

УДК 581.132:581.52

## ФУНКЦИИ КАРОТИНОИДОВ В ЛИСТЯХ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ (ОБЗОР)

© 2020 г. Т. Г. Маслова<sup>1</sup>, Е. Ф. Марковская<sup>2</sup>, \*, Н. Н. Слемнев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН  
Проф. Попова, 2, Санкт-Петербург, 197376 Россия

<sup>2</sup>Петрозаводский государственный университет  
пр. Ленина, 33, Петрозаводск, Республика Карелия, 185910 Россия

\*E-mail: volev10@mail.ru

Поступила в редакцию 09.01.2020 г.

После доработки 15.04.2020 г.

Принята к публикации 17.04.2020 г.

Структурное разнообразие каротиноидов, их многофункциональность остается актуальной проблемой для многих направлений биолого-медицинских исследований. Взаимоотношения каротиноидов в циклических реакциях привели к пониманию их роли в окислительно-восстановительных процессах, в механизмах их участия в базовых физико-химических, физиолого-биохимических функциях растительного организма. Проанализирован вклад каротиноидов в формирование структуры фотосинтетического аппарата (ФСА) растений, участие в поглощении световой энергии и защите молекул хлорофилла от активных форм кислорода. Рассмотрены различные механизмы участия зеаксантина в процессе диссипации энергии и защитная роль каротиноидов как антиоксидантов в липидной фазе мембран. Обсуждается функция пигментов виолаксантинового цикла (ВЦ) в блоке реакций фотолиза воды как участников утилизации выделяющегося кислорода. Предложена гипотеза об участии балансовых превращений пигментов ВЦ (при подпороговой освещенности) в поддержании механизмов “памяти растений” при необходимости переключения на высокую освещенность. Экологические исследования показали, что в ответ на широкий спектр стрессовых факторов включается механизм фотозащиты ФСА, связанный с активизацией нефотохимического тусшения как составляющей системы неспецифических реакций растительного организма.

DOI: 10.31857/S0044459620040065

Жизнь на Земле зависит от фотосинтеза — превращения световой энергии в энергию химических связей, синтеза органического вещества и образования кислорода, в которых участвуют фотосинтетические пигменты в тилакоидных мембранах хлоропластов. Хлоропласты являются уникальными клеточными полуавтономными органеллами симбиотического происхождения, в работе которых принимают участие хлорофиллы и каротиноиды (Маргелис, 1983). Известно более 600 структурно различающихся каротиноидов, роль которых продолжает активно изучаться (Карнаухов, 1988). В совокупности все прокариотные и эукариотные организмы синтезируют ежегодно более 110 млн тонн желтых пигментов. Они имеют физиологически важное значение с точки зрения структуры и функции клеток фотосинтезирующих организмов и являются биотехнологически ценным продуктом (Klaui, 1982). Каротиноиды представляют собой большую группу оранжевых, желтых и красных пигментов, которые в разных концентрациях присутствуют у

всех фотосинтезирующих организмов. Подобно хлорофиллам, каротиноиды и ферменты их синтеза локализованы в пластидах, а кодирующие их гены — в ядерном геноме (Ладыгин, 2002).

Почти все каротиноиды имеют терпеноидное строение (Weedon, Moss, 1995). По химическому строению их делят на каротины (углеводороды) и ксантофиллы (кислородсодержащие каротиноиды). Центральным звеном каротиноидов является цепь конъюгированных двойных связей — хромофор. Наличие сопряженных двойных связей в этой цепи определяет спектры поглощения световой энергии каждого из каротиноидов и их функциональные различия (Mimuro et al., 1992). Превращения тетратерпеноидов в хлоропластах водорослей и высших растений идут путем циклизации с формированием каротинов, которые могут окисляться и формировать различные циклические ксантофиллы, характерные для высших растений (Liaaen-Jensen, 1998). Все содержащие кислород производные каротинов — ксантофиллы — образуются путем энзиматического окисле-

ния  $\epsilon$ -,  $\alpha$ - и  $\beta$ -каротинов. Реакции протекают в аэробных условиях. Обычно большинство кислородсодержащих групп, обнаруженных в ксантофиллах хлоропластов, находятся в форме либо гидроксигрупп ( $-\text{OH}$ ), либо оксогрупп ( $=\text{O}$ ), либо эпоксигрупп ( $-\text{O}-$ ) между углеродными атомами иононовых колец. Известно, что все три типа кислородсодержащих групп образуются за счет реакций окисления с использованием молекулярного кислорода атмосферы (Маслова и др., 1996; Ладыгин, 2014).

Одним из механизмов, обеспечивающих стабильность ксантофиллов, является их участие в ксантофилловых циклах окислительно-восстановительных превращений. В эту группу входят виолаксантин, антераксантин, зеаксантин, лютеин.

#### УЧАСТИЕ КАРОТИНОИДОВ В ОРГАНИЗАЦИИ СТРУКТУРЫ ФОТОСИСТЕМ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА РАСТЕНИЙ

Фотосистемы (ФС I и ФС II) в высших растениях являются суперкомплексами, состоящими из реакционных центров (РЦ) и нескольких типов светособирающих комплексов (ССК). Показано, что каротины ( $\beta$ -каротин и частично  $\alpha$ -каротин) принимают участие в организации и функционировании РЦ фотосистем, а ксантофиллы (лютеин, виолаксантин, антераксантин, зеаксантин, неоксантин) – в структуре и функции светособирающих хлорофилл-*a/b*-белковых комплексов ССК I и ССК II (Demmig-Adams et al., 1996; Gal et al., 1997; Fromme et al., 2003). Эти ксантофиллы распределены неравномерно среди различных комплексов ССК I и ССК II. Так, пигменты ксантофиллового цикла в основном (до 80%) локализируются в светособирающих хлорофилл-*a/b*-белковых комплексах, образующих внутреннюю антенну ФС II (Demmig-Adams et al., 1996; Goss et al., 1997; Wollman et al., 1999). Важно отметить, что ксантофиллы находятся в этих комплексах в непосредственной близости к хлорофиллу. Согласно модели организации хлорофилла в РЦ ФС II два каротиноида, аналогичных  $\beta$ -каротину, локализируются вблизи хлорофиллов РЦ: один в *cis*-, другой в *all-trans* конфигурации (Umena, Kawakami, 2011; Zouni et al., 2011). Наиболее близкие расстояния отмечаются между *cis*-формой каротина и хлорофиллами, что предполагает его возможное участие во вторичном транспорте электронов между цитохромом  $\text{V}_{559}$  и РЦ. Полипептиды ССК I и ССК II являются ядернокодируемыми белками (Ладыгин, 2002). Эти белки связывают в определенных местах три типа ксантофиллов: лютеин, виолаксантин и неоксантин.

Если лютеин связывается с хлорофиллом *a*, то неоксантин взаимодействует только с хлорофиллом *b* (Croce, Amerongen, 2011). Менее прочная связь с белковым комплексом отмечена для виолаксантина, она может быть нарушена уже при обработке мягким детергентом, что связано с его основной функцией – участием в работе виолаксантинового цикла (ВЦ) (Ruban et al., 1999). Фермент деэпоксидаза отделен от белков и находится в липидной фазе тилакоидной мембраны, где и осуществляется превращение виолаксантина в антераксантин и зеаксантин (Latowski et al., 2004). Известны данные о присутствии в ССК II ФС II в небольших количествах зеаксантина (Verhoeven et al., 1999). При анализе мутантов *Arabidopsis thaliana* и зеленой водоросли *Scenedesmus obliquus*, накапливающих значительное количество зеаксантина, показано, что зеаксантин в ССК II фотосинтетического аппарата (ФСА) может замещать виолаксантин и лютеин (Tardy, Navaux, 1996; Bishop et al., 1998).

Установлено, что пигменты ВЦ могут быть включены в регуляцию молекулярной динамики мембран и оказывают большее влияние на их термодинамические параметры по сравнению с другими каротиноидами (Gruszecki, Strzalka, 2005). Показано, что в естественных и модельных системах зеаксантин имеет сильное влияние на температурные фазовые переходы мембран, молекулярную динамику, проницаемость и градиент полярности (Kostecka-Gugala et al., 2003; Gruszecki, Strzalka, 2005). Зеаксантин способен перевести мембрану в жидко-кристаллическую фазу, и этот процесс связан с его переориентацией в мембране. Большая роль отводится каротиноидам в структурной стабилизации мембран в ССК фотосистем, что связано с размерами полиеновой цепи в структуре каротиноидов. Показано, что в состав ССК ФС II входят две молекулы лютеина, концы которых встроены в поперечную структуру мембраны. Эти концы соединяют молекулу лютеина водородными связями с полипептидными петлями белков на противоположных сторонах мембраны, а полиеновая структура образует X-образное перекрещивание, что в целом обеспечивает ее структурную стабильность (Peterman et al., 1997).

