

L. HALLOP, U. MARGNA

## ANTOTSÜAANI MOODUSTUMISE KINEETIKA TATRAIDANDITE HÜPOKOTÜÜLIDES, OLENEVALT INDUTSEERIVA VALGUS- PERIOODI KESTUSEST JA VALGUSE INTENSIIVSUSEST

Antotsüaanide sünteesi selleks võimelistes kudedes reguleerib valgus. Viimane, olenevalt objektist, on antotsüaani tekkeks kas obligatoorselt vajalik või avaldab pigmendi sünteesile tugevat stimuleerivat toimet (Bogorad, 1958; Kandeler, 1960; Vince, 1964). On leitud, et taimedel, mis ilma valgustamiseta antotsüaani ei moodusta, võib pigmendi biosünteesis eristada kahte astet: lühiajalist fotokeemilist staadiumi ja järgnevaid pimeraktsioone, millal fotoreaktsiooni vältel tekkinud produktid alluvad edasistele muutustele. Seejuures oletatakse (Downs, Siegelman, 1963), et pimeduses on antotsüaanide mingi eellase (või eellaste) lülitumine edasistesse biosünteesireaktsioonidesse blokeeritud ja nad kasutatakse lõpuks teisteks sünteesideks, valgus aga võimaldab sünteesiahela kulgemist vastava antotsüaani moodustumise suunas lõpuni. Antotsüaanide sünteesiks vajalike valgusreaktsioonide arv ja asukoht üldises sünteesiahelas, samuti valguse toimemehhanismi iseloom on seni veel aga praktiliselt kindlaks tegemata.

Väärtuslikke andmeid valguse reguleeriva toime selgitamiseks võib anda antotsüaanide biosünteesi kineetika uurimine. Seniste tööde põhjal on selgunud, et etioleerunud idandites, mis antotsüaani pimedas ei sünteesi, algab valguse toimel pärast teatud lag-faasi antotsüaani hulga algul ühtlane, siis üha aeglustuv suurenemine (Siegelman, Hendricks, 1957; Mohr, van Nes, 1963). Kui taimi valgustada tsükliliselt, järgneb igale valgusperioodile uus pimedusliku sünteesi tõus (Havelange, Schumacker, 1966). On uuritud ka antotsüaani sünteesi valgusspektri eri piirkondades (Wagner, Mohr, 1966). Sünteesi kineetika sõltuvust valgusperioodi pikkusest ja valguse intensiivsusest pole aga seni käsitletud, kuigi on andmeid, et valgustamise tagajärjel moodustunud antotsüaani lõpphulk on võrdeline valgusperioodi pikkusega ja — teatud vahemikus — valguse intensiivsusega (Downs, Siegelman, 1963; Havelange, Schumacker, 1966). Seetõttu otsustati käesolevas töös uurida antotsüaani pimedusliku biosünteesi kineetikat mitmesuguse kestusega induktiivse valgusperioodi ja valguse eri intensiivsuste puhul. Objektiks valiti etioleerunud tatraidandid (*Fagopyrum esculentum* Moench), mille hüpokotüülides on valgus antotsüaani sünteesiks obligatoorselt vajalik.

### Metoodika

Katseteks vajalikud idandid kasvatati kohaliku päritoluga tatrastordi 'Jõgeva valik' 1966. a. lõikuse seemnetest (seemne algpartii saadi Jõgeva sordiaretusjaamast, materjal paljundati Harkus ENSV TA Eksperimentaalbioloogia Instituudi katsepõldudel), mis eel-

nevalt puhastati ja sorteeriti. Külviks valiti ühtlased keskmise suurusega seemned, mille idanevus ligines 100%-le.

Idandid kasvatati steriliseeritud Kochi tassides kahekihilisel veega niisutatud filterpaberil. Igasse tassi külvati 40—45 seemet, mis paigutati kontsentriste ringidena ühtlaseit kogu tassipinnale. Kasvukeskkonnaks kõigis katsetes oli destilleeritud vesi, 8 ml iga tassi kohta. Kuna eelkatsetest selgus, et idandite arenemistempo ja kasvu iseloom sõltuvad üsna tugevasti filterpaberi omadustest, kasutati kõigis katsetes ainult ühte marki — musta lindiga märgistatud filterpaberikettaid —, mida enne tarvitamist saastainetest ja kahjulikest lisanditest vabastamiseks 15 tunni vältel keedeti perioodiliselt vahetatavas destilleeritud vees.

