

MAGDALENA RYBUS-ZAJĄC

Katedra Fizjologii Roślin
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

WPLYW ZWIĘKSZONEGO PROMIENIOWANIA UV-B NA POZIOM BARWNIKÓW CHLOROPLASTOWYCH W ROŚLINACH CISA POSPOLITEGO (*TAXUS BACCATA* L.)

Streszczenie. W pracy badano wpływ zwiększonego promieniowania UV-B (16 kJ/m² w ciągu doby) na poziom chlorofilu *a*, *b* oraz karotenoidów w igłach bieżących i z poprzedniego roku dwu- i trzyletnich roślin cisa pospolitego (*Taxus baccata*). Zawartość barwników w czasie trwania doświadczenia zmieniała się. W roślinach dwuletnich promieniowanie UV-B spowodowało niewielki wzrost całkowitej zawartości chlorofilu oraz silny wzrost zawartości karotenoidów, natomiast w roślinach trzyletnich – zmniejszenie zawartości chlorofilu i karotenoidów.

Słowa kluczowe: barwniki chloroplastowe, radiacja, *Taxus baccata* L.

Wstęp

Rośliny iglaste powszechnie rosnące w ekosystemach naturalnych, jak i uprawiane na wszelkiego typu terenach zieleni, należą do stosunkowo odpornych na zmienne warunki środowiska. Jednak w ostatnich latach zaobserwowano wzrost ich zachorowalności, a pierwszymi objawami chorobowymi jest najczęściej żółknięcie igieł, następnie ich brązowienie i przedwczesne opadanie (KOZŁOWSKA i IN. 2002, RYBUS-ZAJĄC 2005).

Jednym z abiotycznych czynników środowiska mogącym negatywnie oddziaływać na zdrowotność roślin jest silne promieniowanie UV-B. Konsekwencją oddziaływania UV są liczne efekty destrukcyjne u roślin, tj. zahamowanie podziałów komórkowych, zmiany w strukturze białek (wtórne następstwo to utrata właściwości błon cytoplazmatycznych) i kwasów nukleinowych (STAPLETON 1992, HOLLÓSY 2002). Inne zmiany to rozwarstwienie się błon tylakoidów, zmiany właściwości tonoplastu i plazmolemy, produkcja aktywnych form tlenu (DECKMYN i IMPENS 1998). Ponadto obserwowane jest spowolnienie wzrostu roślin, a w szczególności powierzchni liści i biomasy (JANSEN i IN. 1998, HOLLÓSY 2002, FLINT i CALDWELL 2003, HEISLER i IN. 2003). Badania nad reagowaniem roślin na promieniowanie UV-B wykazują, iż rośliny wykształciły szereg

mechanizmów obronnych. Stwierdzono m.in. wzmożoną syntezę i gromadzenie się związków fenolowych, w tym flawonoidów, które spełniają funkcję filtra, zmniejszając ilość promieniowania dochodzącego do komórek mezofilu. Organelle komórkowe leżące w głębszych warstwach liści są w ten sposób chronione przed uszkodzeniami.

Liczne badania dowodzą, że zwiększone promieniowanie może powodować w roślinach zaburzenia związane z przebiegiem fotosyntezy. Dotyczą one m.in. zmian w zawartości barwników chloroplastowych (zmniejszenie lub zwiększenie), co jednak jest zależne od innych czynników środowiskowych, jak i samej rośliny: jej pochodzenia, zmienności genetycznej, wieku i możliwości adaptacyjnych (DUBÉ i BORNMAN 1992, YAKIMCHUK i HODDINOTT 1994, ROBAKOWSKI i LAITAT 1999, KAKANI i IN. 2003, WYKA i IN. 2008).

Celem niniejszej pracy było sprawdzenie, czy zwiększone promieniowanie UV-B wpływa na poziom barwników chloroplastowych: chlorofilu *a* i *b* i karotenoidów w zróżnicowanych wiekowo roślinach cisa.

Material i metody

Materiał badawczy stanowiły dwu- i trzyletnie rośliny cisa pospolitego (*Taxus baccata* L.). Rośliny rosły w doniczkach w podłożu złożonym z torfu wysokiego i kory sosnowej drobnomielonej zmieszanych w stosunku objętościowym 1:1, o pH 5,0. Przy przygotowaniu podłoża dodano nawóz Osmocote Plus 6 M w ilości 2 g/m³ mieszanki.

