

Г. А. ШИРЯЕВА, Г. П. АКимова, К. З. ГАМБУРГ

О ПИГМЕНТАХ КУЛЬТУРЫ ТКАНИ ТАБАКА

(Представлено академиком М. Х. Чайлахяном 23 IV 1971)

В некоторых случаях при получении и выращивании каллусных тканей в изолированной культуре наблюдали, что они имели желтую или красную окраску, которая сохранялась при последующем пассировании (1-4). Однако природа пигментов, вызывающих эту окраску, в большинстве случаев не исследована. С другой стороны при получении каллусов из окрашенных тканей, например из корнеплода моркови, первоначальная окраска исчезала, а возникшие каллусы были бесцветными или слабо окрашенными (5). Появление стойких изменений в окраске ткани является легко обнаруживаемым индикатором генетических или эпигенетических изменений в культивируемых клетках, и поэтому их исследование представляет значительный интерес.

При культивировании ткани, полученной Р. Г. Бутенко (Институт физиологии растений) из сердцевинной паренхимы стебля табака и любезно предоставленной нам, в 1965 г. были выделены несколько штаммов. Эти штаммы отличались от исходной ткани отсутствием потребности в кинетине, легкой распадаемостью на мелкие агрегаты в жидкой среде и наличием окраски от желтой до ярко-красной. В дальнейшем были стабилизированы два штамма: ТБ-2, имеющий желтую окраску, и К-20, имеющий красную окраску. Эти штаммы поддерживаются в культуре на агаре и в суспензии до настоящего времени. При этом штамм ТБ-2 стойко сохраняет желтую окраску, а у штамма К-20 красная окраска поддерживается отбором для пересадки окрашенных в красный цвет участков, так как при его выращивании постоянно возникают отклонения в виде участков, окрашенных в желтый, оранжевый цвет и бесцветных.

В настоящей работе приводятся данные по изучению пигментов, ответственных за окраску этих тканей. Техника выращивания ткани на агаре и в суспензии была описана в предыдущих работах (6, 7). В первоначальных опытах было установлено, что пигменты можно было извлечь из ткани этанолом и ацетоном. При встряхивании водно-спиртового или водно-ацетонового экстракта с петролейным эфиром пигменты переходили в этот неполярный растворитель. Последнее позволило предположить, что экстрагируемые пигменты относятся к каротиноидам.

Ткань фиксировали кипящим ацетоном, пигменты экстрагировали ацетоном, переводили в петролейный эфир и хроматографировали на бумаге «Ленинградская быстрая» (штамм К-20 в петролейном эфире, штамм ТБ-2 в смеси петролейного эфира и ацетона, 6:1). После трехкратного перехроматографирования (8) полосы пигментов элюировали различными растворителями и снимали спектры этих элюатов на СФ-10. Для определения наличия в молекулах пигментов эпоксидных групп измеряли смещение максимумов поглощения в присутствии HCl.

В табл. 1 и на рис. 1 представлены спектральные характеристики выделенных пигментов. Штамм К-20 содержит 4 пигмента. Оранжевая зона 1 была идентифицирована как β -каротин по спектральным свойствам, по величине R_f (0,98) и по характерной для β -соединений форме спектральной кривой. Красно-оранжевые зоны 2 (R_f 0,38) и 3 (R_f 0,08) отно-

сятся к группе ликопинов и вместе составляют до 90% от суммы пигментов. Лимонно-желтая зона 4 (R_f 0,04) представляет собой монооксидное соединение, так как под влиянием HCl максимумы поглощения

Таблица 1

Максимумы поглощения (м μ) пигментов, выделенных из культуры ткани табака

Растворители	Полосы пигментов для штамма ТБ-2			Полосы пигментов для штамма К-20			
	А	В	В	1	2	3	4
Хлороформ	462	427, 451, 480	428, 451, 480	438, 464, 492	456, 484, 518	456, 484, 518	427, 451, 481
Петролиновый эфир	445, 470	437, 435	438, 467	428, 450, 478	445, 470, 502	445, 470, 502	—
CCl ₄	459	448, 478	446, 478	438, 464, 492	456, 484, 518	456, 484, 518	—
Бензол	459	451, 480	450, 479	438, 464, 494	458, 486, 520	458, 486, 520	—
Этанол	452	418, 440, 469	416, 442, 471	430, 453, 476	448, 474, 505	448, 474, 505	416, 445, 471

сдвигались на 18 м μ в коротковолновую область. Пигмент этой зоны при перехроматографировании легко изомеризуется, образуя до 5 полос с одинаковыми спектрами поглощения. Концентрация пигментов в этом штамме составляла 100—150 м μ на 1 г сырого веса.

