ACTA SOCIETATIS
BOTANICORUM POLONIAE
Vol. XXIV — Nr 1
1955

Wpływ światła na syntezę rubrobrassycyny w kiełkujących roślinach czerwonej kapusty

The influnce of light on the biogenesis of rubrobrassicin in seedlings of red cabbage

A. SŁABĘCKA-SZWEYKOWSKA

WSTĘP

Istnieje olbrzymia ilość faktów, znanych z literatury i obserwacji, dotyczących wpływu światła na biogenezę barwników antocyjanowych. Istnieją rośliny, jak kiełkująca gryka (Linsbauer, 1908), u których światło jest niezbędnym czynnikiem biogenezy antocyjaniny i u których proces ten ma z pewnością charakter częściowo fotochemiczny. Z drugiej strony istnieją rośliny i tkanki zdolne do syntezy pewnych ilości antocyjanin w ciemności — nie wiadomo jednak, czy jest to zdolność bezwzględna, czy też polega ona jedynie na chemicznym wykorzystaniu pewnych związków niezbędnych do wytworzenia barwnika, obecnych wśród substancji zapasowych lub też doprowadzonych z innych organów, a wytworzonych poprzednio przy udziale światła. Bowiem we wszystkich tego rodzaju przypadkach światło jest co najmniej silnie stymulującym czynnikiem syntezy barwnika antocyjanowego. Podobne zjawiska znane są dobrze z terenu biogenezy innych barwników roślinnych. Istnieją rośliny (na przykład kiełkujące *Coniferae*, mszaki i glony w pewnych warunkach) zdolne do tworzenia chlorofilu w ciemności, choć dla większości roślin światło jest niezbędne do wytworzenia tego barwnika. Podobnie dla grzybka *Neurospora sitophila* światło jest niezbędnym czynnikiem syntezy karotenoidów, podczas gdy dla *Neurospora crassa* jest ono jedynie czynnikiem wzmagającym tę syntezę.

Duży materiał faktyczny świadczący o udziale światła w biogenezie antocyjanin (cytuję tylko literaturę lat ostatnich: Karstens, 1939, Floren, 1941, Thimann i Edmondson, 1949, Eddy i Mapson, 1951, Słabęcka-Szweykowska, 1952, Withrow, 1953, Eberhardt, 1954) — przy czym w wielu doświadczeniach wyeliminowany został proces fotosyntezy, mogący komplikować wyniki — jest

przyczyną ustalonego już poglądu, że w proces syntezy antocyjanin wprzągnięta jest pewna reakcja fotochemiczna.

Wyniki nielicznych badań czy obserwacji nad wpływem długości fali światła na biogenezę antocyjanin można podzielić na dwie grupy: takie, które wskazują na decydującą rolę światła krótkofalowego (nadfiołkowego, niebieskiego, częściowo również zielonego), i takie, które tę rolę każą przypisywać światłu o większej długości fali (czerwonemu). Wyniki pierwszej grupy otrzymano dla jabłek (Arthur, 1932), tkanki winorośli hodowanej *in vitro* (Słabęcka - Szweykowska, 1952), kiełkujących roślin gryki (Linsbauer, 1908). Drugi rodzaj reakcji wykazały kiełkujące rośliny fasoli i młode rośliny kukurydzy (Withrow i in., 1953), *Perilla nankinensis* (Jermołajewa, 1953).

Niniejsza praca ma na celu dostarczenie nowego materiału do szczupłej ilości danych eksperymentalnych, jakie posiadamy na temat znaczenia światła dla syntezy barwników antocyjanowych. Analizę wpływu światła na tworzenie antocyjaniny przeprowadzono na kiełkujących roślinach czerwonej kapusty, która stopniowo staje się jakby klasycznym obiektem do badań nad biogenezą antocyjanowych barwników. Materiał ten odznacza się wyjątkowo silną zdolnością do syntezy antocyjaniny w ciemności, lecz jak wykazały wstępne próby, światło wyraźnie wzmaga w nich ten proces.

W pracy chodziło o rozwiązanie następujących zagadnień:

1. Zależność natężenia syntezy rubrobrassycyny w badanym materiale od światła.
2. Wpływ światła na stężenie cukrowców rozpuszczalnych w roślinach.
3. Wpływ długości fali światła na syntezę rubrobrassycyny.
4. Porównanie otrzymanych danych z widmami absorpcji wyciągów wodnych i alkoholowych z roślin.