Rośliny do momentu rozpoczęcia doświadczenia rosły w szklarni. Na przełomie maja i czerwca umieszczono je w kontrolowanych warunkach wzrostu (kamera fitotronowa). Rośliny rosące w temperaturze 22/18°C (dzień/noc) poddawano działaniu promieniowania fotosyntetycznie czynnego przez 14 h na dobę (PPFD 120 μmoli/m²/s). Stosowano lampy fluorescencyjne Philips TLD 58W/84. Natężenie PAR mierzono za pomocą fitofotometru FF-01 (Sonopan). Stres wprowadzano poprzez dodatkowe traktowanie roślin promieniami UV-B za pomocą lamp Philips TL' 20W/0.1 RS (maksymalnie 315 nm) o natężeniu 16 kJ/m² na dobę (555 mW/m²) przez 8 h w ciągu doby. Promieniowanie UV-B mierzono za pomocą radiometru VLX 3W.

Materiał do analiz stanowiły igły bieżące i z poprzedniego roku roślin dwu- i trzyletnich kontrolnych oraz traktowanych UV-B przez trzy lub cztery tygodnie. Próby pobierano w kilku terminach, w odstępach tygodniowych: roślin dwuletnich w czterech terminach, a roślin trzyletnich w pięciu terminach. Termin pierwszy to tzw. termin zerowy (w tym dniu pobrano próby – igły, a następnie poddano rośliny działaniu czynnika stresowego).

Oznaczenie poziomu barwników wykonano metodą, pozwalającą na wyekstrahowanie z materiału roślinnego barwników za pomocą sulfotlenku dimetylu (DMSO) bez maceracji tkanki (HISCOX i ISRAELSTAM 1979). Naważki igieł (po 100 mg) cięto na 2-3-milimetrowe odcinki, traktowano 5 cm³ DMSO i pozostawiano na 24 h w ciemności, w temperaturze pokojowej. Następnie tkanki inkubowano w łaźni wodnej w temperaturze 65°C przez 30 min. W otrzymanym ekstrakcie oznaczono spektrofotometrycznie zawartość poszczególnych barwników przy odpowiedniej długości fali. Dla chlorofilu *a* pomiar absorbancji ekstraktu wykonano przy fali o długości 663 nm, dla chlorofilu *b* – przy fali o długości 645 nm, a dla karotenoidów przy fali o długości 470 nm. Zawartość

barwników wyliczono według wzorów ARNONA (1949). Koncentrację poszczególnych barwników podano w miligramach na 1 g świeżej masy.

Statystyka. Dla uzyskanych wyników obliczono średnie arytmetyczne z trzech powtórzeń, dla których obliczono także odchylenia standardowe. Wykonano też za pomocą testu Tukeya analizę wariancji, wykazując istotne statystycznie różnice między kontrolą a stresem. Test Tukeya pozwala wykryć różnicę na dwóch poziomach istotności: $\alpha < 0,05$ – różnice istotne, $\alpha < 0,01$ – różnice wysoce istotne.