Виолаксантин-деэпоксидаза и зеаксантин-эпоксидаза – два фермента, которые входят в группу шести известных липокалиновых белков (Bugos et al., 1998). Кристаллографические исследования известных липокалинов показали, что характер их структуры соответствует глубине полос измеряемых белков – около 40 Å. Все белки, принадлежащие к этому типу, способны связывать малые гидрофобные молекулы. Глубина полос

(40 Å) соответствует длине молекулы лютеина, что соответствует ширине тилакоида. Таким образом, функция лютеина связана с организацией структуры пигмент-белковых комплексов. Отмечается сложная связь ксантофиллов с антенными белками и их специфической конфигурацией, которая препятствует их свободной диффузии в мембране (Ruban et al., 1999).

Аналогичное участие в укреплении структуры мембраны принимают и другие ксантофиллы (виолаксантин и зеаксантин), которые пронизывают мембранный бислой как жесткие стержнеподобные молекулы между молекулами липидов мембран (Subczynski et al., 1992). Существуют экспериментальные доказательства определенной ориентации зеаксантина в липидных бислоях, где длинная ось зеаксантина расположена перпендикулярно к поверхности мембран. Результатом такой ориентации является заметное уменьшение текучести липидов, кристаллизация мембран и уменьшение мембранной проницаемости для малых молекул (Sargy et al., 1994). Формированию комплекса ФСII в мембране способствуют каротиноиды. Данные литературы о состоянии каротиноидов в мембранах довольно противоречивы. Так, часть авторов считают, что большинство пигментов виолаксантинового цикла связано с антенными белками (Jahns et al., 2009), а другие исследователи отмечали их присутствие в мембране в свободном состоянии и способность быстро связываться с белками (Szilagyi et al., 2007). Мономер комплекса ФСII содержит 36 хлорофиллов и 11 каротиноидов (Барбер, 2014).

### УЧАСТИЕ КАРОТИНОИДОВ В ПОГЛОЩЕНИИ СВЕТОВОЙ ЭНЕРГИИ

Хромофорная группа с определенным числом сопряженных двойных связей в молекуле каротиноида обуславливает его спектр поглощения и окраску. Эти пигменты поглощают свет в области 280–550 нм. Поглощением света в синей области объясняется желто-оранжевая и красная окраска каротиноидов. С увеличением числа сопряженных двойных связей в молекулах каротиноидов они поглощают свет с большей длиной волны в видимой области спектра и становятся более интенсивно окрашенными.

Поглощение фотонов света антенными пигментами имеет ключевое значение для фотосинтетической цепи переноса электронов и функционирования хлоропластов. Функции вспомогательных пигментов в антенных комплексах фотосистем выполняют ксантофиллы – виолаксантин, лютеин, зеаксантин, неоксантин, которые передают по-

глощенную энергию на хлорофиллы. У растений энергия квантов света с молекул ксантофиллов ССК ФСII передается на молекулы хлорофилла *a* РЦ с разной скоростью (50–200 пс) и разной эффективностью: от виолаксантина – 54%, лютеина – 62%, неоксантина – 85%, а от хлорофилла *b* – 97% (Siefertmann-Harms, 1985; Gruszecki et al., 1999; Ладыгин, 2014). Полипептиды ССКI и ССКII обладают высокой степенью избирательности при образовании связей только с тремя ксантофиллами – лютеином, виолаксантином и неоксантином, что связано с их структурными особенностями (Croce et al., 1999; Ладыгин, 2014). Показано, что в зависимости от локуса связи различается участие ксантофиллов в передаче энергии к хлорофиллам.

От возбужденных светом молекул каротиноидов энергия передается на близлежащие молекулы хлорофилла. Обязательным условием для передачи энергии является частичное перекрытие электронных облаков молекул пигментов, что достигается близким расположением хлорофиллов и каротиноидов в ССК (механизм Декстера). Последовательность реакций, начинающаяся с перехода молекул каротиноидов в возбужденное состояние до осуществления фотосинтетической активности, состоит из нескольких этапов (Siefertmann-Harms, 1987):

1) поглощение фотона света ( $h\nu$ ) и перехода молекулы каротиноида ( $^1Car$ ) в возбужденное синглетное состояние ( $^1Car^*$ ):  $^1Car + h\nu \rightarrow ^1Car^*$ ;

2) от каротиноида в возбужденном синглетном состоянии  $S_1$  ( $^1Car^*$ ) энергия возбуждения передается на основное состояние хлорофилла ( $^1Chl$ ), который переходит в синглетно-возбужденное состояние (синглет-синглетный перенос):  $^1Car^* + ^1Chl \rightarrow ^1Car + ^1Chl^*$ ;

3) от единичных молекул хлорофилла в синглетно-возбужденном состоянии энергия возбуждения передается на другие молекулы хлорофиллов с более низким энергетическим уровнем  $S_1$ :  $^1Chl^* \rightarrow \rightarrow \rightarrow ^1Chln^*$ . Молекулы хлорофиллов в синглетно-возбужденном состоянии ( $^1Chln^*$ ) передают часть своей энергии возбуждения в реакционные центры ФСI и ФСII, где индуцируются фотохимические реакции:  $^1Chln^* \rightarrow ^1Chln +$  фотохимия. Эта фотохимическая реакция в хлоропластах растений приводит в движение фотосинтетические процессы в соответствии с Z-схемой переноса электронов в фотохимических реакциях фотосинтеза с участием ФСI и ФСII до выделения  $O_2$ . Неиспользованная часть энергии возбуждения либо высвечивается молекулой хлорофил-

ла в виде флуоресценции:  $^1\text{Chln}^* \rightarrow ^1\text{Chln} + \text{флуоресценция}$ , либо выделяется в виде тепловой энергии.

## ФОТОЗАЩИТНАЯ И АНТИОКСИДАНТНАЯ ФУНКЦИЯ КАРОТИНОИДОВ

Появление кислорода, как побочного продукта фотосинтеза, привело к созданию аэробной среды и появлению мощного окислителя. Этот окислитель вызвал появление активных форм кислорода (АФК) — свободных радикалов кислорода, которые оказались чрезвычайно химически активны и опасны для формирующейся на ранних этапах жизни. Главным источником АФК в растениях являются электрон-транспортные цепи хлоропластов и митохондрий (Шарова, 2016). От избытков кислорода, который является продуктом фотоллиза воды, растение должно активно избавляться, защищая прежде всего молекулы хлорофилла РЦ ФСА. В растениях этот процесс достаточно активный, и существует целая система антиоксидантов, куда входят и каротиноиды.

**1. Каротиноиды тушат возбужденные состояния хлорофилла.** В условиях избыточного освещения при закрытых РЦ молекулы хлорофилла поглощают свет и переходят в синглетное возбужденное состояние (Demmig-Adams et al., 1996). В этих условиях возможен переход возбужденного хлорофилла на более низкий энергетический уровень с изменением спина и образованием возбужденного триплетного хлорофилла ( $10^{-3}$  с). Каротиноиды могут действовать прямо как тушители возбужденных синглетных и триплетных состояний хлорофиллов. Этот механизм связан с более низким синглетным и триплетным уровнем каротиноидов по сравнению с хлорофиллами. Принимая эту энергию, каротиноиды способны ее дезактивировать в виде тепловой энергии. Уровень энергии возбужденных состояний каротиноидов может изменяться при увеличении или уменьшении числа конъюгированных двойных связей, что приводит к изменению функций каротиноидов: доноров энергии (пигменты антенны), передающих поглощенную энергию на РЦ, и акцепторов энергии (тушители), поглощающих и рассеивающих избыточный свет. Из пигментов ВЦ он выше у эпоксирированного виолаксантина (9 двойных связей, донор) и ниже у деэпоксирированного зеаксантина (11 двойных связей), чем определяется и его основная функция “тушителя”. Поскольку возбужденные состояния каротиноидов являются также короткоживущими, то передача энергии от них и к ним эффективна только при очень малом расстоянии между донором и акцептором. Поэтому

даже небольшие структурные изменения могут привести к большим различиям в эффективности передачи энергии по обменно-резонансному механизму Декстера (Owens et al., 1992). Тушение возбужденных молекул хлорофилла возможно с участием специализированных белков. В тепловой диссипации энергии могут принимать участие антенные белки ССК ФСII. Так, конформационные изменения специализированного белка PsbS могут обеспечить быстрое нефотохимическое тушение флуоресценции в ответ на непродолжительное воздействие высокой освещенности, а при включении в этот процесс зеаксантина (зеаксантин-зависимая тепловая диссипация) реакция может быть долговременной и встречается у вечнозеленых видов растений при продолжительном стрессе (Demmig-Adams, 2003; Li et al., 2004; Dymova et al., 2014).

