

УДК 581.524.577.342

**ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА АНТОЦИАНОВ В ЛЕПЕСТКАХ  
*IPOMOEA PURPUREA*, ПОДВЕРГШИХСЯ УФ-ОБЛУЧЕНИЮ,  
КАК КРИТЕРИЙ ДЕГРАДАЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ В КЛЕТКЕ**

**А.Н. БЕРЕСТЯНАЯ, Д.М. ГРОДЗИНСКИЙ**

*Институт клеточной биологии и генетической инженерии Национальной  
академии наук Украины  
03143 Киев, ул. Академика Заболотного, 148*

Исследована динамика содержания антоцианов в процессе старения лепестков *Ipotoea purpurea*, характеризующая скорость деградационных процессов в клетке. Проанализировано воздействие разных доз УФ-В-облучения на скорость возрастной деградации антоцианов. Показано, что в пределах исследованного диапазона УФ-облучения только одна доза — 12,6 кДж/м<sup>2</sup> способствовала замедлению темпов распада антоцианов. Обсуждены вероятные механизмы, связывающие старение и деградацию пигментов.

*Ключевые слова:* *Ipotoea purpurea* (L.) Roth, антоцианы, УФ-В-облучение, монокарпические растения, динамика старения.

Среди многих глобальных экологических проблем биосферы наиболее актуальной остается проблема разрушения озонового слоя и как следствие — повышение уровня биологически опасного УФ-излучения. За последние 20 лет содержание озона в атмосфере уменьшилось на 4 % и продолжает снижаться. Известно, что уменьшение количества озона на 1 % приводит к повышению уровня УФ-излучения, достигающего поверхности Земли, на 2 % [5]. По оценкам некоторых экспертов, скорость убывания озона в атмосфере Земли ныне достигла 0,5 % в год [8]. При сохранении таких темпов его уменьшения уровень УФ-радиации будет повышаться. В результате растения и животные могут быть подвергнуты не только более интенсивному УФ-облучению, но и воздействию более жестких (коротковолновых) лучей. Их повреждающее воздействие способно ослабить сформированные в ходе эволюции механизмы защиты растений от УФ-В-радиации, привести к нарушению физиологических и биохимических процессов. При полном отсутствии озонового экрана в атмосфере гибель всех растений нашей планеты наступила бы уже через 2—3 сут непрерывного облучения [5]. В связи с этим возрастает роль исследований по изучению реакции растений на повышающийся уровень УФ-В-радиации.

УФ-В-радиация, влияя на экспрессию генов, вызывает индукцию целого ряда защитных механизмов: образование УФ-В-поглощающих пигментов, синтез полиаминов, защищающих нуклеиновые кислоты, повышение активности антиоксидантных ферментов и индукцию патогенезрегулируемых белков. Пути трансдукции сигналов, с помощью которых УФ-В регулирует экспрессию генов во всех этих процессах, изучены недостаточно [6].

Как известно, одним из главных механизмов защиты растений от УФ-излучения является накопление флавоноидных соединений, которые поглощают излучение именно в этой области. Наибольшее влияние на синтез флавоноидов, в частности антоцианов, имеет УФ-излучение в области 280—320 нм (УФ-В). Сами антоцианы поглощают его в области 265—280 нм [4]. Наличие этих соединений в тканях эпидермиса и вокруг хлоропластов в мезофилле листьев снижает вероятность возникновения радиационно индуцированных повреждений [7].

В то же время известно, что содержание антоцианов в процессе старения растения уменьшается. Это обусловлено тем, что старение растений сопровождается усилением распада веществ, замедлением синтеза, а также повышением активности гидролитических ферментов [2].

Значимость исследований динамики содержания антоцианов состоит в том, что по скорости их распада можно судить о темпах деградиционных процессов, сопровождающих старение растения. Изучение влияния на эти процессы УФ-В-излучения важно с точки зрения установления характера воздействия. Содержание антоцианов может служить показателем степени адаптации растения к УФ-облучению.

