

<https://doi.org/10.3176/biol.1969.4.09>

У. МАРГНА, М. ОТТЕР

### ВЛИЯНИЕ АТФ И НЕОРГАНИЧЕСКИХ ФОСФАТОВ НА ОБРАЗОВАНИЕ АНТОЦИАНОВ В ПРОРОСТКАХ ГРЕЧИХИ

U. MARGNA, M. OTTER. ATF JA ANORGAANILISTE FOSFAATIDE MÕJU ANTOTSÜAANIDE MOODUSTUMISELE TATRAIDANDEIS

U. MARGNA, M. OTTER. THE INFLUENCE OF ATP AND INORGANIC PHOSPHATES ON THE FORMATION OF ANTHOCYANINS IN BUCKWHEAT SEEDLINGS

В ряде наших предыдущих работ показано, что в проростках гречихи между биосинтезом антоцианов и белковым обменом существуют тесные взаимосвязи типа конкуренции, которые при изменении условий выращивания имеют решающее значение в регуляции формирования пигментов (Маргна, Оттер, 1968; Margna, Otter, 1968). Предполагалось, что указанная конкуренция развивается в основном на энергетическом уровне, где лимитирующим фактором является количество доступной для протекания этих процессов свободной энергии в проростках (Маргна, Оттер, 1968).

Для проверки этой гипотезы были проведены эксперименты по изучению особенностей образования антоцианов в проростках гречихи при экзогенном введении в них АТФ и неорганического фосфора. Можно было предположить, что введением в проростки дополнительных количеств АТФ удастся устранить возможный ее недостаток в клетках и в случае, если количество богатых энергией соединений действительно имеет ограничивающее значение, то это должно было бы привести к некоторому увеличению образования антоцианов. Такой же эффект можно было ожидать и при обогащении тканей проростков ионами неорганического фосфора, ибо не исключалось, что постулируемый дефицит внутренней энергии обусловлен недостаточно интенсивным биосинтезом АТФ из-за ограниченного фонда фосфора в молодых проростках.

Эксперименты проводились с проростками гречихи (*Fagopyrum esculentum* Moench) сорта 'Йыгеваская отборная', выращенными по стандартной методике нашей лаборатории (Margna, Otter, 1968). Первые 72 ч прорастающие семена выдерживались в темноте, затем в течение 10 ч проростки экспонировались на свету (люминесцентные лампы ЛДЦ-30, интенсивность освещения  $28\ 100 \text{ эрг} \cdot \text{см}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$ ), после чего снова переносились в темноту. Пробы для анализа брались через 24 ч после начала освещения. Содержание антоцианов определялось фотокolorиметрически по методике, описанной ранее (Margna, Otter, 1968).

Испытуемые соединения вводились в проростки в водных растворах; АТФ (препарат динатриевой соли АТФ фирмы «Рэанал», Венгрия) в концентрации  $10^{-6}$ — $10^{-2}$ М, соли фосфора ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ,

$K_2HPO_4$  и  $KH_2PO_4$ ) —  $10^{-2}$ — $5 \cdot 10^{-2}M$ . Использовались три способа введения: а) проростки выращивались непосредственно на растворах соответствующих соединений; б) семена проращивались на воде и действующие растворы вводили в среду выращивания проростков только перед освещением; в) отделенные гипокотили трехдневных этиолированных проростков намачивались в течение 30 мин в действующих растворах (на свету), а затем для прохождения остальной части экспериментального периода (9,5 ч освещения + 14 ч темноты) были положены на фильтровальную бумагу, смоченную теми же растворами. В контрольных экспериментах проростки выращивались на дистиллированной воде или (в экспериментах с намачиванием) были обработаны водой.

Результаты показали, что в проростках гречихи стимулирующее действие АТФ обнаруживается в незначительной степени.

При выращивании проростков на растворах АТФ или введении ее в интактные проростки фактически никакого эффекта не наблюдалось, а наивысшая из примененных в работе концентраций ( $10^{-2}M$ ) оказала даже угнетающее влияние как на рост и развитие проростков, так и на образование в них антоцианов.

Таблица 1

**Влияние АТФ ( $10^{-3}M$ ) на накопление антоцианов в гипокотилиях проростков гречихи**  
(средние данные 5 повторных опытов по 5 параллелей в каждом)

Вариант опыта	Содержание антоцианов, усл. ед./1 проросток		Эффект АТФ, %
	Контроль	АТФ	
АТФ ( $10^{-3}M$ )* введена в проростки перед освещением:			
интактные проростки	19,2	19,3	+0,5
декаптитированные проростки (семядоли удалены перед введением АТФ)	13,4	14,2	+6,0**
Отделенные гипокотили намочены в растворе АТФ ( $10^{-3}M$ )	7,7	9,1	+18,2***

\* Из-за наличия воды в среде выращивания проростков окончательная концентрация АТФ примерно вдвое меньше указанной.

