



UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Nace ZALETEL

**KO JE SVETLOBE PREVEČ ALI KAKO SE RASTLINE  
ODZIVAJO NA VELIKO SVETLOBNO JAKOST**

DIPLOMSKI PROJEKT

Univerzitetni študij - 1. Stopnja

Ljubljana, 2011

UNIVERZA V LJUBLJANI

BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Nace ZALETEL

**KO JE SVETLOBE PREVEČ ALI KAKO SE RASTLINE ODZIVAJO NA  
VELIKO SVETLOBNO JAKOST**

DIPLOMSKI PROJEKT  
Univerzitetni študij - 1. stopnja

**WHEN THERE IS TOO MUCH LIGHT OR HOW DO PLANTS  
RESPOND TO EXCESS OF LIGHT**

B. SC. THESIS  
Academic Study Programmes

Ljubljana, 2011

Diplomski projekt je zaključek Univerzitetnega študija Kmetijstvo – agronomija – 1. stopnja. Delo je bilo opravljeno na Katedri za aplikativno botaniko, ekologijo, fiziologijo rastlin in informatiko.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Dominika Vodnika.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Borut Bohanec  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Dominik Vodnik  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Branka Javornik  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, oddelek za agronomijo

Datum zagovora: 26.9.2011

Diplomski projekt je rezultat lastnega dela. Podpisani se strinjam z objavo svojega diplomskega projekta na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je delo, ki sem ga oddal v elektronski obliki, identično tiskani verziji.

Nace Zaletel

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Du1
DK	UDK 581.132:581.5(043.2)
KG	fotosinteza/svetloba/sončevo sevanje/odziv rastlin/rastlina in okolje/škodljivi učinki
AV	ZALETEL, Nace
SA	VODNIK, Dominik (mentor)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
LI	2011
IN	KO JE SVETLOBE PREVEČ ALI KAKO SE RASTLINE ODZIVAJO NA VELIKO SVETLOBNO JAKOST
TD	Diplomski projekt (Univerzitetni študij - 1. stopnja)
OP	IV, 12 str., 8 sl., 10 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	Svetloba je bistvena za fotosintezo in vzdržuje večino življenja na Zemlji. Intenzivnost in spektralna kvaliteta svetlobe v prostoru in času sta izredno variabilni. Posledica tega so mnogi procesi, ki pomenijo prilagoditev fotosintetskega aparata tem nihanjem. Rastlinam sončno sevanje ne predstavlja le vira energije, ampak zaradi neustrezne kvalitete (UV svetlobe) ali prekomerne količine deluje tudi kot stresni faktor. Ko je v presežku, svetlobna energija povzroča tvorbo reaktivnih oblik kisika. Če svetlobna energija ni ustrezno odvajana, lahko pride do poškodb biomolekul, celičnih struktur, celic in tkiv. Absorbirana svetlobna energija je v presežku, ko presega kapaciteto fotosinteze za potrebe asimilacije. Škodljivi učinki prekomerne svetlobne energije se odražajo v fotoinhibiciji, zmanjšanju fotosintetske aktivnosti. Fotoinhibicija je posledica preusmerjanja absorbirane svetlobne energije v odvajanje toplote ali pa je povezana z poškodbami fotosintetskih tkiv. Karotenoidi imajo z gašenjem ekscitacijskega stanja klorofilov bistveno vlogo pri fotoprotekciji. Eden najpomembnejših mehanizmov za odvajanje energije v obliki toplote je ksantofilni cikel. Drugi zaščitni mehanizmi pred premočno svetlobo, kot so svetlobno dihanje, Mehlerjeva reakcija in ciklični transport elektronov delujejo predvsem kot ponori elektronov. Škodljiv vpliv prekomerne svetlobe lahko omejijo tudi premiki listov in kloroplastov.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

- ND Du1
- DC UDC 581.132:581.5(043.2)
- CX photosynthesis/sunlight/light intensity/plant response/plant ecology/harmful effect
- AU ZALETEL, Nace
- AA VODNIK, Dominik (supervisor)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
- PY 2011
- TY WHEN THERE IS TOO MUCH LIGHT OR HOW DO PLANTS RESPOND TO EXCESS LIGHT
- DT B. Sc. Thesis (Academic Study Programmes)
- NO IV, 12 p., 8 fig., 10 ref.
- LA sl
- Al sl/en
- AB Light is essential for photosynthesis and supports most life on Earth. However, light intensity and spectral quality are highly variable in space and time. This has resulted in the evolution of many processes within the photosynthetic system to accommodate these fluctuations. For plants, solar radiation is not only a source of energy, but also functions as a stress factor (especially ultraviolet light). In excess, light energy can lead to the production of reactive oxygen species and damage can occur if the light energy is not dissipated safely. Absorbed solar energy may be defined as excessive when it exceeds the capacity of photosynthesis to use it for assimilation. Harmful effect of excess light reflects in the rate of photoinhibition. Photoinhibition is caused by the diversion of absorbed light energy toward heat dissipation, or is associated with damaged photosynthetic tissue. Carotenoids play an essential role in photoprotection by quenching the excited state of chlorophyll. Thermal energy dissipation is catalyzed predominantly by xanthophyll cycle carotenoids. Other photoprotective mechanisms such as photorespiration, Mehler reaction and cyclic electron transport function mostly as electron sinks. Effect of excess light can also be partly avoided by movements of plant leaves and chloroplasts.

