
STORAGE OF ANTHOCYANINS IN CARYOPSES OF COMMON WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

Trojan V., Musilová M., Vyhnánek T., Havel L.

Department of Plant Biology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno

E-mail: vaclav.trojan@mendelu.cz

ABSTRACT

The common wheat caryopses can be colored blue or purple if their genotypes content particular genes responsible for the production of different anthocynins. The blue color is caused predominantly by delphinidin-3-glucoside, the purple color is caused mainly by cyanidin-3-glucoside. Moreover, the pigments are stored in different layers of caryopsis – the blue pigments in aleuron, the purple pigments in pericarp. Our objective was to proof this localization in genotypes with blue and purple caryopses which we will use in studies of selected gene expression of anthocynins synthesis pathway. The caryopses of two genotypes with blue color (Tschermaks Blaukörniger Sommerweizen and UC66049) and two genotypes with purple color (Abyssinskaja arrasajta and ANK-28B) were analysed before full ripeness with light microscopy. The results proofed the expected localization of blue and purple pigments, resp.

Key words: blue wheat, purple wheat, wheat kernel, *Triticum aestivum* L., aleuron, perikcarp, caryopsis coat, kernel coat

Acknowledgement: This study was supported by project GAČR 204/09/H002 and IGA FA MENDELU No. TP 7/2011. We acknowledge Ing. Petr Martinek (Agricultural Research Institute Kroměříž, Ltd.) for caryopses samples and Ing. Tomáš Koloušek, head of the Botanical Garden and Arboretum of Mendel University in Brno, for growing of experimental plants.

ÚVOD

Obilky pšenice seté (*Triticum aestivum* L.) pěstovaných ve velkém jsou charakteristické červeným (červenohnědým) zbarvením, které je způsobeno přítomností fenolických látek v osemení a oplodí. Existují i genotypy, jejichž obilky vykazují jiné zbarvení: purpurové nebo modré. Toto zbarvení je vyvoláno přítomností anthokyanů především ve formě glykosidů nebo rutinoidů cyanidinu a delphinidinu. Při purpurovém zbarvení převládá jako aglykon cyanidin, při modrém zbarvení se více vyskytuje delphinidin (Farah et al. 2008, Abdel-all et al. 2008). Produkce těchto pigmentů je podmíněna příslušnými biochemickými drahami, které byly dostatečně charakterizovány, a řízena skupinou genů, které byly pomocí klasických genetických metod detekovány a lokalizovány na chromozomy. Bylo ukázáno, že distribuce uvedených barviv je v obilce přesně lokalizována. Ze studií provedených u jiných genotypů je známo, při purpurovém zbarvení obilky se pigmenty ukládají do perikarpu. Při modrém zbarvení se pigmenty ukládají do aleuronové vrstvy (srov. Trojan et al. 2010, Holton, Cornish 1995, Dixon, Stelle 1999). V rámci obilky dochází k přesně lokalizované expresi daných genů s různou intenzitou (Liu et al. 2005).

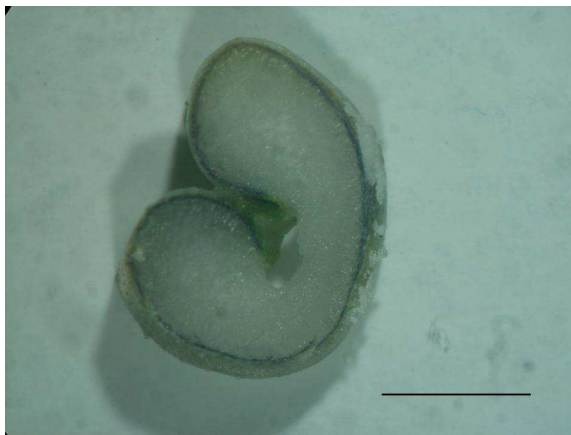
V předešlých pracích jsem detekovali pomocí SSR markerů genetickou příbuznost 24 různých genotypů s purpurovým zbarvením oplodí anebo modrým zbarvením aleuronové vrstvy (Musilová et al. 2011). Z nich jsme vybrali po dvou genotypech od obou zbarvení pro studium exprese a její intenzity vybraných genů ze syntetické dráhy anthokyanů. Aby práce odpovídala skutečnosti, bylo třeba potvrdit, že u daných genotypů skutečně převažující modré pigmenty ukládající se v aleuronové vrstvě a purpurové pigmenty v oplodí obilky.

