

A. ТОХВЕР, Н. ВОСКРЕСЕНСКАЯ

## О ВЛИЯНИИ СВЕТА НА ОБРАЗОВАНИЕ АНТОЦИАНОВЫХ ПИГМЕНТОВ В СЕМЯДОЛЯХ ПРОРОСТКОВ ГРЕЧИХИ

Стимуляция образования антоцианов является одной из многочисленных ответных реакций на действие света у многих растительных объектов. Механизм действия света, в том числе и характер фоторецепторов, а также процессы, происходящие вслед за первичной фотореакцией вплоть до конечного результата (например, стимуляция образования антоцианов), окончательно не выяснены.

В предыдущей статье (Тохвер, Воскресенская, 1969) сообщалось об особенностях накопления антоцианов в гипокотылях проростков гречихи под влиянием световой обработки различной длительности и интенсивности. Полученные результаты показали, что в световой регуляции образования антоцианов участвуют, по-видимому, фотореакции двух типов, имеющие разный характер зависимости от длительности световых импульсов.

Для получения более полной картины явлений, связанных с фоторегуляцией образования антоцианов в проростках гречихи, сравнивалось действие света на накопление антоцианов в семядолях и гипокотылях. Метаболизм семядолей и гипокотылей взаимосвязан и имеются указания на то, что эта связь зависит от условий освещения и, в частности, может проявляться в накоплении антоцианов (Jakobs, Mohr, 1966; Grill, Vince, 1964; Grill, 1967).

### Методика

Опыты по выяснению действия освещения на накопление антоцианов в семядолях проростков гречихи были проведены в основном по той же схеме, что и при изучении гипокотылей. Объектом исследования служили этилированные проростки гречихи (*Fagopyrum esculentum* Moench) сорта 'Гыгева валик' (Гыгеваская отборная). Проростки выращивались в чашках Коха на фильтровальной бумаге, смоченной дистиллированной водой, в темноте в течение 72 ч. Затем проводилась их световая обработка.

Во время световой обработки проростки освещались непрерывным белым светом (люминесцентные лампы ЛДЦ-30) различной интенсивности (5—60  $\text{вт/м}^2$ ) и продолжительности (3—56 ч). При прерывистом освещении в начале каждого часа давался один импульс света длительностью 5 или 20 мин.

Определялись временная зависимость нарастания количества антоцианов в семядолях под влиянием световой обработки, а также их образование в темноте в течение 24 ч после окончания световой обработки различной продолжительности (до 32 ч).

Кроме того, сравнивалось действие красного света и темноты на накопление антоцианов после предварительного 24-часового освещения проростков белым светом (интенсивность 38  $\text{вт/м}^2$ ). Источником красного света служили лампы ЛДЦ-30 с красным стеклянным фильтром. Спектр поглощения фильтра приведен на рис. 1. Доля энергии излучения лампы ЛДЦ-30, приходящаяся на область спектра дальше 700 нм, незначительна.