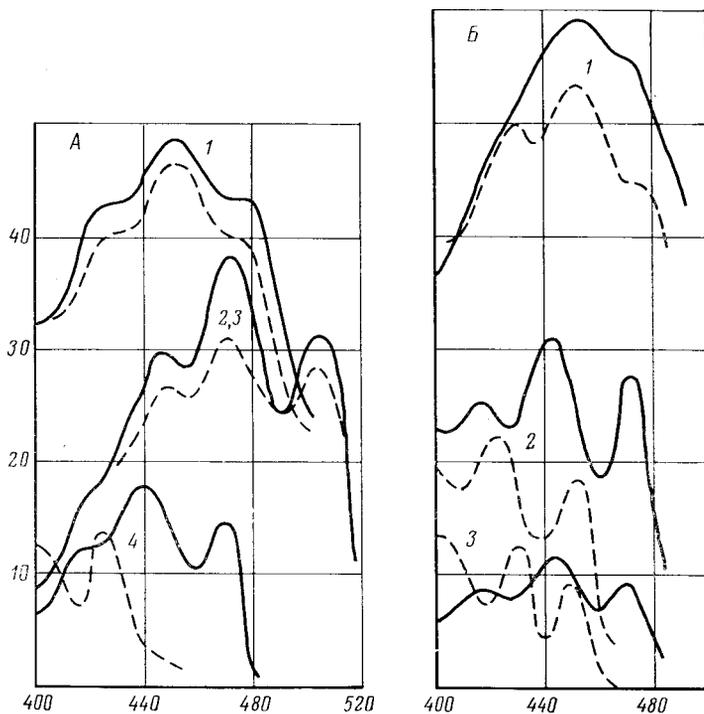


Рис. 1. Спектры поглощения пигментов ткани табака штамма К-20 (А) и ТБ-2 (Б) в этаноле (сплошная линия) и в этаноле + HCl (штриховая линия). 1, 2, 3, 4 — полосы на хроматограмме

Из штамма ТБ-2 было выделено три неидентифицированных пигмента. Пигмент А имел R_f 0,98, соответствующее β -каротину, и одновершинную спектральную кривую со слабыми инфлексиями по обеим сторонам максимума. По Дэвису (⁹), такой характер кривой позволяет предполо-

жить наличие в молекуле кетогруппы. Пигмент не содержал эпоксидных групп. Бледно-оранжевый пигмент *B* и ярко-желтый пигмент *B* (R_f 0,72 и 0,36 соответственно) имели очень близкие спектры поглощения. Реакция с HCl показала, что оба они содержат по одной эпоксидной группе. Коротковолновая инфлексия, характерная для спектров обоих пигментов, указывает на их принадлежность к β -иононовому ряду. При кохроматографии пигмент *B* обнаружил R_f , сходное с β -каротином, а пигмент *B* занимал промежуточное положение между лютеин-эпоксидом и неоксантинном. Содержание каротиноидов в ткани штамма ТБ-2 составляло около 10 μg на 1 г сырого веса. Примерно 50—60% от суммы составлял пигмент *B*, 30—40% пигмент *A* и 5—10% пигмент *B*.

Таким образом, можно сделать вывод, что окраска темновых каллусных тканей табака у изученных нами штаммов обусловлена высоким содержанием каротиноидов. Это содержание на 2—3 порядка выше, чем в бесцветных каллусных тканях, где оно составляет 0,1—1 μg на 1 г сырого веса (¹⁰⁻¹²). Различие в окраске между штаммами К-20 и ТБ-2 обусловлено, по-видимому, разным качественным составом и количественным содержанием каротиноидов. В дальнейших исследованиях будет изучена роль внешних факторов в регуляции накопления этих пигментов в культуре.

Сибирский институт физиологии
и биохимии растений
Сибирского отделения Академии наук СССР
Иркутск

Поступило
20 IV 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ A. C. Hildebrandt, J. C. Wilmar et al., Am. J. Bot., **50**, 248 (1963).
² M. C. Mathes, Forest Sci., **10**, 35 (1964). ³ N. Sankhla, D. Sankhla, U. N. Chatterji, Zs Pflanzenphysiol., **57**, 498 (1967). ⁴ L. L. Winton, Am. J. Bot., **55**, 742 (1968). ⁵ H. M. Israel, M. O. Mapes, F. C. Steward, Am. J. Bot., **56**, 910 (1969). ⁶ К. З. Гамбург, В. Н. Маркович и др., ДАН, **174**, 729 (1967). ⁷ Л. А. Леонова, Л. В. Гамалец, К. З. Гамбург, Физиол. раст., **17**, 731 (1970). ⁸ В. С. Сааков, Г. А. Ширяева, Сборн. Физиологические исследования интродуцируемых растений, Л., 1967, стр. 151. ⁹ B. H. Davies, In: Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments, London, 1965, p. 489. ¹⁰ B. Kaul, E. J. Staba, Planta medica, **15**, 145 (1967). ¹¹ A. K. Stobart, I. McLaren, D. R. Thomas, Phytochemistry, **6**, 1467 (1967). ¹² J. M. Ulrich, G. MakKinney, Physiol. plantarum, **23**, 88 (1970).