Wyniki

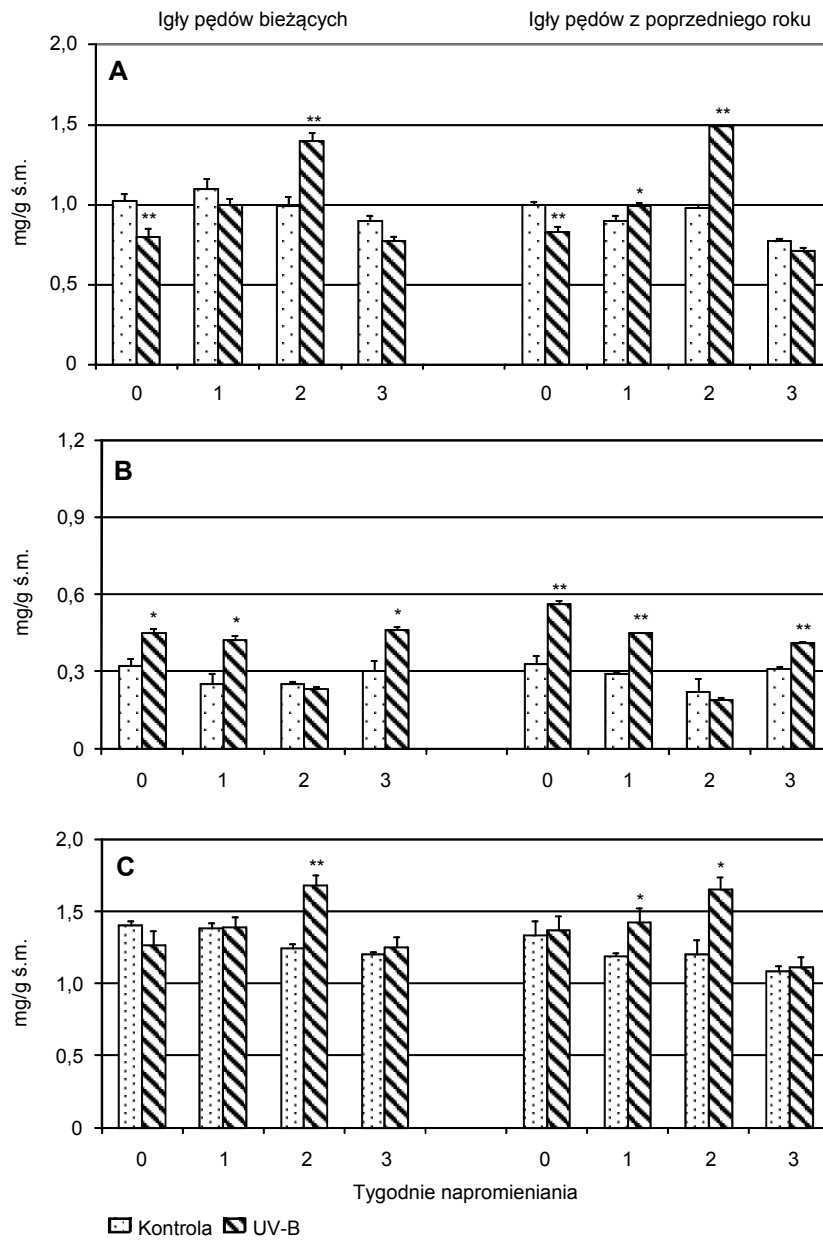
Przeprowadzone doświadczenie miało na celu zbadanie poziomu barwników chloroplastowych: chlorofilu *a* i *b* oraz karotenoidów w zróżnicowanych wiekowo igłach cisa pospolitego, poddanych działaniu zwiększonej radiacji, co mogło rzutować na występowanie zmian o charakterze chorobowym.

W doświadczeniu nie stwierdzono wizualnych zmian – odbarwienia, żółknięcia – na igłach cisa. Zawartość chlorofilu *a* w kontroli w igłach pędów roślin dwuletних bieżących i z poprzedniego roku zawierała się w przedziałach 1,02-0,90 i 1,00-0,77 mg/g ś.m. W kombinacji UV-B było to – odpowiednio – 0,80-0,77 i 0,83-0,71 mg/g ś.m. W odniesieniu do kontroli zawartość chlorofilu *a* wynosiła: 79, 91, 141 i 86% oraz 83, 110, 152 i 92%. Zawartość barwnika po napromienieniu rośla przez pierwsze dwa tygodnie, a w trzecim tygodniu zmniejszyła się (rys. 1 A). W roślinach trzyletnich zawartość chlorofilu *a* w kontrolnych igłach pędów bieżących i z poprzedniego roku była zbliżona i zawierała się przedziałach 1,02-0,99 i 0,95-0,97 mg/g ś.m. Po napromienieniu zawartość chlorofilu *a* w igłach bieżących wynosiła w stosunku do kontroli: 65, 66, 72, 83 i 35%, a w igłach z poprzedniego roku: 91, 90, 71, 82 i 58%; przez trzy tygodnie trwania doświadczenia podlegała niewielkim zmianom, w czwartym tygodniu drastycznie się zmniejszyła (rys. 2 A).