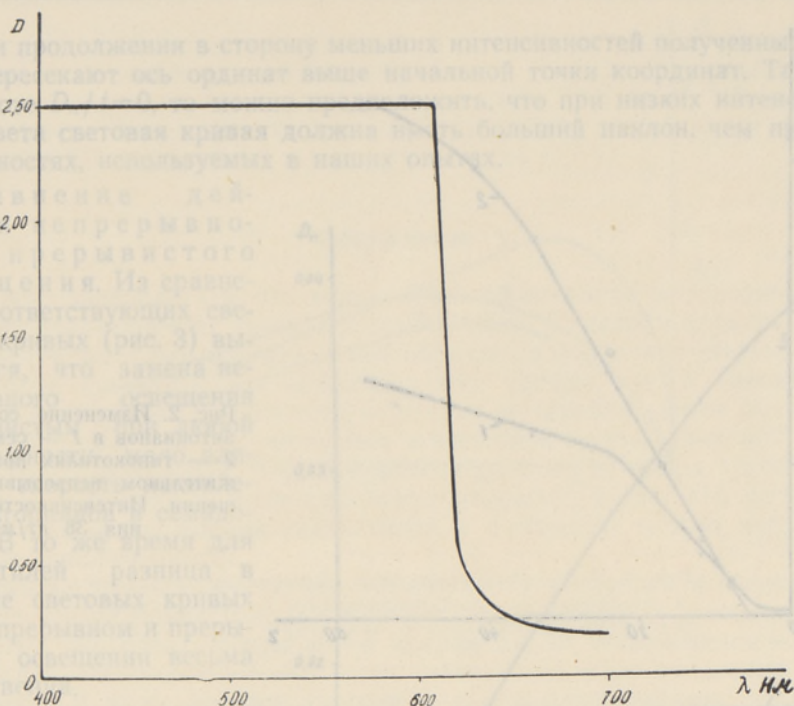


Рис. 1. Спектр поглощения красного фильтра.

Антоцианы определялись спектрофотометрически в солянокислой спиртовой вытяжке. Количество их выражалось через оптическую плотность 20-миллиметрового слоя вытяжки при длине волны 535 нм, деленную на число экстрагированных семядолей, и обозначено в тексте через  $D_n$ . Подробно методика эксперимента описана ранее (Тоhver, Воскресенская, 1969).

### Результаты опытов

Накопление антоцианов на свету и световая кривая накопления. Семядоли этиолированных проростков содержат некоторое количество антоцианов, которое в темноте с течением времени существенно не изменяется. Освещение вызывает новообразование этих пигментов, которое начинается примерно после 3-часовой лаг-фазы, продолжается около 24 ч с постоянной скоростью, а затем, при дальнейшей экспозиции, несколько замедляется (рис. 2). В дальнейшем под скоростью накопления подразумевается скорость на начальном линейном участке накопления (до 24-часовой световой обработки).

На рис. 3 приведены световые кривые скорости накопления антоцианов, а также соответствующие световые кривые для гипокотилей. Значения скоростей накопления антоцианов  $D_n/t$ , т. е. наклоны кривых накопления, найдены из опытных данных методом наименьших квадратов. Повидимому, все световые кривые при интенсивностях освещения от 5 до 60  $вт/м^2$  можно считать прямыми линиями. Статистический анализ показывает, что наклоны кривых для семядолей существенно (с вероятностью 90%) отличаются от нуля. Световые кривые для семядолей, получаемые при непрерывном и прерывистом освещении, несколько различаются, но, как показывает статистический анализ, это различие несущественно.

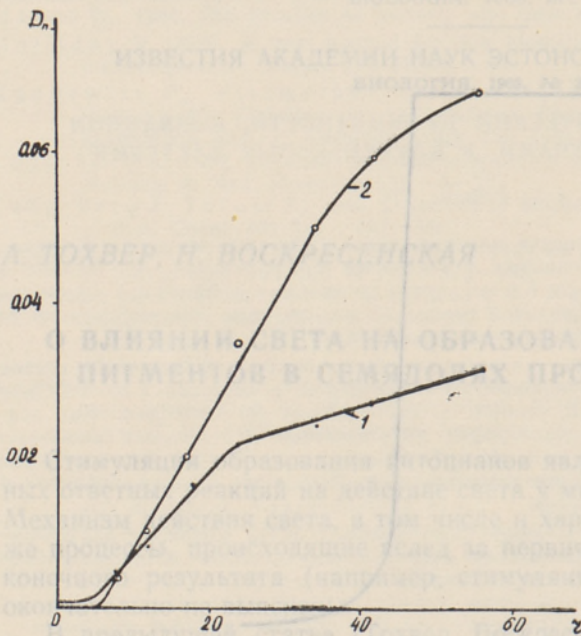


Рис. 2. Изменение содержания антоцианов в 1 — семядолях и 2 — гипокотылях при продолжительном непрерывном освещении. Интенсивность освещения 38  $\text{вт}/\text{м}^2$ .

