

УДК 581.132.1:582.542.1

ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ ВІОЛАКСАНТИНОВОГО ЦИКЛУ В ЛИСТКАХ КОНТРАСТНИХ ЗА ПРОДУКТИВНІСТЮ СОРТІВ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ

Г.О. ПРЯДКІНА

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17*

Проведено порівняльне дослідження вмісту в листках пігментів віолаксантинового циклу, розміру пулу цього циклу та стану його деєпоксидації. Показано, що високопродуктивний сорт озимої пшениці порівняно з менш продуктивним характеризується не тільки більшим пулом пігментів віолаксантинового циклу, а й активнішим його функціонуванням, що підтверджує більша швидкість зниження вмісту віолаксантину після 5-хвилинного освітлення. Зроблено припущення, що зниження вмісту хлорофілу при старінні листків призводить і до гальмування синтезу віолаксантину.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., пігменти віолаксантинового циклу, деєпоксидація.

Відомо, що один з пігментів віолаксантинового циклу — зеаксантин — відіграє головну роль у захисті фотосинтетичного апарату рослин від фоторуйнування за несприятливих умов [2, 4, 12, 20]. Після відкриття Сапозжниковим та співавт. [7] факту існування віолаксантинового циклу (ВЦ) в листках рослин другим важливим кроком у дослідженні ролі ксантофілів, що формують цей цикл, стала гіпотеза Демміг та співавт. [13] про існування залежності між ростом теплової дисипації надлишку поглиненої енергії та збільшенням кількості зеаксантину. Багато доказів тісного взаємозв'язку між нефотохімічним гасінням флуоресценції хлорофілу, що є показником ступеня теплової дисипації енергії, та вмістом зеаксантину в листках було отримано наприкінці минулого—початку цього століття. Це, зокрема, дані про інгібування процесів розсіювання поглиненої енергії під дією дитіотрейтолу — інгібітора утворення зеаксантину з віолаксантину — в листках пшениці [11], паралельне з акумуляцією фотозруйнованих реакційних центрів ФС II накопичення зеаксантину в одноклітинній водорості *Dunaliella salina* [16], тісну позитивну кореляцію між нефотохімічним гасінням флуоресценції хлорофілу й деєпоксидацією пігментів віолаксантинового циклу в листках ярої пшениці, вирощеної за оптимальних і стресових умов [8] та ін. [14, 17, 20]. Перетворення віолаксантину, що містить 2 молекули кисню в епоксидній формі, на безепоксидний зеаксантин досліджено для багатьох стресових чинників різної природи [15, 19, 20]. Водночас відмінності механізмів захисту тилакоїдних мембран від надлишку поглиненої енергії в контрастних за певними параметрами генотипів також мають важливе значення, але поки ще мало вивчені.

Метою нашої роботи було дослідження світлозалежних перетворень пігментів віолаксантинового циклу та виявлення особливостей його функціонування у прапорцевому листку рослин двох сортів озимої пшениці, контрастних за зерною продуктивністю.

Методика

Об'єктом досліджень були прапорцеві листки двох сортів озимої пшениці, що істотно різнилися за зерною продуктивністю головного пагона: в сорту Фаворитка ($2,5 \pm 0,1$ г) вона була вищою, ніж у сорту Миронівська 808 ($1,7 \pm 0,1$ г) майже на третину. Рослини досліджуваних сортів вирощували у дрібноділянковому досліді, площа трьох повторностей під кожним із сортів становила близько 9 м^2 . У кожній із повторностей відбирали прапорцеві листки з 5 рослин. Висічки робили в середній частині прапорцевих листків, відібраних у фази цвітіння та молочно-воскової стиглості (МВС) зерна, яка наставала на 22-гу добу після цвітіння. Фази розвитку рослин визначали згідно з працею [1]. Температуру, інтенсивність освітлення та хмарність під час відбирання зразків наведено в табл. 1. Зразки відбирали за різної тривалості освітлення: 1-й — із рослин, затемнених з ночі, до 11-ї години ранку, 2-й — через 5 хв після зняття чорної тканини, якою накривали рослини, тобто після 5-хвилинного освітлення листків яскравим сонячним світлом, 3- і 4-й відбори — відповідно через 15 і 30 хв освітлення. Інтенсивність сонячного освітлення вимірювали люксометром Ю 116.