W roślinach dwuletних zawartość chlorofilu *b* w igłach pędów bieżących i z poprzedniego roku po napromienieniu zmieniała się w miarę trwania doświadczenia; w porównaniu z kontrolą wynosiła: 140, 168, 92 i 153% oraz 169, 155, 86 i 132% (rys. 1 B). W roślinach trzyletnich zawartość chlorofilu *b* zmniejszała się sukcesywnie i w odniesieniu do kontroli wynosiła 69, 69, 63, 66 i 36% w igłach bieżących oraz 91, 96, 69, 70 i 68% w igłach z poprzedniego roku (rys. 2 B).

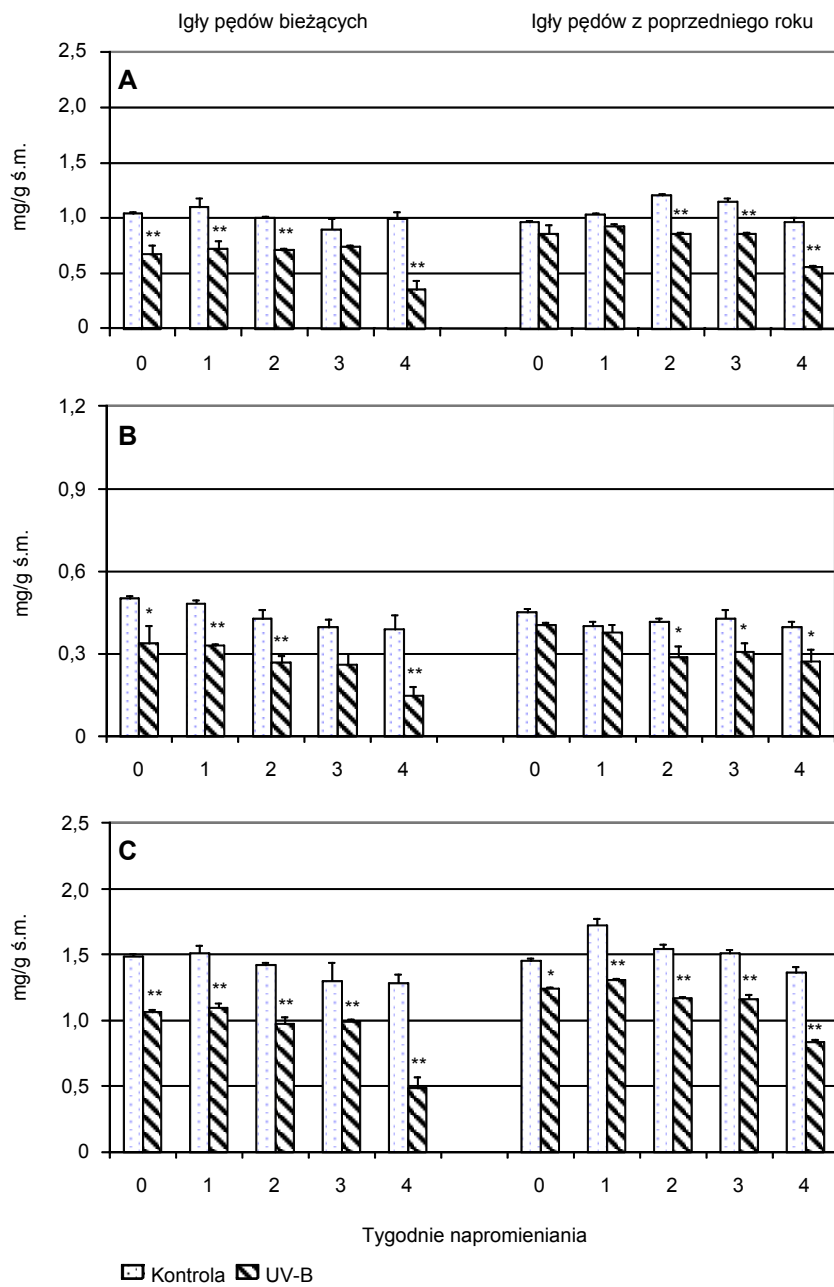
Zmiany zawartości chlorofilu *a* i *b* w kolejnych terminach doświadczenia wpłynęły na sumaryczną zawartość chlorofilu: w roślinach dwuletних odnotowano wzrost zawartości całkowitej chlorofilu w dwóch pierwszych tygodniach zwiększonej radiacji, jednak ostatecznie stwierdzono dość znaczne zmniejszenie do poziomu kontroli (rys. 1 C). W przypadku roślin trzyletnich całkowita zawartość chlorofilu w miarę wydłużającego się czasu napromienienia stopniowo i powoli się zmniejszała (rys. 2 C).

