

У. МАРГНА

О ВЗАИМООТНОШЕНИЯХ ОБРАЗОВАНИЯ ФЛАВОНОИДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ С УГЛЕВОДНЫМ ОБМЕНОМ У РАСТЕНИЙ

Одной из характернейших особенностей растительных организмов, четко отделяющих их от представителей животного мира, является их способность синтезировать в своих клетках и тканях в значительных количествах разные циклические соединения с полифенольной структурой. Среди них важнейшее место занимают флавоноидные вещества, которые в большом разнообразии встречаются во всех цветковых растениях, в папоротниках, а также найдены в некоторых мхах (Geissman, 1962; Harborne, 1965, 1967).

Почти универсальное распространение флавоноидных производных в растительном мире и их отсутствие в других живых организмах дает основание предполагать, что раскрытие закономерностей метаболизма именно этой группы веществ является ключом, открывающим путь к более глубокому пониманию природы и сущности жизнедеятельности растительных организмов, а также к управлению их жизненными процессами. Особенно важно при этом знать, какими являются связи между обменом флавоноидов и другими обменными процессами растений, которые определяют не только количество синтезированных в них флавоноидов, а, может быть, также направление всего обмена веществ в те или другие моменты роста и развития растений.

При современном уровне знаний сам факт существования таких связей не требует специального обсуждения. Биогенетический путь к формированию флавоноидной молекулы изучен весьма тщательно (Birch, 1962; Neish, 1960, 1964; Запрометов, 1964, 1967) и хорошо известно, что образование производных флавоноидного ряда теснейшим образом связано с промежуточным обменом углеводов, но имеет контакты и с некоторыми другими сферами метаболизма (белковый обмен, обмен липидов). Вся проблема заключается в том, какие из возможных точек контакта имеют критическое значение в развитии особых взаимных отношений между обменом флавоноидов и другими сторонами растительного метаболизма, какими внутренними механизмами регулируются эти взаимоотношения и какова роль этих взаимоотношений в общем обмене веществ растений.

В этой статье сделана попытка систематизировать и обобщить накопленные к настоящему времени в исследованиях разного профиля факты, которые в той или иной мере могут осветить эту проблему. Главное внимание при этом сосредоточено на рассмотрении данных, позволяющих охарактеризовать взаимосвязи образования флавоноидов с разными сторонами углеводного обмена, с которым биосинтез флавоноидов имеет разнообразные и наиболее тесные контакты. Параллельно в статье изложены основные результаты исследований по этим же вопросам, которыми уже в течение ряда лет занимается руководимая автором группа сотрудников в лаборатории биохимии вторичного метаболизма растений Института экспериментальной биологии Академии наук Эстонской ССР.

Так как диссимиляция углеводов является основным комплексом обменных реакций, который снабжает биосинтетические процессы растений как исходным материалом для построения новых соединений, так и необходимой для этого энергией, то весьма естественно предположение, что между сдвигами в углеводном обмене и интенсивностью образования флавоноидов существует положительная корреляция. Такое убеждение стало распространяться среди исследователей уже в начале настоящего столетия, хотя в это время еще не были известны тесные биогенетические связи флавоноидов с разными промежуточными звеньями биологического расщепления углеводов. основоположником этих взглядов можно считать Э. Овертона (Overton, 1899), который провел ряд питательных экспериментов со многими одно- и двухдольными растениями, способными образовывать антоцианы, и установил, что при выдерживании целых растений или отдельных их органов в растворах разных сахаров в большинстве случаев наблюдается увеличение интенсивности антоциановой пигментации в их клетках. На основании этих данных Э. Овертон пришел к заключению, что появление антоцианов в клетках растений находится в тесной связи с обилием сахаров в их клеточном соку, т. е. фактически высказал мысль о наличии параллелизма между накоплением антоцианов и углеводным обменом растений.

Вывод Э. Овертона был сделан на основе визуальных наблюдений и не опирался на точные биохимические анализы, но тем не менее его «сахарная теория» в свое время привлекла внимание многих исследователей, что, по-видимому, являлось одной из причин неоднократного возвращения экспериментаторов к этому вопросу и в дальнейшем.

В течение последующих 50—60 лет было проведено много экспериментальных исследований с экзогенным введением сахаров в разные растения или их отделенные органы и получено большое количество как качественных, так и количественных данных о влиянии сахаров на образование антоцианов. Большинство из накопленных фактов подтвердило первоначальные наблюдения Э. Овертона об усиливающем эффекте сахаров на накопление пигментов, а вместе с тем и возникшую из этого идею, что сахара являются стимуляторами биосинтеза антоцианов. Объемистая литература этого периода тщательно проанализирована в обзорных статьях Ф. Бланка (Blank, 1947, 1958; см. также: Thimann, Edmondson, 1949; Bogorad, 1958; Kandeler, 1960).

Данные, полученные из исследований последнего десятилетия, по основным положениям полностью совпадали с результатами более ранних наблюдений и еще больше углубляли общераспространенное мнение о том, что введение в ткани сахаров является универсальным способом стимулирования образования антоцианов. Так, показано, что сахарное питание усиливает биосинтез антоцианов в сегментах изолированных гипокотилей проростков бальзамина (Alston, 1958; Arnold, Alston, 1961) и гречихи (Troyer, 1964a, б), в отделенных междуузлиях и интактных проростках *Phleum pratense* (Stafford, 1965), в гипокотилеях интактных проростков *Celosia plumosa* и в гипокотилеях тех же проростков, но с удаленными корнями (Malaviya, Laloraya, 1966), в изолированных семядольных листочках белой горчицы (Havelange и др., 1967), в отделенных междуузлиях сорго (Vince, 1968) и в изолированных гипокотилеях, а в определенных световых условиях также в интактных проростках турнепса (Grill, 1967). Стимуляция образования пигментов установлена и в отделенных листьях водокраса, помещенных в раствор сахарозы (Pogorzelska, 1965), в изолированных лепестках бальзамина (Klein, Hagen, 1961) и в разных тканевых культурах (Szweykowska, 1959;

Szweykowska и др., 1959; Straus, 1959) при инкубации их на средах с примесью сахаров, в отрезках взрослых листьев некоторых растений (Eberhardt, Haupt, 1959; Creasy и др., 1965; Creasy, Swain, 1966) и в кусочках кожицы яблок (Siegelman, Hendricks, 1958; Downs, 1964; Faust, 1965; Smock, 1966) при выдерживании их в растворах сахаров, а также в кожице целых плодов после погружения их на некоторое время в растворы разных сахаров (Smock, 1966). Известны лишь одиночные работы, где сахарное питание не вызывало стимуляции образования пигментов в способных к этому растительных тканях (Stafford, 1968; Beguin, 1964; см. также некоторые эксперименты в работах Ф. Эберхардта и Р. Грилл (Eberhardt, 1954; Grill, 1967)), а данных об отрицательном действии сахаров на пигментообразование в литературе до сих пор вообще не имеется. В то же время, в связи с усовершенствованием методов биохимического анализа, стали накапливаться данные и более общего характера. Выяснилось, что при введении сахаров в растительные ткани наряду с антоцианами усиливается образование и других производных флавоноидного ряда (Nick, 1953; Nöll, 1955; McClure, Alston, 1964; Creasy, Swain, 1966), а также формирование некоторых родственных им соединений типа более простых полифенолов, как, например, хлорогеновой кислоты (Ruckenbrod, 1955; Zucker, Levy, 1959) и лигниноподобных веществ (Stafford, 1965).

Наличие такого обилия однотипных и совпадающих друг с другом данных волей-неволей наводит на мысль, что повышение уровня углеводного обмена растений путем введения в ткани дополнительных количеств растворимых сахаров является фактором, приводящим чуть ли не обязательно к усилению образования антоцианов и других флавоноидных производных, и что именно состояние углеводного обмена — то первичное условие, которое определяет интенсивность процессов биосинтеза флавоноидов. Более того, создается впечатление, что связи между обменом углеводов и образованием флавоноидов имеют весьма несложный, непосредственный характер. Поэтому не удивительно, что многие исследователи считали причиной стимулирующего эффекта сахарного питания обогащение растительных клеток растворимыми сахарами, т. е. по существу разделяли старую точку зрения Э. Овертона.

Такое мнение не совсем лишено оснований. Так, Р. Комбэ (Combes, 1909) сравнивал содержание сахаров в зеленых и красных листьях некоторых растений и установил, что какая бы ни была причина появления пигментации, накопление антоцианов всегда сопровождалось увеличением содержания сахаров в листьях. Гистохимические исследования В. К. Х. Карстенса (Karstens, 1939) показали, что в гипокотиле проростков гречихи существует интересный параллелизм между распределением сахаров и антоциановых пигментов: при освещении этиолированных проростков разного возраста формирование антоцианов наблюдалось всегда только в тех участках гипокотилей, которые в тот момент были богаты растворимыми сахарами. Аналогичные результаты получены и в более поздних работах, причем в одних случаях повышенная интенсивность образования антоцианов весьма хорошо коррелировалась с повышенным содержанием сахаров в тканях (Frey-Wyssling, Blank, 1943; Eddy, Mapson, 1951; Slabecka-Szweykowska, 1952), а в других случаях наблюдалась даже более или менее прямолинейная зависимость между накоплением антоцианов и содержанием в соответствующих тканях либо только восстанавливающих сахаров (Thimann и др., 1951), либо вообще растворимых сахаров (Szweykowska, 1959). Особенно интересны в этом отношении результаты последней из названных работ, которая была проведена с изолированными зародышами красной капу-

сты. Варьированием состава питательных растворов автору этой работы удалось показать, что линейная зависимость между содержанием антоцианов и сахаров в тканях зародышей сохраняется в любых экспериментальных условиях, в том числе и при наличии в среде аспарагина и неорганических нитратов, вызывающих снижение накопления пигментов. На этом основании А. Швейковска пришла к выводу, что и эффект азотного питания обусловлен, в первую очередь, возникающими в результате этого изменениями в содержании сахаров, что и является непосредственной причиной наблюдаемых в этих условиях сдвигов в интенсивности накопления антоцианов (Szweykowska, 1959).

