

<https://doi.org/10.3176/biol.1968.1.01>

У. МАРГНА, М. ОТТЕР

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ БИОСИНТЕЗОМ АНТОЦИАНОВ И АЗОТНЫМ ОБМЕНОМ В ПРОРОСТКАХ ГРЕЧИХИ

II. Влияние комбинированного действия сахарного и азотного питания на накопление антоцианов в гипокотильях

В первой части этой работы рассматривалась только одна из двух сторон проблемы взаимосвязей между образованием антоцианов и азотным обменом в проростках гречихи — изменения в процессах азотного обмена при воздействии на нормальный метаболизм проростков экзогенным питанием сахарозой и азотнокислым аммонием (Оттер, Маргна, 1967). Из установленных особенностей наиболее существенны сдвиги, вызванные питательными веществами в обмене собственно белков. При введении азотнокислого аммония они в основном заключались в количественных изменениях — увеличении содержания белков, как и других азотсодержащих веществ, в проростках вследствие повышения общего уровня азота в тканях. Действие же сахарозы было сложнее: оно приводило к интенсификации расщепления запасных белков семядолей, ускорению транслокации освободившихся аминокислот из семядолей в другие органы и усилению синтеза новых белков в развивающихся тканях проростков, в частности в гипокотильях. Как в том, так и в другом случае эти сдвиги в белковом обмене, по всей вероятности, тесно связаны с изменениями в общем энергетическом балансе проростков.

Указанные особенности, несомненно, образуют тот общий фон основного обмена, который в аналогичных условиях экзогенного питания должен найти соответствующее отражение и на других биохимических процессах проростков. В первую очередь это касается биосинтеза антоцианов в гипокотильях, изменения в котором составляют вторую сторону изучаемой проблемы.

Цель этой части работы — подробное рассмотрение особенностей формирования антоциановых пигментов в гипокотильях проростков гречихи, выращенных в точно таких же условиях экзогенного питания, как и при изучении изменений в азотном обмене.

Материал и методика

В экспериментах использовали 5-дневные проростки гречихи (*Fagopyrum esculentum* Moench) местного эстонского сорта 'Йыгеваская отборочная', выращенные из семян урожая 1964 года (репродукция Йыгеваской селекционной станции Эстонского научно-исследовательского института земледелия и мелиорации). Проростки выращи-

вались при искусственном освещении, по стандартной методике и режиму, примененным и в предыдущих работах нашей лаборатории (Оттер, 1966; Маргна, Оттер, 1967).

Средой для азотного питания проростков служили 0,01, 0,05 и 0,1%-ные растворы азотнокислого аммония, средой для сахарного питания — 0,2, 1 и 2%-ные растворы сахарозы. В качестве контроля использовали проростки, выращенные на дистиллированной воде без добавления питательных веществ.

Весь опыт, как и в первой части работы, был запланирован по принципу факториальных экспериментов, одновременно изучалось действие всех концентраций азотнокислого аммония и сахарозы отдельно, всех возможных комбинаций разных уровней обоих факторов, а также накопление антоцианов в контрольном варианте. Одна повторность эксперимента состояла из 16 разных вариантов (принципиальная схема опытов представлена в первой части этой работы — Оттер, Маргна, 1967). Эксперимент был проведен в 5 таких повторностях. Для предотвращения возможных систематических ошибок отдельные чашки с проростками в пределах одной повторности помещались в световую камеру в произвольном порядке.

Количество антоцианов в гипокотилиях определяли фотоколориметрически с помощью фотозлектрического колориметра ФЭК-56М. Для этого гипокотили, отделенные от семядольных листочков и корней, растирали в фарфоровой ступке с 10 мл 1%-ного раствора соляной кислоты в 20%-ном метилом спирте, через час полученный мацерат профильтровали через гигроскопическую вату и центрифугировали, а в прозрачном центрифугате измеряли оптическую плотность при $\lambda=540$ мк. Результаты измерений выразили в условных единицах по шкале оптической плотности, перечисленных либо на 1 проросток, либо на 1 г сырого веса гипокотилей.

Вариационно-статистическая обработка данных производилась по технике дисперсионного анализа, приспособленной к экспериментам с факториальным расположением вариантов (Снедекор, 1961).

Результаты исследований

Из сводных данных по всем 16 вариантам опыта (табл. 1) выясняется, что интенсивность накопления антоцианов в гипокотилиях изменяется как в средах с различной концентрацией сахарозы, так и при выращивании проростков в растворах азотнокислого аммония. Зависимость содержания пигментов от обоих питательных факторов в общих чертах такая же и при комбинированном применении азотнокислого аммония и сахарозы. Однако обнаруживаются и некоторые отличительные черты по сравнению с действием их отдельно, в первую очередь при рассмотрении вопроса с точки зрения изменений в одном проростке.