Seemnete idandamine ja idandite kasvatamine toimus termoregulatsiooniga pimikus  $25 \pm 1^\circ \text{C}$  juures. 66 tundi pärast külvi algas idandite valguslik ekspositsioon, milleks tassid koos idanditega asetati spetsiaalsete luminescentslampidest (ЛДС-30) valgustusraamide alla, kus temperatuur (tasside tasapinnas) hoiti ventileerimise abil samuti  $24\text{--}26^\circ$  piires. Ekspositsiooni kestus ning ekspositsioonil kasutatud valguse intensiivsus varieerusid olenevalt katsekorraldusest. Kasutati järgmisi valgustusrežiime: antotsüaani biosünteesi kineetika uurimiseks a) olenevalt induktiivse valgusperioodi kestusest — 2—54-tunniseid ekspositsioone valguse intensiivsusega  $28\,100 \text{ erg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$  ( $\pm 7\%$ ); b) olenevalt induktiivse valguse intensiivsusest — 5-tunniseid ekspositsioone valguse intensiivsusega vastavalt  $13\,400 \pm 2\%$  ja  $56\,100 \pm 2\%$   $\text{erg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$ . Erinevate intensiivsustasemete saamine garanteeriti luminescentslampide arvu ning valgustusraamide ja idandite vahelise kauguse reguleerimisega; valguse intensiivsus määrati kindlaks Janiševski püranomeetri abil.

Pärast ekspositsiooni paigutati idandid tagasi pimikusse, kus neid hoiti kuni katselõpuni.

Katsetes, kus induktiivse valgusperioodi kestus ei ületanud 7 tundi, võeti analüüsid sünteesitud antotsüaanihulga kindlaksmääramiseks ekspositsiooni vältel ning sellele järgnenud pimedusperioodil 3, 6, 9, 12, 15, 18, 22, 26, 30, 38 ja 48 tundi pärast valgustamise algust. Pikemate ekspositsiooniaegade korral, millal piirduti ainult moodustunud antotsüaani lõpphulga kindlakstegemise, tehti analüüsid vastavalt pärast 28 ja 54 tunni möödumist. Paralleelselt sellega määrati kõikides katsetes kindlaks pigmendihulga algnivoo hüpokotüülides vahetult enne idandite eksponeerimist valguse käes (pimekontroll).

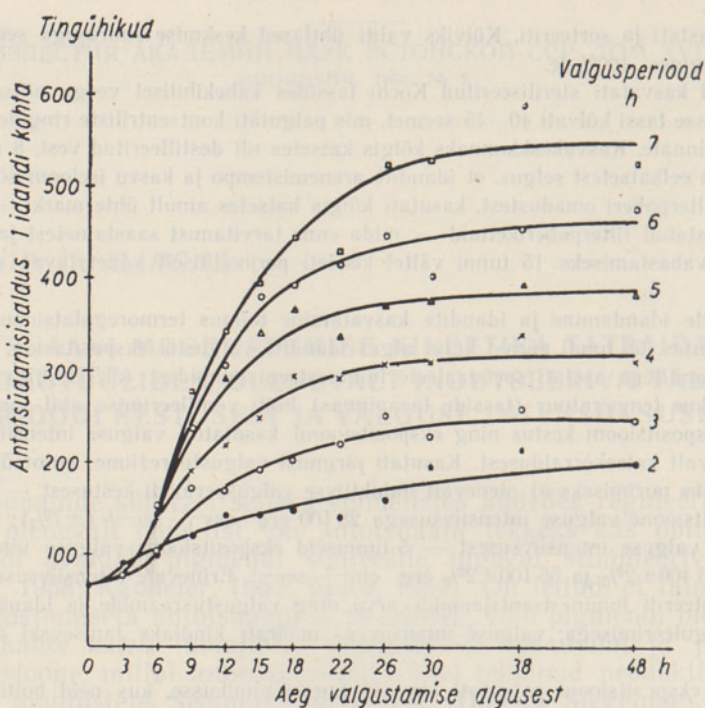
W. Karstensi (1939) järgi kujutab tatraidandite hüpokotüülides esinev antotsüaan endast tsüanidiin-3-glükosiidi. Viimase sisalduse määramiseks eraldati hüpokotüülid juurtest ja idulehtedest, peenestati uhmris ja kanti 10 ml 1%-lise soolhappelahuse abil kvantitatiivselt üle katseklaasidesse. Ekstrakt koos koefragmentidega jäeti suletuna 1 tunniks pimedusse seisma, seejärel tsentrifuugiti ja filtreeriti. Saadud selge lahuse optiline tihedus määrati fotokolorimeetriga ФЭК-56М, kasutades selleks 10 mm küvette ja rohelist valgusfiltrit neeldumismaksimumiga 540 nm. Antotsüaanisisaldus väljendati suhtelistes ühikutes ühe idandi kohta (optilise tiheduse skaala järgi).

Katsed tehti 6—7 korduses, kusjuures kõik idandid, mis olid vajalikud pigmentsünteesi kineetika jälgimiseks valgustamise algomendist kuni eksperimendi lõpuni või induktiivse valgusperioodi kestuse toime võrdlevaks väljaselgitamiseks sünteesitava pigmendi lõpphulgale, eksponeeriti üheaegselt.

Katsetulemused töötati läbi variatsioonstatistiliselt, kasutades selleks põhiliselt dispersioon- (Weber, 1961) ja regressioonanalüüsi (Бейли, 1962).

