

**Agrovoc descriptors:** carotenoids, stress, xanthophylls, resistance to injurious factors, photosensitivity, damage

**Agris category codes:** F62, F60

COBISS koda 1.02

## **Karotenoidi v fotosinteznem aparatu in odziv na stres**

Helena ŠIRCELJ<sup>1</sup>

Received December 19, 2007; accepted May 5, 2008.

Delo je prispelo 19. decembra 2007, sprejeto 5. maja 2008.

### **IZVLEČEK**

Karotenoidi so tetraterpeni, ki so locirani izključno v kloroplastih in kromoplastih. V kloroplastu imajo pomembno vlogo pri zbiranju svetlobe, pri odvajanju odvečne svetlobe iz fotosistema in pri odstranjevanju škodljivih molekul, ki nastajajo kot posledica delovanja stresorjev na rastlino. V članku so predstavljeni kloroplastni karotenoidi in njihova vloga. Poudarjena je vloga in delovanje ksantofilnega cikla v rastlinah v stresu.

**Ključne besede:** karotenoidi, stres,  $\beta$ -karoten, ksantofilni cikel, zeaksantin, violaksantin, anteraksantin

### **ABSTRACT**

#### **CAROTENOIDS IN PHOTOSYNTHETIC APPARATUS AND STRESS RESPONSE**

Carotenoids are tetraterpenes which are exclusively located in chloroplast and chromoplast. Within the chloroplast, carotenoids have important roles in light-harvesting, photoprotection and stress response. Carotenoids in chloroplast are reviewed in this paper. The importance of carotenoids in plants under stress is discussed. The role and function of xanthophyll cycle in plants under stress is pointed out.

**Key words:** carotenoids, stress,  $\beta$ -carotene, xanthophyll cycle, zeaxanthin, violaxanthin, antheraxanthin

### **1 UVOD**

Karotenoidi so najbolj razširjeni rastlinski pigmenti. Najdemo jih v membranah kloroplastov v vseh zelenih tkivih in v stromi kromoplastov v rumeno, oranžno in rdeče obarvanih tkivih. Karotenoidi v kromoplastih služijo za privabljanje opraševalcev in raznašalcev semen in plodov. V kloroplastu pa imajo pomembno vlogo pri zbiranju svetlobe, pri odvajanju odvečne svetlobe iz fotosistema, stabilizaciji pigment-proteinskih kompleksov in membran ter pri odstranjevanju

---

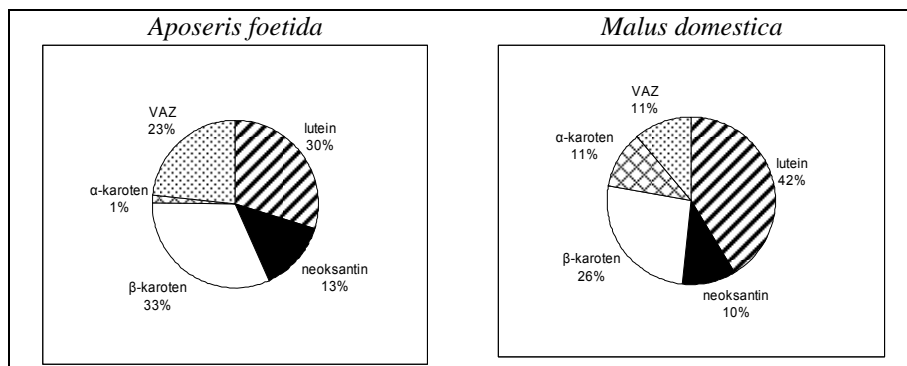
<sup>1</sup> asist. dr., Biotehniška fakulteta, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana, e-pošta: helena.sircelj@bf.uni-lj.si

škodljivih molekul, ki nastajajo kot posledica delovanja stresorjev na rastlino (Rau, 1988; DellaPenna, 1999; Havaux, 1998; Gruszecki, 1999).

V članku so predstavljeni kloroplastni karotenoidi in njihova vloga. Poudarek je predvsem na zaščitni funkciji karotenoidov, ki je zlasti pomembna v razmerah, ki povzročijo v rastlinah stres. Karotenoidi preprečujejo tvorbo škodljivih vrst kisika, ki nastajajo v kloroplastih zaradi delovanja različnih stresorjev. Pogosto je povečanje vsebnosti katerega od zaščitnih karotenoidov del prilagoditvene strategije rastline v stresu. V primeru močnega stresa so zaščitni karotenoidni sistemi preobremenjeni, kar vodi do oksidativnih poškodb karotenoidov in posledično do zmanjšanja vsebnosti teh zaščitnih molekul. V rastlinah v stresu je zato vsebnost karotenoidov lahko kazalec različne jakosti stresa in prilagoditve na stres. Epoksidacijski status ksantofilnega cikla je eden od najboljših kazalcev stresa v rastlini, zato je v prispevku poudarjena vloga in delovanje tega cikla v rastlinah v stresu.

## 2 KAROTENOIDI V KLOROPLASTU

Večina višje razvitih rastlin vsebuje v kloroplastih predvsem naslednje karotenoide:  $\beta$ -karoten, lutein, violaksantin in neoksantin, ter manjše količine zeaksantina, anteraksantina in  $\alpha$ -karotena (Goodwin in Britton, 1988). Razmerja med posameznimi pigmenti v kloroplastu so si podobna pri vseh višjih rastlinah. Za primer je na sliki 1 prikazana procentualna sestava karotenoidov v listih smrdljivega regrata (*Aposeris foetida* (L.) Less. in jablane (*Malus domestica* Borkh.)