Analiza poziomu karotenoidów w igłach roślin dwuletних wykazała wzrost ich zawartości do drugiego tygodnia po napromienieniu. W igłach bieżących i z poprzedniego roku zawartość ta w odniesieniu do kontroli stanowiła: 54, 82, 116 i 100% oraz 56, 79, 117 i 105% (rys. 3 A). W przypadku roślin trzyletnich zawartość karotenoidów stopniowo się zmniejszała i wynosiła w kombinacjach odpowiednio 97, 74, 80, 90 i 53% kontroli oraz 80, 84, 82, 92 i 51% kontroli (rys. 3 B).



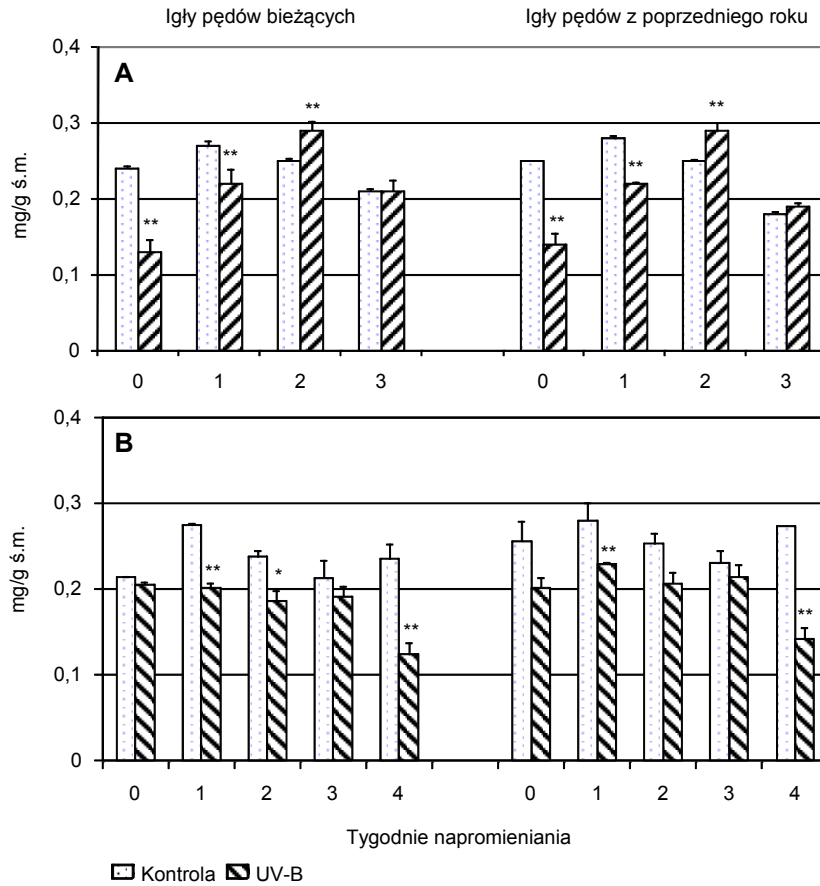
Rys. 1. Zawartość chlorofilu *a* (A), *b* (B) oraz *a + b* (C) w igłach roślin dwuletних cisa pospolitego (* $\alpha < 0,05$, ** $\alpha < 0,01$)

Fig. 1. Content of chlorophyll *a* (A), *b* (B) and *a + b* (C) in needles of two-year-old plants of common yew (* $\alpha < 0.05$, ** $\alpha < 0.01$)



Rys. 2. Zawartość chlorofilu *a* (A), *b* (B), oraz *a + b* (C) w igłach roślin trzyletnich cisa pospolitego (* $\alpha < 0,05$, ** $\alpha < 0,01$)