MATERIAŁ

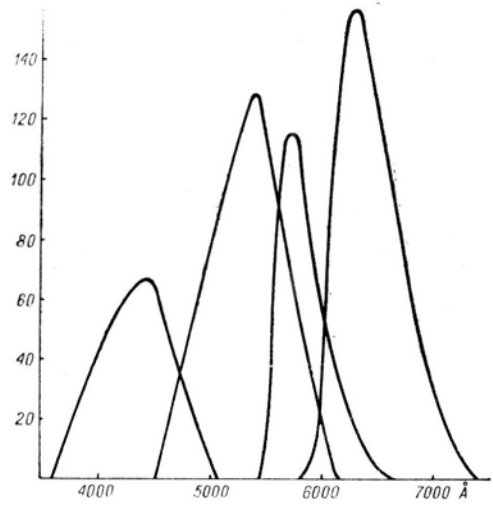
Do doświadczeń wybrano nasiona *Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra* o najlepszej sile kiełkowania około 95%. Dla uzyskania możliwie jednolitego materiału nasiona selekcjonowano i do każdej serii doświadczeń używano nasion jednakowej wielkości. Nasiona wysiewano po 50 sztuk do szalek Petriego średn. 10 cm na 1% agar bez dodatku jakichkolwiek substancji odżywczych. Kiełkowanie następowało w czasie 48 lub 64 godz. w zupełnej ciemności w temp. 25°C w termostacie. Przed doświadczeniem usuwano z szalek nasiona, które nie wykiełkowały, oraz roślinki, których wielkość odbiegała od średniej.

METODY

1. Światło. Jako źródła światła do naświetlania roślin używano albo lampy atermicznej Höpplera, albo żarówki 500 W Polam w kombinacji z różnymi filtrami. Dla wyodrębnienia światła monochromatycznego używano następujących filtrów szklanych (grubości 2 mm, pow. 16 cm^2) oraz dodatkowych filtrów z wody lub roztworów $CuSO_4$, w warstwie grubości 2 cm:

Schott BG_{12} + H_2O
,, VG_9 + H_2O
,, OG_2 + 10% $CuSO_4$
,, RG_1 + 3% $CuSO_4$

Filtry wodne oraz z $CuSO_4$ służyły do wyeliminowania podczerwieni lub czerwieni przy filtrze pomarańczowym OG_2 (Bachmann, 1929). Skład spektralny światła żarówek, przepuszczonego przez poszczególne filtry, ilustrują wykresy (ryc. 1) wykonane na podstawie krzywych przepuszczalności filtrów oraz krzywej rozkładu energii dla 500 W żarówek (Moszkow, 1953).



Ryc. 1. Skład spektralny światła użytego do doświadczeń. Rzędne: względna intensywność światła
Spectral composition of the light used. Ordinate: relative light intensity

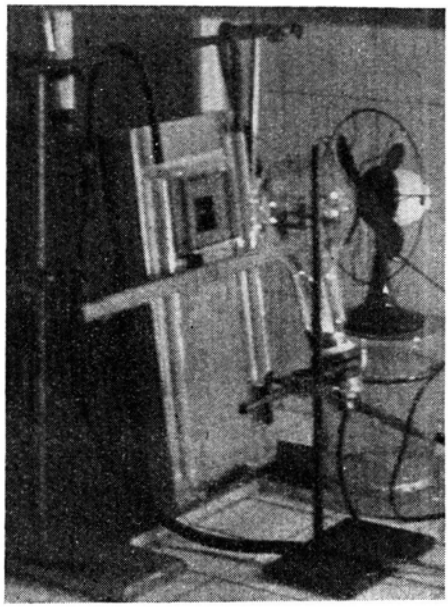
Ilość energii, jaką otrzymywały rośliny w każdej serii doświadczeń, była taka sama. Pomiar względnej ilości energii świetlnej wykonywano za pomocą fotoelementu S60 Langego, zbadawszy przedtem jego czułość na rodzaj światła przepuszczany przez każdy poszczególny filtr, posługu-

jąc się metodą podobną do zastosowanej przez I. Baatz (1941). W tym celu zmierzono najpierw względne ilości energii świetlnej, wysyłanej przez użytą do doświadczeń lampę 500 W Polam i przepuszczanej przez poszczególne filtry. Pomiary wykonano za pomocą termoelementu Zeissa i galwanometru Multiflex. Otrzymano w ten sposób względne intensywności światła (I) przepuszczanego przez poszczególne filtry. Następnie na miejsce termoelementu umieszczono fotoelement i oznaczono znów wychylenie galwanometru dla światła żarówki przepuszczonego przez poszczególne filtry. Wychylenie galwanometru (G) = czułość fotoelementu (F), x intensywność światła (I).

Względną czułość fotoelementu wyliczono wg wzoru:

$$\frac{F \text{ czerw.}}{F \text{ nieb.}} = \frac{G \text{ czerw.} \times I \text{ nieb.}}{G \text{ nieb.} \times I \text{ czerw.}}$$

przy czym czułość F fotoelementu najsłabszą dla światła czerwonego przyjęto jako równą 1. Opierając się na znanej względnej czułości fotoelementu dla każdego filtru, obliczono wychylenia, jakie powinien wykazywać galwanometr fotoelementu, by względne ilości energii po przejściu przez filtry były w każdym przypadku jednakowe. W celu osłabienia przepuszczalności niektórych filtrów przesłaniano je dodatkowo gazą rozpiętą na metalowej ramce.