**Slika 1:** Procentualni delež posameznih karotenoidov glede na skupne karotenoide v listih smrdljivega regrata (*Aposeris foetida* (L.) Less.) in jablane (*Malus domestica* Borkh.).

**Figure 1:** Contribution in percent of the various carotenoids to total carotenoid content in leaves of odorous pig salad (*Aposeris foetida* (L.) Less.) and apple tree (*Malus domestica* Borkh.).

V tilakoidni membrani kloroplasta se karotenoidi nahajajo v pigment-proteinskih kompleksih in sicer v reakcijskem centru PS I (RC I), PS II (RC II) in antenskih (žetvenih) kompleksih (LHC I in II). V RC I najdemo le  $\beta$ -karoten. Tudi v RC II je ta pigment glavni ali celo edini karotenoid. Poleg njega je v RC II lahko še lutein. LHC I vsebuje lutein, neoksantin, violaksantin in  $\beta$ -karoten. Glavne komponente LHC II pa so ravno tako lutein, neoksantin, violaksantin včasih v zelo majhnih koncentracijah tudi  $\beta$ -karoten. V tilakoidah je večinski karoten  $\beta$ -karoten, najbolj zastopan ksantofil pa je lutein, ki lahko predstavlja več kot polovico vseh karotenoidov v kloroplastu (Green in Durnford, 1996; DellaPenna, 1999). Karotenoide so našli tudi v membranah ovojnice kloroplasta, in sicer večinoma ksantofile (90%), 66,7% teh predstavlja violaksantin (Costes in sod., 1979). Nekateri avtorji menijo, da se karotenoidi v kloroplastih nahajajo izključno v tilakoidah in da so izmerjene vsebnosti v membranah ovojnice kloroplasta izključno posledica priprave vzorcev za analizo teh komponent (Grumbach, 1983).

Biosinteza karotenoidov, ki so po strukturi C40 izoprenoidi ali tetraterpeni, poteka v stromi in sicer po izoprenoidni poti. Začne se z mevalonom, ki se pretvori v izopentenil pirofosfat (C5). Kondenzacija petih molekul izopentenil pirofosfata da geranilgeranil pirofosfat (C20). Sledi kondenzacija dveh molekul geranilgeranil pirofosfata v fitoen (C40) in desaturacija do likopena. Iz likopena lahko s ciklizacijo nastaneta  $\alpha$  in  $\beta$ -karoten. Iz slednjega pa z reakcijami hidroksilacije (zeaksantin) in epoksidacije ksantofili (anteraksantin, violaksantin) (Britton, 1988; Bartley in Scolnik, 1994). Glavni regulator sinteze karotenoidov je svetloba. V kloroplastih na svetlobi najprej nastanejo pigment-protein kompleksi reakcijskega centra in nato antenski (žetveni) kompleksi s ksantofili. Delež posameznega karotenoida je odvisen od svetlobnih razmer. Sinteza in posledično sestava karotenoidov se lahko spreminja tudi pod vplivom drugih okoljskih dejavnikov (Demmig-Adams in sod., 1996; Šircelj, 1999, 2001, 2005, 2007). Primeri vpliva okoljskih dejavnikov na sestav karotenoidov so prikazani na slikah od 2 do 5.

### **3 VLOGA KAROTENOIDOV V KLOROPLASTU**

#### **3.1 Zbiranje svetlobne energije**

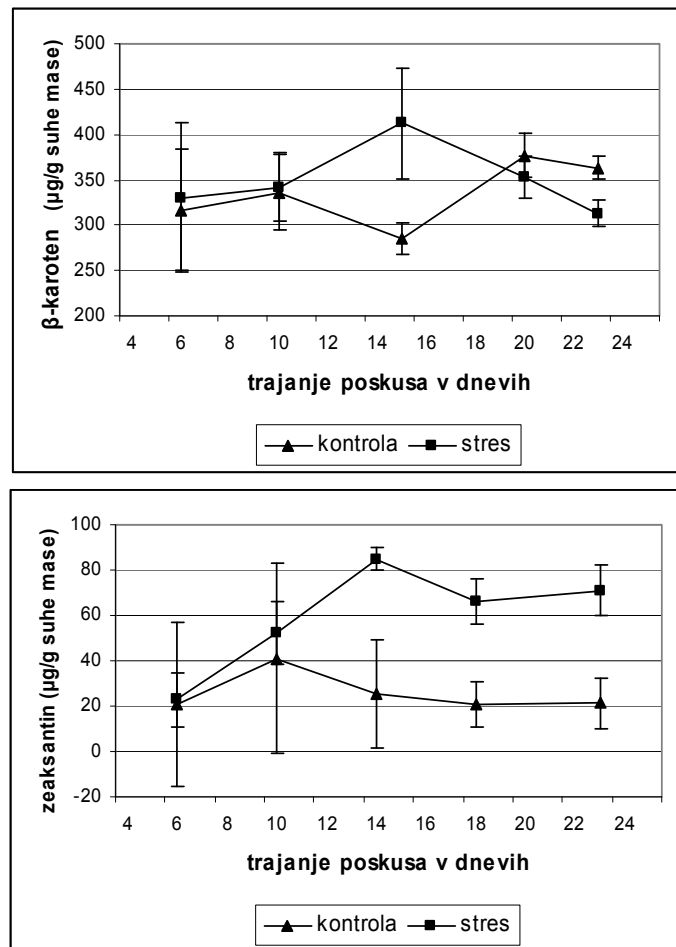
V kloroplastih imajo karotenoidi, v glavnem ksantofili, pomembno vlogo pri zbiranju svetlobe. Sposobni so absorbirati svetlobo v valovnem območju od 400 do 500 nm (modra svetloba) in jo prenesti na klorofile. S tem razširijo spektralni obseg v katerem svetloba lahko poganja fotosintezo. Karotenoid, ki absorbira svetlobno energijo, preide v vzbujeno singlet stanje. To stanje je kratkotrajno, saj nekaj energije odda (toplota) in preide na nižji energetske nivo. Vzburjen karotenid na (delno) znižanem energetske nivoju je ključen za prenos energije na klorofil, ki preide v vzbujeno singlet stanje. Ker so karotenoidi in klorofil v tilakoidah blizu skupaj, je ta prenos je zelo učinkovit. Vzburjeni klorofil lahko bodisi sodeluje v fotokemičnih reakcijah ali odda energijo kot fluorescenco ali toploto in se vrne v nevzbujeno (osnovno) stanje ali pa v najslabšem primeru preide v vzbujeno tripletno stanje. Zbiranje svetlobe je bila verjetno glavna funkcija karotenoidov pri