Fig. 2. Content of chlorophyll *a* (A), *b* (B) and *a + b* (C) in needles of three-year-old plants of common yew (* $\alpha < 0.05$, ** $\alpha < 0.01$)



Rys. 3. Zawartość karotenoidów w igłach roślin dwuletnich (A) i trzyletnich (B) cisa pospolitego (* $\alpha < 0,05$, ** $\alpha < 0,01$)

Fig. 3. Content of carotenoids in needles of two-year-old (A) and three-year-old (B) plants of common yew (* $\alpha < 0.05$, ** $\alpha < 0.01$)

Dyskusja

W przeprowadzonym doświadczeniu wykazano, że w igłach cisa pospolitego ilość chlorofilu w roślinach dwuletnich podlegała większym zmianom niż w trzyletnich, gdzie zawartość barwników była bardziej stabilna. Promieniowanie UV-B w roślinach dwuletnich powodowało znaczący wzrost, a w trzyletnich spadek zawartości barwników karotenoidowych. Nie obserwowano natomiast na igłach zmian o charakterze chorobowym.

Wzrost ilości chlorofilu *a* w początkowym okresie doświadczenia w igłach roślin dwuletnich mógł prawdopodobnie wynikać z jego wzmożonej syntezy w czasie rozwoju wegetatywnego roślin (okres późnowiosenny). Destrukcyjny wpływ promieniowania UV-B zaobserwowano dopiero po dłuższym czasie trwania stresu. Wzrost poziomu

chlorofilu w najmłodszych liściach cisa może też wskazywać na stosunkowo dużą tolerancję najmłodszych części roślin na zwiększone promieniowanie ultrafioletowe. Wynik ten jest zgodny z wynikami pracy LAVOLI i IN. (2003), którzy stwierdzili wzrost zawartości chlorofilu pod wpływem promieniowania UV-B w igłach młodych sadzonek sosny zwyczajnej. Podobny efekt uzyskali ROBAKOWSKI i MODRZYŃSKI (2000) u świerka pospolitego po 30 dniach ekspozycji na UV-B oraz BRZEZIŃSKA i IN. (2006) u cisa pospolitego oraz jałowca pospolitego poddanych działaniu promieniowania UV-B w dawce 16 kJ/m² w ciągu doby. Tendencję do wzrostu zawartości chlorofilu pod wpływem UV-B stwierdzono u różnych innych gatunków drzew iglastych pochodzących z wyżej położonych stanowisk (ponad 1000 m n.p.m.) (ROBAKOWSKI i LAITAT 1999). ROBAKOWSKI i LAITAT (1999) sugerują ponadto, że podwyższony poziom chlorofilu po traktowaniu UV-B może być w tym przypadku elementem przyczyniającym się do adaptacji roślin na zwiększone promieniowanie UV. Badania prowadzone na roślinach zielnych wykazują często znaczne zmniejszenie zawartości barwników chloroplastowych (NEDUNCHEZHIAN i KULANDAIVELU 1997, GABERŠČIK i IN. 2002, SMITH i IN. 2000). Przyczyną rozbieżności jest prawdopodobnie zróżnicowana tolerancja roślin na stres radiacyjny. Rośliny iglaste generalnie są uważane za raczej mniej wrażliwe na zwiększone promieniowanie ultrafioletowe (DAY i IN. 1992). Może to być związane z budową i ułożeniem liści, obecnością kutykuli oraz pochodzeniem roślin (ROBAKOWSKI i LAITAT 1999).

