

# INDUKCE OCHRANNÝCH PROCESŮ PŘI KRÁTKODOBÉM PŮSOBENÍ ZVÝŠENÉ TEPLoty A NADMĚRNÉ OZÁŘENOSTI NA VYBRANÉ DRUHY VYŠŠÍCH ROSTLIN

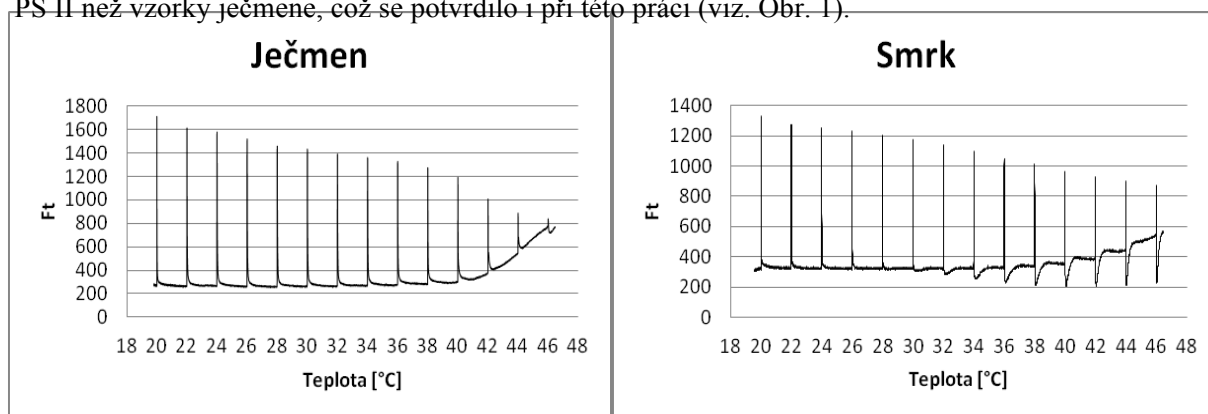
**Tereza Hoňková, Zdeněk Nosek, Rostislav Páník**

*Ostravská Univerzita v Ostravě, Přírodovědecká fakulta, 30. dubna 22, 701 03 Ostrava*  
[TerkaHonkova@seznam.cz](mailto:TerkaHonkova@seznam.cz)

## **Abstrakt:**

V rámci této práce byla studována indukce ochranných procesů při krátkodobém působení zvýšené teploty a nadměrné ozáření na ječmeni jarním a smrku ztepilém. Rostliny byly cca týden před experimentem vystaveny podmínkám simulujícím „letní zatažený den s mírnými teplotami“. Kultivace probíhala v růstových komorách HB 1014 (BioLine, Heraeus, Německo). Při vlastním měření termostability fotosystému II (PS II) byl rostlinný materiál adaptován na tmu a vystaven lineárnímu ohřevu od 20 – 46°C, v intervalech 2 °C byly aplikovány saturační pulsy pro stanovení závislosti potenciální účinnosti fotochemické reakce PSII (stanovené na základě detekce fluorescence chlorofylu a in vivo jako  $F_v/F_M$ ) na teplotě. Pro měření byly použity střední segmenty listů ječmene a 7 – 8 jehlic smrku. Samotné měření probíhalo na fluorimetru PAM 101 (Heinz Walz, Effeltrich, Německo). Způsob detekce fluorescence chl *a* u PAM fluorimetru má tu výhodu, že nedetekujeme příspěvek nemodulovaného aktinického světla a přístroj tedy při konstantní intenzitě měřicího světla měří relativní změny kvantového výtěžku fluorescence bez ohledu na intenzitu aktinického nemodulovaného světla. Bezprostředně po ukončení uvedeného měření teplotní závislosti funkčního stavu PS II byly vzorky zmrazeny v kapalném dusíku a následně proběhla analýza složení pigmentů pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC).

Na tomto projektu jsem spolupracovala se Zdeňkem Noskem v návaznosti na jeho předchozí práci z roku 2011, ve kterých se zabýval regulací využití radiace ve fotosystému II v důsledku změn radiace a teploty. Uplatnili jsme metodu detailní analýzy kontinuálního záznamu teplotní závislosti fluorescence, což umožňuje stanovit rozdíly v termostabilitě PS II a účinnost indukce ochranných procesů. Už při předchozích měřeních bylo zjištěno, že vzorky smrku vykazovaly vyšší termostabilitu PS II než vzorky ječmene, což se potvrdilo i při této práci (viz. Obr. 1).