MATERIÁL A METODIKA

Pro pozorování byly použity obilky pšenice seté (*Triticum aestivum* L.) v případě purpurového zbarvení obilky genotypu Abyssinskaja arrasajta a ANK-28B. V případě modrého zbarvení šlo o genotypy Tschermaks Blaukörniger Sommerweizen a UC66049. Obilky byly odebrány z rostlin pěstovaných v Botanické zahradě a arboretu Mendelovy univerzity v Brně ve vegetační sezoně 2011. Po odběru byly pořízeny ruční řezy, které byly pozorovány pod binokulární lupou Olympus SZH10 nebo tenké ruční řezy umístěné v kapce vody na podložním sklíčku a překryté krycím sklíčkem pod světelným mikroskopem Olympus Provis. Fotodokumentace byla pořizována digitálním fotoaparátem Olympus SP-350 s využitím programového vybavení QuickPHOTO Micro 2.3.

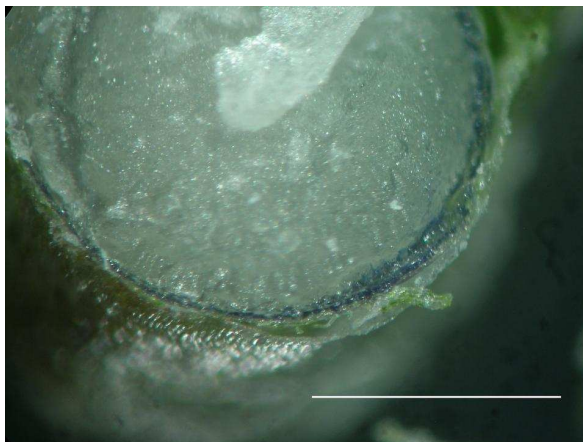
VÝSLEDKY A DISKUZE

Při pozorování příčného řezu obilkou genotypu těsně před stadiem zralosti pod binokulární lupou Tschermaks Blaukörniger Sommerweizen byla pod povrchem na okraji jasně viditelná modrá vrstva (obr. 1).



Obr. 1 Příčný řez obilkou genotypu Tschermaks Blaukörniger Sommerweizen (úsečka = 1 mm)

Větší zvětšení ukázalo, že u tohoto genotypu i ve stádiu blížícímu se zralosti jsou v povrchových



Obr. 2 Příčný řez obilkou genotypu Tschermaks Blaukörniger Sommerweizen. Povrchová vrstva obsahuje zelené pigmenty. Patrná je i vrstva obsahující modré pigmenty (úsečka = 0,5 mm)

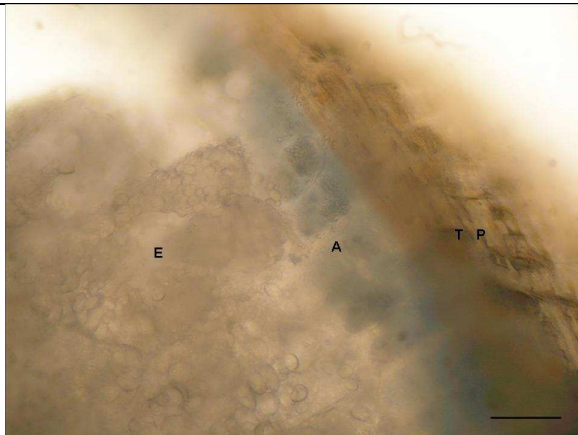
vrstvách přítomny zelené pigmenty, zřejmě chlorofyly, i v době, když už aleuronová vrstva obsahuje modré pigmenty (obr. 2). To potvrdilo ještě podrobnější pozorování pod mikroskopem. Vrstva oplodí je částečně zbarvena zeleně, buňky osemení jsou bez pigmentů. Buňky aleuronové vrstvy jsou zbarveny modře. Buňky endospermu, které bezprostředně přiléhají k buňkám aleuronové vrstvy jsou oproti ostatním endospermálním buňkám o mnoho větší (obr. 3).