### Katsete tulemused

**Antotsüaani biosünteesi kineetika sõltuvus induktiivse valgusperioodi kestusest.** Antotsüaani süntees erineva kestusega induktiivse valgusperioodiga mõjutamisel on kujutatud joonisel 1. Kineetilisi kõveraid vaadeldes näeme, et pärast paaritunnist lag-faasi algab antotsüaanisisalduse enam-vähem lineaarne tõus, mis kestab praktiliselt muutumatu kiirusega ligi-



Joon. 1. Antotsüaani pimedusliku biosünteesi kineetika, sõltuvalt induktiivse valgusperioodi kestusest. Valguse intensiivsus  $28\,100 \text{ erg} \cdot \text{cm}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ .

kaudu 15 tundi. Seega jätkub pigmendi intensiivne pimeduslik süntees hüpokotüülides rohkem kui 10 tunni jooksul pärast induktiivse valgusperioodi lõppemist. Umbes 18. tunnil (siin ja edaspidi loetakse nullpunktiks valgustamise algmomenti) aeglustub pigmendi sünteesi kiirus järsult ja kõvera tõusva osaga võrreldes võib järgnevale perioodile vastavat lõiku kineetilisel kõveral nimetada tinglikult platooks.

Edasi selgub, et antotsüaani sünteesi kiirus lineaarsel perioodil sõltub induktiivse valgusperioodi kestusest, kusjuures ekspositsioonaja pikenedes suureneb ka pigmendi pimedusliku sünteesi kiirus. Moodustunud antotsüaani lõpphulk, mille näitajaks on saavutatud platoo kõrgus üksikute kineetilistel kõveratel, on aga võrdeline valgusperioodi pikkusega.

Kõik kineetilised kõverad meie poolt uuritud ekspositsiooniaegade (2–7 tundi) vahemikus osutusid kujult ja põhiparameetritelt praktiliselt ühesuguseiks. Teatud erinevused pigmendi sünteesi kulgemises tulid ilmsiks vaid 2-tunnise valgusperioodiga variandis, kus antotsüaani hulga juurdekasv tund aega pärast valgustamise lõppu ületas vastava näitaja nendel idanditel, mida oli pidevalt 3 tundi valgustatud. See asjaolu muudab kõvera tõusu laugjamaks, mistõttu ka pöördepunkti on raskem märgata. Tähenõudatud iseärasus esines kõikides kordustes, mistõttu pole kahtlust, et tegemist on seaduspärase nähtusega. Selle bioloogiline olemus ning põhjused jäävad aga esialgu selgusetuiks.

Et kontrollida, millisel määral üldse on alust rääkida saadud kineetiliste kõverate puhul pöördepunktist reaktsiooni kiiruses, analüüsiti katseandmeid variatsioonstatistiliselt. Kineetiliste kõverate üksikutele ajamomentidele vastavate antotsüaanihulkade keskmiste väärtuste võrdlemine Duncani testiga (Weber, 1961) kinnitas siiski, et kõverate jaotamine line-

aarseks ja platoosaks on praktiliselt põhjendatud ja et alates 18. tunnist ei saa antotsüaanisisalduse muutumist statistiliselt enam oluliseks pidada, kuigi teatud tõusutendents veel säilib. Sama kinnitasid ka disperisoonanalüüsi tulemused, mis on kokku võetud tabelis 1.

Tabel 1

## Antotsüaani pimedusliku biosünteesi disperisoonanalüüs

Varieeruvuse allikas	Vabadusastmete arv	Hälvete ruutude summa	Keskmine ruut
Totaalne	503	121 662	
Valgusperioodi kestus	5	30 010	6 002**
Aeg valgustamise algusest analüüsini	11	57 169	5 197**
Sealhulgas:			
0—18 ja 22—48 tunni vahel	1	30 831	30 831**
0—18 tunni sees	6	25 332	4 222**
22—48 tunni sees	4	1 006	252**
Koosmõju valgusperioodi kestuse ja valgustamise algusest möödunud aja vahel	55	12 019	219**
Sealhulgas:			
0—18 ja 22—48 tunni vahel	5	5 579	1 116**
0—18 tunni sees	30	5 411	180**
22—48 tunni sees	20	1 029	51
J ä ä k	432	22 464	52

\*\* Oluline erinevus ( $P \leq 0,01$ )

Täiendavat informatsiooni antotsüaanide pimedusliku sünteesi iseloomu kohta võimaldas saada kineetiliste kõverate analüüsimine regressioonanalüüsi meetoditega (Бейли, 1962). Leitud regressioonikoeffitsiendid on koondatud tabelisse 2 ning nende alusel konstrueeritud regressiooni-