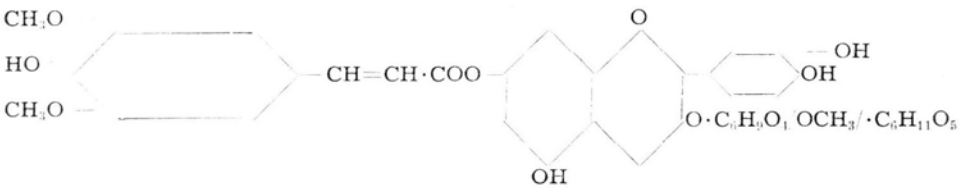


Ryc. 2. Komora do naświetlań
The irradiation chamber

Komora do naświetlań (ryc. 2) składała się z lekko skośnie ustawionego metalowego pudła, wyścielonego wilgotną bibułą, wewnątrz którego znajdowała się podstawka na szalki. Szalki z kiełkującymi roślinami ustawione były również w pozycji lekko odchylonej od pionu, szalka naświetlana w górnej części komory, szalka kontrolna w ciemności w dolnej części komory. Ruchoma przednia ściana komory zaopatrzona była w górnej części w otwór na filtry oraz w ułożoną na jej powierzchni szklaną chłodnicę z bieżącą wodą. Całość ochładzano jeszcze wiatraczkiem elektrycznym. Temperatura wewnątrz komory, stale kontrolowana, wynosiła 23—25°C. Roślinki naświetlano 2,5—10 godz., po czym znów umieszczano je w ter-

mostacie w ciemności. Rezultat badano po 24 godzinach, licząc od chwili rozpoczęcia naświetlania.

2. Antocyjanina. Według badań Chmielewskiej (1938, cyt. Frey - Wyssling i Blank, 1943) barwnik czerwonej kapusty — rubrobrassycyna — jest cyjaniną zawierającą 2 cząsteczki cukru (z tego 1 glukoza, drugi cukier dotychczas nie zidentyfikowany) i zestryfikowaną z kwasem 4-oksy-3,5-dwumetoksy-cynamonowym.



W roślinach kiełkujących barwnik występuje w liścieniach i głównie w hypokotylu, w korzonku nie ma go nigdy. Zlokalizowany jest jedynie w warstwie subepidermalnej, gdzie występuje w soku komórkowym w formie roztworu oraz w formie intensywnie czerwonych kulek.

Oznaczanie rubrobrassycyny wykonywano w sposób następujący: roślinki wyjmowano z agaru, odcinano korzeń, hypokotyl wraz z liścieniami cięto na fragmenty długości ± 1 cm i zalewano mieszaniną metanolu z n/10 HCl (w stos. 5:1). Po 3 — 4 dniach, gdy ekstrakcja była już zupełna, roztwór zlewano, odwirowywano i mierzono przepuszczalność światła przez roztwór w fotometrze Pulfricha przy filtrze nr 6 (maksimum przepuszczalności — 5330 Å).

Ilość rubrobrassycyny oznaczano w jednostkach względnych, przyjmując, że roztwór, który przy filtrze nr 6 i w warstwie grubości 1 cm wykazuje przepuszczalność światła = 6%, zawiera 100 jednostek rubrobrassycyny na 1 ml. Stwierdzono, że roztwory rubrobrassycyny tylko w bardzo wąskim przedziale stężeń stosują się do prawa Lamberta-Beera, tzn. że współczynnik ekstynkcji wyliczony z równania $e = \frac{E}{l.\ c.}$ tylko w małych zakresach stężeń zachowywał stałą wartość. Wobec tego ilość barwnika oznaczano według empirycznej krzywej, wykreślonej na podstawie pomiarów przepuszczalności światła przez roztwory rubrobrassycyny o różnych stężeniach od 1 — 100 jedn./ml, dla kilku grubości warstw (0,5, 1 i 2 cm). Wzorcowy roztwór rubrobrassycyny otrzymano przez ekstrakcję antocyjanowego barwnika z liści czerwonej kapusty, gdyż — jak wykazali Frey - Wyssling i Blank (1943) — barwniki antocyjanowe rozwiniętej czerwonej kapusty i kiełkujących nasion są identyczne. Poszczególne stężenia otrzymano przez kolejne rozcieńczenia roztworu wyjściowego, zawierającego 100 jedn./ml.

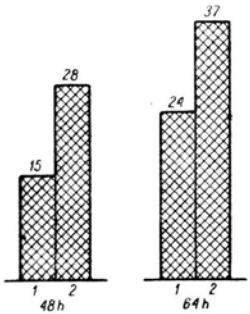
3. Cukry rozpuszczalne. Oznaczanie cukrowców rozpuszczalnych (redukujących i nieredukujących) wykonano za pomocą metody Hagedorna-Jensena, w modyfikacji opisanej przez Frey - Wysslinga i Blanka (1943). Do analizy używano każdorazowo 30 — 40 hypokotyli wraz z liścieniami. Każdy wynik stanowi średnią 4 równoległych powtórzeń.