**2. Нефотохимическое тушение флуоресценции** — это процесс безызлучательной диссипации энергии, который происходит в светособирающем хлорофилл-*a/b*-белковом комплексе ФСII и позволяет переводить возбужденный хлорофилл в его основное состояние посредством тепловой диссипации. Установлена связь между содержанием зеаксантина и типом флуоресценции хлорофилла при фотоингибирующем стрессе (Demmig-Adams, 2003; Ruban, 2015). Диссипация избыточной энергии в виде тепла называется нефотохимическим тушением (NPQ), механизмы действия которого активно изучаются. Установлено, что NPQ является гетерогенным процессом и включает четыре компонента (qE, qT, qZ, qI) (Kress, Jahns, 2017), которые различаются по времени, механизмам и условиям формирования:

1) **Компонента qE**, время 1–3 мин, контролируется рН люмена. Падение рН ниже 6.0 активирует PsbS белок, который, как предполагают, индуцирует конформационные изменения в ССК антенны ФСII через прямое взаимодействие с его белками. qE модулируется зеаксантином (Jahns et al., 2009). При активации qE через PsbS белок образуется зеаксантин, синтез которого индуцируется снижением рН ниже 6.0 за счет активации в этих условиях виолаксантин-деэпоксидазы, локализованной в люмене. Эта регулируемая рН qE обеспечивает диссипацию энергии в ответ на высокую флуктуирующую интенсивность света и ингибируется при свето-лимитирующих условиях.

2) **Компонента qT**, время 10–20 мин, при оптимальном балансе поддерживает распределение энергии между ФСII и ФСI. У наземных растений вклад qT в общее значение NPQ при насыщаю-

щей освещенности невысокий (Nilkens et al., 2010).

3) **Компонента qZ**, время от 10 до 30 мин, связана с участием зеаксантина и минорного антенного белка Lhcb5. Активность qZ не зависит от транстилакоидного протонного градиента, и она остается активной в темноте.

4) **Компонента qI**, время – часы (десятки минут), охватывает все процессы, которые косвенно связаны с фотоингибированием ФСII. Фотоингибирование (соответственно qI) встречается при высокой освещенности при часовых экспозициях, но может индуцироваться также и в более короткое время, когда фотосинтез лимитируется неблагоприятными условиями, такими как засуха и низкая температура. Фотоингибирование ФСII связано прежде всего с повреждением D1 белка РЦ ФСII, а также других структур хлоропластов. В восстановлении после фотоингибирования может принимать участие зеаксантин.

В литературе обсуждаются две базовые гипотезы о фотозащитной функции зеаксантина в процессе диссипации энергии: прямая функция – тушитель энергии и косвенное участие как модулятора энергии диссипации, как антиоксиданта в липидной фазе. Далл Осто с соавт. (Dall’Osto et al., 2017) получили доказательства, что в qE может работать два механизма: один в малых антенных комплексах с образованием катион-радикала ксантофилла, другой – в тримере SSKI, где участвует зеаксантин. Доказательства косвенной функции зеаксантина в qE, связанной с модуляцией ее эффективности за счет сдвига рН в сторону высоких значений, приведены в работе Хортон с соавт. (Horton et al., 1999). В их модели диссипация энергии в антенных белках ускоряется передачей ее лютеину и рН регулируемыми конформационными изменениями в антенных белках ФСII без прямого участия в NPQ (Ruban, 2015).

Анализ литературы показал, что основная часть исследователей поддерживают гипотезу о косвенной роли зеаксантина в qE. Сходные данные о косвенном участии зеаксантина в механизмах компонент qZ и qI приводятся в работе Кресс и Джанса (Kress, Jahns, 2017). Эти же авторы в заключении отмечают, что зеаксантин, по-видимому, выполняет аллостерическую функцию. Модуляция этим пигментом медленных индуцибельных состояний NPQ позволяет ему дополнительно включаться в общую защиту, в том числе связанную с липидной фазой мембран.

Имеющиеся связи между эпоксидацией зеаксантина и восстановлением активности ФСII показывают, что зеаксантин остается связанным в

тилакоидной мембране до тех пор, пока ФСII ингибирована или идет down-регуляция. Эта регуляция поддерживает идею, что присутствие зеаксантина может рассматриваться как “память” о световом стрессе на уровне хлоропластов (Ruban, 2015), что позволяет быстро индуцировать фотозащитные NPQ процессы при его повторении. Однако механизмы участия зеаксантина как пигмента ВЦ в процессах, связанных с NPQ, остаются дискуссионными.

**3. Антиоксидантная функция.** Каротиноиды являются тушителями активных форм кислорода (Владимиров, 1998). Поглощая свет, молекула хлорофилла переходит в синглетное возбужденное состояние, а затем в триплетное. Образующийся возбужденный триплетный хлорофилл может активно взаимодействовать с молекулярным кислородом, переводя его в реакционно активное синглетное состояние (АФК). Каротиноиды способны релаксировать триплетный хлорофилл и синглетный кислород, переходя при этом в триплетное состояние. Из триплетного состояния каротиноиды возвращаются в исходное синглетное, рассеивая энергию в виде тепла. Реакция тушения АФК является спин-разрешенной, поэтому триплетные состояния каротиноидов с низким энергетическим уровнем могут быстро тушить синглетный кислород. Триплеты каротиноидов имеют такую низкую энергию, что повреждающими эффектами можно, вероятно, пренебречь. Они расположены локально и являются сравнительно короткоживущими. В процессе фотофизического тушения происходит восстановление каротиноида через релаксацию до исходного синглетного состояния (Владимиров, 1998).

**4. Каротиноиды действуют как фильтры** и, накапливаясь в покровных тканях растений, поглощают в условиях высокогорий избыточные количества синего и ближнего ультрафиолетового света, которые могут оказывать ингибирующее действие на функциональную активность ФСА (Ладыгин, 2014).

**5. Защита мембранных липидов от фотодеструкции.** Активные формы кислорода вызывают свободнорадикальное окисление биомолекул, приводящее к нарушению различных функций в живых организмах. Наиболее уязвимы для АФК липиды. Они являются одним из основных компонентов фотосинтетических мембран хлоропластов, играют роль гидрофобного матрикса, определяя такие свойства мембран, как текучесть, проницаемость, активность встроенных в них хлорофилл-белковых комплексов, ферментов полипептидов (Клячко-Гурвич и др., 2000). В хлоропластных

мембранах имеется значительное количество ненасыщенных жирных кислот (C18:3) с тремя двойными связями, что обуславливает их высокую чувствительность к фотодеструкции АФК (Клячко-Гурвич и др., 2000). Наиболее уязвимы атомы углерода, распложенные между сопряженными двойными связями. Свободное радикальное окисление липидов инициируется отнятием электрона от атома углерода, расположенного между двойными связями. Потеря электрона вызывает перераспределение электронной плотности таким образом, что образуется радикал, смежный с системой конъюгированных двойных связей. Такой радикал легко взаимодействует с молекулярным кислородом и преобразуется в липидный пероксид-радикал, который может вступать во множество реакций, приводящих к разрыву углеродной цепи и накоплению продуктов перекисаации липидов (альдегидов, кетонов, углеводов) (Шарова, 2016). Важную функцию в защите липидов мембран фотосинтетических организмов от перекисного окисления выполняют ксантофиллы ВЦ (Havaux, Niyogi, 1999). Они способны тушить триплетный хлорофилл и синглетный кислород. Эти функции каротиноидов хорошо изучены *in vitro* в ССК ФСII (Havaux, Niyogi, 1999). Следовательно, ксантофиллы ВЦ в присутствии кислорода защищают хлорофиллы и липиды от разрушения и обеспечивают устойчивость тилакоидных мембран при высокой интенсивности света (Клячко-Гурвич и др., 2000).

### ВИОЛАКСАНТИНОВЫЙ ЦИКЛ ВЗАИМОПРЕВРАЩЕНИЯ КСАНТОФИЛЛОВ

В природе описано пять различных ксантофилловых циклов, основанных на производных β-каротина (виолаксантиновый, неполный виолаксантиновый, антраксантиновый и диадиноксантиновый) и α-каротина (лютеин-эпоксидный цикл) (Маслова и др., 1996; Ладыгин, 2014). В основе работы циклов лежат реакции дезэпоксидации и эпоксидации.