primitivnih rastlinah, ki so živele v atmosferi z malo kisika (Demmig-Adams in sod., 1996; Siefermann-Harms, 1987).

### 3.2 Odvajane odvečne svetlobne energije in antioksidativna funkcija

Za življenje rastlin, ki živijo v atmosferi z več kisika, je ključna za preživetje druga funkcija karotenoidov – odvajanje odvečne svetlobe iz fotosinteznega aparata. Če fotosintezni aparat sprejema več svetlobne energije kakor je uspe kanalizirati v fotosintezo in pretvoriti v neškodljivo kemično energijo, potem v prisotnosti kisika pride do tvorbe singletnega kisika in škodljivih radikalov, ki lahko poškodujejo celične strukture. Karotenoidi lahko odvečno ekscitacijsko energijo odvedejo kot toploto in tako preprečijo nastanek strupenih fotoproduktov. Če je presežek ekscitacijske energije tako velik, da strupeni fotoprodukti (vzbujeno tripletno stanje klorofila, singletni kisik, superoksid radikal, peroksidi) vseeno nastajajo, karotenoidi zaščitijo fotosintezni aparat pred poškodbami tako, da odstranijo singletni kisik in kisikove radikale, ter, kar je še bolj pomembno, dušijo dolgoživo vzbujeno tripletno stanje klorofila in tako preprečijo nastanek singletnega kisika (Demmig-Adams in sod., 1996; Young, 1991; Siefermann-Harms, 1987; Young in Britton, 1990; Edge in Truscott, 1999). Dušenja tripletnega stanja klorofila in odstranjevanja singletnega kisika so sposobni le karotenoidi z deset ali več konjugiranimi dvojnimi vezmi (Demmig-Adams in Adams, 1996). Poleg zeaksantina naj bi bila odvajanja ekscitacijske energije v obliki toplote sposobna tudi anteraksantin in lutein (Horton in sod., 1999), vendar pa je za slednjega veljalo, da je njegova pozicija v fotosistemu neugodna za sodelovanje v tovrstnih procesih (Gilmore, 1997). Garcia-Plazaola in sod. (2007) so v nedavno objavljenem članku predlagali zanimivo rešitev, ki pojasnjuje kako lahko tudi lutein pomembno prispeva k odvajanju odvečne svetlobne energije iz fotosistema.

$\beta$ -karoten in drugi karotenoidi lahko reagirajo s peroksil radikali. V primeru  $\beta$ -karotena pri tem nastane  $\beta$ -karoten radikal. Če je pri tem prisoten kisik, pride do avtooksidacije  $\beta$ -karotena. V odsotnosti kisika lahko  $\beta$ -karoten radikal reagira z drugim peroksil radikalom. Rezultat reakcije je neaktiven produkt. Odstranitev peroksil radikala pa lahko prepreči ali zaustavi peroksidacijo lipidov.  $\beta$ -karoten je zato učinkovitejši pri nizkem parcialnem tlaku kisika in dopolnjuje delovanje  $\alpha$ -tokoferola, ki je bolj učinkovit pri visokem parcialnem tlaku kisika (Pallet in Young, 1993; Trebst, 2003).



**Slika 2:** Časovni potek sprememb vsebnosti  $\beta$ -karotena in zeaksantina ( $\mu\text{g/g}$  suhe mase) v listih zalivanih jablan (kontrola) in v listih jablan izpostavljenih počasi napredujoči suši (stres: 6 dan - blaga, 10 do 20 dan - zmerna, 23 dan - močna suša) (Šircelj, 1999).

**Figure 2:** Time courses of  $\beta$ -carotene and zeaxanthin ( $\mu\text{g/g}$  dry weight) in leaves of watered (control) apple trees and in leaves of apple trees exposed to slowly progressing drought (stress: mild - day 6, moderate - days 10 to 20, severe - day 23) (Šircelj, 1999).

