

К. СУХОРУКОВ и Л. НЕЗГОВОРОВ

О СИСТОАМИЛАЗЕ ИЗ КЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ

(Представлено академиком А. А. Рихтером 10 II 1940)

Низкая активность амилазы в клубнях картофеля, отмеченная во многих исследованиях (краткая сводка у Weichsel, 1936), находится в явном несоответствии с биологическими особенностями картофельного растения накапливать и отлагать большие запасы крахмала. В работе Сухорукова, Клинг и Овчарова⁽³⁾ установлено наличие в листьях и клубнях культурного и дикого картофеля тормозителя амилазной реакции—систоамилазы. По данным указанных авторов систоамилаза переходит в тканевой сок при измельчении тканей, частично разрушается при кипячении и при поражении клубней *Phytophthora infestans*; подтверждающие результаты были получены Гречушниковым⁽²⁾, исследовавшим несколько видов, сортов и гибридов картофеля.

В своей работе по физиологии клубня картофеля мы столкнулись с некоторыми фактами, которые дополняют представления о систоамилазе и о ее физиологическом значении.

Систоамилаза и клубнеобразование. Для выяснения этого вопроса мы вызвали клубнеобразование на проростках картофеля в темноте за счет запасов материнского клубня. С этой целью прорастающие клубни сорта Эпикур были положены в цветочные глиняные горшки и в полной темноте при температуре 18° оставлены на 2 месяца. На образовавшихся побегах прошло образование молодых клубней. Материнские клубни потеряли тургор, заметно уменьшилось в их клетках количество крахмальных зерен, явно коррозированные зерна не наблюдались (просмотр в обычном свете), срезы клубня сохранили способность восстанавливать тургор при помещении в воду. Клетки молодых клубней были наполнены крахмалом и в своей форме вполне соответствовали клеткам клубней, нормально развивающихся в почве. Таким образом были получены молодые клубни и отложение в них крахмала исключительно за счет веществ материнского клубня, мобилизация отложения веществ проходила в одной системе, но при пространственном расчленении, крахмал в динамике своего передвижения сохранял подвижное постоянство, отвечал Wandelsparstärke по терминологии Ziegenspeck⁽¹⁰⁾; эта постановка значительно упрощала самое изучение. Материнские и молодые клубни растирались на терке, дополнительно еще растирались в ступке с фосфатным буфером 1 : 3 ($1/_{20}$ м, рН=7,0) для лучшего извлечения амилазы. В отжатом соке определена амилаза и систоамилаза методом, описанным у Сухорукова, Клинг и Овчарова, со следующим изменением: вместо темпе-

ратуры 45° ферментативная смесь выдерживалась при 18° при pH = 6,0 3 ч. 30 м. Результаты определения амилазы и систоамилазы приведены в табл. 1.

Амилолитическая сила сока старых и молодых клубней невысока, у старых она выше; систоамилаза в старых клубнях совершенно отсутствует, в молодых ее много; последнее указывает на положительное значение систоамилазы в клубнеобразовании у картофеля.

Некоторые свойства систоамилазы. Наличие систоамилазы в клубнях картофеля, переходящей в тканевую сок, можно считать сейчас уже установленным фактом. При прогревании тканевого сока до 100° происходит выпадение осадка и значительное падение величины систоамилазы. Температурным воздействием можно вычленилть термолабильную часть систоамилазы и показать, что систоамилаза тканевого сока состоит из термостабильной и термолабильной систоамилазы. Приведем соотношения термостабильной и термолабильной систоамилаз тканевого сока клубней:

	Термостабильная в %	Термолабильная в %
Клубни сеянца 8670 ИКХ (после 2-месячной уборки)	50	50
» Эпикура » » »	4,3	95,7
» Эпикура с проросшими глазками (урожай предыдущего года)	100	0,0

При снижении систоамилазы у прорастающих клубней уменьшение ее падает на лабильную часть. Значительное падение систоамилазы мы наблюдали и у молодых клубней, прорастающих «на кусту», в некоторые годы с повышенной температурой в летние месяцы. Вероятно, что обычное в Средней Азии «израстание» клубней, уменьшающее урожай по некоторым сортам картофеля до 30% (1), вызывается частичным разрушением систоамилазы.

Термолабильная систоамилаза. После высаливания или осаждения белка из тканевого сока систирование им амилазы резко падало; это привело нас к выводу, что термолабильная часть систоамилазы входит в коллоидную фракцию сока, и для изучения ее необходимо выделить коллоиды и их исследовать. Мы применили дробное осаждение различным насыщением сока $CdCl_2$ при кислотности самого сока (pH=6,1); выпадающие рыхлые осадки после декантации центрифугировались для отделения остаточной жидкости и промывались для удаления амилазы глицерином при центрифугировании. Промытые осадки суспензировались в воде и испытывались на наличие в них систоамилазы. Активной оказалась фракция, выпадающая при насыщении сока до $1/200$ м хлористого кадмия. Такой метод был применен Minagawa (7) при выделении им амилосинтеазы из дрожжевого сока, экстрактов из риса и картофеля; при тех же насыщениях $CdCl_2$, что и у нас, по данным Minagawa выпадала в осадок амилосинтеаза без потери ее активности.