#### Особенности функционирования пигментов ВЦ

Виолаксантиновый цикл возник на ранних этапах эволюции вместе с возникновением кислородного фотосинтеза. Его функционирование связано с ликвидацией АФК и регуляцией энергетического баланса в фотосинтезе (Demmig, Björkman, 1987). Он обнаружен у большой группы биоты (высшие растения, зеленые и бурые водоросли) (Siefermann-Harms, 1985; Demmig-Adams et al., 1996; Ладыгин, 2014). Эти циклические взаимопревращения каротиноидов (ВЦ) включают в

себя две рН-зависимые реакции: прямую — дезэпоксидации и обратную — эпоксидации, катализируемые двумя разными ферментами: виолаксантиновой дезэпоксидазой и зеаксантиновой эпоксидазой (Hager, Holocher, 1994; Ладыгин, 2014).

**Прямая реакция.** В дезэпоксидации виолаксантина с выделением кислорода участвует фермент виолаксантиновая дезэпоксидаза (Sapozhnikov, 1973), который кодируется хлоропластным геном *Vde1* (Cunningham, Gantt, 1998; Ладыгин, 2014). Реакция идет в широком диапазоне освещенностей. Если реакция дезэпоксидации виолаксантина идет на сильном свете, то отмечается высокий уровень накопления зеаксантина. Дезэпоксидаза виолаксантина — фермент с молекулярной массой от 40 до 54 кДа, который локализуется на внутренней (люменальной) стороне мембраны тилакоида. Он проявляет максимальную активность при рН 5.2 и использует аскорбат в качестве кофактора, а галактолипиды тилакоидов (моноголактозилдиацилглицеролы) индуцируют сборку виолаксантина в мицеллы и обеспечивают доступность виолаксантина для фермента (Smirnov, Wheeler, 2000). Виолаксантиновая дезэпоксидаза подвижна внутри тилакоидного люмена и при близком к нейтральному значению рН 6.8–7.2, которое встречается *in vivo* в темноте, может отделяться от мембраны. Этот фермент способен проявлять активность только к тому субстрату, который находится в *all-trans* конфигурации. Феномен гетерогенности пула виолаксантина был впервые описан в работе Д.И. Сапожникова и Г.А. Корнюшенко (1969). Высказана гипотеза, что неактивная часть виолаксантина (около 20%) может быть в конфигурации *cis*, тогда как дезэпоксидаза реагирует только с конфигурацией виолаксантина *all-trans*. При высокой освещенности возрастает содержание *cis*-форм виолаксантина, он переходит в связанное с белками состояние и дезактивируется. В этих условиях идет накопление *all-trans* форм зеаксантина, переход его в свободное состояние, в котором он активирует процесс нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла. Это обеспечивает поддержание гетерогенности пула виолаксантина.

**Обратная реакция.** Эпоксидация зеаксантина до виолаксантина протекает на слабом свете или в темноте с использованием кислорода атмосферы (Yamamoto, Bassi, 1996). Эта реакция осуществляется при оптимуме рН 7.5 с участием фермента НАДФ·Н-зависимой зеаксантиновой эпоксидазы, которая контролируется хлоропластным геном *Zep1* и имеет молекулярную массу 72 кДа (Cunningham, Gantt, 1998; Ладыгин, 2014). Этот фер-

мент является мембранно-связанным белком, локализуется на внешней (стромальной) стороне мембраны тилакоида и является конститутивно активным (Hager, Holocher, 1994; Bugos et al., 1998). В реакции эпоксидации с помощью зеаксантиновой эпоксидазы участвуют NaDPH, FAD, молекулярный кислород. Реакция идет в темноте. При сильном освещении, когда внутри тилакоида внутрилюменальный pH падает ниже 6.5 вследствие образования протонного градиента, свойства дезэпоксидазы изменяются – фермент вновь прикрепляется к мембране тилакоида, получая доступ к субстрату виолаксантина, и достигает максимальной активности при pH 5.2 (Hager, Holocher, 1994).

Вопрос о времени протекания реакций ВЦ оказался сложным. Есть данные, что время дезэпоксидации виолаксантина в зеаксантин зависит от освещенности: при избыточном освещении он занимает несколько минут, а при оптимальной освещенности замедляется и останавливается на лимитирующем свете (Hager, 1975; Latowski et al., 2004). Однако в другой серии работ показано, что превращение виолаксантина в зеаксантин происходит в течение 10–30 мин как *in vivo*, так и *in vitro* (Siefermann-Harms, 1987; Jahns, 1995; Kress, Jahns, 2017). Еще больший разброс данных получен для эпоксидации зеаксантина. Реакция эпоксидации идет в 2–10 раз медленнее (от 10 мин до нескольких часов), чем реакции дезэпоксидации (Hartel et al., 1996; Krause, Jahns, 2003; Jahns et al., 2009; Яцко и др., 2011; Kress, Jahns, 2017). Такие большие различия связаны с различными условиями проведения экспериментов, объектами исследования (интактный лист или отдельные структуры хлоропласта) и, соответственно, с разными механизмами прохождения этих реакций.

**Работа виолаксантинового цикла.** Пигменты ВЦ локализованы в тилакоидных мембранах хлоропластов, и большая часть пула находится в ССКП. Реакции взаимопревращения цикла могут осуществляться при функционировании как ФСII, так и ФСI (Navaux, Niyogi, 1999). Превращение виолаксантина в зеаксантин происходит в липидном матриксе (Macko et al., 2002). Установлено, что отдельные молекулы каротиноидов не просто “растворены” в липидном бислое мембран тилакоидов, а имеют строго определенные места локализации в хлорофилл-белковых комплексах и выполняют различные функции в мембранах хлоропластов (Caffarri et al., 2001).

В работах группы Д.И. Сапожникова при исследовании кинетики световой зависимости

функционирования ВЦ с использованием ингибитора реакции дезэпоксидации салицилальдоксида был установлен факт существования светового порога реакции дезэпоксидации, который оказался значительно ниже точки световой компенсации для фотосинтеза. Это означает, что цикл может работать при очень низкой освещенности (200 лк) с равными скоростями прямой и обратной реакции, и обнаружить его в балансовых опытах невозможно. Появление зеаксантина, как факта превышения скорости дезэпоксидации над скоростью эпоксидации, отмечено только при освещенности выше 1000 лк – световой порог реакции дезэпоксидации, полученный на гортензии (Попова и др., 1971). Этот результат, появление зеаксантина при очень низких освещенностях, был получен и неоднократно подтвержден с использованием ряда ингибиторов обратной реакции цикла и на других видах растений (Маслова и др., 1996). Встает вопрос о функциональной роли ВЦ при подпороговой низкой интенсивности света. В работе Рубана (Ruban, 2015) утверждается, что механизм NPQ эффективен только при закрытых РЦ при высокой освещенности. В условиях низкой интенсивности света РЦ открыты и механизм NPQ не включается, что связано с более быстрой утилизацией энергии пигментами РЦ. Это ограничивает потерю энергии для фотосинтеза в условиях недостатка света. Кроме того, авторами сформулирована оригинальная гипотеза о роли зеаксантина в “световой памяти” растения о предыдущих воздействиях света высокой интенсивности. А особенно важно замечание, что при низкой освещенности антенна “не хочет” выключать NPQ в ожидании следующего всплеска освещенности. Эти данные и их трактовка хорошо согласуются с феноменом светового порога реакции дезэпоксидации. Активность пигментов ВЦ в режиме взаимопревращения ксантофиллов при низкой подпороговой интенсивности света может быть механизмом поддержания “памяти” растения. А значение светового порога, как количественного параметра, позволяет выявить уровень освещенности, выше которого включаются защитные реакции – начинается образование зеаксантина и подключение механизмов NPQ. В работах Д.И. Сапожникова было показано, что значение светового порога изменяется в зависимости от светолюбивости растений (Попова и др., 1971).

Следует отметить, что в эволюции ФСА большую роль играло увеличение освещенности и необходимость организации фотозащитных структур. Раннее эволюционное появление ВЦ и открытие светового порога реакции дезэпоксидации дает

основание для предположения, что исходной функцией цикла были балансовые взаимопревращения, которые возникли на ранних этапах эволюции у водорослей на фоне низкой освещенности для поддержания энергетического баланса. И работа цикла продолжает входить как необходимая метаболическая составляющая в функционирование растений в нестабильных условиях освещенности. Мы предполагаем, что ВЦ может функционировать в двух основных состояниях: при низких освещенностях идут балансовые взаимопревращения (без изменения содержания пигментов и без участия NPQ), а при увеличении освещенности отмечается накопление зеаксантина и участие NPQ.