При наличии в питательной среде только азотнокислого аммония абсолютное количество образовавшихся антоциановых пигментов в

Таблица 1

Влияние комбинированного действия сахарозы и азотнокислого аммония на содержание антоцианов в гипокотилиях 5-дневных проростков гречихи

Концентрация сахарозы в среде, %	В условных единицах на 1 проросток				В условных единицах на 1 г сырого веса			
	Концентрация NH_4NO_3 в среде, %							
	0	0,01	0,05	0,1	0	0,01	0,05	0,1
0	19,2	19,2	18,7	15,3	860	807	698	569
0,2	18,7	17,2	18,4	18,1	862	769	723	679
1	16,5	15,0	15,9	16,0	952	874	781	833
2	13,6	13,4	14,4	14,9	847	964	815	932

одном гипокотиле по сравнению с контролем обнаруживает четкую тенденцию к снижению, которая проявляется тем отчетливее, чем выше концентрация азота в среде. Несмотря на то, что различия между отдельными вариантами в цифровом выражении не очень велики, отрицательный эффект азотного питания можно доказать и математически. По результатам вариационно-статистического анализа исходных данных только в пределах вариантов с нулевой концентрацией сахарозы уровень значимости указанного азотного эффекта примерно $P=0,07-0,08$ (дисперсия варьирования по азотному питанию — 16,67 при 3 степенях свободы, дисперсия остаточного варьирования — 5,75 при 12 степенях свободы, $F=2,90$).

В вариантах с наличием в питательном растворе только сахарозы изменения интенсивности формирования антоцианов в принципе имеют такой же характер, как и под воздействием азотного питания, т. е. происходит постепенное уменьшение накопления пигментов с повышением концентрации сахарозы в среде. В данном случае различия между отдельными вариантами, однако, более значительны, благодаря чему и статистическая достоверность подавляющего эффекта сахарозы высока: уровень значимости превышает $P=0,05$ (дисперсия варьирования по сахарному питанию — 36,3 при 3 степенях свободы, дисперсия остаточного варьирования — 10,4 при 12 степенях свободы, $F=3,49$).

При комбинированном экзогенном питании подавляющее действие сахарозы на накопление пигментов в гипокотилиях полностью сохраняется и не зависит от присутствия в среде азотнокислого аммония даже при больших его концентрациях. Несколькими иначе обстоит дело с действием азотного компонента питательной среды. Заметного отрицательного влияния азотного питания на биосинтез антоцианов уже не наблюдается, оно по существу обнаруживается лишь при переходе от безазотистых вариантов на комбинированные. Увеличение же концентрации азотного компонента в питательном растворе не вызывает дальнейшего снижения абсолютного количества антоцианов на один гипокотиль, а скорее приводит уже к некоторой интенсификации образования пигментов. Указанная тенденция, однако, слабо выражена и не выходит за рамки биологического варьирования.

Таблица 2

Дисперсионный анализ данных по содержанию антоцианов в гипокотилиях 5-дневных проростков гречихи

Источник варьирования	Число степеней свободы	На 1 проросток		На 1 г сырого веса	
		Сумма квадратов	Средний квадрат	Сумма квадратов	Средний квадрат
Питание NH_4NO_3	3	13	4,3	2608	869**
Питание сахарозой	3	231	77,0**	3485	1162**
Взаимодействие $\text{NH}_4\text{NO}_3 \times$ сахароза	9	61	6,8	2291	255
Остаток	64	749	11,7	12553	196

** Уровень значимости $P \leq 0,01$.

Наглядно демонстрируют это данные суммарного дисперсионного анализа (табл. 2). Как видно из левой части таблицы, где представлены результаты анализа с точки зрения абсолютных количеств пигментов в

одном гипокотиле, обусловленная азотным питанием доля в общей сумме варьирования составляет лишь около 1%. Это незначительно по сравнению с варьированием в целом и является отражением относительно небольших различий в содержании антоцианов у вариантов с комбинированным питанием. Этим практически сглаживается и отрицательное действие азотнокислого аммония, которое установлено в вариантах без сахарозы. В итоге статистически доказуем только эффект сахарного компонента, в то время как действие азотного питания в суммарном выражении по всему эксперименту статистически несущественно. По той же причине не достигает статистически достоверного уровня взаимодействие «азотнокислый аммоний × сахароза», хотя некоторая зависимость действия азота от присутствия или отсутствия в среде сахарозы фактически была отмечена (см. стр. 5).

Действие азотнокислого аммония и сахарозы с точки зрения изменений в содержании антоцианов по отношению к сырому весу гипокотилей менее сложно. Азотное питание, как правило, приводит к снижению, сахарное же, наоборот (и противоположно его эффекту с точки зрения абсолютных изменений в одном гипокотиле), — к увеличению относительного содержания пигментов в сыром весе. Эффект обоих факторов весьма явно выражен и тем значительнее, чем выше их концентрация в среде для выращивания проростков. Взаимодействия факторов в данном случае не отмечается. Все эти обстоятельства подтвердили и результаты дисперсионного анализа (правая часть табл. 2).

