

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Член-корреспондент АН СССР Н. А. КРАСИЛЬНИКОВ

**ВЫДЕЛЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ КОРНЯМИ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ**

Общеизвестно, что высшие растения выделяют через корневую систему различные органические вещества — сахара, органические кислоты, аминокислоты и другие соединения. Выделяют ли они ферменты — в точности неизвестно.

Многие считают, что высшие растения, как автотрофы, не могут выделять в окружающую среду ферменты и разлагать сложные органические соединения. В. Купревич<sup>(2)</sup> подверг сомнению эту установившуюся точку зрения и показал на 23 видах растений наличие в корневых выделениях ферментов: каталазы, тирозиназы, фенолазы, уреазы, инвертазы и др. Опыты проводились им в нестерильных условиях с отрезанными корнями без устранения микробов. Поэтому, хотя к субстрату, где производилась ферментация, и прибавлялись антисептики, тем не менее имеющиеся на корнях нестерильно выросших растений микробы могли исказить чистоту опыта и получаемые результаты.

В прежних своих исследованиях, проводившихся еще в 1937—1939 гг. с изолированными корнями растений, мы имели возможность наблюдать способность их растворять крахмал в среде. Тогда это явление не подверглось дальнейшему изучению. Только спустя 13—14 лет мы могли заняться им.

Для выявления ферментов у растений мы взяли пшеницу, кукурузу и горох. Опыты проводились сначала с растениями, предварительно выращенными в сосудах в условиях полной стерильности. Были предварительно выращены растения, корни которых не содержали ни бактерий, ни грибов, ни актиномицетов. Стерильность проверялась разными методами. Во всех подозрительных случаях как растения, так и опыты в целом браковались. Следует отметить, что скрытую инфекцию в проростках и в самих семенах не всегда удается быстро обнаружить. При выращивании из таких семян растений в питательных растворах — не только синтетических, но и сложных органических — нередко наблюдается рост без видимых признаков микробной инфекции, которая не обнаруживается ни микроскопией, ни высевами на разные среды. В таких случаях при применении специальных методов исследований мы выявили своеобразные формы бактерий, о чем мы сообщим в свое время.

Растения, которые при проверке оказались стерильными, вынимались из сосудов и использовались как опытные экземпляры. В одних случаях стрезались корни и переносились в колбы с испытуемым субстратом, в других — целые растения погружались корневой системой в тот же субстрат. При этом удалялись остатки семян (эндоспермий). Все операции проводились с соблюдением полной стерильности.

В качестве испытуемых субстратов были взяты сахароза, крахмал и желатина и выявлялись, соответственно, инвертаза, амилаза и протеаза. Инверсия сахарозы определялась реактивом Фелинга, гидролиз крахмала

производился иодистой реакцией, протеаза определялась по разжижению желатины.

Для выявления амилалитической деятельности корневой системы опыты проводились сначала на плотной, агаризованной среде. К водному 0,5% раствору крахмала прибавлялся агар-агар в количестве 0,75%, затем он расплавлялся и разливался по 15—20 см<sup>3</sup> в конусовидные колбы емкостью в 500 см<sup>3</sup>. После стерилизации в колбы вносились, с соблюдением стерильности, в одних случаях отрезанные корни, в других — целые растения. В том и другом случае корни равномерно распределялись по поверхности среды, несколько погружаясь в нее.

Колбы хранились при комнатной температуре (20—22°). Учет производился через 1, 2, 3, 5, 7 и 10 дней. Каждый раз отбирались из опыта 2—3 колбы, поверхность среды в них заливалась слабым раствором иодиодистого калия (ЖК). При наличии гидролиза вокруг корней получается светлая неокрашенная зона. По этой зоне устанавливался процесс гидролиза крахмала.

Результаты таких многократных опытов сведены в табл. 1.

Таблица 1

Гидролиз крахмала вокруг корневых растений

Растение	Корни целого растения						Отрезанные корни					
	сутки						сутки					
	1	2	3	5	7	10	1	2	3	5	7	10
Горох . . .	—	—	—	±	±	+	—	—	—	—	—	+
Кукуруза .	—	—	±	+	+	++	—	—	—	±	+	+
Пшеница .	++++	++++	++++	+	+	+	++++	++++	++++	+	+	+

Примечание: — обозначает отсутствие зоны гидролиза; ± гидролиз едва заметный; + гидролиз слабый, но ясно выраженный, зона 0,5—1,5 мм; ++++ зона 6—15 мм; +++++ зона 1,6—2 см и более.

Как видно из табл. 1, корни испытанных растений выделяют амилазу и разлагают крахмал. Наиболее интенсивно выражены амилалитические процессы у пшеницы. Нередко можно было наблюдать полный гидролиз во всей колбе уже через несколько часов. У гороха и кукурузы амилалитическая способность корней слабо выражена. Отрезанные и неотрезанные корни в наших опытах примерно с одинаковой скоростью разлагают крахмал.

Скорость и интенсивность гидролиза крахмала нами учитывалась в последующих опытах. Отрезанные корни стерильно выращенных растений помещались в колбы с водным раствором крахмала, в концентрации 0,25%. В колбу вносилось по 10 см<sup>3</sup> раствора, т. е. по 25 мг крахмала. Опыт велся при 20°.

Через 30 мин. начиналось определение в растворе крахмала при помощи иодной реакции. По скорости исчезновения крахмала устанавливалась интенсивность ферментации (табл. 2).