#### *Гипотеза об участии ксантофиллов в выделении кислорода при фотосинтезе*

Эта гипотеза была выдвинута Д.И. Сапожниковым с сотрудниками в 1957 г. Предпринималось множество оригинальных исследований для ее проверки. Так, в отечественных и зарубежных работах были сопоставлены реакции дезэпоксидации виолаксантина в работающем цикле с выделением  $O_2$  и скоростью фиксации  $CO_2$  в процессе фотосинтеза. Показано, что при освещении клеток хлореллы  $O^{18}$  из воды включается во фракцию ксантофиллов (Сапожников и др., 1967). Хэйгер (Hager, 1975) предположил, что включение меченого кислорода в молекулу виолаксантина могло происходить уже после его освобождения в результате фотоллиза воды. Сопоставление работы цикла и активности фотосинтеза показало, что циклические превращения ксантофиллов отмечаются в том же диапазоне условий, в котором работает фотосинтез; световые кривые реакции дезэпоксидации виолаксантина оказались сходными со световыми кривыми фотосинтеза (Попова и др., 1971). Полученные данные, а также ранее установленный факт, что ксантофиллы, имеющие в составе молекулы эпоксидный кислород (виолаксантин), встречаются только у организмов, выделяющих кислород в процессе фотосинтеза, свидетельствуют о тесной связи между работой ВЦ и выделением кислорода. В процессе эволюции нашей планеты был период, когда под действием большого количества УФ (при отсутствии озонового слоя) имеющийся в воде кислород превращался в перекись водорода, которая накапливалась и могла легко вступать в реакцию Фентона, одним из продуктов которой был токсичный для первых организмов гидроксил-радикал (Меньшикова и др., 2006). Это привело к появлению и формированию первичной системы

антиоксидантов. В фотозащите ФСА предков цианобактерий эту роль могли выполнять системы каталазоподобных ферментов, которые позднее могли приобрести способность разлагать воду (Шарова, 2016). Этот процесс можно рассматривать в качестве предшественника кислородвыделяющего комплекса ФСА у аэробных эукариот. Как считают Деммиг и Бьёркман (Demmig, Björkman, 1987), уже на ранних этапах эволюции эукариот ксантофилловый цикл начал играть важную роль в регуляции превращения фотосинтетической энергии и предотвращения образования АФК. Его включение в обменные процессы произошло конвергентно в разных линиях эукариот (Ладыгин, 2014). Эти факты являются основанием для гипотезы, что появление кислородвыделяющей системы ФСII было бы невозможно без одновременного или предшествующего появления системы его обезвреживания, в том числе ВЦ, в ходе восстановительных реакций фотосинтеза. Аналогичные результаты были получены сотрудниками Д.И. Сапожникова при исследовании становления циклических превращений пигментов ВЦ в развивающемся ФСА этиолированных проростков (Попова, Эйдельман, 1976). Показано, что к 6 часам зеленения отмечалась сформированность фотосинтетической структуры листа и становление работы пигментов ВЦ. Сходные результаты получены в работе Гармаш с соавт. (Garmash et al., 2014), где на основании данных электронной микроскопии и 77 К флуоресцентного спектра эмиссии отмечается формирование тилакоидных мембран и светособирающих комплексов также к 6 часам зеленения.

#### УЧАСТИЕ КАРОТИНОИДОВ В АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ В ЕСТЕСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ ПРОИЗРАСТАНИЯ

В естественных условиях произрастания растения часто подвергаются различным стрессовым воздействиям (высокая и низкая освещенность, перепады температуры, водный дефицит, засоление и др.), а в сочетании с высокой освещенностью это может приводить к фотоингибированию и фотоповреждению ФСА. Механизмы, предотвращающие это повреждение с участием каротиноидов, включают: дезактивацию возбужденных состояний хлорофиллов РЦ и ССК, активных форм кислорода и высвобождение избыточно поглощенной световой энергии (Gilmore, 1997).

В работах группы Д.И. Сапожникова проводились исследования связей ВЦ и фотосинтеза в различных условиях освещенности на интактных листьях 20 видов растений. Установлено, что при

низкой освещенности, когда скорости прямой и обратной реакций цикла равны, увеличение скорости фотосинтеза не сопровождалось образованием зеаксантина; при насыщающей интенсивности света световые кривые фотосинтеза и накопления зеаксантина имели сходную форму; а при дальнейшем увеличении освещенности и скорости фотосинтеза количество зеаксантина оставалось постоянным. Авторы высказали гипотезу о различных функциях ВЦ в фотосинтезе в зависимости от условий освещенности (Маслова, Марковская, 2012).

Экологические работы по каротиноидам проводятся рядом отечественных исследователей на растениях разных климатических зон. В работах, выполненных на видах флоры арктических территорий (о. Шпицберген, о. Врангель) и таежной зоны Респ. Коми, показано, что различия в содержании и соотношении хлорофиллов и каротиноидов определяются жизненной формой, широтным ареалом и эколого-ценотическими условиями (Dymova et al., 2014; Марковская, Шмакова, 2017). Наиболее высокие значения содержания желтых пигментов были обнаружены у высокогорных растений Памира, пустынь Кара-Кум и Гоби, что связано с высокой освещенностью и обилием УФ-лучей (Попова и др., 1984; Слемнев и др., 2012). Для разных северных регионов показано увеличение относительного содержания каротиноидов в ряду бореальные–гипоарктические–арктоальпийские виды (Лукьянова и др., 1986; Герасименко и др., 1989; Шмакова и др., 2011; Головкин и др., 2013; Марковская, Шмакова, 2017). У растений Хибин отмечается увеличение каротиноидов при переходе от елово-березового леса к горно-тундровым сообществам, а у растений горной тундры их содержание снижается (Лукьянова и др., 1986). Исследования Т.К. Головкин с сотрудниками (2013) показали высокую корреляцию между активностью пигментов ВЦ и скоростью NPQ. В опытах на эфемероидах в Ленинградской области в условиях высокой освещенности и низкой температуры была обнаружена более высокая активность ВЦ по сравнению с летневегетирующими растениями (Маслова и др., 2003). Авторы предполагают более эффективную фотодинамическую защиту листьев у эфемероидов. В работе, выполненной на высокогорных растениях, обитающих в экстремальных климатических условиях севера (интенсивная радиация, низкая температура, короткий вегетационный период), показано, что они устойчивы к фотоингибированию. Для вида *Soldanella alpina* эта устойчивость поддерживалась NPQ (участие пигментов ВЦ), а для вида *Ranunculus glacialis* эти процессы были не

активны (Streb et al., 2005). Исследование фотозащиты ФСА в листьях большой группы травянистых растений Западного Шпицбергена показало, что ведущим процессом оказывается NPQ, которое позволяет корректировать поступление и распределение световой энергии в растениях Арктики (Марковская, Шмакова, 2017). В работах на разных экологических группах растений показано, что степень деэпоксидации зависит от степени светолюбия. Растения открытых местообитаний отличались высокой степенью активности деэпоксидации (до 80%), а теневых – низкой степенью деэпоксидации пигментов ВЦ и низкими значениями NPQ (Dymova et al., 2014). При формировании устойчивости зимующих листьев летне-зимне-зеленого травянистого растения *Ajuga reptans* показаны значительные перестройки ФСА: уменьшение содержания хлорофиллов ФСП, диссоциация мегакомплекса ФСІ–ФСП и суперкомплекса ФСП–ССКІІ. В весенний период отмечена репарация структуры пигмент-белкового комплекса ФСІ и ФСП перезимовавших листьев, которая сопровождалась увеличением содержания пигментов ВЦ и повышением уровня их конверсии, что свидетельствует об участии зеаксантин-зависимого защитного механизма в предотвращении нарушения редокс-состояния электрон-транспортной цепи хлоропластов и фотодеструкции компонентов ФСА растений (Dymova et al., 2014). У растений папоротника *Ceterach officinarum* был обнаружен процесс деэпоксидации виолаксантина и накопление зеаксантина в темноте при дегидратации листа. Этот процесс не зависел от трансмембранного градиента pH в тилакоидах (Fernández-Marín et al., 2009). Показано, что сходный механизм дегидратации присутствует и у других видов и является преадаптацией последующей регидратации на свету.