4. Widma absorpcji wyciągów wodnych i alkoholowych. Wyciągi z roślin otrzymano w sposób następujący: hypokotyle wraz z liścieniami (bez rozdrabniania) wrzucono do wody lekko zakwaszonej (pH 5,5 = pH soku komórkowego badanych roślin) i gotowano przez kilka minut. Następnie te same rośliny po roztarciu w moździerzu zalewano etanolem i po 1/2 godz. filtrowano. Oba rodzaje wyciągów badano następnie w fotometrze Pulfricha.

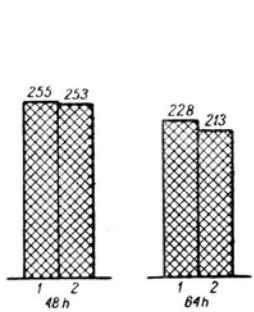
WPŁYW ŚWIATŁA NA SYNTEZĘ ANTOCYJANINY I NA ILOŚĆ CUKROWCÓW ROZPUSZCZALNYCH

Roślinki po czasie kiełkowania wynoszącym 48 godzin (bezbarwne) i po czasie 64 godzin (zawierające już antocyjaninę wyprodukowaną w ciemności) naświetlano przez 7,5 godz. lampą atermiczną Höpplera (40 W), umieszczoną w odległości 60 cm. Doświadczenie wykazało silne wzmożenie syntezy antocyjaniny na świetle, co ilustrują załączone wykresy (ryc. 3).

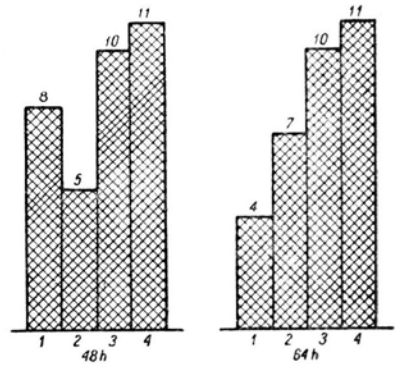
Faktem od dawna znanym i niezwykle częstym jest związek, jaki istnieje między syntezą antocyjanin a stężeniem cukrów w roślinie. Rów-



Ryc. 3. Synteza rubrobrassycyny (jedn. / rośl.): 1 — w ciemności, 2 — na świetle
Synthesis of rubrobrassicin (pigment units/seedling): 1 — in the dark, 2 — in the light



Ryc. 4. Ilość cukrowców rozpuszczalnych mg/rośl.): 1 — w ciemności, 2 — na świetle
Soluble sugars (mg/seedling): 1 — in the dark, 2 — in the light



Ryc. 5. Synteza rubrobrassycyny (jedn./rośl.) na świetle: 1 — fiołkowoniebieskim, 2 — zielonym, 3 — pomarańczowym, 4 — czerwonym
Synthesis of rubrobrassicin in the light (pigment units/seedling): 1 — violet-blue, 2 — green, 3 — orange, 4 — red light

nież dla kiełkującej czerwonej kapusty Frey-Wyssling i Blank (1943) stwierdzili, wprawdzie nie ścisłą, lecz ogólną zależność między ilością antocyjanu a ilością cukrów rozpuszczalnych. Wydało nam się więc rzeczą niezbędną zbadanie wpływu światła również na poziom cukrowców rozpuszczalnych w roślinach jako na jeden z najważniejszych znanych czynników syntezy antocyjanowych barwników.

Analizy cukrowców nie dały jednak wyników analogicznych z otrzymanymi poprzednio dla antocyjaniny. Przeciwnie, ilość cukrów rozpuszczalnych w roślinach naświetlanych wykazuje nieznaczny spadek w porównaniu z roślinami pozostającymi stale w ciemności. Stosunki te ilustruje wykres na ryc. 4.

WPŁYW DŁUGOŚCI FALI ŚWIATŁA NA SYNTEZĘ RUBROBRASSYCYNY

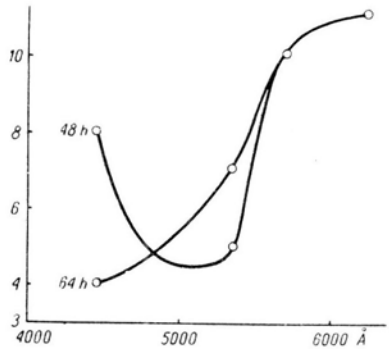
Stwierdzona we wstępnym doświadczeniu dość znaczna zależność biogenezy rubrobrassycyny od światła była punktem wyjściowym następnego etapu pracy — zbadania wpływu długości fali światła na dodatkową, zależną od światła, produkcję tego barwnika. Użyto 4 rodzajów światła monochromatycznego: niebieskiego, zielonego, pomarańczowego i czerwonego (skład spektralny na ryc. 1). Podczerwień wyeliminowano za pomocą filtru wodnego lub roztworu $CuSO_4$. Każde doświadczenie powtarzano kilkakrotnie. Roślinki naświetlano przez 2,5, 5, 7,5, 10 godzin. Wyniki znajdują się w tabelce:

Czas kiełkowania (Time of germination)	48 godz. (hrs)				64 godz. (hrs)
Czas naświetlania (Time of illum.) Filtr (Filter)	2,5	5	7,5	10	7,5
ciemność (dark)	15	15	15	15	20
niebieski (blue)	19	21	23	21	24
zielony (green)	19	19	20	20	27
pomarańcz. (orange)	20	22	25	24	30
czerwony (red)	22	23	26	22	31

Najwyraźniejsze różnice występują u roślin naświetlanych przez 7,5 godz. Toteż ten czas przyjęto za najodpowiedniejszy również do naświetlania roślinek starszych, 64-godzinnych, zawierających już pewne ilości antocyjaniny.

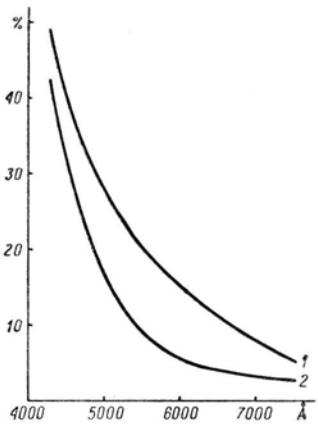
Po 48 godz. kiełkowania u roślin bezbarwnych najsilniejszy wpływ na dodatkową syntezę rubrobrassycyny ma światło pomarańczowe i czerwone, najsłabszy — światło zielone. Po 64 godz. kiełkowania u roślin zawierających już pewną ilość wyprodukowanego w ciemności antocyjanowego

barwnika stosunki zmieniają się nieco. Maleje mianowicie wpływ światła niebieskiego, staje się najsłabszy, a wzrasta znaczenie światła zielonego. Dominujący wpływ światła pomarańczowego i czerwonego utrzymuje się nadal (ryc. 5).

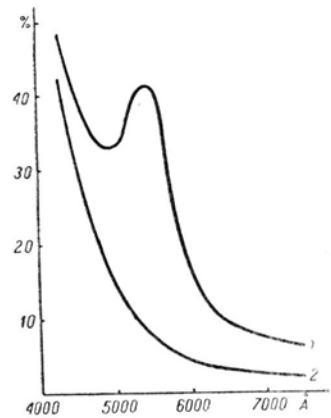


Ryc. 6. Przybliżony przebieg krzywych syntezy rubrobrassycyny pod wpływem światła o różnej długości fali. Rzędne: rubrobrassycyna wytworzona pod wpływem światła (jedn./rośl.)
Approximate appearence of the action spectrum of rubrobrassicin synthesis. Ordinate: rubrobrassicin produced in the light (pigment units/seedling)

Przybliżony przebieg krzywej dla dodatkowej syntezy antocyjaniny pod wpływem światła przedstawia ryc. 6. Pierwsza krzywa przypomina swym przebiegiem tak zwaną spektralną krzywą fotosyntetyczną. Ja-



Ryc. 7. Widma absorpcji wyciągu wodnego (I) i etanolowego (2) z roślin po 48 godz. kiełkowania
Absorption spectra of aqueous (1) and ethanol (2) plant extracts of seedlings 48 hrs old



Ryc. 8. Widma absorpcji wyciągu wodnego (1) i etanolowego (2) z roślin po 64 godz. kiełkowania
Absorption spectra of aqueous (1) and ethanol (2) plant extracts of seedlings 64 hrs old

kościowe obserwacje, przeprowadzane 24 godz. po naświetlaniu, wykazały pojawianie się chlorofilu w roślinach, szczególnie przy świetle pomarańczowym i czerwonym. W celu sprawdzenia, czy już w czasie naświetlania roślin nie tworzy się w nich chlorofil i czy dodatkowa synteza antocyjaniny nie jest po prostu związana z jego obecnością w roślinach, wykonano próbę, w której zbadano spektrofotometrycznie widmo absorpcji wyciągu alkoholowego i wodnego z roślin bezpośrednio po naświetlaniu ich przez 2,5 godz. światłem czerwonym (2,5-godzinny czas naświetlania wystarczał dla wywołania dodatkowej syntezy antocyjaniny). Widmo to nie wykazało żadnych jakościowych różnic w porównaniu z roślinami przebywającymi bez przerwy w ciemności.