V določenih primerih (močan stres) so zaščitni karotenoidni sistemi preobremenjeni, kar vodi do oksidativnega stresa in poškodb komponent tilakoidne membrane. Na sliki 2 lahko vidimo primer, ko je močan stres povzročil zmanjšanje vsebnosti  $\beta$ -karotena v listih jablane (Šircelj, 2001). Dovzetnost pigmentov za oksidativne poškodbe oz. bledenje pigmentov ima določeno zaporedje:  $\beta$ -karoten > neoksantin > violaksantin > lutein > klorofil a > klorofil b (Young in Britton, 1990). Karotenoidi so v primeru stresa bolj izpostavljeni kot klorofila, saj

predstavljajo prvo obrambno linijo kot dušilci triplet stanja klorofila in odstranjevalci singletnega kisika.

Rastline se v primeru, ko stres nastopi relativno počasi, na stresne razmere lahko prilagodijo tako, da povečajo intenzivnost sinteze karotenoidov, ki so najbolj pomembni za preprečevanje nastajanja in odstranjevanje škodljivih radikalov. Povečana vsebnost  $\beta$ -karotena in pigmentov ksantofilnega cikla glede na kontrolno stanje kaže na prilagoditev rastline na stresne razmere (slika 2) (Šircelj in sod., 1999; Šircelj in sod., 2005; Šircelj in sod., 2007).

#### 4 CIKLI ZA ODVAJANJE ODVEČNE SVETLOBNE ENERGIJE – KSANTOFILNI CIKLI

V rastlinah je eden od glavnih načinov preprečevanja kopičenja odvečne ekscitacijske energije v fotosinteznem aparatu odvajanje odvečne energije iz zasičenega fotosinteznega aparata v obliki toplote s pomočjo ksantofilnih ciklov, ki pretvarjajo odvečno sončno energijo v toploto že pred nastankom škodljivih oksidantov. Odvajanje energije iz fotosinteznega aparata v obliki toplote je reguliran proces. S povečevanjem gostote fotonskega pretoka (PFD-photon flux density) njegova aktivnost narašča. Povečano odvajanje presežne energije iz fotosinteznega aparata v obliki toplote se pojavi neodvisno od tega ali je presežek energije posledica povečanega PFD ali pa zmanjšanje fotosinteze, ki jo povzročijo razne vrste stresa brez sprememb v PFD. Odvajanje energije seveda zmanjša učinkovitost fotosinteze, vendar je to le majhen strošek v primerjavi s potencialnimi poškodbami, ki jih povzroča presežek ekscitacijske energije v rastlini (Demmig-Adams in Adams, 1993).

Poznanih je šest ksantofilnih ciklov, ki jim pripisujejo sposobnost odvajanja odvečne svetlobne energije iz fotosinteznega aparata:

1. violaksantinski ali ksantofilni cikel v nadaljevanju (3.1), srečamo pri vseh do sedaj preučevanih višjih rastlinah, kakor tudi pri praprotnicah, mahovih, lišajih in nekaterih algah,
2. skrajšani violaksantinski cikel v primitivni algi *Mantoniella squamata* (Manton & Parke), pri katerem gre deepoksidacija samo do anteraksantina in ne do zeaksantina kot v običajnem violaksantinskem ciklu (Goss et al., 1998; Gilmore and Yamamoto 2001),
3. še ne popolnoma raziskan modificiran violaksantinski cikel v rdečih algah iz rodu *Gracilaria* (Rmiki et al., 1996), ki ne vsebuje violaksantina in naj bi tako cikel potekal samo med anteraksantinom in zeaksantinom,
4. lutein-epoksidni cikel opisan najprej v zelenem paradižniku (Rabinowitch et al., 1975, kasneje pa še v zajedalski rastlini *Cuscuta reflexa* Roxb. (Bungard et al., 1999) in v nekaterih drugih rastlinah, kot so npr. lovor in nekatere vrste hrastov (Garcia-Plazaola et al., 2007). V lutein-epoksidnem ciklu se monoepoksid lutein-5,6-epoksid (imenovan tudi taraksantin) pretvarja v lutein v razmerah močne osvetlitve in nato nazaj v lutein-5,6-epoksid, ko se jakost osvetlitve zmanjšuje (Bungard et al. 1999). Za razliko od violaksantinskega cikla, kjer do pretvorb med pigmenti cikla lahko prihaja zelo hitro (minute), je

v lutein-epoksidnem ciklu epoksidacija lutein-epoksida v lutein zelo počasna (dnevi) (Rabinowitch et al., 1975; Bungard et al., 1999; Snyder et al. 2005). Garcia-Plazaola in sodelavci (2007) so šele pred kratkim predlagali zelo verjeten način delovanja tega cikla v rastlinah.

5. diadinoksantinski cikel prisoten v številnih algah (Stransky in Hager, 1970; Pfundel in Bilger, 1994),
6. nedavno odkrit cikel v katerem nastopata sifonaksantin in lutein, opisan samo za zeleno algo *Caulerpa racemosa* (Forsskal) J. Agarth (Raniello et al., 2006).