Кроме перечисленных выше фактов, можно привести еще данные некоторых других работ, где корреляция между накоплением антоцианов и содержанием сахаров была обнаружена как побочный результат исследований. И. Храстил и Э. Петру нашли, что штаммам тканевых культур корней моркови, способным к формированию антоциановых пигментов, характерно увеличение накопления сахарозы в ксилеме, в то время как у штаммов, образующих вместо антоцианов хлорофилл, содержание сахарозы в ксилемной части в течение роста культуры заметно снижалось (Chrastil, Petru, 1957). И. Васильев (1962) приводит данные, показывающие, что типичным симптомом развития лучевой болезни у облученных смертельными дозами гамма-лучей растений пшеницы является появление антоциановой пигментации в их листьях, что одновременно сопровождается значительным повышением содержания сахаров в листовых тканях. Как показали эксперименты М. Боппа (Bopp, 1959) с листьями бегонии, образование так наз. раневого антоциана также в значительной мере зависит от наличия в зоне ранения ассимилятов: при разрушении целостности проводящей системы листа путем параллельных порезов в листовой пластинке наиболее интенсивная пигментация развивалась на краях внутреннего пореза, в то время как в зоне внешнего пореза, куда приток ассимилятов был прекращен, пигментация была гораздо слабее.

Наконец, заслуживает внимания предположение, что и осеннее появление антоцианов связано с обогащением клеток растворимыми сахарами в результате деградации крахмала в отмирающих листьях (Harbogne, 1965), а также вероятна возможность, что наблюдаемая при пониженных температурах интенсификация образования антоцианов в первую очередь обусловлена повышением содержания сахаров в клетках растений. Как известно, в условиях пониженных температур гидролитическое расщепление углеводов в тканях заметно усиливается, что несомненно должно приводить хотя бы к временной аккумуляции растворимых сахаров, т. е. создает условия, благоприятствующие процессам формирования антоцианов (Kandeler, 1960).

Однако наряду с указанными данными накапливались и факты противоположного характера. С. Жонеско не удалось найти существенных различий в содержании сахаров окрашенных и неокрашенных цветков *Cobaea scandens* (Jonesco, 1921). Хотя В. К. Х. Карстенс (Karstens, 1939) показал, что в гипокотылях гречихи наблюдается параллелизм между распределением сахаров и антоцианов, в разрезе тканей аналогичный параллелизм не обнаруживался: клетки эпидермиса, которые обычно наиболее интенсивно образуют антоцианы, оказались весьма бедны растворимыми сахарами. Позже было показано, что отделенный от остальных тканей гипокотылей проростков гречихи эпидермис даже в условиях обильного сахарного питания вообще не способен синтезировать антоцианы (Тройер, 1964а). Весьма выразительным является факт, что во многих плодах и корнеплодах антоциановая пигментация

локализована именно в эпидермальных клетках, в то время как в клетках мякоти, которые часто насыщены сахарами, антоцианы обычно отсутствуют или встречаются только в следах.

Еще более предостерегающими являются данные некоторых количественных исследований. В ряде работ показано, что несмотря на то, что образование антоцианов довольно хорошо коррелируется с общим уровнем содержания сахаров в том же материале, количественное соотношение веществ обеих групп во многих случаях не постоянная величина, а в ходе роста и развития или при изменении условий среды сильно варьируется (Frey-Wyssling, Blank, 1943; Slabecka-Szweykowska, 1952). Особенно интересно при этом, что в случаях, когда положительная корреляция между содержанием антоцианов и сахаров и была установлена, она далеко не всегда распространялась на все производные группы сахаров. Например, по данным, представленным в работе Б. П. Эдди и Л. Мэпсона (Eddy, Marson, 1951), весьма хорошо видно, что содержание сахарозы в проростках кресса уменьшается по мере увеличения в них содержания антоцианов, т. е. в отличие от моноз находится с антоцианами по сути дела в отрицательной корреляции. Никакой корреляции между содержанием сахарозы и накоплением антоцианов не было найдено и в ряске, хотя из всех сахаров, испытанных в качестве экзогенных питательных факторов, именно сахароза оказалась наиболее эффективным стимулятором образования пигментов (Thimann и др., 1951).

Следует отметить еще пару работ, в которых между изменениями в содержании флавоноидных производных и сахаров в подопытных растениях обнаруживалась весьма четкая обратная зависимость. И. Х. Эдмондсон и К. В. Тиманн (Edmondson, Thimann, 1950) установили, что при выращивании растений ряски в условиях стерильной культуры в растворе Хоглэнда с примесью фенилтиомочевины ($10^{-4}M$), прибавленной в среду с целью блокировать в клетках растений ионы меди, значительно ослаблялось накопление антоцианов, что, однако, не сопровождалось снижением содержания в растениях сахаров. Наоборот, количество как сахарозы, так и редуцирующих сахаров под влиянием действия фенилтиомочевины даже заметно повышалось. М. Д. Сэйд и Дж. Л. Бийл (Sayed, Beal, 1959) на протяжении нескольких месяцев многократно опрыскивали растения гречихи гиббереллиновой кислотой и установили, что в результате этой обработки заметно (до двух раз) возрастало общее содержание сахаров в листьях, в то время как содержание флавонолгликозида рутина уменьшалось. В обеих работах подопытные растения остались физиологически совершенно нормальными без сколько-нибудь существенных признаков нарушения их роста и развития (гиббереллиновые растения даже заметно превосходили контрольные по своему росту), что придает этим результатам особую ценность.

Изложенные выше факты показывают, что к взглядам, якобы стимулирующий эффект сахарного питания связан с повышением внутриклеточного уровня содержания растворимых сахаров, необходимо относиться с большой осторожностью, и свидетельствуют о том, что связи между углеводным обменом и образованием флавоноидов не так просты, как это может показаться по данным громадного большинства проведенных до сих пор питательных экспериментов.

Отсутствие ясной корреляции между содержанием сахаров в тканях и образованием в них антоцианов (= флавоноидов) вынуждало стимулирующему влиянию экзогенного сахарного питания искать другие объяснения. Одной из попыток заменить механическое представление о связях углеводов и флавоноидов более динамическим является предположение, что стимуляция обусловлена общим повышением интенсивности

обмена веществ в обработанных растениях (Blank, 1958) — идея, которая в той или иной форме скрыто встречается в работах многих исследователей.

В связи с этим представляют интерес возможные корреляции образования антоцианов с процессами дыхания, которые можно считать одним из основных показателей состояния обмена веществ в живых организмах. Правда, установление такой корреляции вряд ли позволило бы конкретизировать характер взаимосвязей между углеводным обменом и биосинтезом флавоноидов, однако оно значительно помогло бы объяснить некоторые противоречивости в сахарных данных: сахара являются основным субстратом тканевого дыхания и, следовательно, их количество в живых клетках должно с интенсивностью как дыхания, так и образования флавоноидов находиться скорее в отрицательной, чем в положительной корреляции.

Следует отметить, что в литературе имеется довольно много данных о наблюдениях и фактах косвенного характера, указывающих, что дыхательные процессы могут играть определенную роль в образовании антоцианов. В частности, заслуживают внимания наблюдения некоторых более ранних авторов о том, что накопление антоцианов находится в тесной зависимости от наличия кислорода в среде или в самих пигментсинтезирующих тканях растений (Blank, 1958). При этом в отдельных случаях интенсивность пигментации весьма хорошо коррелировалась с парциальным давлением кислорода, а при полном отсутствии кислорода в среде антоцианы вообще не образовывались (Katic, 1905). Аналогичные факты наблюдались и позже. Л. Капите (Capite, 1955) показал, что стимулирующее действие сахаров на образование антоцианов в тканевых культурах корней моркови проявляется только в аэробных условиях. Изолированные гипокотили этиолированных проростков гречихи оказались неспособными синтезировать антоцианы на свету, когда их держали под водой, но снова обнаруживали эту способность при восстановлении нормального контакта с воздухом (неопубликованные данные нашей лаборатории). Сходные результаты были получены и при изучении условий биосинтеза одного из родственных флавоноидов полифенольных соединений — хлорогеновой кислоты — в клубнях картофеля (Zucker, Levy, 1959). Измерением количества кислоты, образовавшейся в погруженных в воду отрезках клубней, установили, что оно тем меньше, чем толще слой воды над отрезками, причем в отрезках, находящихся под 10-миллиметровым слоем воды и глубже, синтез хлорогеновой кислоты практически прекратился. Необходимость наличия достаточных количеств кислорода для биосинтеза хлорогеновой кислоты нашла потом прямое подтверждение в экспериментах с варьированием парциального давления кислорода в сосудах инкубации клубневых срезов: интенсивность образования хлорогеновой кислоты по мере увеличения давления кислорода постепенно возрастала, но лишь при 20%-ной концентрации кислорода в среде этот процесс достигал своей максимальной эффективности.

Наряду с этими имеются и некоторые количественные данные о параллельных изменениях в накоплении антоциановых пигментов и дыхательном газообмене в растительных тканях, которые позволяют оценить возможную связь между этими двумя процессами более объективно. Из них наиболее подробными являются результаты исследований Ф. Эберхардта и К. Пэха (Paech, Eberhardt, 1952; Eberhardt, 1954). Они нашли, что в этиолированных проростках красной капусты кривая интенсивности дыхания практически совпадает с кривой формирования антоцианов. У проростков, выращенных в условиях постоянного освещения, это сов-

падение оказалось менее четким, однако как у тех, так и у других наибольшая интенсивность накопления пигментов наблюдалась именно в тот момент развития, когда и процессы дыхания протекали с наибольшей активностью. Сравнение этих данных с изменениями коэффициента дыхания показало, что активизация дыхания и коррелирующее с ней увеличение скорости образования антоцианов совпадает с началом интенсивной мобилизации запасных жиров семядолей, т. е. происходит одновременно с повышением общей обменной активности проростков. Заслуживает внимания, что при перемещении пятидневных этиолированных проростков, у которых дыхание находилось уже в стадии уменьшения интенсивности, из темноты в постоянное освещение, интенсивность их дыхания снова возрастала, что одновременно сопровождалось и резким повышением содержания антоцианов.