Для визначення вмісту хлорофілів і каротиноїдів висічки з відібраних прапорцевих листків фіксували в рідкому азоті ($-196 \text{ }^\circ\text{C}$) і до проведення аналізу зберігали у морозильній камері ($-18 \text{ }^\circ\text{C}$). Для екстрагування пігментів рослинні проби розтирали на холоді у 6 мл 100 %-го ацетону з додаванням 20—30 мг карбонату магнію і 40—50 мг бутилгидроксіанізолу. Екстракти центрифугували 2 хв при 8000 g. Вміст хлорофілів *a* і *b* та сумарний вміст каротиноїдів у листках визначали спектрофотометричним методом у 100 %-му ацетоні [5].

Елюати ксантофілів розділяли на рідинному хроматографі високого тиску НРР 4001 (ЧСФР) сумішшю ацетонітрилу, метанолу й дистильованої води у співвідношенні 70:9,6:3 [6]. Концентрацію ксантофілів розраховували за формулами, наведеними в праці [6]. Стан деепоксидації (ДЕ) пігментів ВЦ визначали як відношення кількості деепоксидованих пігментів до їх загального вмісту в пулі:

$$\text{ДЕ} = (3 + 0,5A)/(B + A + 3),$$

де 3, А, В — вміст відповідно зеаксантину, антероксантину, віолаксантину.

Результати оброблено статистично з використанням *t*-критерію Стьюдента згідно з Лакіним [3].

ТАБЛИЦЯ 1. Метеорологічні умови під час відбирання зразків

Дата	Фаза	Температура повітря, $^\circ\text{C}$		Освітлення об 11-й годині, Вт/м ²	Хмарність об 11-й годині, бал
		об 11-й годині	середньодобова		
03.06	Цвітіння	21	15	470	0
25.06	МВС	22	18	500	1

Результати та обговорення

Площа прапорцевих листків пшениці обох сортів у фазу цвітіння була близькою і становила 0,31—0,32 дм², у фазу МВС зерна — у сорту Миронівська 808 ставала несуттєво меншою, ніж у сорту Фаворитка (табл. 2). За вмістом пігментів досліджувані сорти істотно відрізнялися один від одного вже у фазу цвітіння. Вміст сумарного хлорофілу, загальних каротиноїдів та пул пігментів ВЦ на одиницю площі листка менш продуктивного сорту Миронівська 808 в цю фазу становив 70—80 % відповідних показників сорту Фаворитка і знижувався до 40—50 % у фазу МВС. Водночас пул пігментів ВЦ у розрахунку на 1 мг хлорофілу у менш продуктивного сорту порівняно із сортом Фаворитка у фазу цвітіння знижувався невірогідно, а у фазу МВС — навпаки, зростав, тобто співвідношення ксантофіли ВЦ/хлорофіл найбільше змінювалось на кінцевих етапах онтогенезу листків, коли на фоні деградації хлорофілу певна кількість каротиноїдів або зберігалася, або їх синтез активувався [9].