W badaniach wykonanych w pracy zaobserwowano wzrost zawartości karotenoidów u roślin najmłodszych w następstwie oddziaływania UV-B. Podobny efekt również u cisa pospolitego obserwowali WYKA i IN. (2008), ale przy niższym poziomie radiacji. ŠPRTOVA i IN. (1999) prowadzili trzyletnie badania na kilkuletnich świerkach poddanych działaniu UV-B. Analizy wykazały wzrost zawartości karotenoidów w czerwcu przy wyższym poziomie radiacji, natomiast zmniejszenie w stosunku do roślin kontrolnych we wrześniu. Wykazany w niniejszych badaniach podwyższony poziom karotenoidów, jak i obserwowany przez ROBAKOWSKIEGO i LAITATA (1999) podwyższony poziom karotenoidów i flawonoidów (barwników ekranizujących) może być, jak sugerują wymienieni autorzy, podstawą utrzymania procesu fotosyntezy w warunkach intensywnego promieniowania UV-B na stabilnym poziomie. W literaturze wykazano ponadto, iż wrażliwość roślin na zwiększone napromienienie UV zależy od ilorazu natężenia UV-B/PAR oraz że duże natężenie promieniowania fotosyntetycznie czynnego minimalizuje ewentualne uszkodzenia wywołane promieniowaniem UV-B (DECKMYN i IN. 1994, LAAKSO i HUTTUNEN 1998).

Wnioski

1. Stwierdzono modyfikujący wpływ zwiększonego promieniowania UV-B na zawartość barwników chloroplastowych w igłach cisa pospolitego: zwiększenie zawartości barwników w roślinach dwuletnich i zmniejszenie w trzyletnich.
2. Efekt oddziaływania promieniowania UV-B w roślinach dwuletnich był krótkotrwały.
3. W roślinach trzyletnich, pomimo że w końcowej fazie doświadczenia zawartość barwników zmniejszyła się, ich poziom był bardziej stabilny niż w roślinach dwuletnich.

Literatura

- ARNON D.J., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. 24: 1-15.
- BRZEZIŃSKA E., KOZŁOWSKA M., STACHOWIAK J., 2006. Response of three conifer species to enhanced UV-B radiation; consequences for photosynthesis. Pol. J. Environ. Stud. 15, 4: 531-536.
- DAY A.T., VOGELMANN T.C., DE LUCIA E.H., 1992. Are some plant life forms more effective than others in screening out ultraviolet-B radiation? Oecologia 92: 513-519.
- DECKMYN G., IMPENS I., 1998. Effects of solar UV-B irradiation on vegetative and generative growth of *Bromus catharticus*. Environ. Exp. Bot. 40: 179-185.
- DECKMYN G., MARTENS C., IMPENS I., 1994. The importance of the ratio UV-B/photosynthetic active radiation (PAR) during leaf development as determining factor of plant sensitivity to increased UV-B irradiance: effects on growth, gas exchange and pigmentation of bean plants (*Phaseolus vulgaris* cv. Label). Plant Cell Environ. 17: 295-301.
- DUBÉ L.S., BORNMAN F.J., 1992. Response of spruce seedlings to simultaneous exposure to ultraviolet-B radiation and cadmium. Plant Physiol. Biochem. 30: 761-767.
- FLINT S.D., CALDWELL M.M., 2003. A biological spectral weighting function for ozone depletion research with higher plants. Physiol. Plant. 117: 137-144.
- GABERŠČIK A., VONČINA M., TROŠT T., GERM M., BJÖRN L.O., 2002. Growth and production of buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) treated with reduced, ambient and enhanced UV-B radiation. J. Photochem. Photobiol. B 66: 30-36.
- HEISLER G.M., GRANT R.H., GAO W., 2003. Ultraviolet radiation and its impacts on agriculture and forests. Agric. For. Meteorol. 120: 3-7.
- HISCOX J.D., ISRAELSTAM G.F., 1979. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. Can. J. Bot. 57: 1332-1334.
- HOLLÓSY F., 2002. Effects of ultraviolet radiation on plant cells. Micron 33: 179-197.
- JANSEN M.A.K., GABA V., GREENBERG B.M., 1998. Higher plants and UV-B radiation: balancing damage, repair and acclimation. Trends Plant Sci. 3, 4: 131-135.
- KAKANI V.G., REDDY K.R., ZHAO D., SAILAJA K., 2003. Field crop responses to ultraviolet-B radiation: a review. Agric. For. Meteorol. 120: 191-218.
- KOZŁOWSKA M., RYBUS-ZAJĄC M., GNIAZDOWSKA-SKOCZEK H., 2002. Reakcja metaboliczna *Taxus baccata* L. na porażenie grzybem *Pestalotiopsis funerea* Desm. w zależności od warunków siedliskowych. Acta Agrobot. 55, 1: 149-155.
- LAAKSO K., HUTTUNEN S., 1998. Effects of the ultraviolet-B radiation (UV-B) on conifers: a review. Environ. Pollut. 99: 319-328.
- LAVOLA A., APHALO P.J., LAHTI M., JULKUNEN-TIITTO R., 2003. Nutrient availability and the effect of increasing UV-B radiation on secondary plant compounds in Scots pine. Environ. Exp. Bot. 49: 49-60.
- NEDUNCHEZHIAN N., KULANDAIVELU G., 1997. Changes induced by ultraviolet-B (280-320 nm) radiation to vegetative growth and photosynthetic characteristics in field grown *Vigna unguiculata* L. Plant Sci. (Lucknow) 123: 85-92.
- ROBAKOWSKI P., LAITAT E., 1999. Effects of an enhanced ultraviolet-B irradiation on photosynthetic apparatus of several forest coniferous tree species from different locations. Acta Physiol. Plant. 21: 283-296.
- ROBAKOWSKI P., MODRZYŃSKI J., 2000. Altitudinal trends in needle chlorophyll content and chlorophyll fluorescence of Norway spruce (*Picea abies* Karst.) seedlings exposed to increased ultraviolet-B radiation. Pol. J. Ecol. 48: 49-62.
- RYBUS-ZAJĄC M., 2005. Oxidative stress generation in *Taxus baccata* leaves affected by *Pestalotiopsis funerea* Desm. under different light conditions. Dendrobiology 54: 51-56.
- SMITH J., BURRITT D., BANNISTER P., 2000. Shoot dry weight, chlorophyll and UV-B absorbing compounds as indicators of a plants sensitivity to UV-B radiation. Ann. Bot. 86: 1057-1063.