Pri višjih rastlinah sta od zgoraj naštetih ciklov prisotna le najbolj razširjeni violaksantinski ali ksantofilni cikel in manj razširjeni (taksonomsko vezano; na nivoju družin) in še ne popolnoma raziskani luteinepoksidni cikel. V nadaljevanju je podrobneje opisan violaksantinski cikel.

#### 4.1 Violaksantinski ali ksantofilni cikel

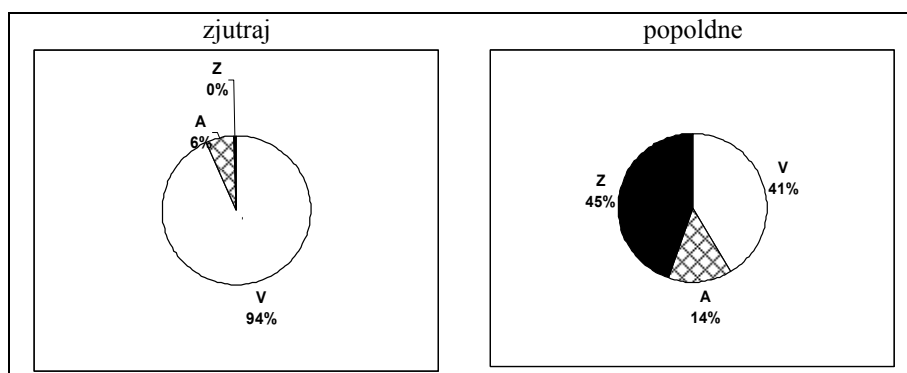
Violaksantinski cikel je prvi odkrit, najpogostejši in najbolj učinkovit od šestih poznanih ksantofilnih ciklov, zato ga v literaturi označujejo kar kot ksantofilni cikel. Ključna molekula mehanizma za odvajanje presežne ekscitacijske energije v tem ciklu je zeaksantin. Zeaksantin naj bi dušil vzbujeno singlet stanje klorofila neposredno ali posredno z vplivom na konformacijo ali agregacijo klorofil-proteinskih kompleksov (Demmig-Adams in Adams, 1992; Horton in sod., 1999).

Pigmenti violaksantinskega cikla nastajajo iz  $\beta$ -karotena. Presežna ekscitacijska energija v fotosinteznem aparatu specifično stimulira  $\beta, \beta$ -karotenoidno pot, kar vodi do kopičenja  $\beta$ -karotena in pigmentov ksantofilnega cikla. Iz  $\beta$ -karotena s hidrosilacijo nastane zeaksantin iz katerega z epoksidacijo nastaneta anteraksantin in violaksantin. V primeru presežka energije se lahko zeaksantin relativno hitro tvori iz violaksantina in anteraksantina v reakciji encimske deepoksidacije (Demmig-Adams in Adams, 1993) in relativno hitro tudi iz  $\beta$ -karotena. Menijo, da je sposobnost za hitre pretvorbe med  $\beta$ -karotenom in pigmenti ksantofilnega cikla povezana z odpornostjo rastline na stres (Demmig in sod., 1988; Depka in sod., 1998).

Končni koraki biosinteze pigmentov ksantofilnega cikla (sinteza zeaksantina iz  $\beta$ -karotena in epoksidacija zeaksantina v anteraksantin in violaksantin) potekajo v ovojnicah membrane kloroplasta. Deepoksidacija violaksantina v anteraksantin in zeaksantin pa poteka izključno v tilakoidah. Verjetno se violaksantin iz membran ovojnice kloroplasta, kjer nastaja prenaša v tilakoide, kjer potekajo vse reakcije ksantofilnega cikla, ki je aktiven tako v PSI kot v PS II (Demmig-Adams in Adams, 1992; Eskling in sod., 1997).

Pretvorbe pigmentov ksantofilnega cikla so edine spremembe karotenoidnega sistema fotosinteznega aparata do katerih prihaja v razmeroma kratkem časovnem intervalu. Pojavijo se kot odziv na spremembe v ravnotežju med absorbcijo svetlobe in uporabo svetlobne energije v fotosinteznem metabolizmu ogljika. Ksantofilni cikel sestavljata dve reakciji, ki ju katalizirata dva različna encima. Vključuje deepoksidacijo diepoksida violaksantina v monoepoksid anteraksantin in

deepoksidacijo tega v zeaksantin, kar katalizira deepoksidaza. Obratno reakcijo katalizira epoksidaza (Demmig-Adams in Adams, 1993). Reakcija deepoksidacije naj bi potekla zelo hitro (v nekaj sekundah), epoksidacija pa počasneje (več minut do več ur) (Demmig-Adams in sod., 1999). *In vivo* je deepoksidacija odvisna od močne osvetlitve, epoksidacijo pa stimulira šibka svetloba. Pri šibki osvetlitvi prevladuje violaksantin, ko pa PFD naraste nad zahteve za saturacijo fotosinteze, se poveča vsebnost zeaksantina (slika 3). Svetlobna regulacija cikla oziroma povezava epoksidacijskega statusa z jakostjo svetlobe je mogoča zaradi lastnosti encimov vključenih v cikel. Deepoksidaza ima pH optimum v kislem, epoksidaza pa v alkalnem (Demmig-Adams in Adams, 1996; Demmig-Adams in sod., 1999). Ker sta oba encima lahko hkrati aktivna na svetlobi, ko je pH lumna tilakoid nizek, pH strome kloroplasta pa visok menijo, da se deepoksidaza nahaja v tilakoidni membrani blizu lumna tilakoid, epoksidaza pa blizu strome. Cikel naj bi potekal v lipidni fazi tilakoidne membrane. Pigmenti cikla naj bi se izmenjevali med antenskim kompleksom in ciklom v membrani (Sarry in sod., 1994; Yamamoto in sod., 1999; Eskling in sod., 1997; Pfundel in Bilger, 1994).