Исследования по влиянию засоления показали, что солевой стресс вызывает фотоингибирование ФСП только в сочетании с высокой освещенностью, что приводит к повреждению (Mishra et al., 1991; Masojidek, Hall, 1992). Этот вывод был сделан в основном на гликофитах (пшеница, сорго, ячмень и др.). Галофиты показали устойчивость к засолению при высокой освещенности, но реакция разных видов растений различалась. Так, листья галофита *Atriplex centralasiatica* имеют высокую устойчивость ФСА за счет систем защиты, связанных с активностью NPQ с участием пигментов ВЦ (Qiu, Lu, 2003), а у галофита *Artemisia anethifolia* даже в условиях высокой освещенности и максимальной солености механизм NPQ не включался (Lu et al., 2003).

В природе растения морской травы *Zostera maritima* подвергаются очень значительным изменениям освещенности. Исследования Ральфа с соавт. (Ralph et al., 2002) показали, что в регуляторных фотозащитных механизмах с участием пигментов ВЦ на кратковременные изменения освещенности в месте произрастания зостеры (волновое воздействие) задействован антраксантин (укороченный цикл реакций), а при длительных изменениях (приливно-отливная динамика) работает зеаксантин. Этот феномен позволяет растению энергетически оптимизировать ответные реакции на варьирование освещенности. Фотоингибирование ФСА при высокой освещенности отмечается у разных видов морских трав, растущих в условиях нестабильной освещенности во время приливно-отливной динамики, и восстановление которых обеспечивается за счет механизмов NPQ (Ralph et al., 2002).

У ряда видов отмечены изменения в составе каротиноидов в отдельные сезоны года. Так, часть зеаксантина участвует в реакциях ВЦ, а другая часть может окислиться и образовать вторичный ксантофилл – родоксантин. Этот вторичный каротиноид, более устойчивый к низкой температуре, образуется у хвойных в конце зимы, что совпадает с очень низкой фотосинтетической активностью и преобразованиями пластидома хлоропластов. Аналогичная роль показана и для вторичного каротиноида (эшшольцксантина), который накапливается зимой у самшита (Маслова и др., 2009). В неблагоприятный зимний период в хвое *Vixus sempervirens* могут образовываться и другие красные каротиноиды: Anhydroeschscholtzanthin и Monoanhydroeschscholtzanthin (Kazuko et al., 1995). Можно предположить, что функция родоксантина (и других зимних пигментов) у растений заключается в создании своеобразного светового фильтра в защите ФСА от избытка УФ и неблагоприятного спектрального состава света.

Как показывает анализ литературы, разные стрессовые факторы вызывают у растений фотоповреждения, причем чувствительность к стрессу усиливается при высоких освещенностях. Это связано с тем, что любой стресс (водный дефицит, действие соли, низкой температуры и др.), вызывая различные метаболические нарушения, затрагивает энергетику растения. Причинно-следственные связи могут быть разными, но растение начинает корректировать приход и использование световой энергии как наиболее простой и экономичный путь адаптации для коррекции метаболизма (Ruban, 2015). Механизм NPQ входит как составляющая в систему неспецифических реакций растений в условиях стресса.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В литературе продолжают активно обсуждаться вопросы функциональной активности каротиноидов, связанной с фотохимической, структурной, светособирающей и фотозащитной функциями. Особое внимание уделяется адаптациям к нестабильному световому режиму, где ведущим фактором является процесс NPQ, и вклад его составляющих в фотозащиту остается дискуссионным. Исследователи отмечают, что открытым также остается вопрос о возможности переноса выявленных в модельных экспериментах закономерностей участия каротиноидов в различных процессах (Kress, Jahns, 2017) на жизнедеятельность целого растения. Каротиноиды, пигменты ВЦ остаются объектами пристального внимания исследователей как в камеральных, так и в полевых исследованиях, о чем свидетельствуют открытия новых механизмов их участия в жизни растительного организма (Fernández-Marín et al., 2009). Структурное разнообразие каротиноидов (600 видов) дает надежду на новые открытия в области функциональной физиологии каротиноидов.

Мы благодарны Наталье Сергеевне Мамушиной, которая инициировала эту работу, но скоростной уход из жизни не дал возможность поработать над этой статьей.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Барбер Д., 2014. Фотосистема II: ее функция, структура и применение для искусственного фотосинтеза (обзор) // Биохимия. Т. 79. № 3. С. 248–262.
- Владимиров Ю.А., 1998. Свободные радикалы в первичных фотобиологических процессах // Биол. мембраны. Т. 15. № 5. С. 517–529.
- Герасименко Т.В., Попова И.А., Александрова Н.М., 1989. К характеристике фотосинтетического аппарата фотосинтеза растений арктической тундры (о. Врангеля) // Ботан. журн. Т. 74. № 5. С. 669–679.
- Головки Т.К., Яцко Я.Н., Дымова О.В., 2013. Сезонные изменения состояния фотосинтетического аппарата трех бореальных видов хвойных растений в подзоне средней тайги на европейском северо-востоке // Хвойные бореальной зоны. Т. 30. № 1–2. С. 73–78.
- Карнаухов В.Н., 1988. Биологические функции каротиноидов. М.: Наука. 240 с.
- Клячко-Гурвич Г.Л., Пронина Н.А., Ладыгин В.Г., Цоглин Л.Н., Семенов В.Е., 2000. Разобщенное функционирование фотосистем I и фотосистемы II. 1. Особенности и роль десатурации жирных кислот // Физиология растений. Т. 47. № 5. С. 688–698.
- Ладыгин В.Г., 2002. Современные представления о путях биосинтеза каротиноидов в хлоропластах эука-

- риот // Журн. общ. биологии. Т. 63. № 4. С. 299–325.
- Ладыгин В.Г., 2014. Пути биосинтеза, локализации, метаболизма и функции каротиноидов в хлоропластах различных видов водорослей // Вопросы современной альгологии. № 2 (6). 87 с.
- Лукьянова, Л.М., Локтева Т.Н., Булычева Т.М., 1986. Газообмен и пигментная система растений Кольской Субарктики (Хибинский горный массив) / Отв. ред. Вознесенский В.Л. Апатиты: Кольский филиал АН СССР. 128 с.
- Маргелис Л., 1983. Роль симбиогенеза в эволюции клетки. М.: МГУ. 420 с.
- Марковская Е.Ф., Шмакова Н.Ю., 2017. Растения и лишайники Западного Шпицбергена: экология, физиология. Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ. 270 с.
- Маслова Т.Г., Марковская Е.Ф., 2012. Современные представления о функционировании виолаксантинового цикла (развитие идей Д.И. Сапожников) // Физиология растений. Т. 59. № 3. С. 472–480.
- Маслова Т.Г., Попова И.А., Корнюшенко Г.А., Королева О.Я., 1996. Развитие представлений о функционировании виолаксантинового цикла в фотосинтезе // Физиология растений. Т. 43. № 3. С. 437–449.
- Маслова Т.Г., Мамушина Н.С., Зубкова Е.К., Войцеховская О.В., 2003. Особенности пигментного аппарата пластид и фотосинтез в листьях эфемероидов и летневегетирующих растений в связи с проблемой фотоингибирования // Физиология растений. Т. 50. № 1. С. 59–64.
- Маслова Т.Г., Мамушина Н.С., Шерстнева О.А., Буболо Л.С., Зубкова Е.К., 2009. Структурно-функциональные изменения фотосинтетического аппарата у зимневегетирующих хвойных растений в различные сезоны года // Физиология растений. Т. 56. № 4. С. 672–681.
- Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Богдарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А., 2006. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. М.: Слово. 556 с.
- Попова И.А., Рыжова Е.Ф., Сапожников Д.И., 1971. Некоторые особенности реакции дезэпоксидации виолаксантина // ДАН СССР. Т. 201. № 2. С. 494–496.
- Попова О.Ф., Эйдельман З.М., 1976. О превращении ксантофиллов в процессе зеленения пластиды // ДАН СССР. Т. 175. № 6. С. 1407–1409.
- Попова О.Ф., Слемнев Н.Н., Попова И.А., Маслова Т.Г., 1984. Содержание пигментов пластид у растений пустынь Гоби и Каракумы // Ботан. журн. Т. 69. № 3. С. 334–344.
- Сапожников Д.И., Корнюшенко Г.А., 1969. О гетерогенности виолаксантина в листьях гороха // Физиология растений. Т. 16. № 6. С. 1038–1041.
- Сапожников Д.И., Кутюрин В.М., Маслова Т.Г., Улубекова М.В., Назаров Н.М. и др., 1967. О кислородном обмене ксантофиллов в связи с их ролью в процессе фотосинтеза растений // ДАН СССР. № 5. С. 1182–1185.
- Слемнев Н.Н., Шереметьев С.Н., Маслова Т.Г., Цоож Ш., Алтанцоож А., 2012. Разнообразие фотосинтетического аппарата растений: анализ биологических, экологических и эволюционных рядов // Ботан. журн. Т. 97. № 11. С. 1377–1396.
- Шарова Е.И., 2016. Антиоксиданты растений. Учебное пособие. СПб.: Изд-во СПбГУ. 140 с.
- Шмакова Н.Ю., Лукьянова Л.М., Ермолаева О.В., 2011. Фотосинтетический аппарат растений Хибин // Ботан. журн. Т. 96. № 2. С. 273–278.
- Яцко Я.Н., Дымова О.В., Головки Т.К., 2011. Дезэпоксидация пигментов виолаксантинового цикла и тепловая диссипация световой энергии у трех борельных видов вечнозеленых хвойных растений // Физиология растений. Т. 58. № 1. С. 140–143.
- Bishop N.I., Bulga B., Senger H., 1998. Photosynthetic capacity and quantum requirement of three secondary mutants of *Scenedesmus obliquus* with deletions in carotenoid biosynthesis // Bot. Acta. V. 111. P. 231–235.
- Bugos R.C., Hieber A.D., Yamamoto H.Y., 1998. Xanthophyll cycle enzymes are members of lipocalin family, the first identified from plants // J. Biol. Chem. V. 273. № 25. P. 15321–15324.
- Caffarri S., Croce R., Breton J., Bassi R., 2001. The major antenna complex of photosystem II has a xanthophyll binding site not involved in light-harvesting // J. Biol. Chem. V. 276. № 38. P. 35924–35933.
- Croce R., Amerongen H., van, 2011. Light-harvesting and structural organization of Photosystem II, from individual complexes to thylakoid membrane // J. Photochem. Photobiol. V. 104. № 1–2. P. 142–153.
- Croce R., Weiss S., Bassi R., 1999. Carotenoid-binding sites of the major light-harvesting complex II of higher plants // J. Biol. Chem. V. 274. № 42. P. 29613–29623.
- Cunningham F.X., Jr., Gantt E., 1998. Genes and enzyme of carotenoid biosynthesis in plants // Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. V. 49. № 4. P. 557–583.
- Dall'Osto L., Cazzaniga S., Bressan M., Palecek D., Zidek K. et al., 2017. Two mechanisms for dissipation of excess light in monomeric and trimeric light-harvesting complexes // Nat. Plants. V. 3. P. 17033.
- Demmig B., Björkman O., 1987. Comparison of the effect of excessive light on chlorophyll fluorescence (77K) and photon yield of O<sub>2</sub> evolution in leaves of higher plants // Planta. V. 171. № 2. P. 171–184.
- Demmig-Adams B., 2003. Linking the xanthophyll cycle with thermal energy dissipation // Photosynthesis Res. V. 76. № 1–3. P. 73.
- Demmig-Adams B., Gilmore A.M., Adams W.W., 1996. Carotenoids 3. *In vivo* function of carotenoids in higher plants // FASEB J. V. 10. № 4. P. 403–412.
- Dymova O., Dalke I., Golovko T., 2014. Pigment characteristics of the plants of northern ecosystems and their correlation with photosynthetic activity // Photosynthetic Pigments – Chemical Structure, Biological Function