Приведенные в табл. 2 данные показывают, что корни гороха при максимальной навеске 0,6 г начинают выявлять гидролиз крахмала только через 48 час.; навеска корней 0,6 г кукурузы полностью разложила крахмал через 48 час., а корни пшеницы даже при навеске 0,1 г разложили то же количество крахмала (25 мг) через 30 мин.

Как видно из приведенного, корни пшеницы в условиях стерильного роста очень интенсивно разлагают крахмал. Чтобы выяснить, обладают ли этой способностью корни растений, выросшие в почве в условиях естественного выращивания, мы провели опыты с теми же растениями, выросшими на опытном участке Института микробиологии АН СССР

(Ленинские Горки). Ферменты определялись два раза на разных стадиях: на 18—20-е сутки и на 40-е сутки роста, перед цветением. Так как корни таких растений не стерильны, мы ставили острые опыты на 2—4 часа, и только на разложение крахмала.

Растения вынимались из почвы с корнями. Последние тщательно отмывались от земли и помещались в колбы с раствором крахмала. В каждой колбе было по 25 мг крахмала. В одни колбы помещались отрезанные корни, в другие — корни целых растений. Навески корней были от 0,2 до 50 г. Результаты этих опытов даны в табл. 3.

Как видно из табл. 3, корни растений, выросшие в естественных условиях, выделяют амилазу и разлагают крахмал, причем интенсивность разложения у разных растений различна. Так же как и в условиях стерильного опыта, наиболее энергично разлагают крахмал корни пшеницы, затем корни кукурузы и слабее всех — корни гороха: навеска корней гороха в 2,5 г не разложила 25 мг крахмала через 4 часа. Дальнейшие наблюдения были прекращены, так как из-за нестерильности опыта результат мог быть искажен вследствие развития и деятельности прикорневой микрофлоры.

Таблица 2

Интенсивность гидролиза крахмала корнями растений

Растение	Навеска корней в г	Длительность опыта в часах					
		0,5	1	2	4	20	48
Горох . . .	0,6	+	+	+	+	+	+
	0,1	+	+	+	+	+	+
	0,1	+	+	+	+	+	+
Кукуруза .	0,5	+	+	+	+	+	—
	0,2	+	+	+	+	+	±
	0,06	+	+	+	+	+	+
Пшеница .	0,3	—	—	—	—	—	—
	0,1	—	—	—	—	—	—
	0,05	±	—	—	—	—	—
	0,01	+	±	—	—	—	—

Примечание: — обозначает отсутствие, + наличие крахмала, ± реакция неопределенная.

Таблица 3

Скорость гидролиза крахмала корнями растений (навеска крахмала 25 мг)

Корни растений	Навеска корней в г	Время разложения крахмала	Корни растений	Навеска корней в г	Время разложения крахмала в час.
Пшеница			Кукуруза		
Корни изолиров.	{ 0,5 0,1	40 мин. 3 часа	Корни изолиров.	{ 5 1,6	3 4 (неполн. гидролиз)
Горох					
			Корни изолиров.	2,5	4 (неполн. гидролиз)
			Корни неизолиров.	2,7	То же

Впрочем, в контрольные колбы мы специально прибавляли густую взвесь отмытых с корней микробов вместе с почвенными частицами (10 г корней тщательно промывались 20 см<sup>3</sup> стерильной воды, и в эту воду затем добавлялась навеска 25 мг крахмала). Гидролиз крахмала в этих колбах происходил очень слабо. Крахмал был разложен полностью спустя 20 час. при температуре 20—22°.

Корни изолированные разлагают крахмал почти одновременно с неизоллированными; отмечается лишь небольшое отставание у последних. Во втором анализе корни кукурузы более позднего возраста были несколько активнее, чем в первом. Повидимому, здесь имеет значение возраст, или стадия развития растений.

Выявление инвертазы в корневых выделениях производилось нами по той же общей схеме, что и в опыте с амилазой. Корни погружались в колбы с 1% водным раствором сахарозы (в каждой колбе было по 10 см<sup>3</sup> раствора). Через 1—10 час. определялась инверсия реактивом Фелинга. Опыты велись с растениями, выросшими в стерильных условиях, и с растениями, взятыми с полевого участка.

Исследования показали, что корни всех трех растений — пшеницы, кукурузы и гороха — с одинаковой скоростью инвертируют сахарозу. Во всех случаях через 1—2 часа при навеске 0,2 г корней обнаруживалась явно выраженная инверсия. Корни растений, выросших в поле, проявляют одинаковую инвертирующую способность с корнями стерильного опыта.

Способность корней разжижать желатину испытывалась следующим способом. В пробирки с 10% водной желатины помещались корни стерильно выросших растений при 20—22° в течение 15 суток. Результат определялся по разжижению желатины. Исследования эти не дали положительных результатов. Ни в одной пробирке мы не наблюдали разжижения желатины. Лишь в некоторых из них отмечалось уменьшение вязкости ее. Возможно, что длительность хранения опытных пробирок была недостаточна, а концентрация желатины слишком велика.

Приведенные данные показывают, что корневая система растений, подобно гетеротрофным микроорганизмам — грибам, бактериям и др., обладает способностью при помощи ферментов разлагать сложные органические соединения, и надо полагать, и усваивать их при определенных условиях питания (а может быть, всегда).

Институт микробиологии  
Академии наук СССР

Поступило  
14 VIII 1952

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> Н. Красильников, ДАН, 79, № 5 (1951). <sup>2</sup> В. Купревич, ДАН, 68, № 5 (1949).