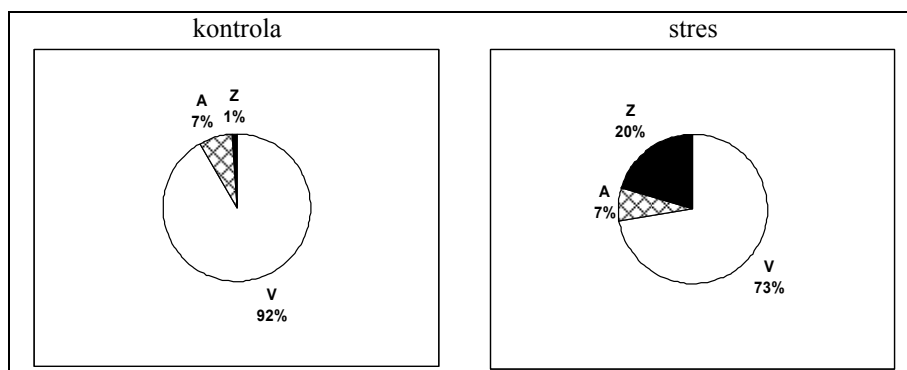
**Slika 3:** Procentualni delež posameznih pigmentov ksantofilnega cikla (zeaksantin (Z), violaksantin (V) in anteraksantin (A)) v listih velike koprive (*Urtica dioica* L.), ki so bili pobrani zgodaj zjutraj (majhen PFD) in v listih, ki so bili pobrani popoldne (velik PFD).

**Figure 3:** Contribution in percent of the single xanthophyll cycle pigment (zeaxanthin (Z), violaxanthin (V) in antheraxanthin (A)) to total xanthophyll cycle pigment content in leaves of Stinging Nettle (*Urtica dioica* L.) collected in the morning (low PFD) or in the afternoon (high PFD).

V reakcije deepoksidacije in epoksidacije pigmentov ksantofilnega cikla je vključen NADPH in sicer neposredno kot kosubstrat v primeru epoksidacije in posredno v primeru deepoksidacije, kjer deluje kot regenerators oksidirane oblike askorbata, ki nastane iz reduciranega askorbata pri deepoksidaciji violaksantina. Poraba NADPH za redukcijo askorbata prispeva k linearnemu elektronskemu transportu in povečanju transtilakoidnega pH gradienta (Demmig-Adams in Adams, 1992; Demmig-Adams in Adams, 1993; Eskling in sod., 1997).



Za delovanje zeaksantina pri odvajanju ekscitacijske energije v obliki toplote je nujno potreben transtilakoidni pH gradient (zmanjšanje pH lumna tilakoid) (Horton in sod., 1999; Yammamoto in sod., 1999), ki nastane kot posledica elektronskega transporta ali/in hidrolize ATP (Gilmore, 1997). Protonski gradient aktivira deepoksidazo in s tem pretvorbo violaksantina v anteraksantin in zeaksantin. Hkrati pa protonski gradient povzroči protonacijo karbonilnih skupin in posledično spremembo konformacije nekaterih proteinov, ki obdajajo pigmente v anteni PSII. Zeaksantin in anteraksantin zaradi spremenjene konformacije proteinov v fotosistemu lahko zavzameta položaj, ki omogoča sprejemanje ekscitacijske energije od molekul klorofila a, ki jo oddata kot toploto (Gilmore, 1997). Baker in sod. (neobj., cit. po Demmig-Adams in sod., 1999) so pri raziskavah ekofiziologije juke v puščavskih razmerah ugotovili, da velika količina zeaksantina ne pomeni vedno manjše fotosinteze, kar potrjuje domnevo, da so za odvajanje odvečne ekscitacijske energije poleg zeaksantina zelo pomembni še drugi dejavniki, npr. transtilakoidni protonski gradient.



**Slika 4:** Procentualni delež posameznih pigmentov ksantofilnega cikla (zeaksantin (Z), violaksantin (V) in anteraksantin (A)) v listih pobranih zgodaj zjutraj (majhen PFD) z zalivanih jablan (kontrola) in z jablan izpostavljenih močni suši (stres).

**Figure 4:** Contribution in percent of the single xanthophyll cycle pigment (zeaxanthin (Z), violaxanthin (V) in antheraxanthin (A)) to total xanthophyll cycle pigment content in leaves collected early in the morning (low PFD) from well watered (control) apple trees (*Malus domestica* Borkh.) or from apple trees exposed to severe drought (stress).