Следует отметить, что противоречивость действия сахарозы, обнаруженная при рассмотрении изменений в содержании пигментов с разных точек зрения, мнима. Она обусловлена сильным тормозящим влиянием сахарного питания на рост проростков (рис. 1), чем маскируется симуль-

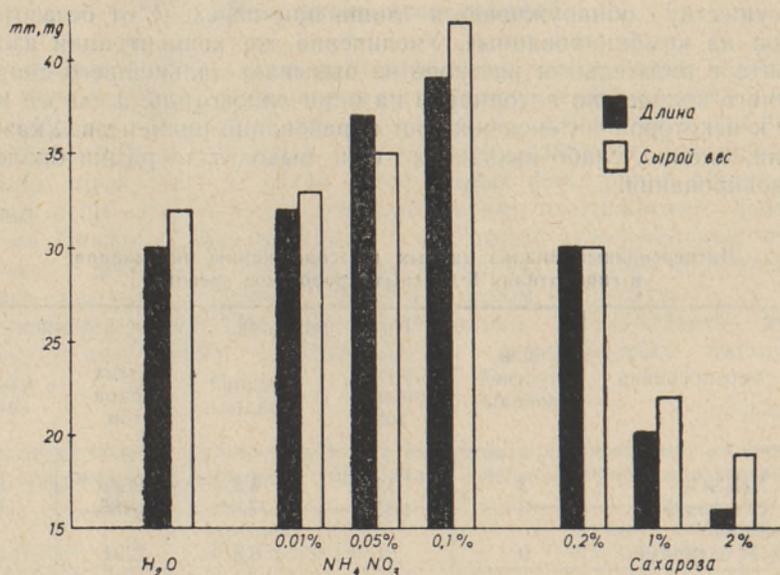


Рис. 1. Рост гипокотилей 5-дневных проростков гречиши в разных условиях экзогенного питания.

танное снижение интенсивности образования антоцианов. В результате получаем увеличение их относительного содержания в сыром весе, несмотря на то что абсолютное количество пигментов в гипокотилеях на самом деле уменьшается.

Таблица 3

Влияние комбинированного действия сахарозы и азотнокислого аммония на соотношение «антоцианы : азотсодержащие вещества» в гипокотылях 5-дневных проростков гречихи

Концентрация сахарозы в среде, %	Козф-фициент	В пересчете на 1 проросток				В пересчете на 1 г сырого веса			
		Концентрация NH_4NO_3 в среде, %							
		0	0,01	0,05	0,1	0	0,01	0,05	0,1
0	A : OA	0,28	0,27	0,24	0,15	0,41	0,37	0,32	0,23
	A : БА	0,96	0,91	0,85	0,46	1,22	1,02	0,82	0,63
	A : НБА	0,40	0,38	0,33	0,22	0,62	0,58	0,53	0,36
0,2	A : OA	0,28	0,26	0,25	0,20	0,38	0,33	0,31	0,24
	A : БА	0,94	0,86	0,97	0,79	1,06	0,84	0,95	0,67
	A : НБА	0,41	0,37	0,33	0,27	0,60	0,53	0,45	0,37
1	A : OA	0,24	0,21	0,21	0,19	0,30	0,28	0,25	0,24
	A : БА	0,72	0,58	0,63	0,55	0,73	0,66	0,58	0,55
	A : НБА	0,37	0,33	0,31	0,29	0,51	0,48	0,43	0,43
2	A : OA	0,19	0,19	0,19	0,19	0,21	0,24	0,20	0,23
	A : БА	0,59	0,52	0,53	0,53	0,46	0,53	0,45	0,55
	A : НБА	0,28	0,30	0,28	0,29	0,40	0,43	0,37	0,39

Примечание. А — антоцианы, OA — общий азот, БА — белковый азот, НБА — небелковый азот.

Таблица 4

Дисперсионный анализ данных по соотношениям «антоцианы : азотсодержащие вещества» в гипокотылях

Источник варьирования	Число степеней свободы	Средний квадрат					
		на 1 проросток			на 1 г сырого веса		
		A : OA	A : БА	A : НБА	A : OA	A : БА	A : НБА
Питание NH_4NO_3	3	344*	3474	748*	654*	4976	1702*
Питание сахарозой	3	265*	9846**	236	988**	16455**	1067
Остаток	9	66	1002	137	141	1684	294

* Уровень значимости $0,05 \geq P \geq 0,01$.

** Уровень значимости $P \leq 0,01$.

При сопоставлении вышесказанных данных с материалами первой части нашей работы легко заметить противоположное действие экзогенного азотного питания на указанные две стороны обмена вещества проростков. В отношении биосинтеза антоцианов оно в общем приводит к уменьшению количества образовавшихся пигментов в гипокотылях, в то время как содержание всех форм азотсодержащих веществ, в том числе и белковой фракции, значительно повышается (Оттер, Маргна, 1967). Аналогичная противоположность установлена и в одной из более ранних работ нашей лаборатории с проростками гречихи (Оттер, 1966). Таким образом, на фоне азотного питания хорошо выделяется определенный

