

Г. С. ИЛЬИН, В. И. КЕФЕЛИ, Р. Х. ТУРЕЦКАЯ, Л. В. ЯКОВЛЕВА,  
П. В. ВЛАСОВ, Н. Г. РОЖКОВА

**ФАКТОР САМОИНГИБИРОВАНИЯ У СЕМЯН ТАБАКА**

(Представлено академиком М. Х. Чайлахяном 12 XII 1972)

Взаимодействие между растениями в фитоценозах представляет собой предмет аллопатических исследований. Чаще всего это взаимодействие изучают между растениями разных видов и меньше внимания обращают на характер отношений между особями одного вида. Еще меньший интерес исследователи проявляют к начальным этапам онтогенеза взаимодействующих растительных пар одного вида. В связи с указанными обстоятельствами предметом наших исследований явился эффект самоингибирования семян табака, обнаруженный Г. С. Ильиным в 1966 г. (<sup>1</sup>). Сущность эффекта состояла в следующем: если семена табака равномерно увлажнялись на фильтровальной бумаге, то их прорастание в чашке Петри шло равномерно (рис. 1 а), если семена располагали на фильтровальной бумаге и затем ее увлажняли, перенося воду в центр, то прорастание семян подавлялось по краям чашки (рис. 1 б), при нанесении воды в чашку по периферии прорастание тормозилось в центре чашки (рис. 1 в). Складывалось впечатление, что характер поступления воды определяет тип прорастания семян табака. Можно предположить, что вода, увлажняя семена, экстрагирует из них какой-то фактор, способный тормозить прорастание соседних семян, что и вызывает процесс самоингибирования.

Расшифровка химической основы этого феномена явилась темой нашего исследования.

**Методика.** С целью проверки действительно ли вода, бывшая в контакте с семенами, содержит тормозящий фактор, семена (*Nicotiana tabacum* L.) экстрагировали водой, и водным экстрактом в разных количествах увлажняли фильтровальную бумагу в чашках Петри, в которых находились семена табака.

Затем водную фракцию без предварительного подкисления (рН 5, 6) экстрагировали последовательно четыреххлористым углеродом, эфиром, этилацетатом и бутанолом. Каждую фракцию, включая водный остаток, подвергали хроматографическому разделению, хроматограммы просматривали в у.-ф. свете и проявляли диазотированной сульфаниловой кислотой (ДСК) и перманганатом калия (KMnO<sub>4</sub>). Все зоны хроматограмм испытывали на рост отрезков coleoptилей и прорастание семян табака. Обнаруженный на первичных хроматограммах тормозящий фактор подвергали рехроматографии в специально подобранных смесях растворителей и вновь испытывали его ингибиторное действие с помощью биотестов.

После установления гомогенности основного ингибиторного фактора, подвергнутого последовательной очистке, его сравнивали с веществами-стандартами и определяли у.-ф. спектр. Тормозящее действие ингибиторного фактора на прорастание семян табака оценивали по подавлению содержания алкалоидов (никотина) в проростках, так как в течение первых 8 дней накопление алкалоидов полностью коррелировало с вытягиванием проростка в длину (<sup>1</sup>).

**Результаты.** Водный экстракт, полученный путем настаивания семян в соотношении (семена : вода = 1 : 2), подавлял прорастание семян

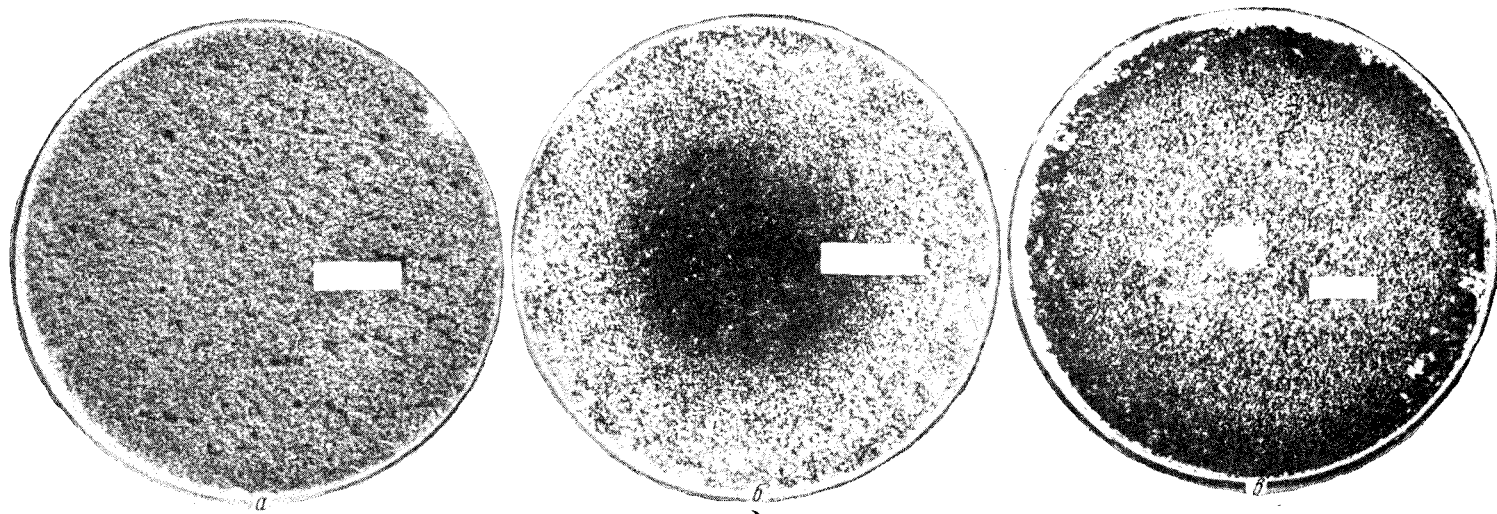


Рис. 1. Прорастание семян табака на увлажненной фильтровальной бумаге: *а* — равномерное увлажнение, *б* — увлажнение в направлении от центра к периферии, *в* — от периферии к центру

и образование никотина тем сильнее, чем большее количество этого экстракта вносили в чашку Петри.