Vsebnost skupnih pigmentov cikla ostaja v normalnih razmerah tekom dneva konstantna, epoksidacijski status pa se spreminja s PFD (slika 3). Odvisen je od ekspozicije lista in od svetlobne saturacijske točke rastline ali lista. Če rastlina ni v stresu, se delež zeaksantina glede na skupne pigmente ksantofilnega cikla in posledično odvajanje presežne ekscitacijske energije v obliki toplote zmanjša z zmanjševanjem PFD (slika 3). V primeru, da je rastlina v stresu, pa lahko ostane delež zeaksantina velik tudi, ko se PFD zmanjšuje (slika 4). Posledica je odvajanje

energije v obliki toplote tudi v primeru majhnega PFD in tako manjša aktivnost fotosinteze. V tem primeru je velik del fotoinhibicije posledica fotozaščite (Demmig in sod., 1988; Demmig-Adams in Adams, 1993; Demmig-Adams in Adams, 1992a; Šircelj 2001). Demmig-Adams in sod. (1999) menijo, da je zadrževanje velike količine zeaksantina v stresnih razmerah lahko posledica sprememb v stereokemiji v pigment-proteinskih kompleksih fotosistemov, do katerih naj bi prišlo med drugim tudi zaradi fosforilacije proteinov v kompleksih, kar je lahko posledica akumulacije ogljikovih hidratov zaradi stresa.

Pri odzivu ksantofilnega cikla na okoljske dejavnike lahko ugotovljamo dva tipa sprememb na ravni pigmentov. Hitre spremembe (v minutah ali urah) vključujejo pretvorbe v obstoječi sestavi pigmentov in so odvisne predvsem od PFD. Spremembe, ki zahtevajo več časa pa vključujejo bodisi zmanjšanje vsebnosti skupnih pigmentov cikla zaradi poškodb in razpada ali pa povečanje vsebnosti skupnih pigmentov v primeru, da gre za adaptacijo na stresne razmere (Demmig-Adams in Adams, 1999).

## 5 LITERATURA

- Bartley G.E., Scolnik P.A. 1994. Molecular biology of carotenoid biosynthesis in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 45: 287-301.
- Britton G. 1988. Biosynthesis of carotenoids. V: Plant pigments. Goodwin T.W.(ed.). London, San Diego, New York, Barkley, Boston, Sydney, Tokyo, Toronto, Academic Press: 133-182.
- Bungard R.A., Ruban A.V., Hibberd J.M., Press M.C., Horton P., Scholes J.D. 1999. Unusual carotenoid composition and a new type of xanthophyll cycle in plants. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 96: 1135-1139.
- Costes C., Burghoffer C., Joyard J., Block M., Douce R. 1979. Occurrence and biosynthesis of violaxanthin in isolated spinach chloroplast envelope. *FEBS Letts.*, 103: 17-21.
- DellaPena D. 1999. Carotenoid synthesis and function in plants: insight from mutant studies in *Arabidopsis thaliana*. V: The photochemistry of carotenoids. Frank H.A., Young A.J., Britton G., Cogdell R.J. (eds.). Dordrecht, Kluwer Academic Publishers: 21-37.
- Demmig B., Winter K., Kruger A., Czygan F.C. 1988. Zeaxanthin and the heat dissipation of excess light energy in *Nerium oleander* exposed to a combination of high light and water stress. *Plant Physiol.*, 87: 17-24.
- Demmig-Adams. B, Adams W. 1992. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.*, 43: 599-626.
- Demmig-Adams B, Adams W. 1992a. Operation of the xanthophyll cycle in higher plants in response to diurnal changes in incident sunlight. *Planta*, 186: 390-398.
- Demmig-Adams B., Adams W.W. 1993. The xanthophyll cycle. V: Antioxidants in higher plants. Alscher R.G., Hess J.L. (eds.). Boca Raton, Florida, CRC Press, Inc: 92-110.