Целью работы было исследование изменения содержания антоцианов в процессе старения лепестков монокарпического растения *Ipotoea purpurea* (L.) Roth и влияния на их содержание разных доз УФ-В-облучения.

### Методика

Объектом исследования выбрано монокарпическое растение ипомея пурпурная (*Ipotoea purpurea* (L.) Roth). Оно удобно для исследования, поскольку от раскрытия цветка до его старения проходит 6—8 ч [9].

Собранные в момент раскрытия цветы ипомеи помещали в воду и облучали источником УФ-В-излучения (лампой ДБ-30) в трех дозах: 4,23, 8,46, 12,69 кДж/м<sup>2</sup> в течение 1,5 ч. Для определения содержания антоцианов облученные цветы ипомеи взвешивали и гомогенизировали в растворе пропанол : соляная кислота : вода = 18 : 1 : 81 (соотношение масса сырого вещества : раствор = 1 : 5). Экстрагирование проводили через каждый час на протяжении 6 ч при 25 °С. Полученные экстракты освобождали от растительных остатков центрифугированием. Содержание антоцианов в 1 г сырого вещества определяли спектрофотометрическим методом и рассчитывали по формуле

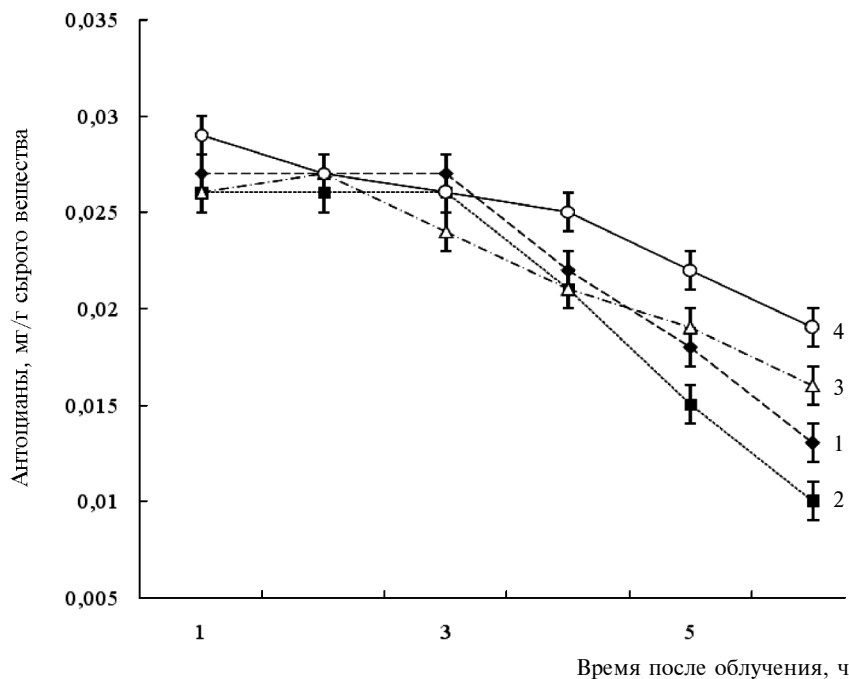
$$A = (D_{535} - 2,2D_{650})V/P,$$

где  $D_{535}$ ,  $D_{650}$  — поглощение, соответствующее длинам волн 535 и 650 нм;  $V$  — объем раствора, мл;  $P$  — масса сырого вещества [1].

### Результаты и обсуждение

Распад пигментов в растительных тканях можно охарактеризовать по изменению окраски лепестков, которая в процессе их старения светлеет. Кривая дегградации антоцианов отражает период стационарного состояния, который совпадает со временем цветения, т.е. с «молодостью» цветка, и соответствует первым 3 ч после облучения (рисунок).