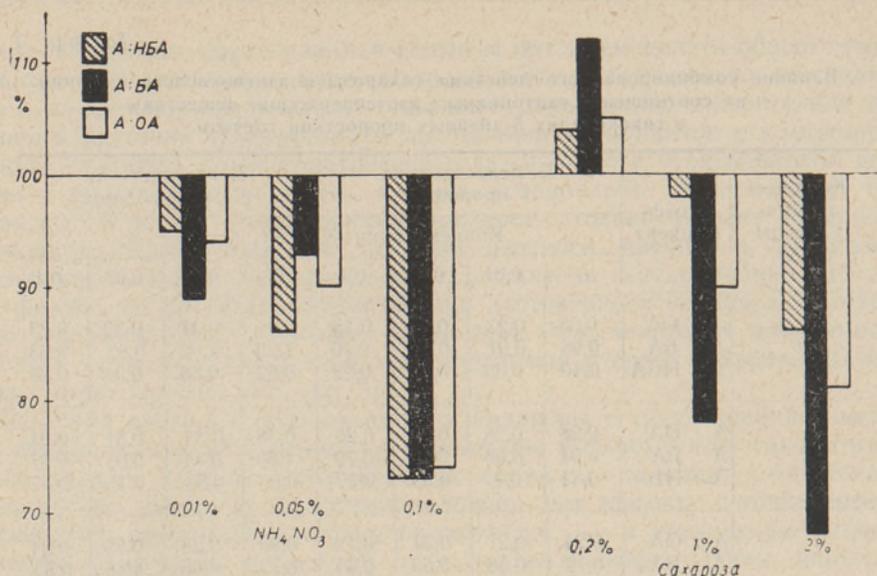


Рис. 2. Средние чистые эффекты (СЧЭ) питания азотнокислым аммонием и сахарозой на коэффициенты «антоцианы: азотсодержащие вещества» в гипокотильях 5-дневных проростков гречихи (% от среднего уровня отдельных коэффициентов при выращивании проростков на среде без добавления соответствующего питательного компонента; вычислены по абсолютным данным на 1 проросток; А — содержание антоцианов, НБА, БА и ОА — соответственно содержание небелкового, белкового и общего азота).

Примечание. За СЧЭ принято среднее арифметическое четырех разниц между данными по отдельным экспериментальным вариантам: $(C_{1-3} - 0)$, $(C_{1-3} A_1 - A_1)$, $(C_{1-3} A_2 - A_2)$ и $(C_{1-3} A_3 - A_3)$ в случае СЧЭ сахарозы, $(A_{1-3} - 0)$, $(A_{1-3} C_1 - C_1)$, $(A_{1-3} C_2 - C_2)$ и $(A_{1-3} C_3 - C_3)$ в случае СЧЭ азотнокислого аммония, причем буквой А обозначены варианты с наличием в питательной среде азотнокислого аммония, буквой С — варианты с сахарозой, а цифрами у букв — соответствующие уровни обоих питательных факторов.

внутренний «антагонизм» между азотным обменом и формированием антоцианов. Это полностью согласуется с данными других авторов, изучавших этот вопрос на других объектах (Slabecka-Szweykowska, 1952; Eberhardt, Haupt, 1959; Szweykowska, 1959; Szweykowska и др., 1959; Faust, 1965a, 1965b).

На фоне питания либо одной сахарозой, либо в комбинации с азотнокислым аммонием указанная внутренняя конкуренция обнаруживается в более скрытом виде и более или менее ясно видна только при сравнении обеих сторон метаболизма с точки зрения абсолютных данных на один проросток. Так, о взаимоисключающих отношениях между азотным обменом и биосинтезом антоцианов в гипокотильях в условиях экзогенного сахарного питания свидетельствует коррелирующее с уменьшением количества образовавшихся пигментов увеличение относительной доли белковой фракции в общей сумме азотсодержащих веществ, а также некоторое увеличение общего азота в гипокотильях по мере повышения концентрации сахарозы в среде.

С точки зрения относительных данных по сырому весу гипокотилей прямое сравнение цифровых показателей не позволяет охарактеризовать интересующую нас связь, ибо вследствие сильной задержки роста в сахарозных растворах действительный характер изменений значительно видоизменяется. Дополнительную информацию можно получить при

изучении количественных соотношений «антоцианы : азотсодержащие вещества», в случае которых вторичные, мешающие эффекты ростовых явлений устраняются. Соответствующие данные приведены в табл. 3, а результаты дисперсионного анализа — в табл. 4. Как видно, указанный коэффициент в общем уменьшается по мере увеличения как концентрации азотнокислого аммония, так и сахарозы в среде, свидетельствуя о том, что вызванные условиями экзогенного питания сдвиги в обмене веществ проростков направлены в сторону все большего преобладания процессов азотного обмена над процессами формирования антоцианов. Особого внимания заслуживает статистически высокодостоверное снижающее действие сахарозы на коэффициент «антоцианы : белковый азот», чего не отмечается в отношении небелковой фракции (табл. 4). Это показывает, что наблюдаемые изменения в накоплении антоцианов в гипокотылях под воздействием питания сахарозой связаны, в первую очередь, со стимулирующим влиянием сахарозы на биосинтез белков.

Вышеуказанные характерные сдвиги в соотношениях между этими двумя сторонами обмена веществ хорошо иллюстрируются данными о средних чистых эффектах обоих примененных питательных факторов на отдельные коэффициенты «антоцианы : азотсодержащие вещества» в гипокотылях (рис. 2).