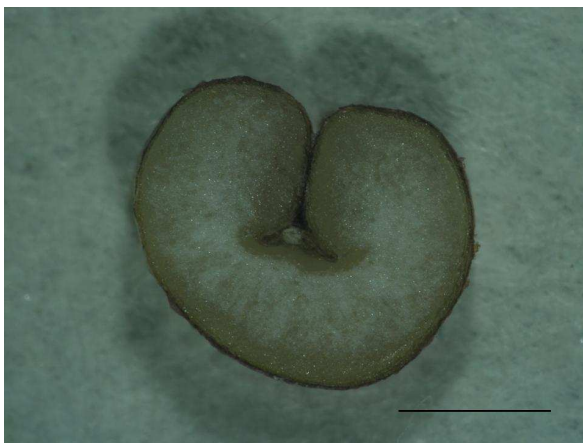
Obr. 3 Příčný řez obilkou genotypu Tschermaks Blaukörniger Sommerweizen. Oplodí (P) obsahuje zelené pigmenty. Osemení (T), které srůstá s oplodím neobsahuje pigment. Buňky aleuronové (A) vrstvy jsou zbarveny modře. Buňky endospermu (E) jsou bez pigmentů (úsečka = 200 μ m)

Obdobná zbarvení bylo i u druhého sledovaného genotypu UC66049 s modrým zbarvením obilek. Ve stejném stupni zralosti však oplodí neobsahovalo zelené pigmenty. U tohoto genotypu se podle zbarvení nedalo rozlišit oplodí od semení (obr. 4).

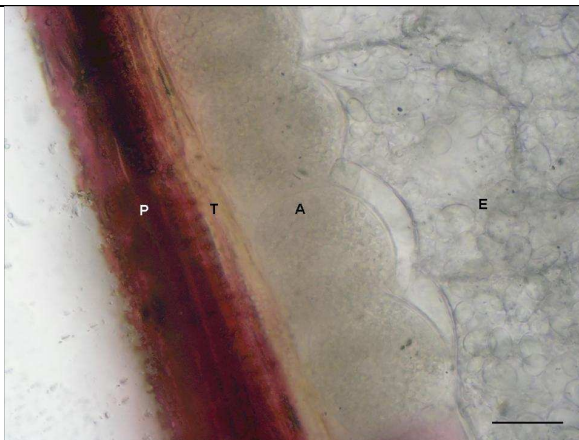
U genotypu pšenice seté s purpurově zbarvenými obilkami genotypu ANK-28B byla při pozorování pod binokulární lupou na povrchu viditelná vrstva s purpurovým zbarvením. Ostatní části obilky byly bez pigmentů (obr. 4). Při podrobnějším pozorování bylo zřetelně vidět, že purpurové pigmenty jsou uloženy v oplodí. Osemení, stejně jako aleuronová vrstva a endosperm žádné výrazné pigmenty neobsahuje. Velikost buněk aleuronové vrstvy a ostatních buněk endospermu nebyla tak výrazně odlišná jako u genotypů s modře zbarvenými obilkami. (obr. 6). Ne všechny části oplodí u genotypu ANK-28B byly purpurově zbarveny. Některé buňky neobsahovaly purpurové pigmenty vůbec. Jiné v omezené míře (obr. 7). V některých částech bylo rozložení pigmentů nerovnoměrné (obr. 8). U dalšího sledovaného genotypu s purpurovým zbarvením obilky (genotypu Abyssinskaja arrasajta) byla situace obdobná jako u genotypu ANK-28B (obr. 9)