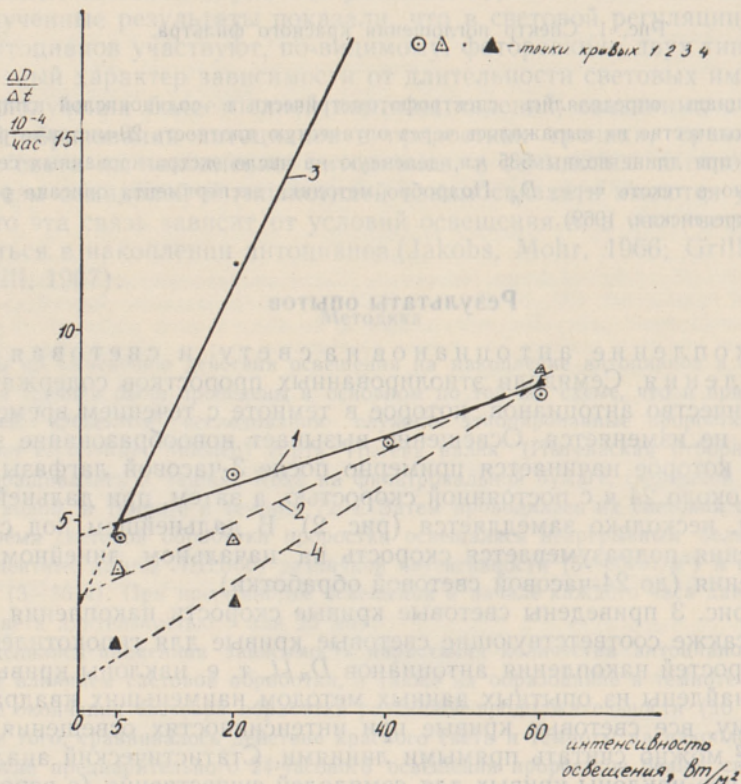


Рис. 3. Световые кривые накопления антоцианов в семядолях при 1 — непрерывном и 2 — прерывистом освещении и в гипокотылях при 3 — непрерывном и 4 прерывистом освещении. Прерывистое освещение: один световой импульс длительностью 5 мин/ч.

При продолжении в сторону меньших интенсивностей полученные прямые пересекают ось ординат выше начальной точки координат. Так как в темноте  $D_n/t=0$ , то можно предположить, что при низких интенсивностях света световая кривая должна иметь больший наклон, чем при интенсивностях, используемых в наших опытах.

Сравнение действия непрерывного и прерывистого освещения. Из сравнения соответствующих световых кривых (рис. 3) выясняется, что замена непрерывного освещения прерывистым при любой интенсивности мало влияет на скорость накопления антоцианов в семядолях. В то же время для гипокотилей разница в наклоне световых кривых при непрерывном и прерывистом освещении весьма существенна.

На рис. 4 приведена зависимость накопления антоцианов от длительности импульсов в течение 24-часовой световой обработки. Выяснилось, что уже 5-минутные импульсы являются насыщающими для скорости образования антоцианов у семядолей. Поэтому увеличение длительности импульсов до 20 мин или постоянное освещение не имеют преимущества по сравнению с 5-минутными импульсами. Подобная картина наблюдается и при разных интенсивностях освещения (см. рис. 4). В то же время уве-

личение интенсивности освещения повышает уровень плато соответственно световой кривой (см. рис. 3). Для гипокотилей же увеличение длительности импульсов резко активизирует образование антоцианов (рис. 4, 3).