Обсуждение результатов

Молодые проростки, в том числе и использованные нами проростки гречихи, обладают рядом отличительных особенностей по сравнению с тканевыми культурами, листовыми отрезками и некоторыми другими растительными объектами, которые часто используются в питательных экспериментах по изучению физиологии и биохимии антоцианов. Во-первых, важное место в их жизнедеятельности занимают процессы роста, мешающий эффект и возможное конкурирующее значение которых необходимо учитывать. Во-вторых, они имеют значительные резервы запасных углеводов, а также достаточные запасы органического азота, обеспечивающие в течение нескольких дней их нормальное развитие вне зависимости от снабжения экзогенными питательными веществами. В-третьих, несмотря на свою сравнительную простоту, они все же — целостные организмы с уже дифференцированными листовой, стеблевой и корневой частями.

В связи с этим взаимоотношения между любыми отдельными процессами проростков гораздо сложнее, чем, например, у малодифференцированных тканевых культур, целиком зависящих от внешних источников питания, или у отрезков взрослых листьев, уже прекративших свой рост. Это касается и взаимосвязей между процессами азотного обмена и биосинтезом антоцианов в гипокотылях проростков гречихи, изучение которых было предметом данного исследования.

Из полученных нами результатов следует особо выделить факты, подтверждающие существование конкуренции между образованием антоцианов и биосинтезом белков в любых из примененных условий экзогенного питания. Ответа ждет вопрос, на каком уровне решается исход этой конкуренции, что является лимитирующим фактором в регуляции указанной взаимосвязи?

В свете вышеизложенных соображений и на основе полученных данных можно предположить, что первичное значение в этом принадлежит изменениям в общем энергетическом балансе проростков и конкуренции между этими двумя процессами на энергетических началах. Определяющую роль при этом должны играть процессы биосинтеза

белков, или, вернее, весь комплекс сложных биохимических превращений, включая кроме самого биосинтеза функциональных и конституционных белков в гипокотылях и других частях проростков и предшествующие этому процессы — расщепление запасных белков семядолей, а также транспорт освободившихся аминокислот из семядолей в другие органы на места ресинтеза новых белков. Этот комплекс реакций наиболее характерен для молодых растущих проростков, являясь в то же время и одним из важнейших звеньев в их обмене веществ, употребляющих энергию.

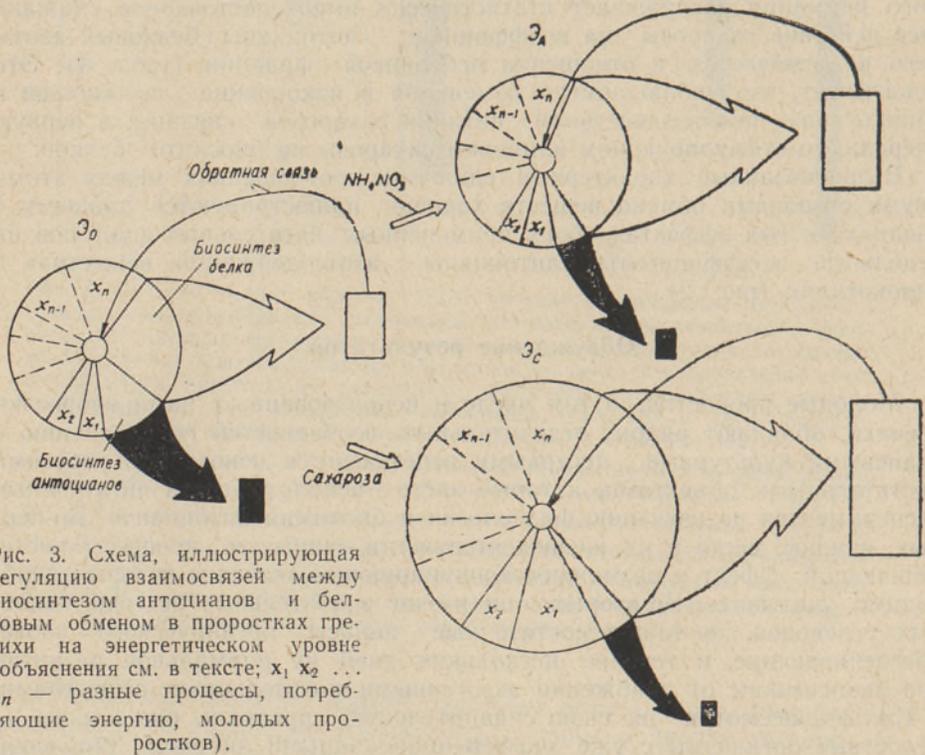


Рис. 3. Схема, иллюстрирующая регуляцию взаимосвязей между биосинтезом антоцианов и белковым обменом в проростках гречихи на энергетическом уровне (объяснения см. в тексте; x_1, x_2, \dots, x_n — разные процессы, потребляющие энергию, молодых проростков).