При объеме экстракта 5, 10 и 20 мл интенсивность прорастания семян табака оценена по содержанию никотина в проростках, в мг (на чашку Петри) и была соответственно равна 11,3, 8,9 и 7,3. В водном экстракте

никотин отсутствовал, в контрольном варианте содержалось 13,8 мг никотина.

Разделение водного экстракта на фракции показало, что наибольшим ингибиторным действием обладает водный остаток, затем по степени убывания активности следует эфирная, бутанольная и этилацетатная фракции. Поскольку водная фракция обладала наиболее сильным тормозящим действием, ее выпаривали досуха, сухой остаток растворяли в 80% этаноле и разделяли хроматографически на бумаге, используя для биологического

проявления два теста: рост отрезков coleoptилей пшеницы и семена табака (табл. 1). Оказалось, что ингибиторный фактор, подавляющий наиболее сильно рост биотестов, локализовался в верхней части хроматограммы ( $R_f$  0,5—1,0).

В водном остатке присутствовало большое количество фенольных соединений, которые при хроматографировании этого остатка в смеси растворителей изопропанол :  $\text{NH}_4\text{OH}$  :  $\text{H}_2\text{O}$  = 10 : 1 : 1 локализовались в пристартовой части хроматограммы ( $R_f$  0—0,32), в то время как ингибиторная активность концентрировалась на уровне  $R_f$  0,65—0,91. Таким образом, эта смесь растворителей оказалась удобной для первичного хроматографирования, можно было отделить ингибиторный фактор от сопутствующих фенолов. Значение  $R_f$  ингибитора из семян табака совпадало с  $R_f$  абсцизовой кислоты.

В других смесях растворителей зона торможения также была близка к  $R_f$  абсцизовой кислоты (табл. 2). В связи с указанным обстоятельством

Таблица 2

Сравнение значения  $R_f$  ингибитора из семян табака с  $R_f$  абсцизовой кислоты (стандарта), по данным биотеста

Смеси растворителей	$R_f$ ингибитора из семян табака	$R_f$ абсцизовой кислоты
Изопропанол — $\text{NH}_4\text{OH}$ — $\text{H}_2\text{O}$ (ИАВ) 10 : 1 : 1	0,65—0,83	0,60—0,83
<i>n</i> -Бутанол — $\text{CH}_3\text{COOH}$ — $\text{H}_2\text{O}$ (БУВ) 3 : 2 : 95	0,80—1,0	0,74—0,91
$\text{H}_2\text{O}$	0,80—1,0	0,80—1,0
<i>n</i> -Бутанол — $\text{CH}_3\text{COOH}$ — $\text{H}_2\text{O}$ (БУВ) 40 : 12 : 28	0,80—1,0	0,92—1,0
15% $\text{CH}_3\text{COOH}$	0,75—0,90	0,70—0,83

ингибитор из водного остатка извлекали по схеме выделения абсцизовой кислоты <sup>(2)</sup>. Для этой цели семена табака (500 г) настаивали с водой в соотношении 1 : 2, 24 часа. Водную вытяжку подкисляли до pH 3, экстрагировали 5 раз серным эфиром. Эфирный экстракт подвергали бикарбонатной очистке, упаривали и сухой остаток разделяли в смеси изопропанол :  $\text{NH}_4\text{OH}$  :  $\text{H}_2\text{O}$  = 10 : 1 : 1. Зону с  $R_f$  абсцизовой кислоты элюировали 1%  $\text{CH}_3\text{COOH}$  и подвергали рехроматографии на бумаге и в тонком слое, используя в качестве стандарта образец синтетической абсцизовой кисло-

ты. После трехкратной рехроматографии по схеме ИАВ 10 : 1 : 1 → БУВ, 3 : 2 : 95 → ИАВ, 10 : 1 : 1 был получен чистый препарат, который давал максимум поглощения в у.-ф. свете сходный с абсцизовой кислотой.

Хотя данные химического анализа показали в составе тормозящего фактора абсцизовую кислоту, следовало проверить действие чистого препарата (RS)-абсцизовой кислоты на прорастание семян. Оказалось, что абсцизовая кислота вплоть до концентрации 2 мг/л способна подавлять прорастание семян табака.

Концентрация абсцизовой кислоты (мг/л)	0	0,05	0,5	2,0	10,0
Прорастание семян табака (мг никотина на 1 чап- ку Петри)	15,0	15,8	15,0	13,5	6,9

Таким образом, основным компонентом ингибиторного фактора содержащегося в семенах табака и тормозящим прорастание самих семян является соединение типа абсцизовой кислоты. Кроме этого в водной вытяжке присутствуют и другие ингибиторы, в частности, вещества, светящиеся в у.-ф. свете ярко-голубым светом. Однако их тормозящая активность не значительна.

Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева  
Академии наук СССР  
Москва

Поступило  
24 XI 1972

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> G. S. Il'in, V. I. Kefeli, Abstracts of Tobacco Congr., Paris, C Corresta, Hamburg, 1966. <sup>2</sup> R. Rudnicki, Planta, 89, 1, 63 (1969).