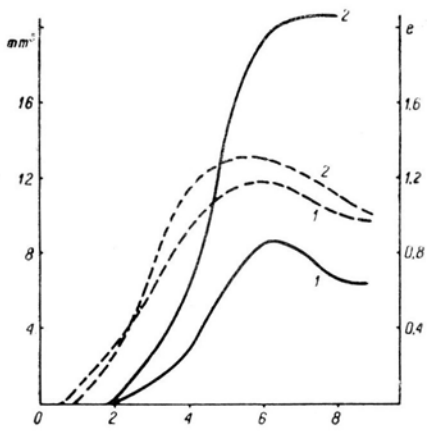
Dla umożliwienia interpretacji wyników zbadano prócz tego widma absorpcji wyciągów wodnych i alkoholowych roślin po 48 godz. i po 64 godz. kiełkowania w ciemności. Wyciągi wodne i alkoholowe wykazały jedynie silną absorpcję w części niebieskofiołkowej, prócz tego wyciąg wodny z roślin po 64 godz. kiełkowania drugie maksimum absorpcji w części zielonej widma, związane z obecnością w roślinach w tym stadium wyprodukowanej w ciemności antocyjaniny (ryc. 7 i 8).

DYSKUSJA

Już w trakcie pisania niniejszej pracy doszła do rąk autorki opublikowana w bieżącym roku praca E b e r h a r d t a (1954) na temat związku między oddychaniem a syntezą antocyjanu, między innymi również i u kiełkujących roślin czerwonej kapusty. Pozwala to na wszechstronniejszą i pewniejszą interpretację wyników przedstawionych powyżej. Stwierdzone przez E b e r h a r d t a wzmożenie intensywności oddychania pod wpływem światła jest niewątpliwie przyczyną stwierdzonego przez nas spadku stężenia cukrowców rozpuszczalnych w roślinach naświetlanych. Wzmożenie zaś tempa przemiany materii na świetle, którego jednym z przejawów jest właśnie zwiększona intensywność oddychania, jest z pewnością jednym z czynników zwiększonej na świetle syntezy antocyjaniny.

Co się tyczy wpływu długości fali światła na syntezę antocyjaniny, to badane przez autorkę rośliny czerwonej kapusty wykazują w początkowych fazach rozwoju (48 godz. kiełkowania) jedno słabsze maksimum w niebieskiej części widma i drugie silne w części pomarańczowoczerwonej. W fazie późniejszej (64 godz. kiełkowania), przy obecności w roślinach pewnych ilości antocyjaniny wyprodukowanej w ciemności, to pierwsze maksimum zanika, a wzrasta nieco znaczenie światła zielonego, natomiast drugie maksimum w pomarańczowoczerwonej części widma utrzymuje się nadal bardzo wybitnie.

Zgodnie z pierwszym prawem fotochemii jedynie energia promienista pochłonięta może dać fotochemiczny efekt. Określenie substancji pochłaniających światło w fotobiologicznym procesie syntezy rubrobrassycyny nie jest rzeczą łatwą. Pierwsze maksimum aktywności światła, dla światła niebieskiego, znajduje swe odbicie w silnej absorpcji, jaką w tym zakresie wykazuje wyciąg zarówno wodny, jak i alkoholowy roślin. W roślinach prawdopodobnie zawarte są rozpuszczalne w wodzie substancje — być może, że chemicznie spokrewnione z antocyjaninami, które pod wpływem światła niebieskofiołkowego przechodzą w antocyjaninę. Że istotnie w zarodkach i nie zabarwionych jeszcze młodych roślinkach znajdują się takie jakby „prekursory", dowodzą tego badania Frey-Wysslinga i Blanka (1943), w których prostym chemicznym zabiegiem (środkami utleniającymi) doprowadzono do wytworzenia fioletowego barwnika w subepidermalnej warstwie tych roślin. Również wzrost znaczenia światła zielonego dla roślin po 64 godz. kiełkowania znajduje swe odbicie w absorpcji światła w tym zakresie przez sam wytworzony w ciemności antocyjan. Do tego punktu otrzymane wyniki pozostawałyby w zgodzie z uzyskanymi dawniej dla tkanki *Vitis vinifera* hodowanej *in vitro* (Słabęcka-Szweykowska, 1955) i dla jabłek (Arthur, 1952). Natomiast wybitne i trwałe maksimum dla światła pomarańczowo-czerwonego nie znajduje swego uzasadnienia w widmie absorpcji wyciągu ani wodnego, ani alkoholowego (udział chlorofilu wyprodukowanego w trakcie naświetlania został wyłączony). Pozostaje przyjąć, że światło to pochłaniane jest przez nie przechodzące do wyciągu (rzeczywistego roztworu) koloidy plazmatyczne, powodując ogólne wzmożenie tempa przemiany materii.



Ryc. 9. Synteza rubrobrassycyny (linia ciągła) i intensywność oddychania (linia przerywana u roślin w ciemności (1) i naświetlanych (2). Rzędne: z lewej CO_2 mm³/godz., z prawej — ekstynkcja wyciągów barwnika antocyjanowego. Odcięte: czas kiełkowania w dniach (wg Eberhardta 1954)

Rubrobrassicin synthesis (continual line) and the rate of respiration (dotted line) of the seedlings in the dark (1) and in the light (2). Ordinate: left — CO_2 mm³/h, right — optical density of pigment extracts. Abscissa: age of seedlings in days (after Eberhardt, 1954)

Wniosek ten zyskuje poparcie w konkluzjach, do jakich doszli inni autorzy, badający z punktu widzenia innego czynnika biogenezę rubrobrassycyny w kiełkującej czerwonej kapuście. Frey-Wyssling i Blank tego rodzaju związek widzą między ilością cukrów rozpuszczalnych w tkance a syntezą antocyjanu: polega on we-

dług nich na wzmożeniu przemiany materii przez dopływ cukrowców. Do podobnego wniosku dochodzą, analizując wpływ na syntezę antocyjanu jeszcze innego czynnika — temperatury.