Образование антоцианов в темноте в зависимости от предшествующего освещения. Накопление антоцианов в проростках продолжается и после окончания освещения. Это темновое накопление зависит от продолжительности и интенсивности предшествующего освещения (рис. 5). Как для гипокотилей, так и для семядолей существует оптимальная продолжительность освещения, при которой в темноте об-

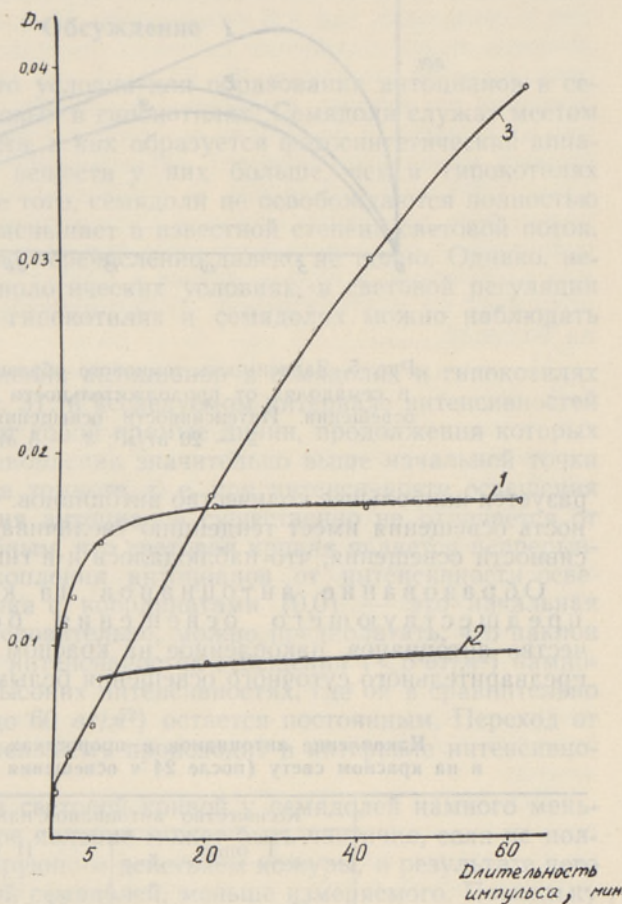


Рис. 4. Накопление антоцианов в зависимости от длительности световых импульсов. Общая световая обработка 24 ч: 1 — семядоли, интенсивность освещения 43  $вт/м^2$ ; 2 — семядоли, 5  $вт/м^2$ ; 3 — гипокотили, 43  $вт/м^2$ .

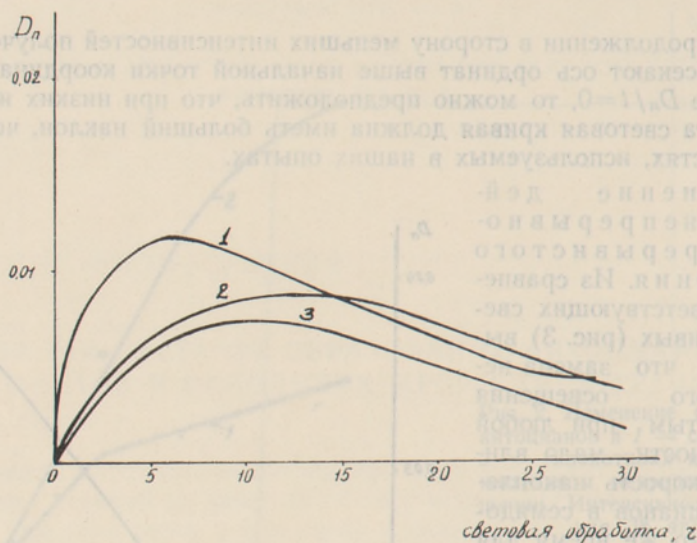


Рис. 5. Зависимость темнового образования антоцианов в семьядолях от продолжительности предшествующего освещения. Интенсивности освещения: 1 — 60 вт/м<sup>2</sup>; 2 — 20 вт/м<sup>2</sup>; 3 — 5 вт/м<sup>2</sup>.

разуется наибольшее количество антоцианов. Оптимальная продолжительность освещения имеет тенденцию увеличиваться при уменьшении интенсивности освещения, что наблюдалось и в гипокотылях.