- and Ecology. Syktyvkar: Komi SC UB RAS. P. 221–236.
- Fernández-Marín B., Balaguer L., Esteban R., Becerril J.M., García-Plazaola J.I.*, 2009. Dark induction of the photoprotective xanthophyll cycle in response to dehydration // *J. Plant Physiol.* V. 1. № 16. P. 1734–1744.
- Fromme P., Schlodder E., Jansson S.*, 2003. Structure and function of the antenna system in photosystem I // *Light-Harvesting Antennas in Photosynthesis* / Eds Green B.R., Parson W.W. Dordrecht; Boston; London: Kluwer Acad. Publ. V. 13. P. 253–279.
- Gal A., Zer H., Ohad I.*, 1997. Redox-controlled thylakoid protein phosphorylation. News and views // *Physiol. Plant.* V. 100. № 4. P. 869–885.
- Garmash E., Khristin M., Dymova O., Golovko T.*, 2014. Chloroplasts chlorophyll-protein complexes and chlorophyll fluorescence in wheat seedling during greening // *Photosynthetic Pigments – Chemical Structure, Biological Function and Ecology*. Syktyvkar: Komi SC UB RAS. P. 123–139.
- Gilmore A.M.*, 1997. Mechanistic aspects of xanthophyll cycle dependent photoprotection in higher plant chloroplast and leaves // *Physiol. Plant.* V. 99. № 2. P. 197–209.
- Goss R., Richter M., Wild A.*, 1997. Pigment composition of PSII pigment protein complexes purified by anion exchange chromatography: Identification of xanthophyll cycle pigment binding proteins // *J. Plant Physiol.* V. 151. P. 115–119.
- Gruszecki W.I., Strzalka K.*, 2005. Karotinoids as mogulatorso of lipid membrane physical properties // *Biochim. Biophys. Acta.* V. 1740. P. 108–115.
- Gruszecki W.I., Grudziński W., Banaszek-Głós A., Matula M., Kerner P. et al.*, 1999. Xanthophyll pigments in light-harvesting complex II in monomolecular layers: Localisation, energy transfer and orientation // *Biochim. Biophys. Acta.* V. 1412. № 2. P. 173–183.
- Hager A.*, 1975. The reversible, light-induced conversion of xanthophylls in chloroplasts // *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* V. 88. P. 27–44.
- Hager A., Holocher K.*, 1994. Localization of the xanthophyll cycle enzyme violaxanthin deepoxidase within the thylakoid lumen and abolition of its mobility by a (light-dependent) pH decrease // *Planta.* V. 192. № 4. P. 581–589.
- Hartel H., Lokstein H., Grimm B., Bank B.*, 1996. Kinetic studies on the xanthophyll cycle in barley leaves. Influence of antenna size and relations to nonphotochemical chlorophyll fluorescence quenching // *Plant Physiol.* V. 110. № 2. P. 471–482.
- Havaux M., Niyogi K.K.*, 1999. The violaxanthin cycle protects plants from photooxidative damage by more than one mechanism // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 96. P. 8762–8767.
- 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 // *Photochemistry of Carotenoids* / Eds Frank H.A., Young A.J., Britton G., Cogdell R.J. Dordrecht; Boston; London: Kluwer Acad. Publ. P. 271–291.
- Jahns P.*, 1995. The xanthophyll cycle in intermittent light-grown pea plants. Possible functions of chlorophyll-*a/b*-binding proteins // *Plant Physiol.* V. 108. № 1. P. 149–156.
- Jahns P., Latowski D., Strzalka K.*, 2009. Mechanism and regulation of the violaxanthin cycle. The role of antenna proteins and membrane lipids // *Biochim. Biophys. Acta.* V. 1787. P. 3–14.
- Kazuko I., Kazumori M., Takashi M., Yasuhiro F., Satomi T., Emiko H.*, 1995. The leaves of the common box, *Buxus sempervirens* (Buxaceae), become red as the level of a red carotenoid, anhydrosch-scholtzanthin, increases // *J. Plant Res.* V. 108. № 3. P. 369–376.
- Klaui H.*, 1982. Industrial and commercial uses of carotenoids // *IUPAC Carotenoids: Chemistry and Biochemistry* / Eds Britton G., Goodwin T.W. Oxford: Pergamon Press. P. 309–317.
- Kostecka-Gugala A., Latowski D., Strzalka K.*, 2003. Thermotropic phase behaviour of alfa-dipalmitoylphosphatidylcholine multibilayers is influenced to various extents by carotenoids containing different structural features – evidence from differential scanning calorimetry // *Biochim. Biophys. Acta.* V. 1609. P. 193–202.
- Krause G.H., Jahns P.*, 2003. Pulse amplitude modulated chlorophyll fluorometry and its application in plant science // *Light-Harvesting Antennas in Photosynthesis* / Eds Green B.R., Parson W.W. Dordrecht; Boston; London: Kluwer Acad. Publ. V. 13. P. 373–399.
- Kress E., Jahns P.*, 2017. The dynamics of energy dissipation and xanthophylls conversion in *Arabidopsis* indicate an indirect photoprotective role of zeaxanthin in slowly inducible and relaxing components of non-photochemical quenching of excitation energy // *Front. Plant Sci.* V. 8. P. 2094 – 3012.
- Latowski D., Akerlund H.E., Strzalka K.*, 2004. Violoxanthin deepoxidase, the xanthophylls enzyme, requires lipid inverted hexagonal structures for its activity // *Biochemistry.* V. 43. P. 4417–4420.
- Li X.P., Gilmore M., Caffarri S., Bassi R., Golan T. et al.*, 2004. Regulation of photosynthetic light harvesting involves intrathylakoid lumen pH sensing by the PsbS protein // *J. Biol. Chem.* V. 279. P. 22866–22874.
- Liaaen-Jensen S.*, 1998. Carotenoids in chemosystematics // *Carotenoids: Biosynthesis and Metabolism* / Eds Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H. Basel: Birkhauser. V. 3. P. 217–247.
- Lu C., Jiang G., Wang B., Kuang T.*, 2003. Photosystem II photochemistry and photosynthetic pigment composition in salt-adapted halophyte *Artimisia anethifolia* grown under outdoor conditions // *J. Plant Physiol.* V. 160. P. 403–408.
- Macko S., Wehner A., Jahns P.*, 2002. Comparison of violaxanthin de-epoxidation from the stroma and lumen sides of isolated thylakoid membranes from *Arabidopsis*: Im-