Bardzo wyraźny jest związek jaki wykazał Eberhardt (1954) między światłem, intensywnością oddychania i syntezą antocyjaniny (ryc. 9). Nawet w fazie rozwoju rośliny z nasienia, w której krzywa intensywności oddychania opada, podziałanie światłem powoduje nagły nowy wzrost krzywej, połączony z nowym wzrostem krzywej syntezy antocyjaniny. Wzmożenie intensywności oddychania, jak wykazał Eberhardt, dostarcza zarówno nowego materiału do syntezy antocyjaniny, jak i nowych ilości energii do syntez, dopływającej z wysokoenergetycznych wiązań fosforanowych.

Interpretacja tego rodzaju wydaje się mieć również zastosowanie do ubocznych obserwacji autorów, którzy stwierdzili szczególnie korzystny wpływ światła czerwonego na tworzenie antocyjaniny u *Perilla nankinensis* (Jermołajewa, 1953) oraz u fasoli i kukurydzy (Withrow i in., 1953). Szczególnie znamienne są rezultaty badań Withrowa, który badał najbardziej skrajne części widma w czerwieni i bliską podczerwień, gdzie fotosynteza już w praktyce nie zachodzi, i stwierdził ich wydatny udział w zwiększaniu syntezy antocyjanu na świetle. Wydaje się prawie niewątpliwe, że i w tych przypadkach udział ten mógł iść jedynie drogą wzmożenia ogólnej przemiany materii w roślinie.

Streszczając powyższe wywody, dodatni wpływ światła na syntezę rubrobrassycyny w kiełkującej czerwonej kapuście posiadałby wobec tego dwa źródła:

1) fotochemiczny mechanizm syntezy tego barwnika (w świetle niebieskim) i

2) wzmożenie przemiany materii pod wpływem energii promienistej o większej długości fali (w świetle pomarańczowym i czerwonym).

Zakład Fizjologii Roślin
Uniwersytetu Poznańskiego

(Wpłynęło dn. 28.VI. 1954 r.)

SUMMARY

The experimental material the author used here consisted of seedlings of red cabbage, after 48 to 64 hours of germination in Petri dishes on a 1 p. c. aqueous agar at a temperature of 25°C.

The author aimed at the solution of the following problems:

1. The dependence of the intensity of a rubrobrassicin synthesis on light (in the material used for experiments).

2. The influence of light on the concentration of soluble sugars in the examined plants.

3. The influence of the wave length of light upon the synthesis of rubrobrassicin.

4. A comparison of data obtained with the absorption spectra of aqueous and alcoholic plant extracts.

1. Following a period of germination of 48 hours (colourless) and 64 hours (already containing anthocyanin) the seedlings were subject to irradiation for 7,5 hours with Höppler's athermic lamp (40 W) placed at a distance of 60 cm. The determination of anthocyanin was made after 24 hours (counting from the moment of beginning irradiation). The pigment was extracted from the plants with the aid of methanol with n/10 HCl (ratio 5:1) and then its amount was determined by measuring the absorption in a Pulfrich photometer using a No. 6 filter (transmittance maximum 5.300 Å). The amount of the pigment was expressed in relative amounts (pigment units). The experiment showed a strong intensification of the anthocyanin synthesis in light (fig. 3).

2. The plants were irradiated in the same manner as before. The results of analyses of soluble sugars made by the Hagedorn-Jensen method, were not analogous with those obtained previously of anthocyanin. On the contrary, the amount of soluble sugars in irradiated plants showed a slight decrease as compared with seedlings remaining constantly in darkness (fig. 4). This phenomenon may be explained by the strong influence of light upon the rate of respiration, as stated by Eberhardt (1954), in *Brassica* seedlings, which in consequence leads to some decrease of the respiratory substrate, i. e. sugars, in the tissues.

3. The plants were irradiated with a 500 W Polam electric bulb and four kinds of filters were used. The spectral composition of various types of light is illustrated in fig. 1. In the seedlings the increase of the amount of anthocyanin pigment after 48 hours of germination showed one weaker maximum in the blue part of the spectrum and a second strong one in the orange-red part. At a later stage (after 64 hours of germination) in seedlings containing certain amounts of anthocyanin produced in darkness, that first maximum disappears and the influence of the green light grows slightly, while the second maximum for the orange-red light remains still very distinctly (fig 5 and 6).