\*\* Статистически значимая тенденция ( $P < 0,05$ ; установлена с помощью критерия знаков).

\*\*\* Статистически значимый эффект ( $P < 0,05$ ; установлен с помощью *t*-теста).

Сравнительно слабым оказалось действие АТФ и при других способах введения ее в ткани проростков — только при концентрации  $10^{-3}M$  можно было говорить о более или менее явном стимулирующем эффекте. При этом выяснилось, что действие АТФ в значительной мере зависит от степени целостности проростков. При введении ее в интактные организмы стимуляция никогда не наблюдалась, в проростках с удаленными семядолями она проявлялась в виде весьма четкой тенденции, а в изолированных гипокотилиях стимулирующий эффект АТФ был уже совершенно явным и достигал статистически значимого уровня (табл. 1).

Действие изученных в работе неорганических солей фосфора было еще незначительнее. В пределах физиологических концентраций ни одна из них не оказала почти никакого влияния на образование антоцианов ни при выращивании проростков на действующих растворах, ни при других способах обработки растительного материала. Некоторая стимуляция накопления антоцианов в гипокотылях наблюдалась лишь при использовании  $K_2HPO_4$  и  $Na_2HPO_4$  при введении их в среду выращивания проростков перед освещением, а в случае  $Na_2HPO_4$  и это имело место только в экспериментах с декапитированными проростками. В обоих случаях стимуляция оказалась, однако, недостаточно высокой для значимого эффекта и не вышла за рамки более или менее постоянной тенденции (табл. 2).

Таблица 2

**Влияние  $Na_2HPO_4$  и  $K_2HPO_4$  на накопление антоцианов в гипокотылях проростков гречихи**  
(средние данные 4 повторных опытов по 5 параллелей в каждом, в скобках эффект действующих веществ в процентах от контроля)

Вариант опыта	Содержание антоцианов, усл. ед./1 проросток		
	Контроль	Фосфат*	Фосфат + сахара 2%*
$Na_2HPO_4$ , 0,05 М интактные проростки	16,3	16,3	16,0
$Na_2HPO_4$ , 0,01 М интактные проростки	18,0	18,4	18,2
декапитированные проростки	10,5	11,3 (+7,6)**	11,9 (+11,3)***
$K_2HPO_4$ , 0,05 М интактные проростки	16,2	17,2 (+6,2)**	18,0 (+11,1)***

\* Действующие вещества введены в проростки перед освещением; из-за наличия воды в среде выращивания проростков их окончательная концентрация примерно вдвое меньше указанной.

\*\* , \*\*\* См. в табл. 1.

Совсем иная картина наблюдалась при введении в проростки тех же двух солей фосфора в комбинации с сахарозой. Наличие сахара в среде явно усиливало эффект фосфатов, что в конечном итоге приводило к весьма заметному увеличению количества антоцианов в гипокотылях (табл. 2). Эти результаты заслуживают серьезного внимания, тем более что сахара в проростках гречихи, как установлено раньше (Маргна, Оттер, 1968; Margna, Otter, 1968; Margna и др., 1969), являются в основном ингибиторами образования антоцианов и также значительно снижают стимулирующий эффект фенилаланина (неопубликованные результаты нашей лаборатории).

Полученные данные не позволяют дать четкого ответа на интересующий нас вопрос об ограничивающем значении энергетических факторов в проявлении конкуренции между биосинтезом антоцианов и процессами белкового обмена. Прямой стимулирующий эффект АТФ на накопление пигментов оказался весьма скромным и проявился по существу только при изолировании гипокотилей от семядолей как источника энергии, т. е.

в условиях энергетического голодания. С этой точки зрения почти безрезультатной осталась также попытка вызвать стимуляцию пигментобразования путем введения в проростки дополнительных количеств фосфатных ионов.

Однако результаты ясно показывают, что энергетический обмен вместе со связанными с ним процессами играет важную роль в биосинтезе антоцианов. Установленное в работе взаимодействие неорганических фосфатов и сахарозы в стимуляции накопления пигментов несомненно свидетельствует о тесных связях между образованием антоцианов и фосфорным обменом и указывает на то, что процессы фосфорилирования могут составлять одно из звеньев регулирующей системы, которая контролирует накопление пигментов в растительном организме. Вполне возможно, что именно с этими процессами как-то связано и необычное ингибирующее влияние сахаров на образование антоцианов в проростках гречихи.

#### ЛИТЕРАТУРА

- 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, Биология 17 : 3—14.
- 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 Toimetised, Bioloogia 17 : 147—153.
- Margna U., Vainjärv T., Margna E., 1969. An unusual effect of sugar feeding on anthocyanin biosynthesis. Naturwissenschaften (в печати).

Институт экспериментальной биологии  
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию  
9/VI 1969