Сходные результаты были получены этими же авторами и в экспериментах с отрезками листьев *Saxifraga crassifolia*. Выяснилось, что в пигментированных участках листьев этого вида как поглощение кислорода, так и выделение углекислого газа заметно интенсивнее, чем в непигментированных участках, хотя по коэффициенту дыхания различий не наблюдалось. Введение в отрезки сахарозы не изменяло коэффициента дыхания, но приводило к значительному повышению интенсивности дыхательного газообмена и к еще более заметному усилению образования антоцианов.

Результаты других работ, к сожалению, менее ясны. Например, в одних из более поздних экспериментов Ф. Эберхардта с листовыми отрезками того же *S. crassifolia* (Eberhardt, Haupt, 1959) выяснилось, что при введении в них сахарозы вместе с мочевиной повышение интенсивности дыхания было еще заметнее, чем при введении одной сахарозы, однако содержание антоцианов в результате этой обработки несколько снизилось. Введение сахарозы и мочевины в комбинации с хлорамфениколом приводило уже к почти полному подавлению образования антоцианов, но дыхание листьев по-прежнему протекало с повышенной интенсивностью, оставаясь примерно на том же уровне, как это было при введении только сахарозы. По данным одной из работ А. Гавеланжа и сотрудников (Havelange и др., 1967) видно, что возрастные кривые дыхания в изолированных семядольных листочках проростков белой горчицы, в общем, довольно хорошо совпадают с соответствующей кривой изменения содержания антоцианов (аналогия с результатами Ф. Эберхардта и К. Пэха), однако при сопоставлении количественных параметров обоих процессов семядолей, инкубированных в средах с примесью разных сахаров и их фосфорных эфиров, ясной положительной корреляции между ними уже не обнаруживается. Результаты, полученные А. Арнольдом и Р. Е. Олстоном в работе с проростками бальзамина (Arnold, Alston, 1961), являются еще менее обнадеживающими. Сегмент гипокотилей, ближайший к семядолям, выделялся гораздо более высокой интенсивностью дыхания, чем остальные сегменты, однако именно в этом сегменте образование антоцианов оказалось заметно слабее, чем в других участках гипокотилей.

Фрагментарность и некоторая противоречивость имеющихся данных не позволяют делать окончательных выводов относительно связи между дыханием и образованием флавоноидов, но кажется, что если дыхание и играет определенную роль в биосинтезе флавоноидных соединений, а в некоторых случаях, может быть, и является основным звеном метаболизма, от которого зависит ход накопления антоцианов и других флавоноидов, то связанные с ним реакции вряд ли представляют собой единственный механизм, определяющий характер взаимоотношений между углеводным обменом и биосинтезом флавоноидных соединений. Кроме

того, необходимо отметить, что активность дыхания, определяемая обычно на основе интенсивности газообмена тканей, далеко не всегда является объективным критерием, по которому безошибочно можно судить о внутренних потенциалах растительного организма.

Хорошей иллюстрацией этому служат данные о влиянии 2,4-динитрофенола — ингибитора метаболизма, специфически блокирующего процесс окислительного фосфорилирования — на биосинтез антоцианов. Во всех работах, в которых этот вопрос изучался, было установлено сильное подавление образования антоцианов (Stadler, 1942; Thimann и др., 1951; Paech, Eberhardt, 1952; Eberhardt, 1954; Ruckenbrod, 1955; Steasy и др., 1965), в то время как хорошо известно, что типичной ответной реакцией на воздействие динитрофенола является резкое повышение дыхательного газообмена — явление, фактически обнаруженное в этих указанных работах, в которых были проведены соответствующие измерения (Paech, Eberhardt, 1952; Eberhardt, 1954). Это указывает, что из всей совокупности сложных биохимических реакций, составляющих тканевое дыхание, для биосинтеза флавоноидов в первую очередь важен только тот узкий круг специфических реакций, который связан с аккумуляцией энергии и образованием энергией богатых соединений.

К сожалению, при интерпретации динитрофеноловых данных необходимо проявить осторожность, ибо у обработанных этим антиметаболитом растений почти всегда наблюдаются симптомы общего отравления, что значительно затрудняет различение непосредственных, специфических эффектов от эффектов вторичного характера.

От этого недостатка не совсем свободны и другие ингибиторы ферментных реакций, но тем не менее информация, полученная из экспериментов с использованием некоторых из них, заслуживает серьезного внимания. В частности показано, что йод-уксусная кислота, которая ингибирует действие триозофосфатдегидрогеназы и ряда других гликолитических ферментов (Hackett, 1965), подавляет индуцированное введением сахаров образование антоцианов в листовых отрезках *S. crassifolia* (Paech, Eberhardt, 1952; Eberhardt, 1954). Фтористый натрий — специфический ингибитор, блокирующий превращение 2-фосфо-D-глицерата в фосфоенолпируват — подавляет образование антоцианов в листьях плюща (Ruckenbrod, 1955) и в цветках петунии (Hess, 1964). Подавление формирования антоцианов в листьях плюща наблюдалось и под влиянием фтор-уксусной кислоты, которая со щавелевоуксусной кислотой — со вступительным соединением цикла трикарбоновых кислот — образует неспособный к дальнейшему окислению фторцитрат и, таким образом, блокирует нормальное функционирование этого цикла (Ruckenbrod, 1955).

Эти данные показывают, что нарушения в длинной цепи связанных друг с другом реакций расщепления углеводов через гликолиз, образование активированного ацетата и цикл трикарбоновых кислот могут существенно влиять на ход накопления флавоноидов и подчеркивают важность этого пути диссимиляции углеводов в биосинтезе флавоноидных соединений.

Однако как ни странно, почти все попытки вызвать стимуляцию образования антоцианов путем введения в растительные ткани разных промежуточных продуктов гликолиза и следующих за этим реакций диссимиляции углеводов кончились безуспешно. Более того, такие соединения как фосфорные эфиры глюкозы и фруктозы, лактат, пируват и фосфоглицерин фактически оказались сильными ингибиторами образования антоцианов (Thimann и др., 1951; Havelange и др., 1967). Так

вел себя и глицерин (Thimann и др., 1951; Smock, 1966), хотя при введении его в листья *S. crassifolia*, наоборот, наблюдалась некоторая стимуляция (Eberhardt, 1954). Лимонная кислота — промежуточный продукт цикла Кребса — и ацетат не стимулировали формирование антоцианов в этом объекте (Eberhardt, 1954), а кроме того, ацетат не проявил никакого действия и при введении его в проростки красной капусты (Kandeler, 1960). В проростках турнепса влияние ацетата оказалось весьма неопределенным (Grill, 1967). Достоверных данных противоположного характера до сих пор не имеется, за исключением лаконической информации Л. И. Стадлера о том, что у листовых отрезков некоторых генотипов кукурузы введение глюкозы как стимулятора образования антоцианов может быть заменено введением глицеральдегида, глицериновой кислоты или гидроксипировиноградного альдегида лишь с некоторым снижением эффективности обработки (Stadler, 1942).

Интерпретировать эти данные трудно, но кажется, что наряду с возможными чисто «механическими» причинами индифферентности или даже отрицательного действия промежуточных метаболитов гликолиза, цикла трикарбоновых кислот и связанных с ними реакций (неблагоприятные изменения в физико-химических свойствах среды инкубации, недостаточно эффективное проникновение изученных метаболитов в растительные ткани, недостаточная проницаемость клеточных барьеров в отношении этих соединений, недоступность введенных соединений к тканевым процессам из-за малой степени их предварительной активизации и т. д.) не исключена и такая возможность, что уровень содержания этих метаболитов в нормально метаболизирующих клетках и без того достаточно высок, чтобы обеспечить максимальную работу ферментных систем, использующих их для биосинтеза флавоноидов.

Если это предположение окажется правильным, то следовало бы заключить, что хотя гликолитический путь диссимиляции углеводов как источник исходного материала для построения флавоноидной молекулы несомненно необходим для нормального протекания биосинтеза флавоноидов, ни одно из промежуточных звеньев (*resp.* метаболитов) этого пути не имеет лимитирующего значения для этих процессов.

В связи с этим представляют интерес еще две работы по изучению действия антиметаболитов, результаты которых несколько отличаются от данных, изложенных выше. Л. Л. Крийзи и сотрудики (Creasy и др., 1965) установили, что фтористый натрий сильно подавляет образование антоцианов в дисках листьев клубники, если материал после 24-часовой инкубации на свету переместить на тот же промежуток времени в темноту, и, наоборот, вызывает заметную стимуляцию пигментообразования, если диски инкубировать в условиях постоянного освещения. Еще более интригующими являются результаты исследований М. Фауста (Faust, 1965), который показал (в отличие от данных Ф. Эберхардта) (Eberhardt, 1954), что в результате обработки целых плодов яблони растворами ингибиторов гликолитических ферментов йод-уксусной кислоты (применялась в более низкой концентрации, чем в работе Ф. Эберхардта, что, по-видимому, и является причиной расхождения этих данных) и йод-ацетамида значительно усиливается образование антоцианов в их кожице. Аналогичная стимуляция наблюдалась и при обработке яблок растворами малоновой кислоты, которая как ингибитор сукцинатдегидрогеназы (James, 1953) блокирует функционирование цикла трикарбоновых кислот. М. Фауст полагает, что вызванная ингибиторами задержка утилизации углеводов через гликолиз и цикл Кребса приводит к активизации пентозофосфатного пути расщепления глюкозы. Вследствие этого усиливается синтез шикимовой кислоты — важного предшественника при по-

строении флавоноидной молекулы, чем и обуславливается стимуляция образования антоцианов.

Для подтверждения этой гипотезы М. Фаустом в той же работе представлены еще и другие данные. Например, введением в отрезки кожуры яблок глюкозы- ^{14}C , меченой либо в первом, либо в шестом положении, и последующим определением $^{14}\text{C}_6 : ^{14}\text{C}_1$ соотношений декарбоксилирования путем измерения относительной радиоактивности выдыхаемого углекислого газа в обоих вариантах показано, что в период интенсивного развития пигментации в кожеуре активность пентозофосфатного цикла очень высока. Весьма интересны также его данные о влиянии шикимовой кислоты: при обработке плодов в первой половине вегетационного периода всегда наблюдалась весьма сильная стимуляция образования антоцианов в кожеуре, однако в конце сезона, когда содержание эндогенной шикимовой кислоты в кожеуре из-за активизации пентозофосфатного цикла, предположительно, и без того достаточно высоко, стимуляции уже практически не обнаруживалось.