- Demmig-Adams B., Adams W. 1996. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends Plant Sci.*, 1, 1: 21-26.
- Demmig-Adams B., Adams W., Ebbert V., Logan B.A. 1999. Ecophysiology of the xanthophyll cycle. V: The photochemistry of carotenoids. Frank H.A., Young A.J., Britton G., Cogdell R.J. (eds.). Dordrecht, Kluwer Academic Publishers: 245-269.
- Depka B., Jahns P., Trebst A. 1998.  $\beta$ -carotene to zeaxanthin conversion in the rapid turnover of the D1 protein of photosystem II. *FEBS Letts.*, 424: 267-270.
- Edge R., Truscott T.G. 1999. Carotenoid radicals and the interaction of carotenoids with active oxygen species. V: The photochemistry of carotenoids. Frank H.A., Young A.J., Britton G., Cogdell R.J. (eds.). Dordrecht, Kluwer Academic Publishers: 223-234.
- Eskling M., Arvidsson P.-O., Akerlund H.-E. 1997. The xanthophyll cycle, its regulation and components. *Physiol. Plant.*, 100: 806-816.
- Havaux M. 1998. Carotenoids as membrane stabilizers in chloroplasts. *Trends Plant Sci.*, 3: 147-151.
- Horton P., Ruban A.V., Young A.J. 1999. Regulation of the structure and function of the light harvesting complexes of photosystem II by the xanthophyll cycle. V: The photochemistry of carotenoids. Frank H.A., Young A.J., Britton G., Cogdell R.J. (eds.). Dordrecht, Kluwer Academic Publishers: 271-291.
- Garcia-Plazaola JI, Matsubara S, Osmond CB. 2007. *Funct. Plant Biol.*, 34: 759-773.
- Gilmore A.M. 1997. Mechanistic aspects of xanthophyll cycle-dependent photoprotection in higher plant chloroplasts and leaves. *Physiol. Plant.*, 99: 197-209.
- Gilmore AM, Yamamoto HY 2001 Time-resolution of the antheraxanthin- and  $\Delta$ pH-dependent chlorophyll a fluorescence components associated with photosystem II energy dissipation in *Mantoniella squamata*. *Photochem. and Photobiol.*, 74: 291-302.
- Goodwin T.W. 1980. The biochemistry of the carotenoids. Vol. 1: Plants. 2<sup>nd</sup> ed. London, New York, Chapman and Hall: 337 str.
- Goss R 2003 Substrate specificity of the violaxanthin de-epoxidase of the primitive green alga *Mantoniella squamata* (*Prasinophyceae*). *Planta*, 217: 801-812.
- Goss R., Böhme K., Wilhelm C. 1998 The xanthophyll cycle of *Mantoniella squamata* converts violaxanthin into antheraxanthin but not to zeaxanthin: consequences for the mechanism of enhanced non-photochemical energy dissipation. *Planta* 205: 613-621
- Green B.R., Durnford D.G. 1996. The chlorophyll-carotenoid proteins of oxygenic photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 47: 685-714.
- Grumbach K.H. 1983. Distribution of chlorophylls, carotenoids and quinones in chloroplasts of higher plants. *Z. Naturforsch.*, 38: 996-1002.
- Gruszecki W.I. 1999. Carotenoids in membranes. V: The photochemistry of carotenoids. Frank H.A., Young A.J., Britton G., Cogdell R.J. (eds.). Dordrecht, Kluwer Academic Publishers: 363-379.
- Pallet, K.E., Young A.J. 1993. Carotenoids. V: Antioxidants in higher plants. Alscher R.G., Hess J.L. (eds.). Boca Raton, CRC Press: 59-89.

- Pfundel E., Bilger W. 1994. Regulation and possible function of the violaxanthin cycle. *Photosynthesis Res.*, 42: 89-109.
- Rabinowitch H.D., Budowski P., Kedar N. 1975. Carotenoids and epoxide cycles in mature-green tomatoes. *Planta* 122: 91-97.
- Rau W. 1988. Functions of carotenoids other than in photosynthesis. V: Plant pigments. Goodwin T.W. (ed.). London, San Diego, New York, Barkley, Boston, Sydney, Tokyo, Toronto, Academic Press: 231-255.
- Raniello R., Lorenti M., Brunet C., Buia M.C. 2006. Photoacclimation of the invasive alga *Caulerpa racemosa* var. *Cylindracea* to depth and daylight patterns and putative new role for siphonaxanthin. *Mar. Ecol.* 27:20-30.
- Rmiki N.E., Brunet C., Cabioch J., Lemoine Y. 1996. Xanthophyll-cycle and photosynthetic adaptation to environment in macro- and microalgae. *Hydrobiol.*, 326-327: 407-413.
- Sarry J.-E., Montillet J.-L., Sauvaire Y., Havaux M. 1994. The protective function of the xanthophyll cycle in photosynthesis. *FEBS Letts.*, 353:147-150.
- Siefermann-Harms D. 1987. The light-harvesting and protective functions of carotenoids in photosynthetic membranes. *Physiol. Plant.*, 69: 561-568.
- Snyder A.M., Clark B.M., Bungard R.A. 2005. Light-dependent conversion of carotenoids in the parasitic angiosperm *Cuscuta reflexa*. *Plant Cell Env.*, 28: 1326-1333.
- Stransky H, Hager A. 1970. The carotenoid pattern and the occurrence of the light-induced xanthophyll cycle in various classes of algae. VI. Chemosystematic study. *Arch. Mikrobiol.* 73: 315-323.
- Šircelj H. 2001. Ugotavljanje sušnega stresa pri jablani (*Malus domestica* Borkh.) z izbranimi biokemičnimi in fiziološkimi kazalci. Doktorska disertacija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta: 164 s.
- Šircelj H., Batič F., Štampar F. 1999. Effects of drought stress on pigment, ascorbic acid and free amino acids content in leaves of two apple tree cultivars. *Phyton*, 39: 97-100.
- Šircelj H., Tausz M., Grill D., Batič F. 2005. Biochemical responses in leaves of two apple tree cultivars subjected to progressing drought. *J. Plant. Physiol.*, 162: 1308-1218.
- Šircelj H., Tausz M., Grill D., Batič F. 2007. Detecting different levels of drought stress in apple tree (*Malus domestica* Borkh.) with selected biochemical and physiological parameters. *SciHort*, 113: 362-369.
- Trebst A. 2003. Function of  $\beta$ -Carotene and tocopherol in photosystem II. *Z. Naturforsch.* 58c: 609-620.
- Yamamoto H.Y., Bugos R.C., Hieber A.D. 1999. Biochemistry and molecular biology of the xanthophyll cycle. V: The photochemistry of carotenoids. Frank H.A., Young A.J., Britton G., Cogdell R.J. (eds.). Dordrecht, Kluwer Academic Publishers: 293-303.
- Young A., Britton G. 1990. Carotenoids in stress. V: Stress responses in plants: adaptation and acclimation mechanisms. Alscher R.G., Cumming J.R. (eds.). New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, Wiley-Liss: 87-112.