- plications for the mechanism of de-epoxidation // *Planta*. V. 216. № 2. P. 309–314.
- Masojidek J., Hall D.O., 1992. Salinity and drought stresses are amplified by high irradiance in sorghum // *Photosynthetica*. V. 27. P. 159–171.
- Mimuro M., Magashima U., Takaichi S., Nasimura Y., Yamazaki I., Katoh T., 1992. Molecular structure and optical properties of carotenoids for the *in vivo* energy transfer function in the algal photosynthetic pigment system // *Biochim. Biophys. Acta*. V. 108. № 2. P. 271–274.
- Mishra S.K., Subrahmanyam D., Singhal G.S., 1991. Interactionship between salt and light stress on the primary process of photosynthesis // *J. Plant Physiol*. V. 138. P. 92–96.
- Nilkens M., Kress E., Lambrev P., Miloslavina Y., Muller M. et al., 2010. Identification of a slowly unducible zeaxanthin-dependent component of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence generated under steady-state conditions in *Arabidopsis* // *Biochim. Biophys. Acta*. V. 1797. P. 466–475.
- Owens T.G., Shreve A.P., Albrecht A.C., 1992. Dynamics and mechanism of singlet energy transfer between carotenoids and chlorophyll: Light harvesting and nonphotochemical fluorescence quenching // *Research in Photosynthesis* / Ed. Murata N. Dordrecht: Kluwer Acad. Publ. V. 1. P. 171–178.
- Peterman E.J.G., Gradinaru C.C., Calcoen F., Borst J.C., Grondelle R., van, Amerongen H., van, 1997. Xanthophylls in light-harvesting complex II of higher plants: Light harvesting and triplet quenching // *Biochemistry*. V. 36. № 40. P. 12208–12215.
- Qiu N.W., Lu C., 2003. Enhanced of photosynthesis against high temperature damage in salt-adapted halophyte *Atriplex centralasiatica* // *Plant Cell Environ*. V. 26. P. 1137–1145.
- Ralph P.J., Polk S.M., Moore K.A., Orth R.J., Smith W.O., 2002. Operation of the xanthophylls cycle in the seagrass *Zostera marina* in response to variable irradiance // *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*. V. 271. № 2. P. 189–207.
- Ruban A.V., 2015. Evolution under the sun: Optimizing light harvesting in photosynthesis // *J. Exp. Bot*. V. 66. P. 7–23.
- Ruban A.V., Lee P.J., Wentworth M., Young A.J., Horton P., 1999. Determination of the stoichiometry and strength of binding of xanthophylls to the photosystem II light-harvesting complexes // *J. Biol. Chem*. V. 274. № 15. P. 10458–10465.
- Sapozhnikov D.I., 1973. Investigation of violaxanthin cycle // *J. Pure Appl. Chem*. V. 35. № 1. P. 47–61.
- Sarry J.F., Montillet J.L., Sauvaille Y., Havaux M., 1994. The protective function of the xanthophyll cycle in photosynthesis // *FEBS Lett*. V. 353. № 2. P. 147–150.
- Siefermann-Harms D., 1985. Carotenoids in photosynthesis. I. Location in photosynthetic membranes and light-harvesting function // *Biochim. Biophys. Acta. Rev. Bioenerg*. V. 811. № 4. P. 325–355.
- Siefermann-Harms D., 1987. The light-harvesting and photoprotective function of carotenoids in photosynthetic membranes // *Physiol. Plant*. V. 69. № 4. P. 561–568.
- Smirnoff N., Wheeler G.L., 2000. Ascorbic acid in plants: Biosynthesis and function // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol*. V. 35. № 4. P. 291–314.
- Streb P., Josse E.-M., Gallouët E., Baptist F., Kuntz M., Cornic G., 2005. Evidence for alternative electron sinks to photosynthetic carbon assimilation in the high mountain species *Ranunculus glacialis* // *Plant Cell Environ*. V. 28. P. 1123–1135.
- Subczynski W.K., Markowska E., Gruszecki W.I., Siewiewiak J., 1992. Effect of polar carotenoids on dimyristoylphosphatidylcholine membranes: A spin-label study // *Biochim. Biophys. Acta*. V. 1105. P. 97–108.
- Szilagyi A., Sommarin M., Åkerlund H., 2007. Membrane curvature stress controls the maximal conversion of violaxanthin to zeaxanthin in the violaxanthin cycle – influence of  $\alpha$ -tocopherol, cetyl ethers, linolenic acid, and temperature // *Biochim. Biophys. Acta. Biomembr*. V. 1768. P. 2310–2318.
- Tardy F., Havaux M., 1996. Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, light-harvesting system and photoinhibition resistance of a zeaxanthin-accumulating mutant of *Arabidopsis thaliana* // *J. Photochem. Photobiol*. V. 34. P. 87–94.
- Umena Y.K., Kawakami J.R., 2011. Crystal structure of oxygen-evolving photosystem II at a resolution of 1.9 Å // *Nature*. V. 473. P. 55–60.
- Verhoeven A.S., Adams W.W., Demmig-Adams B., Croce R., Bassi R., 1999. Xanthophyll cycle pigment localization and dynamics during exposure to low temperatures and light stress in *Vinca major* // *Plant Physiol*. V. 120. P. 727–738.
- Weedon B.C.L., Moss C.P., 1995. Structure and nomenclature // *Carotenoids: Isolation and Analysis* / Eds Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H. Basel: Birkhauser. V. 1A. P. 27–70.
- Wollman F.-A., Minai L., Nechushtai R., 1999. The biosynthesis and assembly of photosynthetic proteins in thylakoid membranes // *Biochim. Biophys. Acta*. V. 1411. № 1. P. 21–85.
- Yamamoto H.Y., Bassi R., 1996. Carotenoids: Localization and function // *Advances in Photosynthesis and Respiration*. V. 4. Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions / Eds Ort D.R., Yocum C.F. Dordrecht: Kluwer Acad. Publ. P. 539–563.
- Zouni A., Witt H.T., Kern J., Fromme P., Krauss N. et al., 2011. Crystal structure of photosystem II from *Synechococcus elongatus* at 3.8 Å resolution // *Nature*. V. 409. P. 739–743.

## Functions of carotenoids in leaves of higher plants (an overview)

T. G. Maslova<sup>a</sup>, E. F. Markovskaya<sup>b, \*</sup>, N. N. Slemnev<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Komarov Botanical Institute, RAS  
Prof. Popova, 2, Saint-Petersburg, 197376 Russia*

<sup>b</sup>*Petrozavodsk State University  
Lenina Pr., 33, Petrozavodsk, Republic of Karelia, 185910 Russia*

*\*e-mail: volev10@mail.ru*

The structural diversity and multifunctionality of carotenoids is an urgent problem for many areas of biological and medical research. The interaction of carotenoids in cyclic reactions made it possible to understand their role in redox processes and their participation in the basic physicochemical, physiological, and biochemical functions of a plant organism. The contribution of carotenoids to the formation of the structure of the photosynthetic apparatus (PSA) of plants, participation in the absorption of light energy and protection of chlorophyll molecules from reactive oxygen species is analyzed. The mechanisms of the participation of zeaxanthin in the process of energy dissipation and the protective role of carotenoids as antioxidants in the lipid phase of membranes are considered. The function of violaxanthin cycle (VC) pigments in the block of water photolysis reactions as participants in the utilization of the released oxygen is discussed. A hypothesis is proposed about the participation of balance transformations of VC pigments (at sub-threshold illumination) in maintaining the mechanisms of “plant memory” when switching to high illumination is necessary. Environmental studies have shown that in response to a wide range of stress factors, the photoprotection mechanism of the photosynthetic apparatus is activated, which is associated with the activation of non-photochemical quenching as a component of the system of non-specific reactions of the plant organism.