

О. Л. ОЗЕРЕЦКОВСКАЯ, М. А. ДАВЫДОВА, Н. И. ВАСЮКОВА,
Л. В. МЕТЛИЦКИ

ГЛИКОАЛКАЛОИДЫ В ЗДОРОВОМ И ПОВРЕЖДЕННОМ КЛУБНЕ КАРТОФЕЛЯ

(Представлено академиком А. Н. Опариным 16 IV 1970)

Стероидные гликоалкалоиды α -соланин и α -чаконин, содержащиеся в картофеле *Solanum tuberosum*, обладают антибиотическим действием. В ряде работ (¹⁻⁴) показано, что эти вещества подавляют рост паразитарных грибов и бактерий. В наибольшем количестве α -соланин и α -чаконин обнаруживаются в цветках и проростках и в меньшей степени — в клубнях и стеблях (^{5, 6}).

Задачей настоящей работы явилось изучение гликоалкалоидов в здоровом, механически пораженном и инфицированном клубне картофеля.

Работа проводилась с клубнями сорта Любимец (генотип R_1). Изучались здоровые неповрежденные ткани клубня, раневая перидерма, образующаяся на поверхности среза клубня, а также инфицированная ткань. Использовались две расы фитофторы, одна из которых (раса 1) была совместима с генотипом R_1 , в то время как к другой, несовместимой с данным генотипом, расе 0, этот сорт был устойчив. В последнем случае на поверхности инфицирования образовывался некроз. Для определений использовалась поверхностная ткань клубня толщиной 1 мм, которая срезалась: 1) с поверхности целого, неповрежденного клубня (естественная перидерма); 2) с механически пораженной, а затем залеченной поверхности среза клубня (раневая перидерма); 3) с поверхности среза клубня, инфицированной несовместимой расой (некротизированная ткань); 4) с поверхности среза клубня, инфицированной совместимой расой (зараженная ткань).

Определялись общие гликоалкалоиды с реактивом Марквиса, а также количество α -соланина и α -чаконина после элюции соответствующих пятен с тонкослойной хроматограммы (⁷).

Паренхима клубня картофеля не содержит гликоалкалоидов, подавляющее большинство которых сосредоточивается в зоне покровов. Они представлены здесь α -соланином, α -чаконином и их аглюконом — соланидином; количество чаконина в естественной перидерме почти вдвое превосходит содержание соланина (мг-% на сухой вес):

Гликоалкалоиды	Σ	α -Соланин	α -Чаконин	Соланидин	$\frac{\alpha\text{-Соланин}}{\alpha\text{-Чаконин}}$
Паренхима	0	0	0	0	—
Естественная перидерма	1090	82	140	17	0,59
Раневая перидерма на 3 день после разрезания	240	37	34	—	1,09

В составе раневой перидермы, формирующейся на поверхности поражения, также обнаруживаются гликоалкалоиды. На 3 день после разрезания их количество относительно невелико. Однако по мере образования раневой перидермы гликоалкалоиды в ее составе нарастают: так, у раневой перидермы 3-месячного возраста их количество составляет 1165 мг-%, т. е. сравнивается с содержанием в естественных покровах клубня. На поздних этапах в составе раневой перидермы, как это свойственно есте-

ственной, появляется соланидин. В то же время и отношение соланина к чаконину, равное единице у перидермы 3-дневного возраста, приближается к соответствующей величине, свойственной естественной перидерме.

При использованном нами способе отбора проб (верхний миллиметр ткани) в предназначенный для анализа материал попадали феллема, феллоген, феллодерма, а также около 8—10 рядов клеток подлежащей паренхимы или коры в случае естественной перидермы (при средней высоте паренхимной клетки 80 μ). Представляло интерес определить локализацию гликоалкалоидов внутри этого разнородного материала. Для этого ткань с залеченной поверхности среза клубня картофеля исследовалась дифференцированно: 1) отмершая суберинизированная часть раневой перидермы (феллема); 2) подлежащий слой живых клеток, состоящий из феллогена, феллодермы и 1—2 рядов подлежащей паренхимы; 3) следующий за ним слой, толщиной в 1 мм, включавший 12—13 рядов паренхимных клеток (подраневой слой).

Оказалось, что наибольшее количество гликоалкалоидов обнаруживается во 2-м слое (слой, непосредственно подлежащий феллеме) — оно здесь в 4 раза превосходит таковое в тканях феллемы; по мере дальнейшего углубления количество гликоалкалоидов падает:

Ткань	Суберинизированная часть перидермы	Подлежащий слой	Подраневой слой (1 мм)
Содержание гликоалкалоидов, мг-% на сух. в.	345	1400	675

Полученные данные хорошо согласуются с обнаруженным ранее наличием гликоалкалоидов в меристематических тканях, примером чему являются проростки, а в нашем случае меристематические ткани перидермы клубня картофеля.