4. Extracts from the seedlings were obtained by heating the entire plants (hypocotyl and cotyledons) in slightly acid water (pH = 5,5) and then crushed in a mortar with ethanol. The measurement of the absorption spectrum was made in the Pulfrich's photometer. The first maximum of light activity of blue-violet light is reflected in the strong absorption which is manifest in this region in the aqueous as well as in the alcohol extract of the plants (fig. 7). It may be assumed that the aqueous extract contains chemical substances related with anthocyanins which pass into anthocyanin under the influence of blue-violet light. Similarly, the significance of green light for seedlings after 64 hours of germination is reflected in this region in the absorption of light by the anthocyanin itself produced in darkness (fig. 8). On the other hand, the distinct and persisting maximum of orange-red light cannot be proved in the absorption spectrum of either the aqueous or alcoholic extract (the participation of chlorophyll produced in the course of irradiation is excluded). It must be therefore assumed that this light is absorbed by plasma colloids,

insoluble in an aqueous or alcoholic extract, causing a general increase in the metabolism. This conclusion finds support in the results obtained by Eberhardt, who showed the influence of light on the rate of respiration in the seedlings of red and white cabbage, and also the close relation between the light, the rate of respiration and the rubrobrassicin synthesis in red cabbage (fig. 9).

The positive influence of light on rubrobrassicin synthesis in red cabbage seeedlings may therefore be ascribed to two factors:

1. the photochemical mechanism of the synthesis of this pigment (in violet-blue light),

2. the increase in the metabolism under the influence of the radiant energy of longer wave length (in orange-red light).

Laboratory of Plant Physiology
of the Poznań University

LITERATURA

Arthur J. M., 1932, Red pigment production in apples by means of artificial light sources, „Contr. Boyce Thompson Inst.", 4, 1—18.

Baatz I., 1941, Die Bedeutung der Lichtqualität für Wachstum und Stoffproduktion planktontischer Meeresdiatomeen, „Planta", 31, 726—766.

Bachmann F., 1929, Über die Verwendung von Farbfiltern für pflanzenphysiologische Forschungen, „Planta", 8, 487—521.

Chmielewska I., Smardzewska I. i Kulesza I., 1938, Badania nad barwnikiem czerwonej kapusty *(Brassica oleracea)* III. Studien über den Rotkohlfarbstoff III, „Roczniki Chemii", 18, 176—184.

Eberhardt F., 1954, Über die Beziehungen zwischen Atmung und Anthocyansynthese, „Planta", 43, 253—287.

Eddy B. P. and Mapson L. W., 1951, Some factors affecting anthocyanin synthesis in cress seedlings, „Biochem. Journ.", 49, 694—699.

Floren G., 1941, Untersuchungen über Blütenfarbmuster und Blütenfärbungen, „Flora", N. F. 35, 65 — 100.

Frey - Wyssling A., und Blank F., 1943, Untersuchungen über die Physiologie des Anthocyans in Keimlingen von *Brassica oleracea* L. var. *capitata* L. f. rubra (L.), „Ber. d. Schweiz. Bot. Ges.", 53, A, 550 — 578.

Jermołajewa J. J., 1953, Wlijanje swieta razlicznogo spiektralnogo sostawa na niekotoryje fizjołogiczeskije processy rastienji, „Eksp. Bot.", 9, 100 — 117.

Karstens W. K. H., 1939, Anthocyanin and anthocyanin formation in seedlings of *Fagopyrum esculentum* Moench, „Rec. Trav. Bot. Neerl.", 36, 85 — 179.

Linsbauer L., 1908, Über photochemische Induktion bei der Anthocyanbildung, Wiener-Festschrift Wien, 421 — 436.

Moszkow B. S., 1953, Wyraszczywanie rastienij na iskusstwiennom oswieszczenji. Pp. 51 — 66, Moskwa-Leningrad, Gosudarstwiennoje izdatielstwo sielskochazjajstwiennoj literatury.

Słabęcka - Szweykowska A., 1952, Warunki tworzenia się antocyjanu w tkance *Vitis vinifera* hodowanej *in vitro*. On the conditions of anthocyanin formation in the *Vitis vinifera* tissue cultivated *in vitro*, „Acta Soc. Bot. Pol." XXI, 537—576.

Słabęcka - Szweykowska A., 1955, Wpływ długości fali światła na biogenezę barwnika antocyjanowego w tkance winorośli hodowanej *in vitro*. The influence of the wave length of light on the biogenesis of anthocyanin pigment in the *Vitis vinifera tissue in vitro*, „Acta Soc. Bot. Pol." XXIV, 3—10.

Thimann K. V. and Edmondson Y. H., 1949, The biogenesis of the anthocyanins I. General nutritional conditions leading to anthocyanin formation, „Arch. Biochem.", 22, 33 — 53.

Withrow R. B., Klein W. H., Price L. and Elstad V., 1953, Influence of visible and near infrared radiant energy on organ development and pigment synthesis in bean and corn, „Plant Physiology", 28, 1 — 14.