Функціонування віолаксантинового циклу в листках обумовлене змінами освітлення. Відомо, що максимальна кількість віолаксантину й мінімальна — зеаксантину міститься в затемнених листках [7, 12, 18]. Це підтверджують дані рис. 1: вміст віолаксантину в затемнених листках пшениці сорту Фаворитка (момент часу — 0) був на 25—30 %, а сорту Миронівська 808 — на 5—20 % вищим, ніж в освітлених протягом 5 хв (момент часу — 5). В обидві фази розвитку зниження вмісту віолаксантину в листках менш продуктивного сорту, спричинене 5-хвилинною дією світла, відбувалося повільніше, ніж у продуктивнішого сорту: швидкість зниження вмісту віолаксантину в освітлених протягом 5 хв відносно затемнених прапорцевих листків пшениці сорту Миронівська 808 у фазі цвітіння і МВС становила відповідно 2,4 і 5,8 мкг/дм² за 1 хв освітлення, сорту Фаворитка — 28,6 і 18,8. Триваліше освітлення (15 і 30 хв) невірогідно змінювало вміст цього ксантофілу у сорту Фаворитка, у сорту Миронівська 808 він продовжував знижуватись. Вміст деепоксиксантофілу зеаксантину за умов освітлення, навпаки, збільшувався: у сорту Фаворитка від 43—44 в затемнених зразках в обидві фази вегетації до 97—102 мкг/дм² після 5 хв освітлення яскравим світлом, але триваліше освітлення (15 і 30 хв) не показало вірогідного збільшення його кількості. У сорту Миронівська 808 за перші 5 хв освітлення ця величина у

ТАБЛИЦЯ 2. Зміна розмірів прапорцевих листків та вмісту в них пігментів у двох сортах озимої пшениці у фазі цвітіння та молочно-воскової стиглості

Показник	Фаза цвітіння		Фаза МВС	
	Фаворитка	Миронівська 808	Фаворитка	Миронівська 808
Площа прапорцевих листків, дм ²	0,32±0,02	0,31±0,01	0,30±0,02	0,27±0,01
Сумарний вміст хлорофілу, мг/дм ²	5,6±0,2	4,1±0,2	4,4±0,2	1,8±0,1
Загальний вміст каротиноїдів, мг/дм ²	1,4±0,1	1,1±0,1	1,3±0,1	0,6±0,1
Пул пігментів ВЦ				
мкг/дм ²	483±15	338±16	418±26	212±14
мкг/мг хлорофілу	86±4	82±3	95±3	118±6

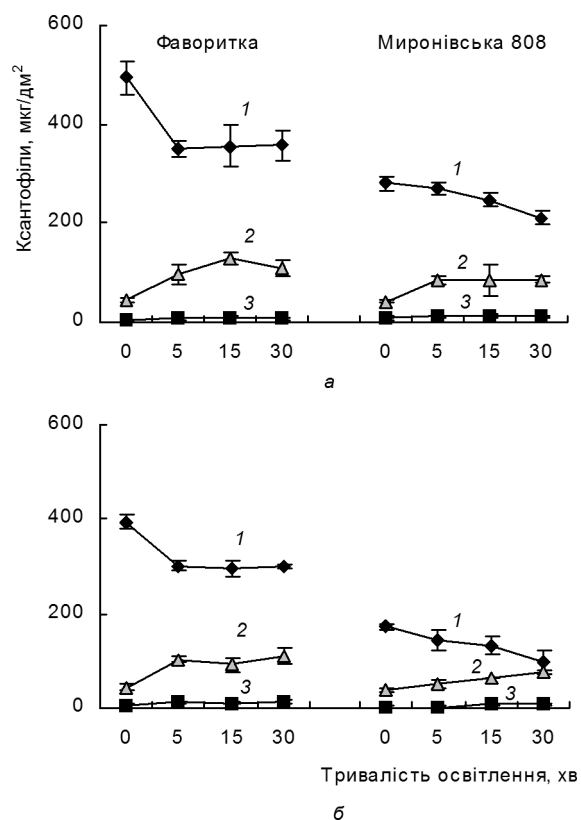


Рис. 1. Зміна вмісту ксантофілів віолаксантинового циклу в прапорцевому листку двох сортів озимої пшениці у фази цвітіння (а) та молочно-воскової стиглості зерна (б) залежно від тривалості освітлення:

1 — віолаксантин; 2 — зеаксантин; 3 — антероксантин

дації був близьким, але з подовженням освітлення їх реакція змінювалась: у сорту Миронівська 808 його ріст тривав, а в сорту Фаворитка — залишався на попередньому рівні. У фазу МВС ДЕ пулу пігментів ВЦ за 30-хвилинного освітлення порівняно з фазою цвітіння вірогідно зростала тільки в листках пшениці сорту Миронівська 808 (в 1,7 раза), у сорту

фазу цвітіння зростала в 2 рази (від 41 ± 2 до 85 ± 9 мкг/дм²), у фазу МВС — в 1,3 рази (від 39 ± 4 до 52 ± 8 мкг/дм²) і продовжувала збільшуватись також після 15 і 30 хв освітлення.

Багато дослідників довели [11, 13, 16], що саме збільшення кількості цього ксантофілу, з якого вилучені 2 молекули епоксидованого кисню, сприяє посиленню захисту тилакоїдних мембран від фоторуйнування. Загальноприйнятим показником частки деєпоксидованих пігментів у ВЦ є величина його деєпоксидації. Як видно з даних табл. 3, за яскравого освітлення у прапорцевих листків високопродуктивного сорту у фазу цвітіння вона коливалась від 0,22 до 0,27, у менш продуктивного — приблизно в тому ж інтервалі значень: від 0,25 до 0,30. У фазу МВС за 5-хвилинного освітлення в обох сортів рівень деєпокси-

ТАБЛИЦЯ 3. Динаміка деєпоксидації пулу пігментів віолаксантинового циклу прапорцевих листків двох сортів озимої пшениці залежно від умов і тривалості освітлення в окремі фази вегетації

Рослини пшениці	Фаза цвітіння		Фаза МВС	
	Фаворитка	Миронівська 808	Фаворитка	Миронівська 808
Затемнені	$0,08 \pm 0,01$	$0,14 \pm 0,01$	$0,11 \pm 0,01$	$0,18 \pm 0,02$
Освітлені упродовж, хв				
5	$0,22 \pm 0,04$	$0,25 \pm 0,04$	$0,26 \pm 0,01$	$0,27 \pm 0,01$
15	$0,27 \pm 0,03$	$0,26 \pm 0,05$	$0,25 \pm 0,03$	$0,34 \pm 0,04$
30	$0,24 \pm 0,03$	$0,30 \pm 0,03$	$0,27 \pm 0,06$	$0,52 \pm 0,06$
Середнє значення	$0,24 \pm 0,02$	$0,27 \pm 0,02$	$0,26 \pm 0,01$	$0,37 \pm 0,05$

Фаворитка різниця була неістотною. Факти зростання рівня ДЕ в онтогенезі озимої пшениці підтвердили й інші дослідники. Так, у прапорцевих листках пшениці сорту Weijing 3348 упродовж періоду наливання зерна за різних рівнів освітлення він підвищувався в 1,5—2 рази [17, 18].

Ми також спостерігали невелике, але вірогідне зростання ДЕ в онтогенезі у затемнених зразках для сорту Фаворитка з 8 % у фазу цвітіння до 11 % у фазу МВС, для сорту Миронівська 808 — відповідно з 14 до 18 %. Якщо збільшення кількості деєпоксидованих пігментів за дії несприятливих чинників, у тім числі й надмірного освітлення, пояснюють необхідністю посилення захисту тилакоїдних мембран від фоторуйнування, то їх зростання в онтогенезі за відсутності світла ймовірно пов'язане з впливом інших чинників. Оскільки в умовах затемнення віолаксантин не перетворюється на зеаксантин, то підвищення ступеня деєпоксидування ксантофілів в онтогенезі у темряві може бути спричинене зменшенням кількості віолаксантину в загальному пулі ВЦ. Відомо [2, 9], що в ході біосинтезу ксантофілів спочатку з β -каротину утворюється зеаксантин, який епоксидується до антраксантину і потім — до віолаксантину, тобто на фоні зниження вмісту хлорофілу у фазу МВС синтез віолаксантину або гальмується, або припиняється. Непрямим доказом цього може слугувати тісний взаємозв'язок ($R^2 = 0,9$) між вмістом віолаксантину та хлорофілу в затемнених рослинах (рис. 2). Із зеаксантином такої кореляції не виявлено, тобто зеаксантин може продовжувати синтезуватись і за низьких концентрацій хлорофілу. Цим можна пояснити вищі значення ДЕ в освітлених протягом 30 хв листках пшениці сорту Миронівська 808, вміст хлорофілу в яких був у 2,4 раза нижчим, ніж у сорту Фаворитка (відповідно 2,7 і 4,4 мг/дм²).