Tabel 2

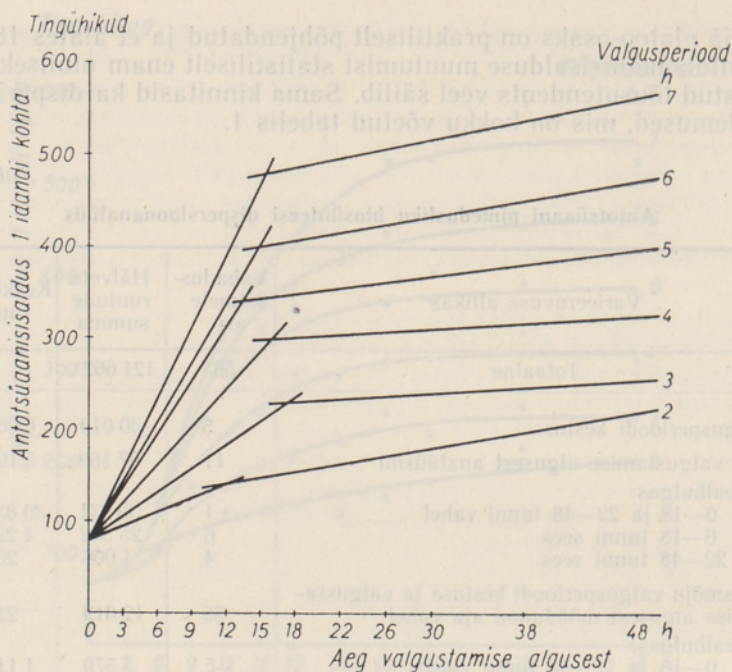
## Antotsüaani pimedusliku biosünteesi regressioonikoeffitsiendid

I — erineva pikkusega induktiivse valgusperioodi puhul

II — induktiivse valguse eri intensiivsuste puhul

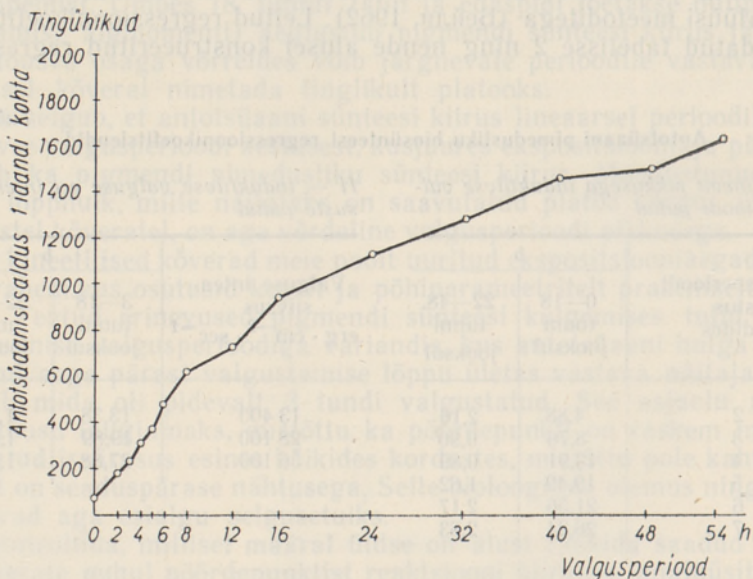
Valgusperioodi kestus tundides	b		Valguse intensiivsus $\text{erg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$	b	
	0—18 tunni jooksul	22—48 tunni jooksul		3—18 tunni jooksul	22—48 tunni jooksul
2	4,88	2,16	13 400	13,38	1,70
3	8,76	0,90	28 100	19,89	1,62
4	13,91	0,89	56 100	27,88	1,80
5	19,49	1,62			
6	21,56	2,17			
7	26,24	2,63			

sirged esitatakse joonisel 2. Viimased kinnitavad antotsüaani biosünteesi kineetiliste kõverate üldkuju täielikku analoogiat. Näeme, et mida pikem on idandite valgustamise periood, seda kiiremini koguneb antotsüaani, kuid



Joon. 2. Antotsüaani pimedusliku biosünteesi regressioonisirged erineva pikkusega induktiivse valgusperioodi puhul.

pärast pöördemomenti, mis saabub ligikaudu ühel ajal, jätkub see protsess kõikides variantides praktiliselt ühesuguse, väga väikese kiirusega. Ühtlasi on ilmne moodustunud antotsüaani lõpphulga võrdeline sõltuvus induktiivse valgusperioodi kestusest.