Нами определялась степень фунгитоксичности соланина и чаконина. Тестом служило проращивание спор и длина инфекционных гиф раневого паразита картофеля *Fusarium solani*. Ниже приводятся полученные нами значения ЭД₅₀, т. е. концентрация ингибитора, подавляющая рост инфекционных гиф паразита на 50% (для сравнения указаны значения ЭД₅₀ для некоторых других соединений, также обнаруженных в составе перидермы клубня):

Вещество	α -Чаконин	α -Соланин	Синополетин	Кофейная к-та	Хлорогеновая к-та
Концентрация $\times 10^{-5}$, М	6	6	26	170	210

Оказалось, что фунгитоксичность как соланина, так и чаконина значительно превосходит все остальные соединения. Если сопоставить полученные для них значения ЭД₅₀ с концентрацией гликоалкалоидов, обнаруженных в тканях перидермы, то получится, что одни только гликоалкалоиды, не считая других фунгитоксических веществ, содержащихся в этих же тканях, способны предохранить клубень от внедрения паразита. Таким образом, перидерма — как естественная, покрывающая неповрежденный клубень, так и раневая, образующаяся на поверхности поранения, — представляет собой не только механический, но и химический барьер на пути проникновения инфекции. Полученные данные позволяют считать, что в числе прочих функций гликоалкалоиды в здоровом и механически пораженном клубне картофеля несут и защитную роль. На это указывает не только высокая степень фунгитоксичности, но и строгая локализация внутри естественных и раневых покровов. В частности, Аллен и Кач считают, что именно гликоалкалоиды определяют 90% всей токсичности естественной перидермы клубня картофеля (*).

Судьба гликоалкалоидов в инфицированном фитофторой клубне картофеля представляется нам совершенно иной. В наших опытах инфицированию предшествовало разрезание клубня, т. е. имелись все основания ожидать раневого синтеза гликоалкалоидов вблизи места инфицирования,

однако определения (мг-% на сухой вес) показали, что этого не происходило (исследование верхнего миллиметрового слоя):

Гликоалкалоиды	α -Соланин	α -Чапонин
Раневая перидерма	30	32
Некротизированная	2,5	4
Зараженная	0	0

Опыт был снят на 4 день, когда на клубнях после инфицирования несовместимой расой, образовывался четкий некроз, а на поверхности клубня, зараженной совместимой расой, появлялся налет мицелия гриба. Очевидно, в этом случае удавалось зарегистрировать лишь конечный результат взаимодействия партнеров. В связи с этим мы считали необходимым детализировать опыт, проведя его в динамике развития инфекции. Полученные результаты свидетельствуют о различном характере превращений гликоалкалоидов при инфицировании клубня совместимой и несовместимой расами *Phytophthora infestans*, хотя конечный результат их взаимодействия оказывался одинаковым. Судя по полученным данным, биосинтез гликоалкалоидов на клубнях

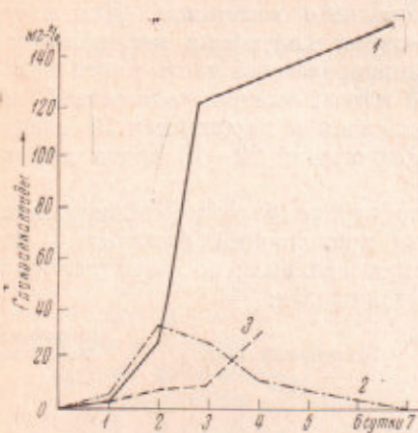


Рис. 1. Изменение содержания гликоалкалоидов после инфицирования поверхности среза клубня картофеля *Ph. infestans*. 1 — поранение, 2 — инфицирование совместимой расой, 3 — инфицирование несовместимой расой

картофеля, зараженного совместимой расой, в первые 2 суток не отличается от их образования на раневой поверхности (рис. 1). Различия наступают позднее, начиная с 3 дня заражения, когда количество гликоалкалоидов в зараженной ткани резко падает. Напротив, в некротизированных тканях синтеза гликоалкалоидов в первые дни после инфекции почти не происходит, по крайней мере по сравнению с их образованием в ответ на поранение.

Падение гликоалкалоидов в ткани, зараженной совместимой расой *Ph. infestans*, совпадает по времени с массовым развитием гриба, вступающего в стадию вторичного спороношения. Это позволило предположить, что фитофтора обладает способностью разлагать гликоалкалоиды. Для проверки был проведен следующий опыт. После заживления поверхности среза клубня картофеля в течение недели (в результате чего в раневой перидерме образовались гликоалкалоиды в количестве 360 мг-%), ее подвергли инфицированию совместимой расой *Ph. infestans*. В последующую неделю фитофтора полностью поразила клубни. К этому времени в зараженных тканях удалось обнаружить только следы гликоалкалоидов, в то время как неинфицированная раневая перидерма этого же срока содержала значительное их количество (мг-% на сухой вес):