Сущность выдвинутого предположения о центральном значении энергетической обеспеченности как лимитирующего фактора и руководящей роли биосинтеза белков как основного регулятора в определении характера обсуждаемой взаимосвязи раскрывается при помощи схемы (рис. 3). Позиция \mathcal{E}_0 соответствует ситуации, имеющей место при выращивании проростков на дистиллированной воде без поступления дополнительной энергии из питательной среды. В этих условиях суммарные энергетические возможности проростков (на схеме изображены кругом) целиком определены только внутренними факторами, зависят главным образом от энергетического потенциала запасных углеводов семядолей и в меньшей мере от количества энергии, которую на той стадии развития сумеет ассимилировать еще недостаточно развитый фотосинтетический аппарат проростков. Исходя из этого, интенсивность биосинтеза белков (употребляется здесь и дальше в расширенном значении, см. выше) и образования антоцианов в гипокотылях должна зависеть непосредственно от количества энергии, которое приходится на долю этих реакций в результате распределения всей суммарной энергии развивающихся проростков между различными процессами. Следовательно, абсолютные

количества антоциановых пигментов и белков, установленные в гипокотилях пятидневных проростков, могут служить условным мерилем количества внутренней энергии, затраченной на обеспечение указанных процессов в течение первых 5 дней развития (на схеме изображены отдельными секторами круга суммарной энергии). Определяющими в распределении суммарной энергии проростков, по всей вероятности, являются внутренние, генетически установленные особенности гречихи как вида (черный кружочек в центре большого круга), причем вся регуляция, несомненно, имеет динамический характер и осуществляется через деятельность ферментов — как уже присутствующих в покоящемся зародыше, так и тех, постепенное новообразование которых происходит в ходе развития проростков (на схеме регуляция обозначена стрелкой обратной связи).

При введении экзогенного азота (позиция Э_а) общий энергетический потенциал проростков остается прежним или изменяется лишь незначительно либо в сторону увеличения, либо в сторону уменьшения. Это, по-видимому, зависит от того, какой из последующих двух компенсирующих друг друга процессов преобладает: увеличение энергетических возможностей вследствие возможного ускорения формирования фотосинтезирующего аппарата семядольных листочков или уменьшение энергетических ресурсов в результате использования одной части резервных углеводов для фиксации поступаемого извне азота. Значительные изменения, однако, должны иметь место во внутреннем распределении имеющегося энергетического потенциала. Появляется новый тип реакций, потребляющих энергию, — восстановление нитратного азота в клетках корней. дополнительные затраты энергии требует обеспечение усиленного биосинтеза белков в результате включения новообразованных аминокислот в общий цикл азотного обмена проростков. В итоге доля общей энергии, затраченной на обеспечение всего комплекса реакций азотного обмена, значительно увеличивается, что, несомненно, может происходить только за счет других процессов. Одновременно с этим как непосредственный результат повышения количества синтезированных белков изменяется и структура регулирующей мощи проростков. Это неизбежно ведет к изменению прежних коэффициентов распределения энергии и в пределах других процессов, придавая всем внутренним энергетическим изменениям как количественный, так и качественный характер. В итоге, несмотря на ухудшение суммарных энергетических возможностей, внутренние предпосылки для протекания одних процессов могут даже улучшаться (рост), в то время как интенсивность других снижается (биосинтез антоцианов в гипокотилях).

Введение сахарозы в проростки (позиция Э_с) связано со значительным повышением их энергетического потенциала, в отношении же азота они по-прежнему остаются закрытой системой. Тем не менее эффект сахарозы реализуется именно через ее влияние на азотный (белковый) обмен, пропорционального увеличения интенсивности всех процессов, потребляющих энергию, не наблюдается. Улучшение энергетических возможностей прежде всего оживляет процессы белкового обмена: ускоряются расщепление запасных белков семядолей, транслокация азотсодержащих веществ из семядолей в другие органы проростков, вслед за этим и биохимические реакции, приводящие к образованию новых белков в клетках и тканях развивающихся органов. В итоге в сахарозных средах количество образовавшихся в органах проростков конституционных и функциональных белков должно быть значительно больше, чем их количество при развитии исключительно за счет внутренних энергетических резервов. Это, несомненно, влечет за собой определенные качественные

и количественные сдвиги в составе имеющихся ферментных систем, составляющих основу регулирующего потенциала проростков. Непосредственным следствием этого должны быть изменения в распределении суммарной энергии между всеми процессами, потребляющими энергию, и нарушение той пропорциональности соотношений, которая имела место при выращивании проростков на дистиллированной воде. В конечном счете может оказаться, что несмотря на общее увеличение энергетического потенциала проростков при экзогенном введении сахарозы, интенсивность отдельных лимитированных энергией процессов даже снижается. Это и наблюдалось в отношении биосинтеза антоцианов в гипокотильях.

В условиях комбинированного введения в проростки азота и сахарозы регуляция взаимосвязей между белковым обменом и биосинтезом антоцианов в гипокотильях определяется тем же механизмом, т. е. в основе ее лежит конкуренция на уровне энергетической обеспеченности, примат в этом принадлежит комплексу процессов биосинтеза белка как важнейшему потребителю энергии, и любое изменение в общем энергетическом балансе проростков реализуется через его первичное влияние на биосинтез белка, конечным результатом которого являются не только количественные, но и качественные изменения в распределении суммарной энергии между всеми процессами в проростках.