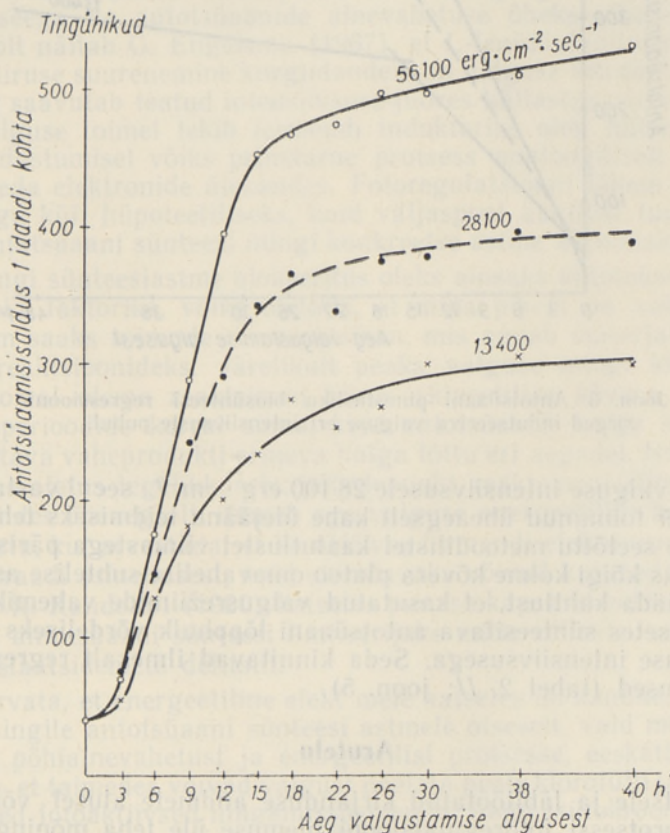
Joon. 3. Antotsüaani lõpphulk 54 tundi pärast valgustamise algust, sõltuvalt valgusperioodi kestusest. Valguse intensiivsus  $28\,100 \text{ erg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$ .

Siit kerkis küsimus, kas leitud võrdelisus kehtib ainult valgusperioodi teatud kestuste puhul või ilmneb see ka pikemaajalisel valgustamisel. R. Downs ja H. Siegelman (1963) leidsid näiteks, et sorgoidandis sünteesitakse antotsüaani ühtlase kiirusega, kui valgusperiood ei ületa 16 tundi. Edasi langeb sünteesi kiirus ja umbes 30 tunni pärast läheneb ilmne küllastatus.

Selle selgitamiseks korraldati katseseeria, milles induktiivne valgusperiood kestis kuni 54 tundi. Antotsüaanisisaldus määrati 28 ja 54 tundi pärast valgustamise algust. Mõlemad punktid asetsesid kineetilise kõvera platool ja nende väärtused langesid praktiliselt kokku.

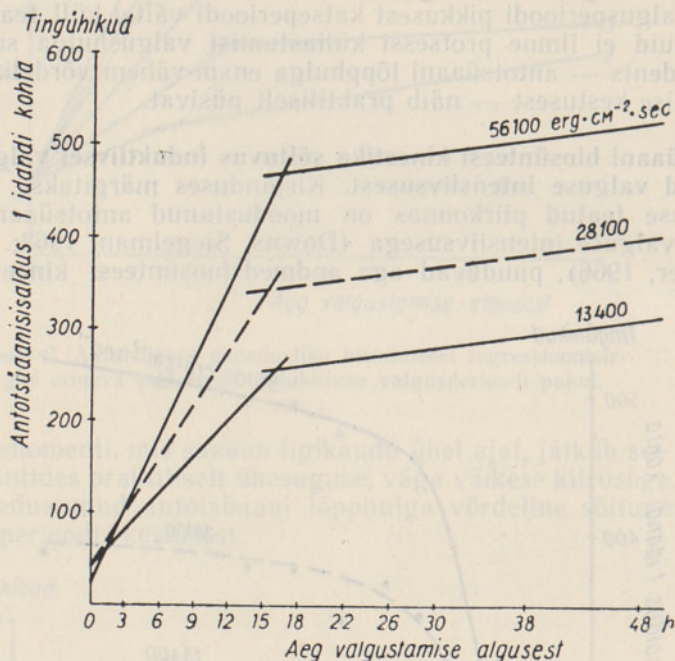
Joonis 3 kujutab antotsüaani hulka tatraidandite hüpokotüülides 54 tundi pärast valgustamise algust. Näeme, et antotsüaani sünteesi kiiruse sõltuvus valgusperioodi pikkusest katseperioodi vältel küll teatud määral muutub, kuid ei ilmne protsessi küllastumist valgushulga suhtes, ning üldine tendents — antotsüaani lõpphulga enam-vähem võrdeline sõltuvus valgustamise kestusest — näib praktiliselt püsivat.

**Antotsüaani biosünteesi kineetika sõltuvus induktiivsel valgusperioodil rakendatud valguse intensiivsusest.** Kirjanduses märgitakse, et valguse intensiivsuse teatud piirkonnas on moodustunud antotsüaani lõpphulk võrdeline valguse intensiivsusega (Downs, Siegelman, 1963; Havelange, Schumacker, 1966), puuduvad aga andmed biosünteesi kineetika kohta.



Joon. 4. Antotsüaani pimedusliku biosünteesi kineetika, sõltuvalt valguse intensiivsusest. Induktiivse valgusperioodi kestus 5 tundi.