Согласно полученным нами данным, такой период существует для всех доз и контрольного варианта. Это свидетельствует о том, что в те-



Динамика деградации антоцианов в лепестках ипомеи:

1 — необлученные лепестки (контроль); 2–4 — облученные соответственно дозами 4,23, 8,46 и 12,69 кДж/м<sup>2</sup>

чение определенного времени содержание антоцианов сохраняется неизменным и не реагирует на облучение. По прошествии 3 ч с момента облучения содержание антоцианов в лепестках достоверно уменьшается. Кроме того, начинает проявляться зависимость от дозы облучения. Разный угол наклона кривой деградации свидетельствует о различных темпах этого процесса и о ее зависимости от дозы УФ-В-облучения, что хорошо согласуется с литературными данными [1], согласно которым облучение оказывает влияние на протекание онтогенеза, в частности, на процессы старения растений. Однако изменения проявляются по-разному в зависимости от доз, способов облучения и вида растений.

Наблюдается как ускорение, так и замедление старения. Механизмы запуска процесса радиоиндуцированного старения монокарпических растений на сегодня изучены недостаточно [3].

Так, для наименьшей дозы облучения темпы распада антоцианов через 4 ч оказались выше, чем для остальных доз, и составили 0,0054 мг/(г · ч) (таблица). Спустя 6 ч после облучения содержание антоцианов в данном варианте достигло минимального по сравнению с другими вариантами значения — 0,01 мг/г. Для средней дозы темпы распада пигментов спустя 4 ч были меньше и составили 0,0033 мг/(г · ч). Их содержание через 6 ч после облучения было выше (0,016 мг/г), чем в контроле (0,013 мг/г) и при наименьшей дозе. Для наибольшей дозы содержание антоцианов спустя 6 ч после облучения было выше, чем в контроле и при двух других дозах — 0,019 мг/г.

Скорость деградационных процессов зависела от дозы облучения. В пробах, облученных наибольшей дозой, деградационные процессы протекали медленнее (см. таблицу). Скорость уменьшения содержания антоцианов после 4 ч облучения составляла 0,0012 мг/(г · ч), после 5 ч —

*Зависимость скорости уменьшения содержания антоцианов (мг/(г сырого вещества · ч)) от дозы облучения*

Вариант	Время после облучения, ч				
	2	3	4	5	6
Контроль	0	0	0,0052	0,0043	0,0058
Доза облучения, кДж/м <sup>2</sup>					
4,23	0	0	0,0054	0,0062	0,0052
8,46	0,0011	0,0034	0,0033	0,0022	0,0038
12,69	0,0022	0,0014	0,0012	0,0035	0,0036

0,0035, после 6 ч — 0,0036. Кроме того, через 6 ч после облучения содержание антоцианов в образцах, облученных наибольшей дозой, было выше, чем в контроле и при остальных дозах на тот же момент. Сохранение такого их уровня может свидетельствовать о включении защитного механизма, состоящего в увеличении количества флавоноидных пигментов в клетках. Таким образом, установлено, что УФ-В-облучение влияет на темпы старения лепестков ипомеи пурпурной. Однако оно неоднозначно, поскольку отсутствует прямая зависимость ускорения темпов распада антоцианов от увеличения дозы УФ-облучения. Тем не менее в пробах, облученных высокой дозой — 12,6 кДж/м<sup>2</sup>, деграционные процессы протекали медленнее, чем в контроле. Это дало основание сделать вывод, что доза облучения 12,6 кДж/м<sup>2</sup> способствует замедлению процессов дегградации антоцианов. Поскольку старение ипомеи является процессом запрограммированным, но внешние факторы также могут влиять на него, можно предположить, что деграционные процессы, сопровождающие старение, под влиянием одной из доз облучения несколько замедлились.

Вероятный механизм снижения скорости деграционных процессов предложен в работе [1]. Он состоит в том, что скорость деграционных процессов зависит от экспрессии генов, ответственных за появление гидролазы — фермента, расщепляющего антоцианы. Соответственно, чем ниже активность гидролитических ферментов, тем медленнее идет распад антоцианов. УФ-В-облучение тормозит экспрессию генов гидролазы и вызывает выработку антоцианов в качестве защитного механизма [9].