Предположение М. Фауста выглядит весьма правдоподобным, тем более, что оно, как нам кажется, вполне приемлемо и для объяснения вышеупомянутых результатов Л. Л. Крийзи и сотрудников о влиянии фтористого натрия (Greasy и др., 1965). Последний как ингибитор гликолиза должен бы в принципе также вызывать активизацию пентозофосфатного цикла, но так как одновременно с этим неизбежно подавляются и процессы образования АТФ и, следовательно, уменьшаются энергетические потенциалы клетки, то увеличение фонда метаболитов пентозофосфатного цикла, по-видимому, уже не может реализоваться в увеличении накопления антоцианов. Можно, однако, предположить, что в условиях постоянного освещения, обеспечивающего непрерывное протекание процессов фотосинтетической ассимиляции энергии в листовых отрезках, этот недостаток устраняется. В результате этого должны бы создаваться условия для усиленного использования находящихся в изобилии продуктов пентозофосфатного цикла в биосинтезе антоцианов, что в конце концов и должно приводить к стимуляции их накопления, т. е. к эффекту, что в указанной работе в этих условиях фактически и наблюдалось.

Правильность гипотезы М. Фауста несомненно требует дальнейшей, более основательной экспериментальной проверки, но и в данной форме она заслуживает серьезного внимания: базируясь на наглядных опытах, она весьма убедительно указывает, что первостепенное значение в общих взаимоотношениях между углеводным обменом и процессами образования флавоноидов может принадлежать связям, которые развиваются через пентозофосфатный путь диссимиляции углеводов.

Резюмируя изложенные факты, можно прийти к общему заключению, что несмотря на кажущуюся простоту, истинная природа взаимоотношений между процессами углеводного обмена и образованием флавоноидов весьма сложна и что наши знания по этому вопросу еще далеки от совершенства.

Наглядно это подтвердилось исследованиями этой проблемы в нашей лаборатории, начатыми в 1964 г.

Уже первые эксперименты дали весьма неожиданные результаты. При выращивании проростков гречихи на растворах азотнокислого аммония с примесью сахарозы, прибавленной в среду для нейтрализации отрицательного действия экзогенного азота на образование антоцианов в гипокотылях, выяснилось, что сахароза не способна противодействовать влиянию азотного питания. Наоборот, она еще усиливала подавляющее действие азота и, как ни странно, проявляла ингибирующее влияние на

образование антоцианов также в тех случаях, когда проростки выращивались на растворе одной лишь сахарозы без примеси азотнокислого аммония. Подавляющий эффект сахарозы был весьма ясным и даже более заметным, чем подавление, вызванное действием азотного питания, причем ослабление накопления антоцианов в гипокотылях было тем больше, чем выше была концентрация сахарозы в среде (Маргна, Оттер, 1968).

Такие результаты были полной неожиданностью, ибо это, по имеющимся данным, было первым случаем, когда сахара в отношении накопления антоцианов проявляли не стимулирующее, а ингибирующее влияние. Подавляющий эффект сахарозного питания был тем более удивительным и непонятным, что более ранними исследованиями Дж. Р. Тройера, проведенными с сегментами изолированных гипокотилей, уже неоднократно было показано, что и в проростках гречихи сахара, как обычно, стимулируют образование пигментов (Тройер, 1964а, б).

Для выяснения причин расхождения между нашими и тройеровскими данными мы решили более детально изучить влияние разных сахаров на образование антоцианов в проростках гречихи.

Эксперименты проводились по следующей методической схеме: в течение первых трех суток проростки выращивались в полной темноте, затем они перемещались в световую камеру, где в течение 10 ч экспонировались на свету, а после этого снова — до конца опыта и анализа материала — помещались в темноту. Отдельные варианты опыта отличались друг от друга по сроку и способу введения сахаров в проростки, а также по состоянию растительного материала во время обработки. Концентрация сахаров в среде во всех случаях равнялась 1%*. Для полного исключения случайности все эксперименты, как правило, проводились в 4—5 повторностях, а дополнительно к этому, были еще 5—7 раз повторены во времени.

Сводные результаты этих опытов представлены на рис. 1. По этим данным ясно видно, что когда растворы сахаров служили средой как для проращивания семян, так и для выращивания интактных проростков в течение всего экспериментального периода (как это было и в наших первых экспериментах с сахарозой), то содержание антоцианов в гипокотылях, по сравнению с контрольными проростками, значительно уменьшилось (А). Подавляющий эффект был совершенно ясным и не вызывал никаких сомнений, составляя в среднем около 30% от контрольного значения. Относительные размеры подавления остались примерно такими же и в проростках, у которых семядольные листочки непосредственно перед освещением были удалены (Б), хотя абсолютное количество антоцианов как в контроле, так и в опыте было в этих сериях значительно меньше.

Несколько иные, но в принципе такие же результаты были получены в экспериментах, в которых семена проращивались на дистиллированной воде, а растворы сахаров были введены в среду выращивания (*resp.* в проростки) только перед началом освещения. В этих условиях четкое ингибирующее влияние сахаров обнаруживалось только у тех проростков, у которых корни перед освещением были удалены и в которые сахара вводились через нижние концы гипокотилей (В). Правда, подавление образования антоцианов в гипокотылях оказалось в этом случае несколько более слабым, чем отмечалось раньше, но все же оно было вполне ясным и достоверным. В то же время у проростков с корнями, независимо от того были у них удалены семядольные листочки (Г) или нет (Д), ясное уменьшение образования антоцианов в гипокотылях

* Об остальных подробностях методики см. Маргна, Оттер, 1968.

наблюдалось только при введении в среду выращивания глюкозы, а эффект фруктозы и сахарозы остался неопределенным. Тем не менее, о стимулирующем влиянии тоже нельзя было говорить: те небольшие отклонения в сторону увеличения содержания антоцианов, которые в сериях с этими сахарами по сравнению с контролем иногда встречались, как правило, не выходили за рамки обычного биологического варьирования. Стимулирующее действие сахаров наблюдалось только в опытах с изолированными гипокотильями (Е) (ср. Тгоуег, 1964а, б). 10-(глюкоза) и 60-минутная (фруктоза, сахароза) обработка гипокотилей 72-часовых этиолированных проростков в 1%-ных растворах сахаров вместе с последующей инкубацией их на фильтровальной бумаге, намоченной теми же растворами (10 ч на свету + 14 ч в темноте) приводило во всех случаях примерно к 10%-ному увеличению содержания антоцианов в гипокотильях.

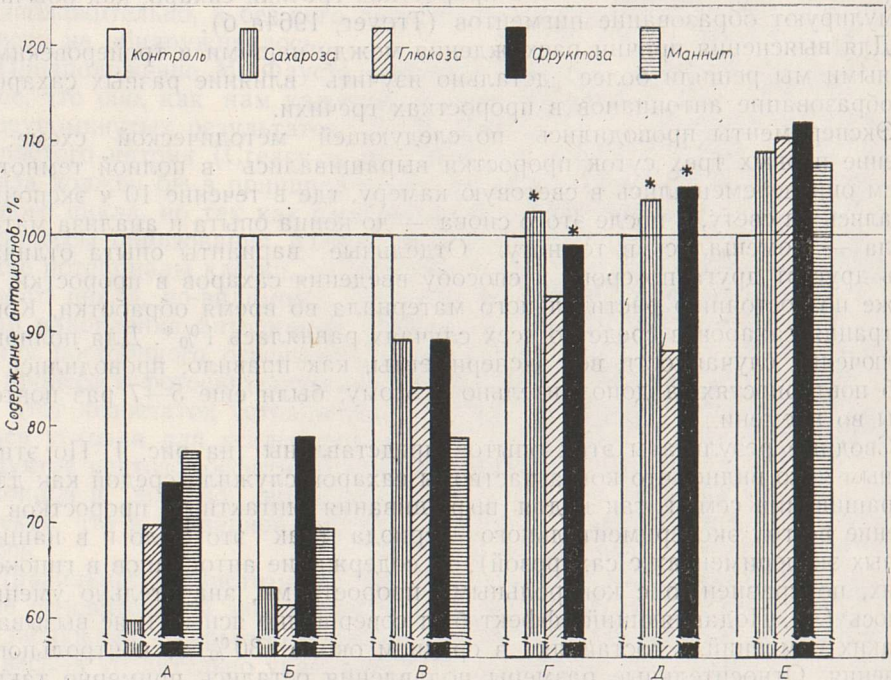


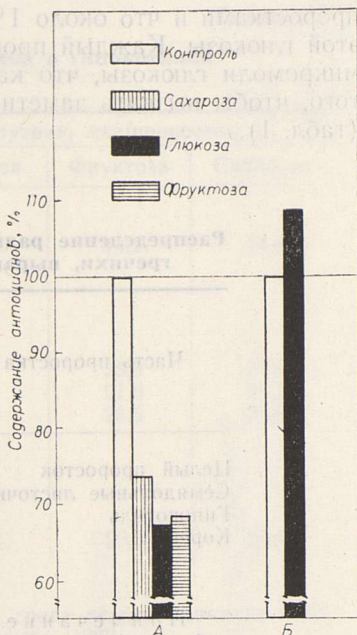
Рис. 1. Влияние сахаров и маннита (1%) на образование антоцианов в гипокотильях проростков гречихи. А—Е — отдельные варианты опыта (объяснения в тексте).

* Статистически незначимое различие ($P=0,05$). Рис. 1—5 построены по данным, перечисленным на 1 проросток, результаты выражены в относительных цифрах по сравнению с контролем.

Интересно отметить, что сахарный спирт маннит, который по данным некоторых авторов индифферентен в отношении образования антоцианов (Thimann, Edmondson, 1949; Eberhardt, 1954), вел себя в этих экспериментах точно таким же образом, как и изученные сахара, т. е., как правило, подавлял накопление антоцианов и лишь в случае изолированных гипокотилей вызывал некоторую стимуляцию.