Полученные препараты систоамилазы в виде довольно устойчивых

Таблица 1
Систоамилаза и клубнеобразование

	Активность амилазы в см ³ N/10 KMnO ₄	Величина систоамилазы
Диастаз	1,0	—
Сок из материнских клубней	0,3	0,0
Сок из молодых клубней	0,1	0,6
Сок из материнских клубней + диастаз	1,3	—
Сок из молодых клубней + диастаз . .	0,5	—

водных суспензий мы испытывали на устойчивость к прогреваниям (табл. 2). Препараты прогреты при 60° в течение 30 мин. (1-ая строка табл. 2) и при 100° в течение 2 мин. (2-ая строка табл. 2). После охлаждения пре-

Таблица 2

	Величина систоамилазы в см ³ N/10 J	
	без прогре- вания	с прогрева- нием
Препарат из сеянца 8670 .	1,05	0,50
Препарат из сеянца 8670 .	1,00	0,00

параты были испытаны на величину систоамилазы принятым нами методом.

Прогревание полученных препаратов полностью разрушает систоамилазу при 100° (2 мин.) и почти на 50% при 60° в течение 30 мин. В своих свойствах термолабильная систоамилаза во многом показывает общее с амилосинтеазой Minagawa; это побудило нас испытать полученные препараты на способность их полимеризовать декстрины.

П о л и м е р и з а ц и я д е к с т р и н о в. Опытная постановка

была следующая: к 40 см³ декстрина (без отделения мальтозы), полученного ферментативно из 1/2% крахмального клейстера, прибавлялась взвесь термолабильной систоамилазы (=20 см³ тканевого сока), смесь разделялась на 2 части; одна оставлялась при комнатной температуре (18°), другая немедленно прогревалась при 100°. Через получасовые промежутки проводилось сравнительное испытание на иодную пробу. Обычно в опыте было несколько декстринов с различной иодной окраской в исходном состоянии.

Приведем протокол одного наблюдения. Препарат получен из клубней сеянца 8670. В опыте три декстрина с различной иодной реакцией: I—сине-фиолетовая, II—фиолетовая, III—красно-фиолетовая.

Через 30 мин. после добавления препарата: I—усиление синей окраски, II—сине-фиолетовая, III—изменений нет.

Через 60 мин.: I—усиление синей окраски, II—усиление синей окраски, III—фиолетовая.

Через 2 ч. 30 м.: I—усиление синей окраски, II—усиление синей окраски, III—сине-фиолетовая.

Через 3 ч. 30 м.: изменений сравнительно с предыдущим нет.

Полимеризация декстринов в присутствии термолабильной систоамилазы, как видно из приведенного, имеет место в первые 2—3 часа. Опыты были повторены с различными сортами картофеля, и полученные результаты оказались аналогичными приведенным. Необходимо отметить, что при долгом стоянии ферментативной смеси, до 24 час., полимеризация прекращается и наблюдается даже гидролиз. Термолабильная систоамилаза при нашей технике ее получения и испытания сохраняет свойство изменять декстрины только в первые часы после введения в смеси.

Возможность синтеза сложных углеводов из простых ферментативным путем, вне живой клетки, доказывается сейчас экспериментально и не находится в противоречии с законами термодинамики. Cori и его сотрудниками (4) получен гликоген при ферментативном расщеплении глюкозомонофосфата, выяснены многие детали этой интересной реакции; то же самое было получено Kiessling'ом (5) и Schöffner'ом (6), применявших фермент из дрожжевого сока, работы Minagawa показывают наличие синтезирующего фермента в дрожжах, зерновках риса и клубнях картофеля. Установление синтезирующего крахмал фермента в клубнях картофеля позволяет довольно просто объяснять динамику передвижения крахмала по растению и отдельным клеткам, так как передвижение, несомненно,

связано с цепью промежуточных синтетических реакций, ускоряющих диффузию, что достаточно хорошо выяснено в физиологии углеводного обмена животного организма (6). Наши результаты с полимеризацией декстринов в свете указанных работ получают подтверждение.

Сделаем выводы. Систоамилаза клубней картофеля состоит из термолабильной и термостабильной систоамилазы.

Термолабильная часть систоамилазы отсутствует в прорастающих клубнях и может быть выделена из покоящихся клубней. Препараты термолабильной систоамилазы показывают полимеризационную способность в отношении ферментативно полученных декстринов.

Динамика систоамилазы в клубнях находится в связи с их прорастанием, а также и отложением в них крахмала при клубнеобразовании.

† Кафедра физиологии и биохимии растений
Томского университета им. В. В. Куйбышева

Поступило
11 II 1940

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Н. Н. Балашев, Овощеводство, № 12 (1939). ² А. И. Гречушников, Сборн. памяти Любименко (1938); ДАН, XX, № 8 (1939). ³ К. Сухоруков, Е. Клинг и К. Овчаров, ДАН, № 8 (1938). ⁴ G. T. Cori, C. F. Cori a. G. Schmidt, J. biol. chem., **129**, № 2 (1939); G. Cori, S. Colowick a. C. Cori, *ibid.*, **130**, № 2 (1939); G. a. C. Cori, *ibid.*, **131**, № 1 (1939). ⁵ Kieselring, Naturwiss., **27**, H. 8 (1939), цит. по Schöffner. ⁶ C. N. H. Long a. A. White, *Ergebn. d. Physiologie, biol. Chemie u. exp. Pharmak.*, **40**, München (1938). ⁷ T. Minagawa, Proc. imp. acad. (Tokyo), **7**, 258 (1931); **8**, 244 (1932); **9**, № 3 (1933). ⁸ A. Schöffner, Naturwiss., **27**, H. 12 (1938). ⁹ G. Weichsel, *Planta*, **26**, H. 1 (1936). ¹⁰ H. Ziegenspeck, *Bot. Arch.*, **7**, 251 (1924).