Вышеизложенное предположение наиболее удовлетворительно объясняет те особенности азотного обмена и накопления антоцианов в проростках гречихи, которые установлены нами при выращивании их на средах с сахарозой и азотнокислым аммонием при учете своеобразия обмена веществ молодых проростков как объекта. Однако, кажется весьма вероятным, что выдвинутые здесь принципы для объяснения сущности регуляции аналогичной взаимосвязи в других, менее сложных модельных объектах (тканевые культуры, участки уже прекративших рост органов и т. д.) могут быть приемлемыми.

В то же время не исключена возможность существования и других регулирующих механизмов, удельный вес которых в отдельных случаях может быть более значительным. Из них заслуживают внимания возможная конкуренция между обоими процессами за общие метаболиты конституционного значения, а также постулируемая М. Фаустом (Faust, 1965a, 1965b) гипотеза о регулирующей роли взаимоотношений между интенсивностью протекания реакций цикла трикарбоновых кислот и пентоз-фосфатного пути метаболизма углеводов.

Указанные механизмы могут играть определенную роль в регуляции взаимосвязей между процессами биосинтеза антоцианов и белков и в проростках гречихи. Центральная же роль, однако, по-видимому, принадлежит именно конкуренции на уровне энергетической обеспеченности, что может быть выдвинуто рабочей гипотезой для дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

- Маргна У. В., Оттер М. Я., 1967. О корреляции между ростом и биосинтезом антоцианов в гипокотильях гречихи. Физиол. растений. (В печати).
- Оттер М., Маргна У., 1967. Взаимосвязь между биосинтезом антоцианов и азотным обменом в проростках гречихи. 1. Влияние комбинированного воздействия условиями экзогенного питания на азотный баланс в гипокотильях и семядольных листочках. Изв. АН ЭССР, Биология 16 : 340—351.
- Снедекор Д. У., 1961. Статистические методы в применении к исследованиям в сельском хозяйстве и биологии. М.
- Eberhardt F., Haupt W., 1959. Über Beziehung zwischen Anthocyanbildung und Stickstoffumsatz. Planta 53 : 334—338.

- Faust M., 1965a. Physiology of anthocyanin development in McIntosh apple. I. Participation of pentose phosphate pathway in anthocyanin development. Proc. Amer. Soc. Hortic. Sci. 87 : 1—9.
- Faust M., 1965b. Physiology of anthocyanin development in McIntosh apple. II. Relationship between protein synthesis and anthocyanin development. Proc. Amer. Soc. Hortic. Sci. 87 : 10—20.
- Otter M., 1966. Eksogeense lämmastiku mõju antotsüaanide biosünteesile ja lämmastikuühendite sisaldusele tatraidandis. ENSV TA Toimet., Biol. Seeria 15 : 508—517.
- Slabecka-Szweykowska A., 1952. On the conditions of anthocyanin formation in the *Vitis vinifera* tissue cultivated *in vitro*. Acta Soc. Bot. Polon. 21 : 537—576.
- Szweykowska A., 1959. The effect of nitrogen feeding on anthocyanin synthesis in isolated red cabbage embryos. Acta Soc. Bot. Polon. 28 : 539—549.
- Szweykowska A., Gierczak M., Luszczyk R., 1959. Anthocyanin synthesis in isolated embryos of red cabbage and radish. Acta Soc. Bot. Polon. 28 : 531—537.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
18/III 1967

U. MARGNA, M. OTTER

VASTASTIKUSED SEOSSED ANTOTSÜAANIDE BIOSÜNTEESI JA LÄMMASTIKUÜHENDITE AINEVAHETUSE VAHEL TATRAIDANDEIS

II. Kombineeritud lämmastik- ja suhkurtootumise mõju antotsüaanide sisaldusele hüpokotüülides

Resümee

Uuriti erineva kontsentratsiooniga sahharoosi- ja ammooniumnitraadilahuste kui substraadi mõju antotsüaanide biosünteesile viiepäevaste tatraidandite hüpokotüülides ja võrreldi seda samade toitekeskkondade mõjuga idandite valgulisel ainevahetuses.

Analoogiliselt varem saadud andmetega (Otter, 1966) selgus, et idandite toitumine eksogeense lämmastikuga kutsub hüpokotüülides esile antotsüaanide biosünteesi intensiivsuse languse, mis on seda suurem, mida kõrgem on toitelahuse kontsentratsioon. Samasugust nähtust võis täheldada ka sahharoosilahuste kasutamise korral idandite toitekeskkonnana, kuid sel juhul oli hüpokotüülides sünteesitava pigmendihulga vähenemine veelgi märgatavam.

Mõlema toitekomponendi üheaegsel esinemisel kasvukeskkonnas säilis sahharoosi pärssiv mõju antotsüaanide biosünteesile täielikult. Ammooniumnitraadi negatiivne toime seevastu ilmes ainult üleminekul lämmastikuvabadelt toitekeskkonnadelt kombineeritud toitelahustele, kuna lämmastikkomponendi kontsentratsiooni edasine suurendamine hüpokotüülides sünteesitavat pigmendihulka enam oluliselt ei muutnud.