Rybus-Zajac M., 2010. Wpływ zwiększonego promieniowania UV-B na poziom barwników chloroplastowych w roślinach cisa pospolitego (*Taxus baccata* L.). *Nauka Przyr. Technol.* 4, 3, #38.

- ŠPRTOVA M., MAREK M.V., NEDBAL L., PRÁŠIL O., KALINA J., 1999. Seasonal changes of photosynthetic assimilation of Norway spruce under the impact of enhanced UV-B radiation. *Plant Sci.* 142: 37-45.
- STAPLETON A.E., 1992. Ultraviolet radiation and plants: burning questions. *Plant Cell* 4: 1353-1358.
- WYKA T., ROBAKOWSKI P., ZYTKOWIAK R., 2008. Leaf age as a factor in anatomical and physiological acclimative responses of *Taxus baccata* L. needles to contrasting irradiance environments. *Photosynth. Res.* 95: 87-99.
- YAKIMCHUK R., HODDINOTT J., 1994. The influence of ultraviolet-B light and carbon dioxide enrichment on the growth and physiology of seedlings of three conifer species. *Can. J. For. Res.* 24: 1-8.

THE INFLUENCE OF ENHANCED UV-B RADIATION ON THE CHLOROPLAST PIGMENTS LEVEL IN COMMON YEWE (*TAXUS BACCATA* L.) PLANTS

Summary. An influence of the UV-B radiation (16 kJ/m² during 24 h) on the level of chlorophyll *a* and *b*, as well as carotenoids in current-year-needles and previous-year-needles two- and three-year-old common yew (*Taxus baccata*) plants was examined. In the paper contents of pigments changed during the experiment time. The UV-B radiation caused an increase of total content of chlorophylls and a strong increase of carotenoids in two-year-old plants, while contents of chlorophylls and carotenoids were decreased in three-year-old plants.

Key words: chloroplast pigments, irradiation, *Taxus baccata* L.

Adres do korespondencji – Corresponding address:

Magdalena Rybus-Zajac, Katedra Fizjologii Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wołyńska 35, 60-637 Poznań, Poland, e-mail: magrybus@up.poznan.pl

Zaakceptowano do druku – Accepted for print:
25.03.2010

Do cytowania – For citation:

Rybus-Zajac M., 2010. Wpływ zwiększonego promieniowania UV-B na poziom barwników chloroplastowych w roślinach cisa pospolitego (*Taxus baccata* L.). *Nauka Przyr. Technol.* 4, 3, #38.