Käesolevas töös määrati antotsüaani sünteesi kineetika 5-tunnise induktiivse valgusperioodi kahe erineva intensiivsuse puhul ( $13\,400$  ja  $56\,100 \text{ erg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$ ). Katsete tulemusi väljendab joonis 4. Võrdluseks on joonisele (katkendjoonega) kantud sama pika valgusperioodi kasutamisel saadud tulemused eelmises lõigus kirjeldatud katseseeriast, milles kasutati vahepealset valguse intensiivsust —  $28\,100 \text{ erg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$ . Nagu selgub, on kineetiliste kõverate üldkuju — lag-faas, lineaarne tõus, pöördepunkti asukoht, platoo — ka siin analoogiline kõikide eelnevatega. Üksikud kõverad erinevad üksteisest ainult tõusunurga suuruse poolest kõvera lineaarses osas ning platoo kõrguse poolest, kusjuures valguse intensiivsuse suurenedes suurenevad vastavalt ka mõlemad parameetrid.



Joon. 5. Antotsüaani pimedusliku biosünteesi regressioonisirged indutseeriva valguse eri intensiivsuste puhul.

Kuigi katse valguse intensiivsusele  $28\,100 \text{ erg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$  vastava kõvera saamiseks ei toimunud üheaegselt kahe ülejäänud leidmiseks tehtud katsetega ja pole seetõttu meetodilistel kaalutlustel viimastega päriselt võrreldav, ei tohiks kõigi kolme kõvera platoo omavahelise suhtelise asetuse alusel siiski jääda kahtlust, et kasutatud valgusrežiimide vahemikus osutus ka meie katsetes sünteesitava antotsüaani lõpphulk võrdeliseks idanditele antud valguse intensiivsusega. Seda kinnitavad ilmekalt regressioonanalüüsi tulemused (tabel 2, II; joon. 5).

### Arutelu

Meie katsete ja läbitöötatud kirjanduse andmete alusel võib uuritud biosünteesiprotsessi fotoregulatsiooni olemuse üle teha mõningaid kaudseid oletusi.

Kineetilisi kõveraid vaadates jääb mulje, et antotsüaani biosünteesi reguleerib kaks valgustundlikku faktorit. Üks neist on nii-öelda kvalita-

tiivne, avades mingi bloki sünteesiahelas. Tänu sellele algab lühikese lagiaasi järel konstantse kiirusega antotsüaani kogunemine, mis saavutab 18 tundi pärast vastavate protsesside algust dünaamilise tasakaalu. Teine faktor näib olevat puhtenergeetiline, määrates antotsüaani sünteesi kiiruse, seega dünaamilise tasakaalu ajaks saavutatud antotsüaanisisalduse taseme. Ilmselt on siinjuures oluline ainult energiakvantide hulk, olenevata sellest, kas see saadakse valgustusaja või valguse intensiivsuse muutmise teel.

J. Troyer (1964) tegi kindlaks, et tatraidandite hüpokotüülid sisaldavad lähteaineid ja ainevahetuslikku aparati, mis on piisavad antotsüaani sünteesiks. Sellest võib järeldada, et valguse kvalitatiivne toime seisneb meie katsetes tõenäoliselt mingi fermendi (või fermentide) aktiveerimises või *de novo* sünteesis. Valgus võiks mõjutada kas mõnda astet antotsüaani biosünteesi lõppstaadiumis või pigemendi suhtelisel kaudsete lähteainete sünteesi. Esimesel juhul tuleks oletada, et antotsüaani mingi otsene eelane vajab oma tekkeks vastava fermendi fotoaktiivsiooni, näit. aktiivse isomeeri teket valguskvantide neelamise tagajärjel. Tõenäolisem on, et valgus toimib antotsüaani tekkes mitte sünteesi viimastel etappidel, vaid juba varasemal staadiumil. Nii leidsid H. Scherf ja M. Zenk (1967), et tatraidandite valgustamisel moodustuvad *de novo* mitmed pimedas täielikult puuduvad ferמיד ning mõnede juba eksisteerivate valkude kontsentratsioon muutub drastiliselt. Viimaste hulka kuulub L-fenüülalaniini ammooniumlääs (desaminaas), mis on fenüülpropanidest tulenevate ühendite, seega ka antotsüaanide ainevahetuse üheks võtmefermendiks. Teiselt poolt näitab G. Engelsma (1967), et L-fenüülalaniini desaminaasi sünteesi kiiruse suurenemine kurgiidandis on valguse intensiivsuse funktsioon ning saavutab teatud intensiivsuse juures küllastusastme. Autor oletab, et valguse toimel tekib fermendi induktoriks olev initsiaatorühend, mille moodustumisel võiks primaarne protsess analoogiliselt fotosünteesiga seineda elektronide ülekandes. Fotoregulatsiooni lähem mehhanism jääb esialgu küll hüpotetiliselt, kuid väljaspool kahtlust tundub olevat vajadus antotsüaani sünteesi mingi konkreetse astme aktiveerimiseks.