Таким образом, динамика уменьшения содержания антоцианов, характеризующая скорость деграционных процессов в клетке, может служить критерием для определения темпов старения. Это представляет интерес с точки зрения исследования возрастной адаптации монокарпических растений к повышению уровня УФ-В-радиации.

1. Гродзинский Д.М., Гуца Н.И., Перковская Г.Ю. и др. Влияние хронического облучения на адаптивный потенциал растений // Радиобиология растений. — 2002. — 42, № 2. — С. 155—158.
2. Гродзинский Д.М. Старение у растений // Надежность и элементарные события процессов старения биологических объектов. — Киев: Наук. думка, 1986. — 208 с.
3. Гродзинский Д.М., Шиліна Ю.В., Міхеев О.М. Механізми регуляції монокарпичного старіння рослин // Физиология и биохимия культ. растений. — 2003. — 35, № 3. — С. 187—199.
4. Дубров А.П. Генетические и физиологические эффекты действия ультрафиолетовой радиации на высшие растения. — М.: Наука, 1968. — 249 с.

5. Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений. — М.: Высш. шк., 2005. — 736 с.
6. Ракитин В.Ю., Карягин В.В., Ракитина Т.Я. и др. Особенности образования АБК у мутантов *Arabidopsis thaliana* по этиленовому сигнальному пути при УФ-В-стрессе // Физиология растений. — 2008. — **55**, № 6. — С. 942—944.
7. Hakvoort H.W., Ernst W.H. et al. Evidence that UV-B tolerance of the photosynthetic apparatus in microalgae is related to the D1-turnover mediated repair cycle in vivo // J. Plant Physiol. — 1995. — **147**, N 2. — P. 75—80.
8. Varostos C.A. Global total ozone dynamics // Environ. Sci. and Pollut. Res. — 2008. — **3**, N 3. — P. 153—157.
9. Yamada T., Ichimura K., Kanekatsu M. et al. Gene expression in opening and senescing petals of morning glory (*Ipomoea nil*) flowers // Plant Cell Rep. — 2007. — **26**, N 6. — P. 823—835.

Получено 16.11.2009

ВІКОВА ДИНАМІКА АНТОЦІАНІВ У ПЕЛЮСТКАХ *ІПОМОЕА PURPUREA* ЗА ДІЇ  
УФ-ОПРОМІНЕННЯ ЯК КРИТЕРІЙ ДЕГРАДАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ У КЛІТИНІ

А.М. Берестяна, Д.М. Гродзинський

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії Національної академії наук України,  
Київ

Досліджено динаміку зменшення вмісту антоціанів у процесі старіння пелюсток *Ipomoea purpurea*, яка характеризує швидкість деградаційних процесів у клітині. Проаналізовано вплив різних доз УФ-В-опромінення на швидкість вікової деградації антоціанів. Показано, що в межах дослідженого діапазону УФ-опромінення тільки одна доза — 12,6 кДж/м<sup>2</sup> сприяла уповільненню темпів розпаду антоціанів. Обговорено вірогідні механізми, що пов'язують старіння і деградацію пігментів.

AGE-SPECIFIC DYNAMICS OF ANTHOCYANIN IN PETALS OF *IPOMOEA PURPUREA*  
TREATED BY UV RADIATION, AS A CRITERION OF DEGRADATION PROCESSES IN  
A CELL

A.M. Berestyana, D.M. Grodzinsky

Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine  
148 Akademika Zabolotnogo St., Kiev, 03143, Ukraine

The dynamics of the anthocyanin content reduction in the course of aging of the *Ipomoea purpurea* petals, which characterizes the rate of the degradation processes in a cell, has been studied. The analysis included the impact of various UV-B-radiation doses on the rate of anthocyanin age-related decomposition. The experiment proved that but one dose — 12,6 kJ/m<sup>2</sup> — contributed to the delay of the anthocyanin decomposition rate, within the studied range. The probable mechanisms that connect ageing and pigment degradation are being discussed.

*Key words:* *Ipomoea purpurea* (L.) Roth, anthocyanin, UV-B-radiation, monocarpic plants, dynamics of aging.