Отже, показано, що сорт озимої пшениці з вищою зерновою продуктивністю характеризується не тільки більшим пулом пігментів віолаксантинового циклу, а й активнішим функціонуванням, оскільки швидкість зменшення вмісту віолаксантину в освітлених протягом 5 хв листках у нього була більшою в обидві фази. Однак відносна кількість зеаксантину як щодо загального пулу віолаксантинових пігментів (ступінь деєпоксидзації), так і загального хлорофілу залишалась нижчою, ніж у менш продуктивного сорту Миронівська 808. У зв'язку з цим можна припустити, що зниження вмісту хлорофілу в останнього сорту призводить і до зменшення синтезу віолаксантину.

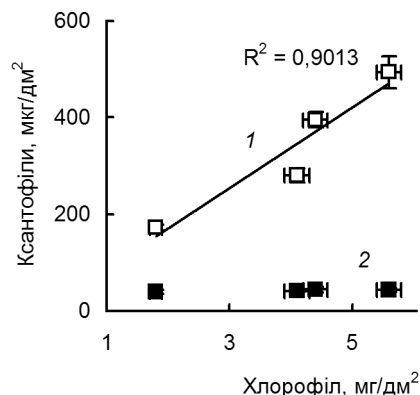


Рис. 2. Залежність вмісту віолаксантину (1) та зеаксантину (2) від кількості хлорофілу в прапорцевих листках затемнених рослин двох сортів озимої пшениці у фазі цвітіння та молочно-воскової стиглості зерна

1. Куперман Ф.М. Морфофизиология растений. — М.: Высш. шк., 1977. — 288 с.
2. Ладыгин В.Г. Биосинтез каротиноидов в хлоропластах водорослей и высших растений // Физиология растений. — 2000. — 47, № 6. — С. 904—923.
3. Лакин Г.Ф. Биометрия. — М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.
4. Маслова Т.Г., Мамушина Н.С., Зубкова Е.К. и др. Особенности пигментного аппарата пластид и фотосинтеза в листьях эфемероидов и летневегетирующих растений в связи с проблемой фотоингибирования // Физиология растений. — 2003. — 50, № 1. — С. 59—64.