Результаты аналогичных экспериментов по изучению влияния сахаров на содержание антоцианов в семядольных листочках проростков гречихи ни в чем не отличались от результатов опытов с гипокотильями. И здесь введение сахаров в интактные проростки приводило к значительному подавлению образования антоцианов, в то время как в экспериментах с

Рис. 2. Влияние сахаров (1%) на образование антоцианов в семядольных листочках проростков гречихи. А — интактные проростки, сахара введены в среду выращивания перед освещением; Б — изолированные семядольные листочки, обработанные в течение 3 мин в растворах сахаров вместе с последующим инкубированием на фильтровальной бумаге, намоченной теми же растворами.



изолированными семядолями подавление заменялось некоторой стимуляцией (рис. 2).

Обнаруженное в этих экспериментах отрицательное действие сахаров на образование антоцианов не могло быть обусловлено возможными недостатками использованных способов введения сахаров в проростки или же каким-то общим вредным влиянием примененной нами схемы опытов. В проверочных экспериментах с проростками красной капусты, редиса и турнепса, проведенных аналогично предыдущим, всегда наблюдалась весьма заметная стимуляция накопления антоцианов как в гипокотылях, так и в семядольных листочках (рис. 3). Отпадала также возможность, что обнаруженные эффекты подавления формирования антоцианов вообще не связаны с активным включением сахаров в метаболизм проростков, а просто обусловлены их чисто «внешним» влиянием, например, возможным действием несколько повышенного осмотического давления в сахарных средах. В экспериментах с выращиванием проростков в растворе меченой глюкозы выяснилось, что глюкоза, а, по всей вероятности, и другие сахара, весьма интенсивно поглощаются корнями проростков и активно транспортируется из корней в другие органы. Расчеты показали, что в течение стандартного экспериментального периода около 10% от общего количества глюкозы, добавленной в среду, было поглощено

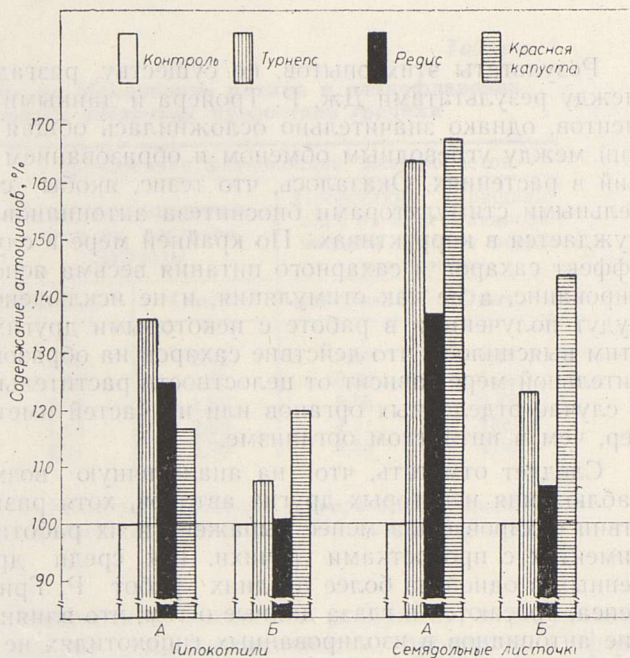


Рис. 3. Влияние глюкозы (1%) на образование антоцианов в интактных проростках некоторых крестоцветных. А — проростки выращены на растворе глюкозы; Б — проростки выращены на воде, глюкоза введена в среду выращивания перед освещением.

Рис. 3. Влияние глюкозы (1%) на образование антоцианов в интактных проростках некоторых крестоцветных. А — проростки выращены на растворе глюкозы; Б — проростки выращены на воде, глюкоза введена в среду выращивания перед освещением.

проростками и что около 1% сухого вещества проростков происходит из этой глюкозы. Каждый проросток поглощал в среднем около половины микромоли глюкозы, что кажется достаточно большим количеством для того, чтобы вызвать заметные изменения в метаболизме проростков (табл. 1).

Таблица 1

Распределение радиоактивности в 4-дневных проростках гречихи, выращенных на растворе ^{14}C -глюкозы

Часть проростка	Радиоактивность		
	имп/мин на 1 проросток	%	мкмоль радиоактивной глюкозы на 1 проросток
Целый проросток	14161	100	0,544
Семядольные листочки	4422	31,2	0,170
Гипокотиль	2757	19,5	0,106
Корень	6982	49,3	0,268

Примечание. Проростки выращивались по стандартной методике, описанной на стр. 153. То же в табл. 2, 3, 5.

Результаты этих опытов, по существу, разгадали причину различий между результатами Дж. Р. Тройера и данными наших первых экспериментов, однако значительно осложнилась общая картина взаимоотношений между углеводным обменом и образованием флавоноидных соединений в растениях. Оказалось, что тезис, якобы сахара являются обязательными стимуляторами биосинтеза антоцианов не вполне обоснован и нуждается в коррективах. По крайней мере в случае проростков гречихи эффект сахаров и сахарного питания весьма ясно проявляется как ингибирование, а не как стимуляция, и не исключено, что такие результаты будут получены и в работе с некоторыми другими объектами. Вместе с этим выяснилось, что действие сахаров на образование антоцианов в значительной мере зависит от целостности растительного материала и может в случае отделенных органов или их частей иметь совсем другой характер, чем в интактном организме.

Следует отметить, что на аналогичную возможность указывают и наблюдения некоторых других авторов, хотя разнокачественность в действии сахаров была менее выражена в их работах, чем в наших экспериментах с проростками гречихи. Так, среди других фактов, представленных в одной из более поздних работ Р. Грилл с проростками турнепса, бросаются в глаза данные о том, что влияние глюкозы на накопление антоцианов в изолированных гипокотылях не во всех случаях совпадало с ее действием на тот же процесс в проростках с удаленными корнями (Grill, 1967). Весьма интересны также наблюдения И. Погорзельской — в изолированных листьях водокраса, помещенных на раствор сахарозы, антоциановая пигментация развивалась при постоянном освещении и оптимальной температуре уже через 4—5 дней, а у таких же листьев, но не отделенных от турнона, покраснение пластины в тех же условиях наступало лишь через 25 дней (Pogorzelska, 1965).

Все эти данные заставляют думать, что характер взаимосвязей между углеводным обменом и образованием флавоноидных соединений не

Таблица 2

Влияние сахаров на образование рутина в гипокотилях проростков гречихи

Вариант опыта	Содержание рутина, мкг/проросток			
	Контроль	Глюкоза	Фруктоза	Сахароза
Проростки выращивались на растворах сахаров	12,9	13,8	14,5	14,4
Проростки выращивались на воде, сахара вводили в среду выращивания перед освещением; интактные проростки семядоли удалены корни удалены	19,5	28,7	25,9	25,0
	17,0	21,6	21,8	21,2
	19,4	20,3	23,5	23,0
Изолированные гипокотили 72-часовых этилированных проростков намачивались в течение 60 мин в растворах 10% сахаров	22,8	24,0	29,5	25,6

Примечание. Концентрация сахаров в среде всегда равнялась 10%. Содержание рутина определялось по Margna, Margna, 1969.

Таблица 3

Влияние сахарозы на образование рутина и гликофлавонов в семядольных листочках проростков гречихи

Флавоноид	Содержание флавоноидов, мкг/проросток			
	Проростки выращивались на растворе сахарозы		Проростки выращивались на воде, сахароза введена в среду перед освещением	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Витексин	3,62	2,92	3,40	3,19
Сапонаретин	6,56	5,56	6,63	6,38
Ориентин	2,08	1,82	2,56	2,38
Гомоориентин	4,14	2,89	4,71	4,09
Рутин	4,01	2,99	4,48	4,06

Примечание. Концентрация сахарозы в среде всегда равнялась 10%. Содержание флавоноидов определялось по Margna, Margna, 1969.

определяется только изменениями в «емкости» (например, в результате введения экзогенных сахаров) или интенсивности процессов в сфере метаболизма самих углеводов, а регулируется еще какими-то другими механизмами. Необходимой предпосылкой для нормального функционирования этих механизмов, по-видимому, является более или менее полное сохранение целостности организма и сохранение сопряженности обменных процессов между отдельными его органами. В изолированных органах, как например, в отделенных от остальных частей проростков гипокотилей или семядольных листочках, характерные для интактного организма механизмы регуляции, по всей вероятности, перестают функционировать и определяющими становятся более простые механизмы

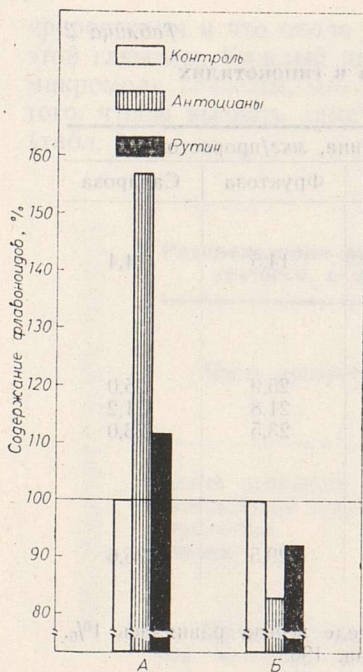


Рис. 4. Влияние фенилаланина (10^{-2} М) на образование флавоноидов в интактных проростках гречихи (проростки выращены на воде, фенилаланин введен в среду выращивания перед освещением). А — гипокотили; Б — семядольные листочки.

непосредственного характера, чем, по-видимому, и объясняются различия в действии сахаров на образование антоцианов при их введении в интактные проростки или изолированные органы.

Дополнительным подтверждением о наличии в растениях особого регулирующего механизма могут служить наши данные о влиянии сахаров на накопление рутина в гипокотилиях, а также рутина и гликофлавонов (= флавоно-С-гликозидов) в семядольных листочках проростков гречихи (табл. 2 и 3). Как видно, и в отношении этих флавоноидов действие сахаров имело дифференцированный характер, однако в данном случае это проявлялось в совсем другом аспекте, чем при изучении антоциановых пигментов, хотя с биогенетической точки зрения соединения обеих групп близки друг к другу. Выяснилось, что образование рутина (единственного флавоноида в гипокотилиях кроме антоцианов и лейкоантоцианов) в гипокотилиях под влиянием сахаров не подавляется, а, в отличие от антоцианов, значительно стимулируется, причем эффект сахаров, опять-таки в отличие от антоцианов, мало зависит от условий эксперимента (табл. 2). Однако оказалось, что эта стимуляция не распространяется на весь проросток — в семядольных листочках образование рутина, а также гликофлавонов в тех же условиях заметно подавлялось (табл. 3).