Kui mingi sünteesiastme blokeeritus oleks ainsaks antotsüaani sünteesi limiteerivaks faktoriks, võiks oletada, et mida pikem on valgusperiood, seda kauem saaks toimuda see reaktsioon, mis annab materjali järgnevatteks pimereaktsioonideks. Järelikult peaks valguse mingi kindla intensiivsuse korral olema reaktsiooni kiirus (kineetilise kõvera tõusnurk) eri valgusperioodide korral sama, kuid antotsüaani hulga suurenemine lõpeks vastava vaheprodukti erineva hulga tõttu eri aegadel. Nagu nägime, ei vasta see oletus tegelikkusele: pöördepunkt reaktsiooni kiiruses saabub eri variantides üheaegselt, ilmneb aga valguse energeetiline toime. See ei ole ootamatu, kui arvestada, et ka aktiivse fermendi efektiivsuseks ei piisa alati substraadi esinemisest, vaid otsustavaks võivad kujuneda vaba energia varud. R. Kandeleri (1960) katsetes punase kapsa idanditega osutuski pimeduses antotsüaani sünteesi limiteerijaks mitte eellaste, vaid energiarikaste fosfaatsidemete defitsiit.

Võib arvata, et energeetiline efekt meie katsetes on kaudne, s. t. valgus ei toimi mingile antotsüaani sünteesi astmele otseselt, vaid mõjutab kogu organismi põhiainevahetust ja energeetilisi protsesse, eeskätt hingamist, seda enam et taimedes võivad valgust neelata peale klorofüllil ja fütokroomi veel mitmed fotoaktiivsed hingamissüsteemid, nagu tsütokroomisüsteem ja flaviinfermidid (Воскресенская, 1965). Ainevahetuse kõrgendatud intensiivsus peaks energiavarude suurenemise ning võimaliku ümberjaotumise loonil sel juhul kajastuma ka antotsüaanide sünteesis.



Sellelt seisukohalt oleks edaspidi huvitav jälgida mõningate antotsüaanidele lähedaste, ühiseid varaseid eellasi omavate polüfenoolide biosünteesi kineetikat samades tingimustes. Ühelt poolt aitaks see iseloomustada uuritavat valgustundlikku sünteesiastet, teiselt poolt võiksime saada informatsiooni idandite üldises ainevahetuses valguse poolt põhjustatud muutuste suuna ja ulatuse kohta.

## KIRJANDUS

- Bogorad L., 1958. The biogenesis of flavonoids. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **9** : 417—448.
- Downs R. J., Siegelman H. W., 1963. Photocontrol of anthocyanin synthesis in mlo seedlings. *Plant Physiol.* **38** (1) : 25—30.
- Engelsma G., 1967. Photoinduction of phenylalanine deaminase in gherkin seedlings. I. Effect of blue light. *Planta* **75** (3) : 207—219.
- Havelange A., Schumacker R., 1966. Métabolisme des anthocyanes dans les plantules de *Sinapis alba* L. *Bull. Soc. Roy. Sci. Liège* **35** (1—2) : 125—141.
- Kandeler R., 1960. Über die Lichtabhängigkeit der Anthocyanbildung. *Flora* **149** (4) : 487—519.
- Karstens W. K. H., 1939. Anthocyanin and anthocyanin formation in seedlings of *Fagopyrum esculentum* Moench. *Rec. Trav. bot. néerl.* **36** : 85—179.
- Mohr H., van Nes E., 1963. Der Einfluß sichtbarer Strahlung auf die Flavonoid-Synthese und Morphogenese der Buchweizen-Keimlinge (*Fagopyrum esculentum* Moench), I. Synthese von Anthocyan. *Z. Botanik* **51** (1) : 1—16.
- Scherf H., Zenk M. H., 1967. Induction of anthocyanin and phenylalanine ammonia-lyase formation by a high energy light reaction and its control through the phytochrome system. *Z. Pflanzenphysiol.* **56** (2) : 203—206.
- Siegelman H. W., Hendricks S. B., 1957. Photocontrol of anthocyanin formation in turnip and red cabbage seedlings. *Plant Physiol.* **32** (5) : 393—398.
- Troyer J. R., 1964. Anthocyanin formation in excised segments of buckwheat-seedling hypocotyls. *Plant Physiol.* **39** (6) : 907—912.
- Vince D., 1964. Photomorphogenesis in plant stems. *Biol. Rev.* **39** (4) : 506—536.
- Wagner E., Mohr H., 1966. Kinetic studies to interpret "high-energy phenomena" of photomorphogenesis on the basis of phytochrome. *Photochem. Photobiol.* **5** : 397—406.
- Weber E., 1961. *Grundriß der biologischen Statistik*. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag.
- Бейли Н., 1962. *Статистические методы в биологии*. М., Изд. ИЛ.
- Воскресенская Н. П., 1965. *Фотосинтез и спектральный состав света*. М.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia  
Eksperimentaalbioloogia Instituut

Saabus toimetusse  
12. IX 1967

Л. ХАЛЛОП, У. МАРГНА

**КИНЕТИКА ОБРАЗОВАНИЯ АНТОЦИАНОВ В ГИПОКОТИЛЯХ  
ПРОРОСТКОВ ГРЕЧИХИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ  
ИНДУЦИРУЮЩЕГО СВЕТОВОГО ПЕРИОДА И ИНТЕНСИВНОСТИ СВЕТА**

*Резюме*

Изучали темновую кинетику формирования антоциана в гипокотилиях гречихи при воздействии на этилированные проростки светом разной продолжительности (2—54 ч) и интенсивности (13 400, 28 100 и 56 100 эрг · см<sup>-2</sup> · сек<sup>-1</sup>; люминесцентные лампы дневного света). Для этого молодые проростки гречихи после 66-часового прорастания в полной темноте экспонировали на свету, а затем возвращали в темноту, измеряя через определенные промежутки времени (в течение 48—54 ч с начала экспозиции) количество образовавшегося пигмента в гипокотилиях.