Obr. 4 Příčný řez obilkou genotypu UC66049. Oplodí (P) neobsahuje zelené pigmenty. Osemení (T) je zbarveno stejně jako oplodí. Buňky aleuronové (A) vrstvy jsou zbarveny modře. Buňky endospermu (E) jsou bez pigmentů (úsečka = 200 μ m)



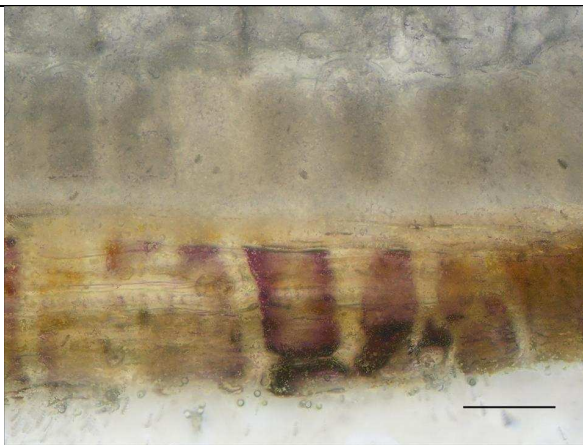
Obr. 5 Příčný řez obilkou genotypu ANK-28B (úsečka = 1 mm)



Obr. 6 Příčný řez obilkou genotypu ANK-28B. Oplodí (P) obsahuje purpurové pigmenty. Osemení (T), které srůstá s oplodím, neobsahuje pigment. Buňky aleuronové (A) vrstvy a buňky endospermu nejsou zbarveny (úsečka = 200 μm).



Obr. 7 Příčný řez obilkou genotypu ANK-28B. Buňky oplodí (P) neobsahují purpurové pigmenty vůbec nebo je ve velmi omezené míře. Osemení (T), které srůstá s oplodím, neobsahuje pigment. Buňky aleuronové (A) vrstvy a buňky endospermu nejsou zbarveny (úsečka = 200 μm).



Obr. 8 Příčný řez obilkou genotypu ANK-28B. Buňky oplodí obsahují purpurové různé míře (úsečka = 200 μ m).



Obr. 9 Příčný řez obilkou genotypu Abyssinskaja arrasajta. Oplodí (P) obsahuje purpurové pigmenty (úsečka = 200 μ m).

ZÁVĚR

Bylo potvrzeno, že pigmenty (anthokyany) způsobující purpurové zbarvení obilek genotypu Abyssinskaja arrasajta a ANK-28B jsou lokalizovány v oplodí a pigmenty způsobující modré zbarvení obilek genotypů Tschermaks Blaukörniger Sommerweizen a UC66049 jsou lokalizovány v aleuronové vrstvě obilky. Výsledky práce dovolují studovat expresi vybraných genů zodpovědných za tvorbu příslušných anthokyanů.

LITERATURA

Abdel-Aal E. S. M., Abou-Arab A. A., Gamel T. H., Hucl P., Young J. C., Rabalski I. (2008): Fractionation of blue wheat anthocyanin compounds and their contribution to antioxidant properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(23): 11171–11177.

Hosseinian F. S., Li W., Beta T. (2008) Measurement of anthocyanins and other phytochemicals in purple wheat. *Food Chemistry* 109: 916-924.

Liu M-S, Wang F, Dong Z-X, Zhang X-S (2005): Expression analysis of dihydroflavonol 4-reductase genes involved in anthocyanin biosynthesis in purpur grains of wheat. *Journal of Integrative Plant Biology*, 47(9): 1107-1114.

Molton T. A., Cornish E. C. (1995): Genetics and Biochemistry of Anthocyanin Biosynthesis. *The Plant Cell* 7: 1071-1083.

Musilová M., Trojan V., Vyhnaněk T., Havel L. (2011): The variability of wheat genetic resources usable in breeding for functional foods. *Potravinářství* 5, (suppl.): 70-73.

Trojan V. Musilová M., Vyhnaněk T., Havel L. (2010): Studium genetické variability kolekce pšenice s nestandardním zbarvením obilek. *MendelNet 2010 Proceedings of International Ph.D. Students Conference*. 1. vyd. Brno: Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, s. 845-851.