Vastandades antotsüaanide biosünteesis avastatud muutusi nihetele, mis samades tingimustes tulid ilmsiks idandite lämmastikuühendite ainevahetuses (Otter, Margna, 1967), selgus, et kõrvuti antotsüaanide absoluuthulga vähenemisega hüpokotüülides põhjustab idandite toitumine nii sahharoosi kui ka ammooniumnitraadiga ühtlasi koefitsiendi «antotsüaanid : lämmastikuühendid» pideva vähenemise. Sahharoosi puhul ilmes see eriti selgelt antotsüaanide ja valgufraktsiooni sisalduse omavahelisel võrdlemisel. See näitab, et eksogeenselt toitumisest sahharoosi ja ammooniumnitraadiga tulenevad nihked tatraidandite ainevahetuses viivad lämmastikuühendite, eeskätt valkude ainevahetusega seotud protsesside üha suuremale domineerimisele antotsüaanide biosünteesiprotsesside üle.

Tullakse järeldusele, et lämmastikuühendite ja antotsüaanide biosünteesi vahekorra tatraidandis määrab vastavate reaktsioonide vaheline konkurents energiaühikute kindlustamise tasemel. Otsustav osa selles kuulub nähtavasti valkude biosünteesiga seotud reaktsioonide kompleksile kui tähtsaimale energiatarbijale noores arenevas idandis. Seejuures on tõenäoline, et mis tahes muutus idandite üldises energiabilansis realiseerub tema primaarse toime kaudu valkude biosünteesile, mille lõpptulemuseks pole üksnes kvantitatiivsed, vaid ka kvalitatiivsed muutused kogu summaarse energia jaotamises idandite üksikute energiat tarvivate protsesside vahel.

Esitatud oletus võimaldab kõige rahuldavamalt seletada tatraidandis täheldatud iseärasusi antotsüaanide biosünteesi ja lämmastikuühendite ainevahetuse vahekordades ja on püstitatud tööhüpoteesina, millest võiks lähtuda edasine uurimine.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Ekspriimentaalbioloogia Instituut

Saabus toimetuses
18. III 1967

U. MARGNA, M. OTTER

**ON THE RELATIONSHIP BETWEEN ANTHOCYANIN BIOSYNTHESIS
AND NITROGEN METABOLISM IN BUCKWHEAT SEEDLINGS**

**II. The influence of combined sucrose and nitrogen nutrition on the formation of
anthocyanins in hypocotyls**

Summary

The influence of feeding with sucrose and ammonium nitrate on the anthocyanin biosynthesis in 5-day-old buckwheat hypocotyls was studied.

It was found that the feeding of seedlings with exogenous nitrogen alone gives rise to a decrease in the intensity of anthocyanin formation in hypocotyls, which is the greater the higher the concentration of the nutritional solution. The effect of sucrose feeding proved to be just the same; in that case, however, the decrease in the amount of pigments synthesized in the hypocotyls was still more considerable.

In the experiments with combined nutritional media the inhibitory effect of sucrose on the anthocyanin formation remained completely unchanged. However, a similar influence of ammonium nitrate was revealed only when passing from the nitrogen-free media onto the combined ones; a further increase in the concentration of the nitrogen component yielded no additional changes in the anthocyanin content worth mentioning.

A comparison of the results obtained here with the data on the influence of the same nutritional media upon the processes of nitrogen metabolism of the seedlings (cf. Part I of the investigation — Оттер, Маргна, 1967) was accomplished. It was ascertained that parallel to a decrease in the anthocyanin content of hypocotyls under these conditions of exogenous sucrose and nitrogen feeding, a progressive diminution of coefficients "anthocyanin : nitrogen compounds" also takes place. In sucrose tests such a decrease was especially clear-cut when the content of anthocyanins and that of the protein fraction of hypocotyls were compared with each other. This shows that changes in seedling metabolism following the feeding with sucrose and ammonium nitrate are directed towards a more and more perceptible predominance of the processes of nitrogen metabolism over those of anthocyanin formation.

It is suggested that the nature and outcome of the relationship between the biosynthesis of anthocyanins and the processes of nitrogen metabolism in buckwheat seedlings are regulated by the competition between these two processes in energetical terms. The principal role in the latter seems to belong to the whole complex of reactions related to the protein biosynthesis, which are the most important energy-applying processes of young growing seedlings. Moreover, it is very likely that any change in the total energy balance of seedlings is realized through its primary action on the protein biosynthesis, resulting not only in quantitative, but also in some qualitative changes in the distribution of total energy between separate energy-applying processes of seedlings.

This suggestion seems to be the most satisfactory one for explaining the peculiarities of interrelationships between the anthocyanin biosynthesis and nitrogen metabolism discovered in this study with buckwheat seedlings. The suggestion is proposed as a working hypothesis for further investigations on this topic.

*Academy of Sciences of the Estonian SSR,
Institute of Experimental Biology*

Received
March 18, 1967