Результаты исследований показали, что после короткой лаг-фазы количество антоциана в гипокотилиях начинает линейно возрастать. Процесс достигает динамического равновесия примерно через 18 ч после начала освещения. В дальнейшем количество антоциана увеличивается лишь незначительно и на кинетических кривых образуется плато.

Сравнение полученных данных показывает, что общая форма кинетических кривых темнового формирования антоциана при разных продолжительностях освещения одинакова. Различия наблюдаются, однако, в скорости синтеза в линейной фазе накоп-

ления пигмента и в конечном количестве образовавшегося антоциана. Последнее прямо пропорционально продолжительности индуцирующего светового периода не только в пределах 2—7-часовых экспозиций, при которых проведены основные серии опытов, но и при более длительном (до 54 ч) освещении.

При использовании света разной интенсивности обнаружено, что форма полученных кинетических кривых (т. е. общий характер биосинтеза антоциана) аналогична форме кривых, полученных в предыдущих сериях. И здесь отдельные варианты отличались лишь по скорости синтеза в линейной стадии формирования антоциана и по конечному количеству образовавшегося пигмента, находившегося в пропорциональной зависимости от использованной интенсивности света.

Таким образом, оказывается, что уровень содержания синтезируемого антоциана к моменту установления динамического равновесия определяется количеством полученных квантов световой энергии независимо от того, получает их растение в течение определенного промежутка времени светом разной интенсивности или варьированием продолжительности освещения.

Предполагается, что действие света на формирование антоциана в гипокотылях проростков гречихи осуществляется с помощью двух фотореакций: одна из них связана с активированием определенного светочувствительного звена в биосинтезе антоциана, через другую же реализуется энергетический эффект света. Обсуждаются возможные механизмы этих реакций.

*Институт экспериментальной биологии  
Академии наук Эстонской ССР*

Поступила в редакцию  
12/IX 1967

L. HALLOP, U. MARGNA

#### THE KINETICS OF ANTHOCYANIN BIOSYNTHESIS IN HYPOCOTYLS OF BUCKWHEAT SEEDLINGS DEPENDING ON THE DURATION OF THE INDUCTIVE ILLUMINATION PERIOD AND LIGHT INTENSITY

##### *Summary*

The task of the authors was to determine the kinetics of the light-induced formation of anthocyanin in etiolated buckwheat hypocotyls in dependence of the conditions of light treatment during the inductive illumination period. The following experimental design was employed. During the first 66 h the germinating seedlings were allowed to grow in complete darkness; after that they were exposed to light of different durations (2—7 h. in one experiment up to 54 h) or of various intensities (13,400; 28,100; 56,100 erg cm<sup>-2</sup>. sec<sup>-1</sup>, light from white fluorescent tubes), and then, till the end of the experiments, the seedlings were again returned to darkness. The amount of anthocyanin formed in hypocotyls during the light period and during the subsequent development of the seedlings in darkness was measured photocolometrically, taking samples for pigment assay periodically after certain time intervals during a period of up to 48—54 hours from the beginning of the light treatment.

It was found that the general course of anthocyanin accumulation under different illumination conditions was similar in all cases investigated. The process showed a lag-phase of several hours, which was followed by a linear period of anthocyanin formation, reaching its maximum in about 18 hours after the beginning of irradiation. At that point, the further accumulation of pigment ceased and the linear part of the curves obtained by plotting the anthocyanin content against the time of analysis passed on to a plateau. The shape and the relative height of the plateau of separate kinetical curves clearly indicated that within the range of light conditions used in our experiments the rate of pigment synthesis and, consequently, the final amount of anthocyanin formed in hypocotyls are linearly dependent upon the duration of exposure and light intensity. This proportionality was also maintained in experiments with prolonged durations of the inductive illumination period (up to 54 hours), and no saturation effect was observed.

It is concluded that the amount of anthocyanin synthesized is strictly dependent on the quantity of light energy absorbed, irrespective of whether the latter is given using different durations of illumination or different light intensities.

The results of kinetic studies described suggest that the effect of light on anthocyanin biosynthesis in buckwheat seedling hypocotyls involves two photosensitive reactions. One of them is presumably connected with the activation of an early step in the chain of the biochemical reactions leading to anthocyanin formation, while through the other, light-dependent reaction the energetical effect of light is realized: The possible mechanism of these reactions is discussed.

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

Received  
Sept. 12, 1967