Образование антоцианов на красном свете после предшествующего освещения белым светом. Количество антоцианов, накопленное на красном свете в течение 24 ч после предварительного суточного освещения белым светом, существенно не от-

**Накопление антоцианов в проростках гречихи в темноте и на красном свете (после 24 ч освещения белым светом 38 вт/м<sup>2</sup>)**

Порядок световой обработки	Количество антоцианов, накопленное в течение обработки					
	I опыт		II опыт		III опыт	
	Интенсивность красного света 1,3 вт/м <sup>2</sup>		Интенсивность красного света 6,7 вт/м <sup>2</sup>		Прерывистое освещение 1 имп длительностью 1 мин/ч (6,7 вт/м <sup>2</sup> )	
	Семьядоли	Гипокотили	Семьядоли	Гипокотили	Семьядоли	Гипокотили
Начальный контроль: 24 ч белого света	0,0168	0,0314	0,0187	0,0380	0,0228	0,0333
24 ч белого света + 24 ч темноты	0,0221	0,0397	0,0269	0,0415	0,0242	0,0402
24 ч белого света + 24 ч обработки красным светом	0,0214	0,0401	0,0268	0,0397	0,0249	0,0400
Конечный контроль: 48 ч белого света	0,0285	0,0607	0,0304	0,0660	0,0325	0,0624

личается от количества, накопленного в темноте за тот же промежуток времени после такой же световой обработки (табл.) На результат не влияет изменение интенсивности красного света ( $1,3 \text{ вт/м}^2$ ,  $6,5 \text{ вт/м}^2$ ), а также замена непрерывного красного освещения прерывистым (1 мин освещения, 59 мин темноты и т. д. в течение 24 ч).

### Обсуждение

Можно предполагать, что условия для образования антоцианов в семядолях отличаются от таковых в гипокотилеях. Семядоли служат местом накопления запасных веществ, в них образуется фотосинтетический аппарат. Набор флавоноидных веществ у них больше, чем в гипокотилеях (Тохвер и др., 1967). Кроме того, семядоли не освобождаются полностью от семенной кожурь, что уменьшает в известной степени световой поток, достигающий семядолей. Это перечисление далеко не полно. Однако, несмотря на различия в физиологических условиях, в световой регуляции образования антоцианов в гипокотилеях и семядолях можно наблюдать сходные закономерности.

Световые кривые накопления антоцианов в семядолях и гипокотилеях в общих чертах схожи (рис. 3): в исследуемом интервале интенсивностей освещения они представляют собой прямые линии, продолжения которых пересекают ось скорости накопления значительно выше начальной точки координат. В то же время в темноте, т. е. при интенсивности освещения  $0 \text{ вт/м}^2$ , скорость накопления антоцианов существенно не отличается от нуля. Кажется правдоподобным, что световая кривая является непрерывной функцией скорости накопления антоцианов от интенсивности освещения. Согласно этому, точка с координатами  $(0,0)$  — это начальная точка световой кривой. Следовательно, можно предполагать, что наклон световой кривой при низких интенсивностях освещения ( $< 5 \text{ вт/м}^2$ ) намного больше, чем при более высоких интенсивностях, где он в сравнительно широком интервале (от 5 до  $60 \text{ вт/м}^2$ ) остается постоянным. Переход от большего угла наклона к меньшему происходит в интервале интенсивности от 0 до  $5 \text{ вт/м}^2$ .

