У солей тяжёлых металлов влияние анионов обнаруживается менее ясно; кроме того, их действие часто противоположно действию анионов нейтральных солей. Так, например, галогены (Br, Cl) со щёлочными металлами обуславливают понижение, а с тяжёлыми металлами — повышение коагуляционной температуры протоплазмы.

Кроме того, как было уже упомянуто выше, действие анионов солей тяжёлых металлов зависит от концентрации их растворов гораздо больше, чем это наблюдается у нейтральных солей.

Действие солей тяжёлых металлов на живую протоплазму сильно отличается от их действия на безжизненные органические коллоиды. Так, цинковые соли уже при слабых концентрациях обуславливают понижение коагуляционной температуры альбумина; повышение температуры наблюдается лишь при избытке соли. Кобальтовые соли не вызывают свёртывания альбумина, что следует приписать их неспособности давать с альбумином легко денатурирующиеся комплексные соединения. Они не изменяют также коагуляционной температуры.

Из литературных данных и результатов проведённых опытов можно заключить, что соли тяжёлых металлов вызывают уплотнение наружных слоёв протоплазмы растительной клетки, вследствие чего затрудняется дальнейшее проникновение солей в клетку и выход антоциана из клетки. В чём состоит это уплотнение, пока ещё не выяснено. Весьма вероятно, что соли тяжёлых металлов дают с системой белков — липоидов, образующей наружные слои протоплазмы, комплексные соединения, которые имеют иные физические свойства, чем протоплазма. Причиной повышения коагуляционной температуры при действии солей тяжёлых металлов может быть и уменьшение степени гидратации протоплазмы, чем увеличивается стойкость протоплазмы в отношении высоких температур.

В действии солей тяжёлых металлов следует различать их влияние на коагуляционную температуру от их влияния на денатурацию протоплазмы. При коагуляционной температуре белковые вещества протоплазмы свёртываются почти мгновенно, несмотря на степень их денатурации. Денатурация же и сопровождающая её коагуляция могут совершаться и при таких температурах, которые сами по себе не вызывают свёртывания белков. Причиной денатурации Лепёшкин (1935) считает разложение основного вещества протоплазмы (т. н. витандов), что и приводит к её умиранию. Повышенная коагуляционная температура комплексных соединений протоплазмы с тяжёлыми металлами, повидимому, не влияет при этом на скорость денатурации. На денатурацию не влияет также дегидратация (обезвоживание) протоплазмы, так как денатурация возможна и в присутствии ничтожного количества воды. Наконец, представляется вероятным, что анионы тяжёлых металлов влияют на скорость денатурации в гораздо большей степени, чем на коагуляционную температуру.

Действие кислот объясняется их способностью влиять на дисперсионную среду белков, что вызывает сильное ускорение денатурации. Понижение коагуляционной температуры у красной свёклы объясняется также ускоряющим действием кислот на денатурацию.

Sisukord.

	Lk.
Mõnede raskemetallisoolade ja hapete mõjust taimeplasma kuumuskoagulatsioonile	3
Antotsüaani eraldumine kui protoplasma koagulatsiooni kriteerium	4
Metoodikast	5
Katsete tulemused	7
Kasutatud kirjandust	23
Резюме: О влиянии некоторых солей тяжёлых металлов и кислот на термическую коагуляцию растительной протоплазмы	25