*Obr. 1: Typický příklad závislosti fluorescence chlorofylu a během měření teplotní závislosti  $F_v/F_m$  u ječmene a smrku. Vzorky byly vystaveny lineárnímu ohřevu do 46°C (1°C/min). Každé 2 minuty byly aplikovány saturační pulsy.*

Zhášení minimální fluorescence Chl *a* ( $F_0$ ) bývá obvykle přisuzováno světlem indukované nezářivou disipací (NRD) ve světloběrných komplexech (LHC) PSII, ke kterému dochází obvykle po několika desítkách sekund vystavení rostlin ozáření (Štroch a kol., 2008). Takže velmi rychlé zhášení fluorescence  $F_0$  v jehlicích smrku při vyšších teplotách je pravděpodobně způsobeno teplotně indukovanou stimulací procesů, které vedou ke zvýšení NRD v LHC II. Míru zhášení  $F_0$  indukovaného saturačním pulsem, a tedy účinnost NRD v LHC PSII, lze stanovit pomocí parametru  $SV_0$  ( $SV_0 = F_0/F_0^* - 1$ , kde  $F_0$  je hodnota minimální fluorescence ve stavu s otevřenými reakčními centry PS II těsně před aplikací saturačního pulsu,  $F_0^*$  je minimální hodnota fluorescence po

odeznění saturačního pulsu). Z analýzy závislosti  $SV_0$  na teplotě vyplývá, že u jehlic smrku je pozorována indukce NRD po aplikaci saturačního světelného pulsu již při teplotě okolo 30°C nebo 32 °C. Naproti tomu u ječmene byly hodnoty  $SV_0$  přibližně nulové a ke zvýšení došlo až při 44 °C. Předpokládáme, že velmi rychlá indukce NRD v LHC II u jehlic smrku zteplého při vyšších teplotách souvisí se zrychlením tvorby gradientu pH v důsledku zvýšené fluidity thylakoidní membrány. V literatuře se uvádí, že vystavení listů ječmene zvýšeným teplotám (40°C) značně zvyšuje NRD (Ilík a kol. 2010). Nicméně prezentována data jasně indikují, že díky postupně se zvyšující teplotě je stimulace indukce NRD více efektivní pro jehlice smrku než pro listy ječmene. Jedním z procesů, které usnadňují konformační změny LHC II nutné pro indukci NRD je světlem indukovaná deepoxidace violaxantinu na zeaxantin (která může být kvantifikována jako deepoxidační stav pigmentů xantofylového cyklu). Potvrdili jsme, že během měření závislosti  $F_V/F_M$  na teplotě dochází k mnohem výraznějšímu zvýšení DEPS u jehlic smrku než u listů ječmene. Kurasová a kol. (2003) publikovali, že na xantofylovém cyklu závislá NRD přispívá k odolnosti PS II proti stresu z vysokého ozáření ve větší míře u jehlic smrku než u listů ječmene. Dále jsme se pokusili zjistit do jaké míry je deepoxidace pigmentů xantofylového cyklu, a tedy i odpovídající účinnost NRD, závislá na rostoucí teplotě ve tmě a do jaké míry je ovlivňována krátkými záblesky intenzivní ozáření (saturačními pulsy). Zjistili jsme, že pokud lineární ohřev asimilačního aparátu probíhal na slabém měřicím světle a saturační puls byl aplikován až při teplotě 46 °C, došlo u listů ječmene, ale především u jehlic smrku k výraznému snížení DEPS a poklesu účinnosti NRD indukované saturačním pulsem při 46 °C. Toto zjištění potvrzuje, že stimulace NRD při vyšších teplotách je závislá na zeaxantinu, a ukazuje, že účinnou deepoxidaci violaxantinu na zeaxantin mohou při vyšších teplotách způsobit i velmi krátké saturační pulsy. Z našich výsledků tedy vyplývá, že u smrku zteplého je při vyšších teplotách světlem indukovaná rychlost deepoxidace minimálně o řád rychlejší než bylo usuzováno na základě předchozích publikovaných experimentů s různými druhy vyšších rostlin při pokojové teplotě. V dalším pokračování mé práce se zaměřím na detailní analýzu vlivu teploty a ozáření na dynamiku deepoxidace violaxanthinu na zeaxantin a rychlost indukce NRD u různých druhů rostlin. Měření budou prováděna jak na rostlinách smrku zteplého a ječmene jarního, tak na rostlinách *Arabidopsis*, u které jsou k dispozici mutanty s defektním xantofylovým cyklem a rovněž mutanty s ovlivněným obsahem PsbS (minoritního proteinu PS II, který se rovněž důležitým faktorem usnadňujícím světlem indukovanou reorganizaci PS II související s NRD).

**Klíčová slova:** *chlorofyl a; fotosystém II; saturační puls; termostabilita, NRD*

### **Poděkování:**

Chtěla bych poděkovat vedoucímu své práce Doc. RNDr. Vladimíru Špundovi, CSc., který se mi věnoval a svým kolegům Bc. Zdeňku Noskovi a Bc. Rostislavu Páníkovi za trpělivost, kterou se mnou v laboratoři měli.

### **Literatura:**

- Štroch M, Kuldová K, Kalina J, Špunda V. Dynamics of the xanthophyll cycle and non-radiative dissipation of absorbed light energy during exposure of Norway spruce to high irradiance. *J Plant Physiol* 2008;165:612-22.
- Ilík P, Kotabová E, Špundová M, Novák O, Kaňa R, Strzalka K. Low-light-induced violaxanthin de-epoxidation in shortly preheated leaves: Uncoupling from  $\Delta$ pH-dependent nonphotochemical quenching. *Photochem Photobiol* 2010; 86:722-6.
- Kurasová I, Kalina J, Urban O, Štroch M, Špunda V (2003) Acclimation of two distinct plant species, spring barley and Norway spruce, to combined effect of various irradiance and CO<sub>2</sub> concentration during cultivation in controlled environment. *Photosynthetica* 2003; 41: 513-523.