Существенные различия в действии сахаров на образование антоцианов и рутина в гипокотилиях с одной стороны, и на накопление рутина в гипокотилиях и семядольных листочках с другой, явно свидетельствуют о том, что взаимоотношения между процессами углеводного обмена и образованием флавоноидов в проростках гречихи не могут быть определены только непосредственными связями между этими двумя сферами метаболизма, а должны находиться в зависимости от каких-то других процессов.

Интересно отметить, что аналогичная действию сахаров на образование рутина дифференцированность обнаруживалась и при изучении действия фенилаланина, который, по сути дела, представляет собой один из метаболитов, образовавшихся через пентозофосфатный путь диссимилиации углеводов, и по современным представлениям считается непосредственным предшественником флавоноидов. При введении его в интактные проростки накопление как антоцианов, так и рутина в гипокотилиях значительно возрастало, однако в семядольных листочках образование обоих флавоноидов весьма заметно подавлялось (рис. 4). При работе же с изолированными гипокотилиями и семядольными листочками эта дифференцированность, аналогично действию сахаров, исчезла. В этих условиях фенилаланин сильно стимулировал образование антоцианов в обоих органах (табл. 4). Весьма интересно также то, что сахара, введенные в проростки в комбинации с фенилаланином, полностью сохраняли свойственный им образ действия на формирование флавоноидов в проростках гречихи, т. е. не только снижали вызванную фенилаланином

Таблица 4

Влияние фенилаланина на образование антоцианов в изолированных гипокотылях и семядольных листочках проростков гречихи

Вариант опыта	Содержание антоцианов, усл. ед./проросток		
	Контроль	Опыт	Эффект фенилаланина, %
Изолированные гипокотыли 72-часовых этиолированных проростков обрабатывались 3 мин 10^{-2} М раствором фенилаланина, затем инкубировались в течение 24 ч (10 ч освещения + 14 ч темноты) на бумаге, намоченной тем же раствором	11,4	16,5	+44,7
То же, но обработка раствором фенилаланина 30 мин	12,8	22,9	+78,9
Изолированные семядольные листочки 80-часовых этиолированных проростков обрабатывались 1 мин 10^{-2} М раствором фенилаланина, затем инкубировались в течение 40 ч на бумаге, намоченной тем же раствором (16 ч освещения + 24 ч темноты)	28,6	52,1	+82,2

Таблица 5

Влияние фруктозы, сахарозы и маннита на фенилаланин-индуцированную стимуляцию образования антоцианов в гипокотылях проростков гречихи

Вариант опыта	Содержание антоцианов, усл. ед./проросток	Подавляющий эффект сахаров, %
Водный контроль	17,3	—
Проростки выращивались в воде, в среду выращивания перед освещением введен фенилаланин (10^{-2} М)	23,3	—
То же, но в среду выращивания проростков перед освещением введен фенилаланин (10^{-2} М) в комбинации с		
фруктозой ($2 \cdot 10^{-1}$ М)	19,4	-16,7
сахарозой ($2 \cdot 10^{-1}$ М)	14,7	-36,9
маннитом ($2 \cdot 10^{-1}$ М)	20,4	-12,4

стимуляцию накопления антоцианов в гипокотылях и еще больше подавляли их образование в семядолях, но и усиливали стимулирующий эффект фенилаланина на образование рутина в гипокотылях (рис. 5, табл. 5).

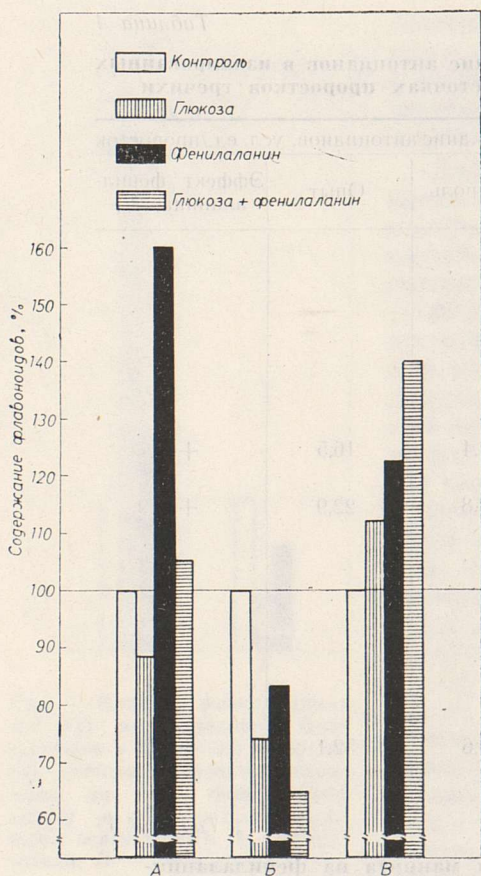


Рис. 5. Модифицирующее действие глюкозы (1%) на фенилаланин (10^{-2} М)-индуцированные сдвиги в образовании флавоноидов в интактных проростках гречихи (проростки выращены на воде, действующее вещество введено в среду выращивания перед освещением). А — антоцианы в гипокотылях; Б — антоцианы в семядольных листочках; В — рутин в гипокотылях.

рутина в гипокотылях, можно предположить, что критическое значение имеют лишь те взаимосвязи, которые между процессами образования флавоноидов и углеводным обменом возникают по контактам через пентозофосфатный путь диссимиляции углеводов. Необходимые для построения целостной флавоноидной молекулы метаболиты из других ветвей биологического расщепления углеводов находятся в клетках, по-видимому, в достаточном количестве, вследствие чего и взаимосвязи в этих направлениях, как правило, не приобретают самостоятельного значения.

Во-вторых, наряду с этим кажется, что взаимоотношения лимитирующего характера развиваются между обменом углеводов и процессами образования флавоноидов еще и на энергетических началах, через систему преобразования химической энергии углеводов в энергию макроэргических связей АТФ, являющейся универсальным энергетическим субстратом для всех биосинтетических процессов в организме. К такому

Кончая этим анализ литературных данных, а также рассмотрение экспериментальных фактов, установленных в некоторых из наших собственных исследований, можно сделать ряд предварительных выводов о характере и относительной роли тех связей, которые на уровне биогенетических контактов развиваются между флавоноидами и процессами промежуточного обмена углеводов.

Во-первых, почти неоспоримым кажется факт, что разные цепи и сферы диссимиляционных реакций углеводов не равноценны в смысле их потенциала развивать особые, «напряженные» взаимоотношения с процессами образования флавоноидов, хотя с биогенетической точки зрения вполне допустимо ожидать таких связей во всех точках непосредственного контакта флавоноидов с обменными реакциями углеводов (рис. 6). Имея в виду неудачные попытки вызвать стимуляцию накопления антоцианов с помощью введения в растительные ткани ацетата и разных промежуточных продуктов гликолиза и цикла трикарбоновых кислот, стимулирующее действие на образование антоцианов некоторых антиметаболитов, способных блокировать гликолитический распад углеводов, а также легкость, с которой при введении фенилаланина в проростки гречихи в наших экспериментах удалось получить значительную стимуляцию образования как антоцианов, так и

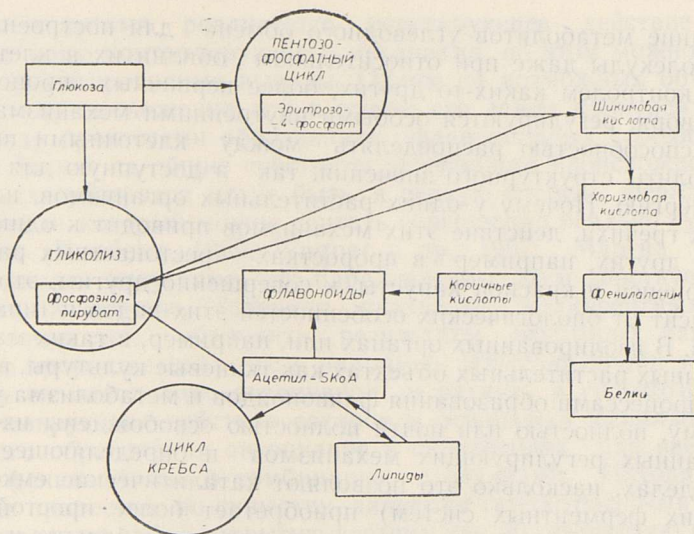


Рис. 6. Схема взаимосвязей между образованием флавоноидов и процессами основного обмена растений.

выводу приводят ссылки о прекращении образования флавоноидов в анаэробных условиях, данные о подавлении биосинтеза антоцианов разобщителем окисления и фосфорилирования — динитрофенолом, а также ряд интересных фактов, установленных нами в экспериментах с проростками гречихи. В частности, удалось выяснить, что при введении в проростки сахаров (сахарозы) значительно активизируется их белковый обмен — комплекс биохимических реакций, требующий, как известно, много энергии, но в случае проростков как закрытой по отношению азота системы, по-видимому, не нуждается в дополнительных количествах углеродных единиц структурного значения, ибо весь их азот уже связан с разными углеродными цепями (Оттер, Маргна, 1967; Маргна, Оттер, 1968). Заслуживают еще внимания наблюдения о том, что сахароза, введенная в интактные или декапитированные проростки в комбинации с неорганическими фосфатами, усиливала стимулирующее влияние последних на образование антоцианов в гипокотылях (Маргна, Оттер, 1969), в то время отдельно, как было показано выше, она явно действовала ингибитором накопления антоцианов, значительно снижая также стимулирующий эффект фенилаланина. Это указывает на то, что процессы фосфорилирования, *resp.* образования богатых энергией соединений, могут составлять одно из лимитирующих звеньев в системе, контролирующей накопление флавоноидов в растительном материале.