Наклон прямого участка световой кривой у семядолей намного меньше, чем у гипокотилей. Такое явление может быть частично, если не полностью, обусловлено экранирующим действием кожурь, в результате чего световой поток, достигающий семядолей, меньше измеряемого. Поскольку на ось абсциссы нанесены измеряемые интенсивности освещения, наклон световой кривой получается меньше действительного. Однако экранирование все же не должно изменять общего характера кривой, т. е. наличия большего наклона при низких и меньшего — при высоких интенсивностях. Такая форма световой кривой, по-видимому, свидетельствует о сложности процессов фоторегуляции образования антоцианов. Действие света проявляется в том, что он снимает блокировку образования антоцианов. При этом светочувствительный фактор, который, вероятно, связан с деблокировкой, быстро насыщается. Но, по-видимому, имеются еще и другие возможности световой регуляции процессов, связанных с накоплением антоцианов, так как дальнейшее увеличение интенсивности освещения (даже до  $60 \text{ вт/м}^2$ ) все же повышает скорость их накопления, при этом в различной степени для семядолей и гипокотилей (рис. 3). Насыщение одного фактора не препятствует проявлению другого.

И действительно, результаты нашего опыта получены при таких интенсивностях освещения, где первый светочувствительный фактор (фото-реакция) насыщен. Однако и в этой области данные эксперимента указы-

вают на сложность процессов, связанных с фоторегуляцией накопления антоцианов (рис. 3 и 4).

Оказывается, что кроме энергии света, получаемой растениями, имеет значение также сам характер освещения (непрерывный или прерывистый). Если энергию света увеличивать путем повышения интенсивности освещения, то скорость образования антоцианов возрастет как в семядолях, так и в гипокотылях. Если же энергию освещения увеличивать путем удлинения световых импульсов, то в широкой области длительностей импульсов (5—60 мин), где суммарная энергия света, получаемая растениями, изменяется более чем в 10 раз, скорость образования антоцианов в семядолях остается постоянной. В гипокотылях такого полного насыщения скорости образования антоцианов по отношению к длине импульсов освещения не наблюдается. Поэтому световые кривые, полученные при непрерывном и прерывистом освещении, для семядолей существенно не различаются, несмотря на то что энергия света, получаемая растениями, в первом случае в 12 раз больше, чем во втором. У гипокотилей же разница между соответствующими световыми кривыми была большой.

На основании полученных экспериментальных результатов трудно сказать, почему увеличение длительности световых импульсов и интенсивности освещения влияет на скорость накопления антоцианов по-разному в гипокотылях и семядолях. Недостаточно ясна также причина неэквивалентности увеличения световой энергии, получаемой растениями путем удлинения импульсов, увеличению таковой путем повышения интенсивности освещения. Вероятных причин, лежащих в основе такого явления, может быть несколько. Свет может оказывать влияние на скорость оттока веществ из семядолей в гипокотиль (Grill, Vince, 1964; Grill, 1967) и на другие биосинтезы в семядолях, конкурирующие с образованием антоцианов. Кроме того, свет может влиять на активность определенных ферментов, участвующих в биосинтезе антоцианов (Scherf, Zenk, 1967). Определенное значение имеют, вероятно, и развивающийся на свету фотосинтетический аппарат, и экранирующее действие фотосинтетических пигментов.

Как видно из рис. 5, существует оптимальная продолжительность предшествующего освещения, при которой в темноте в семядолях образуется наибольшее количество антоцианов. При дальнейшем увеличении продолжительности освещения темновое образование антоцианов уменьшается. Эта оптимальная продолжительность освещения имеет тенденцию увеличиваться при уменьшении интенсивности освещения. Подобное явление наблюдалось и у гипокотилей (Тохвер, Воскресенская, 1969) и объясняли это тем, что при длительном освещении уровень активного фитохрома  $\Phi_{730}$  снижается вследствие его фоторазложения (Butler и др., 1963). В то же время он достаточен для того, чтобы накопление антоцианов на свету продолжалось даже при освещении проростков более 50 ч. Однако при выключении света это небольшое количество оставшегося в активной форме  $\Phi_{730}$  фитохрома может перейти в неактивную форму  $\Phi_{660}$  (Butler и др., 1959). Поэтому, следуя идее Е. Вагнера и Х. Мора (1966), можно предполагать, что в темноте после длительного освещения дефицит  $\Phi_{730}$  ограничивает образование антоцианов.