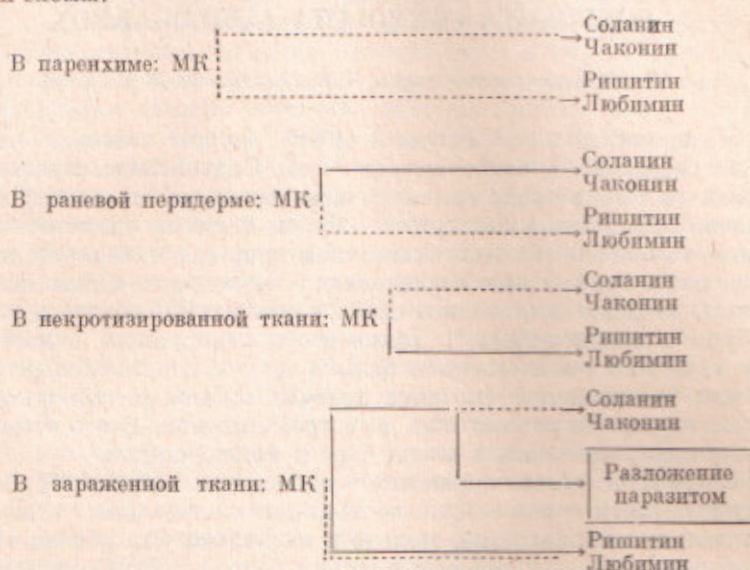
Гликоалкалоиды	Σ	α -Соланин	α -Чапонин
Раневая поверхность — заживание в течение 1 недели	360	57	82
Раневая поверхность — заживание в течение 2 недель	420	65	92
Зараженная поверхность — заживание в течение недели + заражение в течение недели	32,5	0	0

Полученные результаты свидетельствуют о способности фитофторы превращать и, очевидно, тем самым детоксицировать гликоалкалоиды, содержащиеся в составе раневого барьера клубня картофеля.

В некротизированных тканях клубня разложение гликоалкалоидов вряд ли имеет место, поскольку развитие паразита в них ограничено. Вмес-

те с тем, подавление их образования заставляет думать о перекрытии пути раневого биосинтеза гликоалкалоидов с переключением их предшественников на какие-то иные метаболические пути, возможно ведущие к биосинтезу фитоалексिनоподобных продуктов (⁹⁻¹¹). В клубнях картофеля такого рода соединения в ответ на заражение несовместимой расой *Ph. infestans* были недавно обнаружены. Речь идет о норсесквитерпеноидном спирте — ришитине (¹²) и втором, пока не идентифицированном соединении, который мы назвали любимином (¹³).

Общим предшественником на пути образования в организме как терпенов, так и стеролов является мевалоновая кислота (МК). Таким образом, если принять все вышесказанное, то процессы, происходящие в здоровом и поврежденном клубне картофеля, можно представить себе в виде следующей схемы:



В неповрежденной паренхиме клубня картофеля не образуются ни гликоалкалоиды, ни фитоалексины. В раневой перидерме весь мевалонат используется на синтез гликоалкалоидов. В некротизированной ткани, наоборот, образование гликоалкалоидов не происходит (или почти не происходит), а мевалонат используется для синтеза ришитина и любимины. Что же касается зараженной ткани, то в ней, как и в раневой, гликоалкалоиды хотя и образуются, но разлагаются фитофторой.

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

Поступило
16 IV 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ H. W. Conner, *Plant Physiol.*, **12**, 79 (1937). ² P. Allison, Van Burgh, *Phytopathology*, **42**, 1 (1952). ³ R. K. McKee, *J. Gen. Microbiol.*, **20**, 686 (1959).
- ⁴ R. Paquin, R. A. Lachance, *Canad. J. Microbiol.*, **10**, 115 (1963). ⁵ L. H. Lampitt, J. H. Bushill et al., *J. Soc. Chem. Ind.*, **62**, 48 (1943). ⁶ С. М. Прокошев, Биохимия картофеля, Изд. АН СССР, 1947. ⁷ А. Р. Гусева, В. А. Пасешиченко и др., Биохимия, **30**, в. 2, 260 (1965). ⁸ E. Allen, J. Kuč, *Phytopathology*, **58**, 6, 776 (1968). ⁹ K. Tomiyama, N. Ishizaka et al., *Biochemical Regulation in Diseased Plants or Injury*. The Phytopathological Society of Japan, Tokyo, 1968.
- ¹⁰ О. Л. Озерецковская, Н. И. Васюкова, Л. В. Метлицкий, ДАН, **178**, № 1 (1968). ¹¹ Н. И. Васюкова, О. Л. Озерецковская, Л. В. Метлицкий, Прикл. биохимия и микробиол., **6**, в. 4, 431 (1970). ¹² K. Tomiyama, N. Ishizaka et al., *Abstracts of Submitted Papers at the International Symposium on Plant Biochemical Regulation in Viral and other Diseases or Injury*, Tokyo, 1967. ¹³ О. Л. Озерецковская, Н. И. Васюкова, Л. В. Метлицкий, ДАН, **189**, № 5 (1969).