Третьим и может быть наиболее важным обобщением изложенного фактического материала является вывод, что несмотря на весьма непосредственную биогенетическую зависимость формирования флавоноидов от наличия в клетках разных промежуточных метаболитов окислительного распада углеводов (рис. 6), общие взаимоотношения между процессами образования флавоноидов и углеводным обменом все же имеют как-то вторичный характер. Разносторонняя дифференцированность действия сахаров и фенилаланина, которые по чисто теоретическим соображениям должны были бы на образование флавоноидов оказывать без исключения только стимулирующее влияние, весьма ясно показывает, что в интактном, нормально функционирующем растительном организме

использование метаболитов углеводного обмена для построения флавоноидной молекулы даже при относительном обилии их в клетках находится под контролем каких-то других, более первичных процессов, или, условно говоря, регулируются особыми внутренними механизмами, обладающими способностью распределять между клеточными процессами как метаболиты структурного значения, так и доступную для них внутреннюю энергию. Почему у одних растительных организмов, например в проростках гречихи, действие этих механизмов приводит к одним результатам, а у других, например в проростках крестоцветных растений — редиса, турнепса и красной капусты, к совершенно другим, это, по-видимому, зависит от биологических особенностей этих видов и типа их обмена веществ. В изолированных органах или, например, в таких малодифференцированных растительных объектах как тканевые культуры, взаимосвязи между процессами образования флавоноидов и метаболизма углеводов, по-видимому, полностью или почти полностью освобождены из-под контроля указанных регулирующих механизмов и определяющее значение (в тех пределах, насколько это позволяют каталитические емкости соответствующих ферментных систем) приобретает более простой принцип регуляции: чем больше исходного материала, тем больше и продукта. Это может быть одной из причин, почему в экспериментах с введением в растительные ткани сахаров исследователи до сих пор почти без исключения получали только стимуляцию образования антоцианов или других флавоноидов: работая главным образом с отделенными гипокотылями или семядольными листочками проростков, листовыми отрезками, тканевыми культурами или с другими изолированными частями целостного растительного организма, действие более сложных механизмов регуляции не могло проявляться уже по чисто методическим причинам.

Из-за слабой изученности всей проблемы сейчас трудно сказать, из каких компонентов состоят предполагаемые регулирующие механизмы, однако весьма вероятным представляется, что одну из ведущих ролей в этой системе играют процессы, связанные с обменом белков. К такому выводу приводят не только общие представления о центральной позиции белков во всей жизнедеятельности организмов. Выше уже было отмечено, что при введении в проростки гречихи дополнительных количеств экзогенных сахаров значительно активизируется обменная деятельность в сфере метаболизма белков. Сравнительное изучение изменений в соотношениях разных азотных фракций в органах проростков показало, что эта активизация охватывает, по-существу, все звенья этого комплекса сложных биохимических реакций и выражается как в заметной интенсификации гидролитического расщепления запасных белков семядолей, так и в ускорении транслокации освободившихся в ходе этих процессов аминокислот из семядольных листочков в другие части молодых проростков, а также в усилении синтеза новых белков в тканях гипокотылей (и других развивающихся органов) (Оттер, Маргна, 1967; Маргна, Оттер, 1968). Таким образом, оживление белкового обмена проростков является якобы своего рода контрэффектом подавления образования антоцианов, что вряд ли может быть случайным совпадением. Об этом свидетельствуют также данные о том, что в проростках гречихи, у которых биосинтез белков был блокирован обработкой 2,4-Д, сахароза уже не вызывала подавления накопления пигментов, а, наоборот, оказывала даже некоторое стимулирующее влияние (Margna, Otter, 1968). Эти факты весьма ясно указывают на то, что к регуляции взаимосвязей между обменом углеводов и процессами образования флавоноидов причастны комплексные биохимические реакции, связанные с обменом белковых соединений, и в частности — процессы биосинтеза белков.

Какими путями реализуется регулирующее действие биосинтеза белков и всего контролирующего механизма, об этом можно пока делать только ориентировочные выводы. Одним из возможных объяснений может быть предположение, что в основе его лежат конкурентные отношения между процессами образования флавоноидных соединений и биосинтеза белков за общие субстраты углеводного происхождения. В качестве таких субстратов могут быть, в первую очередь, фенилаланин, конкуренцию за который можно считать совершенно реально существующим явлением (Kandeler, 1959; Wagner и др., 1967; Маргна и др., 1969), однако вполне допустимо, что параллельно с этим действует еще и конкуренция за энергию. Наличием указанных конкурентных отношений сравнительно легко объяснить результаты некоторых наших экспериментов с проростками гречихи, например, стимулирующий эффект фенилаланина на накопление антоцианов и рутина в гипокотылях, а также нейтрализующее действие сахаров в отношении фенилаланин-индуцированного образования антоцианов в гипокотылях при введении в проростки фенилаланина в комбинации с сахарами. Исходя из того, что молодые проростки, по существу, являются гетеротрофными организмами и представляют собой закрытую систему как по отношению к азоту, так и энергии, можно дать более или менее удовлетворительное объяснение и подавляющему эффекту сахаров на образование антоцианов. На ингибирование накопления пигментов в этих условиях можно в данном конкретном случае смотреть как на следствие внутреннего перераспределения доступной энергии (Маргна, Оттер, 1968; Margna, Otter, 1968), а также фонда свободного фенилаланина проростков, которое имеет место в результате конкурирующего и регулирующего действия процессов биосинтеза белков.

Интерпретация некоторых других данных представляется, однако, более трудной. В частности, сейчас не совсем ясно, чем могут быть объяснены различия в действии сахаров на образование антоцианов и рутина в гипокотылях и на образование рутина в гипокотылях и семядных листочках, а также различия в действии фенилаланина на образование как антоцианов, так и рутина в тех же частях проростка. Наиболее вероятно, что взаимосвязи процессов образования флавоноидов с углеводным обменом контролируются не только конкурентными отношениями между биосинтезом белков и флавоноидных соединений, но и какими-то другими механизмами, входящими в эту систему регуляции. Выяснение и уточнение всех этих механизмов должно быть одной из первостепенных задач дальнейших исследований в этой области биохимии растений.

Автор считает своим приятным долгом выразить искреннюю благодарность своим сотрудникам М. Оттер, Э. Маргна и Т. Вайнъярв за участие в экспериментальной части исследований, результаты которых были представлены в этой работе, и Л. Халлоп за помощь в подготовке настоящих материалов к печати, а также О. Кээрбергу и его сотрудникам из лаборатории биохимии фотосинтеза Института экспериментальной биологии АН ЭССР за теоретические советы и техническую помощь в проведении экспериментов с меченой глюкозой.

ЛИТЕРАТУРА

- Васильев И. М., 1962. Действие ионизирующих излучений на растения. М.
Запрометов М. Н., 1964. Современные представления о биосинтезе соединений ароматического ряда. Усп. биол. хим. **6** : 264—303.
Запрометов М. Н., 1967. Биохимия фенольных соединений. Усп. совр. биол. **63** : 380—399.

- Маргна У., Маргна Э., Оттер М., 1969. Действие некоторых антибиотиков на образование антоцианов и рутина в гипокотылях проростков гречихи. Изв. АН ЭССР. Биол. **18** (3) : 291—299.
- Маргна У., Оттер М., 1968. Взаимосвязь между биосинтезом антоцианов и азотным обменом в проростках гречихи II. Влияние комбинированного действия сахарного и азотного питания на накопление антоцианов в гипокотылях. Изв. АН ЭССР. Биол. **17** (1) : 3—14.
- Маргна У., Оттер М., 1969. Влияние АТФ и неорганических фосфатов на образование антоцианов в проростках гречихи. Изв. АН ЭССР. Биол. **18** (4) : 430—433.
- Оттер М., Маргна У., 1967. Взаимосвязь между биосинтезом антоцианов и азотным обменом в проростках гречихи I. Влияние комбинированного воздействия условий экзогенного питания на азотный баланс в гипокотылях и семядольных листочках. Изв. АН ЭССР. Биол. **16** (4) : 340—351.
- Alston R. E., 1958. Leuco-anthocyanin synthesis in dark-grown seedlings of *Impatiens balsamina*. Amer. J. Bot. **45** : 289—294.
- Arnold A., Alston R. E., 1961. Certain properties of hypocotyl of *Impatiens balsamina* reflecting physiological complexity. Plant Physiol. **36** : 650—656.
- Beguin F., 1964. Contribution à la localisation de la biogénèse des pigments anthocyaniques du méristème de la coiffe de *Chrysanthemum Leucanthemum* L. par la méthode de culture d'organes in vitro. Ber. Schweiz. bot. Ges. **74** : 267—276.
- Birch A. J., 1962. Biosynthesis of flavonoids and anthocyanins. In: The Chemistry of Flavonoid Compounds. Oxford—London—New York—Paris : 618—625.
- Blank F., 1947. The anthocyanin pigments of plants. Bot. Rev. **13** : 241—317.
- Blank F., 1958. Anthocyanins, flavones, xanthenes. Encycl. Plant Physiol. **10** : 300—353.
- Bogorad L., 1958. The biogenesis of flavonoids. Annual Rev. Plant Physiol. **9** : 417—448.
- Bopp M., 1959. Über die Bildung von Anthocyan und Leukoanthocyan an Wundrändern. Z. Bot. **47** : 197—219.
- Capite L., 1955. Azione degli zuccheri e delle basse temperature sulla formazione degli antociani in radici di *Daucus Carota* L. coltivate in vitro. Ricerca scient. **25** : 2091—2097.
- Chrastil J., Petru E., 1957. The physiology of the formation of anthocyanin in carrot root cultures (*Daucus carota* L.). Folia biol. **3** : 190—192.
- Combes R., 1909. Rapports entre les composées hydrocarbonées et la formation de l'anthocyan. Ann. sci. natur. Bot. **9** : 275—304.
- Creasy L. L., Maxie E. C., Chichester C. O., 1965. Anthocyanin production in strawberry leaf disks. Phytochem. **4** : 517—521.
- Creasy L. L., Swain T., 1966. Flavon production in strawberry leaves. Phytochem. **5** : 501—509.
- Downs R. J., 1964. Photocontrol of anthocyanin synthesis. J. Wash. Acad. Sci. **54** : 112—120.
- Eberhardt F., 1954. Über die Beziehungen zwischen Atmung und Anthocyan-synthese. Planta **43** : 253—287.
- Eberhardt F., Haupt W., 1959. Über Beziehungen zwischen Anthocyanbildung und Stickstoffumsatz. Planta **53** : 334—338.
- Eddy B. P., Mapson L. W., 1951. Some factors affecting anthocyanin synthesis in cress seedlings. Biochem. J. **49** : 694—699.
- Edmondson Y. H., Thimann K. V., 1950. The biogenesis of the anthocyanins. II. Evidence for the mediation of copper in anthocyanin synthesis. Arch. Biochem. **25** : 79—90.
- Faust M., 1965. Physiology of anthocyanin development in McIntosh apple. I. Participation of pentose phosphate pathway in anthocyanin development. Proc. Amer. Soc. Hortic. Sci. **87** : 1—9.
- Frey-Wyssling A., Blank F., 1943. Untersuchungen über die Physiologie des Anthocyanins in Keimlingen von *Brassica oleracea* L. var. capitata L. f. *rubra* (L.). Ber. Schweiz. bot. Ges. **53A** : 550—578.
- Geissman T. A., 1962. The occurrence of flavonoid compounds in nature. In: The Chemistry of Flavonoid Compounds. Oxford—London—New York—Paris : 1—5.
- Grill R., 1967. Photocontrol of anthocyanin synthesis in turnip seedlings IV. The effect of feeding precursors. Planta **76** : 11—24.
- Hackett D. P., 1965. Respiratory inhibitors. Encycl. Plant Physiol. **12/2** : 23.
- Harborne J. B., 1965. Flavonoids: distribution and contribution to plant colour. In: Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments. London—New York : 247—278.
- Harborne J. B., 1967. Comparative Biochemistry of the Flavonoids. London—New York.