Если приведенное рассуждение правильно, то после длительного освещения белым светом, продолжительность которого больше оптимального, на красном свету должно образоваться больше антоцианов, чем в темноте, так как красный свет наиболее эффективен для перехода  $\Phi_{660}$  в  $\Phi_{730}$ . Результаты дополнительно проведенного опыта, однако, показали, что на

красном свете образуется столько же антоцианов, сколько и в темноте. Это заставляет с осторожностью относиться к предположению о том, что для образования антоцианов в темноте лимитирующим является  $\Phi_{730}$ . Полученные данные показывают, что иные фотореакции, не вызываемые активной формой фитохрома  $\Phi_{730}$ , ограничивают образование антоцианов на свету. Поэтому полезную информацию о процессах фоторегуляции образования антоцианов, очевидно, может дать дальнейшее изучение влияния качества света на этот процесс.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Тохвер А. К., Воскресенская Н. П., 1969. Зависимость образования антоциановых пигментов в hypocotylax гречихи от режима освещения. Физиол. растений. (В печати).
- Тохвер М., Халлоп Л., Маргна Э., Маргна У., 1967. Хроматографическая и спектрофотометрическая характеристика флавоноидов проростков гречихи. Изв. АН ЭССР, Биология **16**: 136—148.
- Jakobs M., Mohr H., 1966. Kinetische Studien zur phytochrominduzierten Proteinsynthese. Planta (Berl.) **69**: 1—12.
- Butler W. L., Lane H. C., Siegelman H. W., 1963. Nonphotochemical Transformation of Phytochrome in Vivo. Plant Physiol. **38**: 514—519.
- Butler W. L., Norris K. M., Siegelman H. W., 1959. Detection Assay and Preliminary Purification of Pigment Controlling Photoresponsive Development of Plants. Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.) **45**: 1703—1708.
- Scherf H., Zenk M. H., 1967. Der Einfluß des Lichtes auf die Flavonoidsynthese und die Enzyminduktion bei *Fagopyrum Esculentum* Moench. Z. Pflanzenphysiol. **57**: 401—418.
- Grill R., 1967. Photocontrol of Anthocyanin Synthesis in Turnip Seedling. IV. The Effect of Feeding Precursors. Planta (Berl.) **76**: 11—24.
- Grill R., Vince D., 1964. Anthocyanin Formation in Turnip Seedlings (*Brassica rapa* L.). Evidence for Two Light Steps in the Biosynthetic Pathway. Planta (Berl.) **63**: 1—12.
- Wagner E., Mohr H., 1966. Kinetic Studies to Interpret "High-energy Phenomena" of Photomorphogenesis on the Basis of Phytochrome. Photochem. Photobiol. **5**: 397—406.

Институт экспериментальной биологии  
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию  
13/XI 1968

A. TOHVER, N. VOSKRESSENSKAJA

#### VALGUSE MÕJUST ANTOTSÜAANPIGMENTIDE MOODUSTUMISELE TATRAIDANDITE IDULEHTEDES

##### Resüme

Uuriti antotsüaanpigmentide akumulatsiooni tatraidandite idulehtedes intensiivsusest mitmesuguse ( $5-60 \text{ W/m}^2$ ) valge valgusega pideval ja katkendlikul (üks valguse impulss kestusega 5 või 20 min. tunnis) valgustamisel, samuti pimeduses pärast valgustamist. Tulemusi võrreldi tatraidandite hüpokotüülide kohta saadud vastavate andmetega.

Leiti, et pideval valgustamisel saadud antotsüaanpigmentide akumulatsiooni kõver langeb praktiliselt kokku katkendlikul (5-min. impulsid) valgustamisel saadud kõveraga. Kasutatud valguse intensiivsuste vahemikus on valguskõver sirgloik, mille pikendus lõikab ordinaattelge koordinaatide alguspunkti tunduvalt kõrgemal. Pimeduses aga on antotsüaanpigmentide akumulatsiooni kiirus praktiliselt 0. Sellest järeldub, et nullile lähedaste valguse intensiivsuste puhul ( $<5 \text{ W/m}^2$ ) tõuseb kõver tunduvalt järsumalt kui valguse suuremate intensiivsuste ( $5-60 \text{ W/m}^2$ ) puhul.