5. *Методы биохимического анализа растений* / Под ред. В.В. Полевого. — Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1978. — 192 с.
6. *Прядкина Г.А., Лихолат Д.А.* Определение ксантофиллов методом жидкостной хроматографии в изократическом режиме // *Физиология и биохимия культ. растений.* — 2006. — **38**, № 1. — С. 75—82.
7. *Сапожников Д.И., Красовская Т.А., Маевская А.Н.* Изменение соотношения основных каротиноидов пластид зеленых листьев при действии света // *Докл. АН СССР.* — 1957. — **113**, № 2. — С. 465—467.
8. *Шадчина Т.М., Гуляев Б.Л., Кірізій Д.А. та ін.* Регуляція фотосинтезу і продуктивність рослин. Фізіологічні та екологічні аспекти. — К.: Фітосоціоцентр, 2006. — 384 с.
9. *Armstrong G.A., Hearts J.E.* Genetics and molecular biology of carotenoid pigment biosynthesis // *FASEB J.* — 1996. — **10**. — P. 228—237.
10. *Biswall B.* Carotenoid catabolism during leaf senescence and its control by light // *Photochem. Photobiol. (B).* — 1995. — **30**. — P. 3—14.
11. *Choudhury N.K., Choe H.T., Huffaker R.C.* Ascorbate induced zeaxanthin formation in wheat leaves and photoprotection of pigment and photochemical activities during aging of chloroplasts in light // *J. Plant Physiol.* — 1993. — **141**, N 5. — P. 551—556.
12. *Demming B., Gilmore A.M., Adams W.W.* In vivo function of carotenoids in higher plants // *FASEB J.* — 1996. — N 10. — P. 403—412.
13. *Demming B., Winter K., Kruger A. et al.* Photoinhibition and zeaxanthin formation in intact leaves. A possible role of the xanthophyll cycle in the dissipation of excess light energy // *Plant. Physiol.* — 1987. — **84**, N 2. — P. 218—224.
14. *Li X.-P., Bjorkman O., Grossman A.R. et al.* A pigment-binding protein essential for regulation of photosynthetic light harvesting // *Nature.* — 2000. — **403**. — P. 391—395.
15. *Loggini B., Scartazza A., Brugnoli E. et al.* Antioxidative defense system, pigment composition, and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected to drought // *Plant Physiol.* — 1999. — **119**. — P. 1091—1100.
16. *Lu C., Jiang G., Wang B. et al.* Photosystem II photochemistry and photosynthetic pigment composition in salt-adapted halophyte *Artemisia anethifolia* grown under outdoor conditions // *J. Plant Physiol.* — 2003. — **160**, N 4. — P. 403—408.
17. *Lu Q., Lu C.* Photosynthetic pigment composition and photosystem II photochemistry of wheat ears // *Plant Physiol. Biochem.* — 2004. — **42**. — P. 395—402.
18. *Lu Q., Lu C., Zhang J. et al.* Photosynthesis and chlorophyll a fluorescence during leaf senescence of field-grown wheat plants // *J. Plant. Physiol.* — 2002. — **159**, N 11. — P. 1173—1178.
19. *Sharma P.K., Hall D.O.* Effect of photoinhibition and temperature on carotenoids in sorghum leaves // *Indian J. Biochem. Biophys.* — 1996. — **33**, N 6. — P. 471—477.
20. *Toth V.R., Meszaros I., Veres S. et al.* Effects of the available nitrogen on the photosynthetic activity and xanthophyll cycle pool of maize in field // *J. Plant Physiol.* — 2002. — **159**, N 6. — P. 627—634.

Отримано 01.10.2009

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ВИОЛАКСАНТИНОВОГО ЦИКЛА В ЛИСТЬЯХ КОНТРАСТНЫХ ПО ПРОДУКТИВНОСТИ СОРТОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Г.А. Прядкина

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

Проведено сравнительное исследование содержания в листьях пигментов виолаксантинового цикла, размера пула этого цикла и состояния его дезэпоксидации. Показано, что высокопродуктивный сорт озимой пшеницы по сравнению с менее продуктивным характеризуется не только большим пулом пигментов виолаксантинового цикла, но и более активным его функционированием, что подтверждается большей скоростью снижения количества виолаксантина после освещения в течение 5 мин. Выдвинуто предположение, что снижение содержания хлорофилла при старении листьев приводит и к торможению синтеза виолаксантина.

FUNCTIONING OF XANTHOPHYLL CYCLE IN LEAVES OF CONTRAST IN
PRODUCTIVITY VARIETIES OF WINTER WHEAT

G.A. Pryadkina

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylkivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

The xanthophyll cycle pigments content in leaves, and state of their deepoxidation were studied. Variety of winter wheat with high grain productivity was characterized by a higher total xanthophyll pool size, as well as higher rate of violaxantin conversion when leaves of plant has been exposed on 5 minute light. It is supposed that decrease of chlorophyll content during leaf senescence result in decrement of violaxantin synthesis.

Key words: *Triticum aestivum* L., xanthophyll cycle pigments, deepoxidation.