- Havelange A., Deleuze G., Schumacker R., 1967. Le métabolisme des anthocyanes dans les plantules de *Sinapis alba* L. II. Les relations avec la respiration. Bull. Soc. roy. sci. Liège **36** : 138—148.
- Hess D., 1964. Die Beteiligung von Ribonucleinsäure und der gengesteuerten Induktion der Anthocyan synthese bei *Petunia*. Planta **61** : 73—89.
- James W. O., 1953. The use of respiratory inhibitors. Annual Rev. Plant Physiol. **4** : 59.
- Jonesco S., 1921. Formation de l'anthocyane dans les fleurs de *Cobaea scandens* aux dépens des glucosides préexistants. C. r. Acad. Sci. **173** : 850—852.
- Kandeler R., 1959. Über die Wirkung von Dunkelrot- und Weisslicht auf die Anthocyanbildung nach Ausschaltung der Chlorophyllbildung durch Antibiotika. Naturwissenschaften **46** : 452.
- Kandeler R., 1960. Über die Lichtabhängigkeit der Anthocyanbildung. Flora **149** : 487—636.
- Karstens W. K. H., 1939. Anthocyanin and anthocyanin formation in seedlings of *Fagopyrum esculentum* Moench. Rec. Trav. bot. Neerl. **36** : 85—179.
- Katic D. L., 1905. Beitrag zur Kenntnis der Bildung des roten Farbstoffs (anthocyan) in vegetativen Organen der Phanerogamen. Inaug.-Diss. Halle—Wittenberg (црт. no Blank, 1958).
- Klein A. O., Hagen C. W., 1961. Anthocyanin production in detached petals of *Impatiens balsamina* L. Plant Physiol. **36** : 1—9.
- Malaviya B., Laloraya M. M., 1966. Anthocyanin biosynthesis in *Celosia* seedlings I. Locus of anthocyanin formation and effect of seedling age. Arch. Biochem. and Biophys. **114** : 56—60.
- Margna U., Margna E., 1969. A suitable chromatographic method for quantitative assay of rutin and flavone C-glycosides in buckwheat seedlings. ENSV TA Toimet., Biol. **18** (1) : 40—50.
- Margna U., Otter M., 1968. The influence of sucrose feeding on anthocyanin formation in intact buckwheat seedlings as a possible function of primary changes in protein metabolism. ENSV TA Toimet., Biol. **17** (2) : 147—153.
- McClure J. W., Alston R. E., 1964. Patterns of selected chemical components of *Spirodela oligorhiza* formed under various conditions of axenic culture. Nature **201** (4916) : 311—313.
- Neish A. C., 1960. Biosynthetic pathways of aromatic compounds. Annual Rev. Plant Physiol. **11** : 55—80.
- Neish A. C., 1964. Major pathways of biosynthesis of phenols. In: Biochemistry of Phenolic Compounds. London—New York : 295—359.
- Nick E., 1953. Beiträge zur Physiologie der Gerbstoffe und Flavonfarbstoffe bei *Polygonum Bistorta* L. Pharmazie **8** : 940—950.
- Nöll G., 1955. Untersuchungen über den Einfluss verschiedener Faktoren auf den Flavonolgehalt von *Fagopyrum esculentum* (L.) Moench und *Fagopyrum tataricum* (L.) Gärtner. Pharmazie **10** : 679—691.
- Overton E., 1899. Beobachtungen und Versuche über das Auftreten von rothem Zellsaft bei Pflanzen. Jahrb. wiss. Bot. **33** : 171—251.
- Paech K., Eberhardt F., 1952. Untersuchungen zur Biosynthese der Anthocyane. Z. Naturforsch. **7b** : 664—670.
- Pogorzelska I., 1965. Czynniki wplywajace na wytwarzanie sie antocyjanu w izolowanych lisciach turionow *Hydrocharis morsus ranae* L. Ann. Univ. M. Curie-Sklodowska **20** : 257—267.
- Ruckenbrod H., 1955. Untersuchungen über den Umsatz der Chlorogensäure in höheren Pflanzen. Planta **46** : 19—45.
- Sayed M. D., Beal J. L., 1959. A study of the influence of gibberellic acid on the growth of *Fagopyrum esculentum* Moench and the biosynthesis of rutin. J. Amer. Pharmac. Assoc. **48** : 43—45.
- Siegelman H. W., Hendricks S. B., 1958. Photocontrol of anthocyanin synthesis in apple skin. Plant Physiol. **33** : 185—190.
- Slabecka-Szweykowska A., 1952. Warunki tworzenia sie antocjanu w tkance *Vitis vinifera* hodowanej in vitro. Acta Soc. Bot. Polon. **21** : 537—576.
- Smock R. M., 1966. Laboratory studies of anthocyanin development in McIntosh apples. Proc. Amer. Soc. Hortic. Sci. **88** : 80—88.
- Stadler L. J., 1942. Gene action in anthocyanin synthesis in maize. Amer. J. Bot. **29** : 17s—18s.
- Stafford H. A., 1965. Factors controlling the synthesis of natural and induced lignins in *Phleum* and *Elodea*. Plant Physiol. **40** : 844—851.
- Stafford H. A., 1968. Biosynthesis of phenolic compounds in first internodes of *Sorghum*: lignin and related products. Plant Physiol. **42** : 450—455.
- Straus J., 1959. Anthocyanin synthesis in corn endosperm tissue cultures. I. Identity of the pigments and general factors. Plant Physiol. **34** : 536—541.

- 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.
- Thimann K. V., Edmondson Y. H., 1949. The biogenesis of the anthocyanins. I. General nutritional conditions leading to anthocyanin formation. *Arch. Biochem.* **22** : 33—53.
- Thimann K. V., Edmondson Y. H., Radner B. S., 1951. The biogenesis of the anthocyanins. III. The role of sugars in anthocyanin formation. *Arch. Biochem. and Biophys.* **34** : 305—323.
- Troyer J. R., 1964a. Anthocyanin formation in excised segments of buckwheat seedling hypocotyls. *Plant Physiol.* **39** : 907—912.
- Troyer J. R., 1964b. Leucoanthocyanin formation in buckwheat seedling hypocotyls. *Phytochem.* **3** : 535—539.
- Vince D., 1968. Growth and anthocyanin synthesis in excised *Sorghum* internodes. I. Effects of growth regulating substances. *Plant* **82** : 261—279.
- Wagner E., Bienger I., Mohr H., 1967. Die Steigerung der durch Phytochrom bewirkten Anthocyaninsynthese des Senkeimlings (*Sinapis alba* L.) durch Chloramphenicol. *Planta* **75** : 1—9.
- Zucker M., Levy C. C., 1959. Some factors which affect the synthesis of chlorogenic acid in disks of potato tuber. *Plant Physiol.* **34** : 108—112.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
6/XI 1969

U. MARGNA

FLAVONOIDIDE MOODUSTUMISE JA SÜSIHÜDRAATIDE METABOLISMI VASTASTIKUSTEST SEOSTEST TAIMEDES

Resümees

Kirjanduse andmetele tuginedes analüüsitakse üksikasjalikult süsihüdraatide metabolismi ning antotsüaanide ja teiste flavonoidide moodustumisele viivate protsesside vahelisi seoseid taimedes ning esitatakse autori ja tema kaastöötajate viimaste aastate eksperimentaalsete uuringute põhitulemused selles küsimuses. Olulisemate küsimustena käsitletakse flavonoidide biosünteesi ja süsihüdraatide mitmesuguste lagunemisteede vahel arenevate seoste iseloomu ja suhtelist osatähtsust üldiste biogeneetiliste seoste tasemel väljakujunevate vahekoradade foonil, samuti neid suhteid kontrollivaid mehhanisme intaktsetes taimorganismis ja oletatavate regulatsioonimehhanismide võimalikke toimeprintsipe.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaalbioloogia Instituut

Saabus toimetusse
6. XI 1969

U. MARGNA

ON THE INTERRELATIONS BETWEEN THE FORMATION OF FLAVONOIDS AND THE PROCESSES OF CARBOHYDRATE METABOLISM IN PLANTS

Summary

In the paper, a comprehensive review of various experimental data on the question of interrelations between different patterns of carbohydrate dissimilation and the processes leading to the formation of anthocyanins and other flavonoid compounds in plants has been presented, including the results of the author's own experimental investigations on this topic. The main aspects of the problem discussed in the paper are: the relative importance of separate interrelations developing between flavonoids and carbohydrates at the level of their direct biogenetical contacts in the course of normal carbohydrate metabolism in plants; secondly, the nature of the mechanisms possessing the ability to control these interrelations in intact plant organisms; and, thirdly, the possible principles of the regulatory action of the supposed control mechanisms.

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

Received
Nov. 6, 1969