Katkendlikul valgustamisel kiirenes antotsüaanpigmentide akumulatsioon impulsside pikenedes kuni ca 5 minutini. Impulsside pikendamine kuni pideva valgustamiseni antotsüaanpigmentide akumulatsiooni oluliselt ei suurendanud. Hüpokotüüldes taolist küllastusnähtust ei esinenud.



Pärast valgustamist jätkub antotsüaanpigmentide akumulatsioon ka pimeduses. Selgus, et pimeduslik akumulatsioon sõltub eelneva valgustamise kestusest: suureneb valgustusaja kasvades, saavutab teatud optimaalse valgustusaja juures maksimaalse väärtuse ning kahaneb valgustusaja edasisel pikendamisel. Optimaalne valgustusaeg sõltub valguse intensiivsusest, pikenedes intensiivsuse vähendamisel.

Saadud tulemuste alusel oletatakse, et valguse toime antotsüaanpigmentide akumulatsioonile avaldub komplitseeritud regulatsioonimehhanismi kaudu, millega on seotud nähtavasti rohkem kui üks valgustundlik lüli. Pimeduslikku antotsüaanpigmentide moodustumist piirab eelneva valgustamise kestusest ja intensiivsusest sõltuv tegur, millele nähtavasti ei avalda mõju pimeduse asendamine punase valgusega. Seepärast näib vähe- toenäoline, et selleks piiravaks teguriks võiks olla fütokroom, ainus seni identifitseeritud regulatoorne pigment taimedes.

*Eesti NSV Teaduste Akadeemia  
Eksperimentaalbioloogia Instituut*

Saabus toimetusse  
13. XI 1968

A. TOHVER, N. VOSKRESENSKAYA

### ON THE INFLUENCE OF LIGHT ON ANTHOCYANIN FORMATION IN BUCKWHEAT COTYLEDONS

#### Summary

The results of the study of light stimulated anthocyanin accumulation in buckwheat cotyledons are reported. The etiolated seedlings were irradiated with continuous or interrupted (one light pulse per hour) white light of various intensities ( $5-60 \text{ W/m}^2$ ) from fluorescent tubes. The rate of the anthocyanin accumulation during the light treatment and the formation of this pigment in darkness, after illumination, were determined. The experimental results obtained are compared with corresponding results for buckwheat hypocotyls, reported earlier.

It was found that the light curves of anthocyanin accumulation in buckwheat cotyledons do not differ essentially in the case of continuous and interrupted (5 min pulses) light. Within the range of light intensities from 5 to  $60 \text{ W/m}^2$  the curve represents a straight line, the lengthening of which crosses the vertical axis above the origin. On the other hand, there is no significant anthocyanin accumulation in darkness. From these facts it was concluded that at low light intensities ( $<5 \text{ W/m}^2$ ) the light curve has a greater slope than that within the range of  $5-60 \text{ W/m}^2$ .

The prolongation of light pulses from 0.5 to 5 min results in an increase of the pigment accumulation rate, but a further prolongation of light pulses up to continuous illumination has no effect on the anthocyanin accumulation.

The amount of anthocyanin accumulated in darkness depends on the duration and intensity of illumination. There is an optimum duration of illumination that results in maximum dark accumulation. The prolongation of illumination exceeding this optimum value results in a decrease of the accumulation of the pigment in darkness. A substitution of darkness with red light illumination does not increase the anthocyanin accumulation.

On the basis of the results obtained it is concluded that the regulatory effect of light upon the anthocyanin formation in buckwheat seedlings is a complicated process which involves probably more light sensitive factors than one. It does not seem to be likely that the light sensitive factor limiting the accumulation of anthocyanin in darkness is phytochrome.

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

Received  
Nov. 13, 1968