## KAZALO VSEBINE

	Str.
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	II
KEY WORDS DOCUMENTATION	III
KAZALO VSEBINE	IV
KAZALO SLIK	V
<b>1 UVOD</b>	<b>1</b>
<b>2 SVETLOBA IN FOTOSINTEZA</b>	<b>2</b>
2.1 SONČNO SEVANJE	2
2.2 FOTOSINTEZA	4
2.2.1 Zbiranje svetlobe	4
2.2.2 Transport elektronov	5
2.2.3 Kompenzacijska in saturacijska točka fotosinteze	5
<b>3 ŠKODLJIVO DELOVANJE SVETLOBE</b>	<b>6</b>
3.1 UV SEVANJE	7
3.2 FOTOINHIBICIJA	7
<b>4 RSTLINE POD SVETLOBNIM STRESOM</b>	<b>8</b>
4.1 ODVAJANJE PRESEŽKA ENERGIJE	8
4.1.1 Karoteni in ksantofilni cikel	9
4.1.2 Svetlobno dihanje	11
4.1.3 Mehlerjeva reakcija	11
4.2 IZOGIB SVETLOBNEMU STRESU	11
<b>5 SKLEPI</b>	<b>12</b>
<b>6 VIRI</b>	<b>13</b>

## KAZALO SLIK

	Str.
<b>Slika 1:</b> Sončevo sevanje.....	2
<b>Slika 2:</b> Svetlobni spekter.....	3
<b>Slika 3:</b> Učinek delovanja posameznih spektralnih območij sončnega sevanja.....	3
<b>Slika 4:</b> Območje absorpcije kloroplastnih pigmentov glede na valovne dolžine vidne svetlobe.....	5
<b>Slika 5:</b> Neto-fotosinteza v odvisnosti od povečevanja svetlobne jakosti.....	6
<b>Slika 6:</b> Shematični prikaz epoksidacije in deepoksidacije ksantofilnega cikla (Hager, 1967).....	10
<b>Slika 7:</b> Procentualni delež posameznih pigmentov ksantofilnega cikla v listih velike koprive.....	10
<b>Slika 8:</b> Svetlobna lisa v zelo kratkem časovnem intervalu močno spremeni svetlobne razmere.....	12

## 1 UVOD

Sonce oddaja ogromne količine energije v obliki elektromagnetnih valov različnih valovnih dolžin od gama žarkov z nekaj tisočinkami nanometrov do infrardečih z več tisoč nanometri. Svetloba ima lastnost delcev imenovanih fotoni, ki so diskretni paketi energije.

Za rastline so najpomembnejše valovne dolžine vidnega dela spektra, saj omogočajo primarno produkcijo v zelenih rastlinah in s tem tudi obstoj večinskega dela preostale biosfere. Pomemben vpliv ima ultravijolična svetloba, ki sodeluje tako pri procesu fotoinhibicije, kot pri indukciji sinteze zaščitnih pigmentov, ki se akumulirajo z naraščanjem jakosti sevanja. Svetlobno sevanje valovnih dolžin, ki so daljše od vidne svetlobe, imajo predvsem termogenetski učinek.

Velika svetlobna jakost lahko predstavlja stres za rastline, saj z dovajanjem večje količine energije, kot jo rastline lahko uporabijo v procesu fotosinteze, deluje inhibitorno ali celo fotodestruktivno. Rastline, ki so prilagojene močni svetlobi, ta stres očitneje občutijo šele ob prisotnosti sekundarnega stresa, ki omejuje ponore energije v fotosintezi in s tem povzroča nezaželjeno nastajanje reaktivnih oblik kisika in povečanje temperature asimilatornih tkiv. Rastline, vajene šibkih svetlobnih razmer pa se s tovrstnimi težavami srečajo že veliko prej, saj imajo fotosintezni aparat prilagojen učinkoviti izrabi nizkih jakosti sevanja. Velika jakost fotosintetsko aktivne svetlobe ali UV sevanja je odgovorna tudi za degradacijo proteinov, poškodbe nukleinskih kislin in zmanjšanje aktivnosti encimov (Larcher, 2001).

Poleg svetlobe na rastline deluje množica dejavnikov, ki omejujejo rast rastlin in fotosintezno aktivnost. Ti dejavniki so lahko okoljski, npr. omenjena razpoložljivost vode in hranil ter visoka temperatura ali pa notranji, genetsko pogojeni, na primer omejitve velikosti rastlin in majhna fotosintetska kapaciteta. Direktna posledica tega, da je svetlobe velikokrat preveč, je potreba po fotozaščitnih mehanizmih, nujnih za preprečitev hujše fotoinhibicije. Ksantofilni cikel, svetlobno dihanje, Mehlerjeva reakcija in ciklični transport predstavljajo ponor energije v fotosintezi in delujejo fotozaščitno tudi kot odstranjevalci reaktivnih oblik kisika. Prilagoditev rastlin na preživetje v stresnih razmerah zaradi svetlobe je tudi izmikanje listov in kloroplastov direktni svetlobi, v izredno neugodnih razmerah pa celo odmet listja.

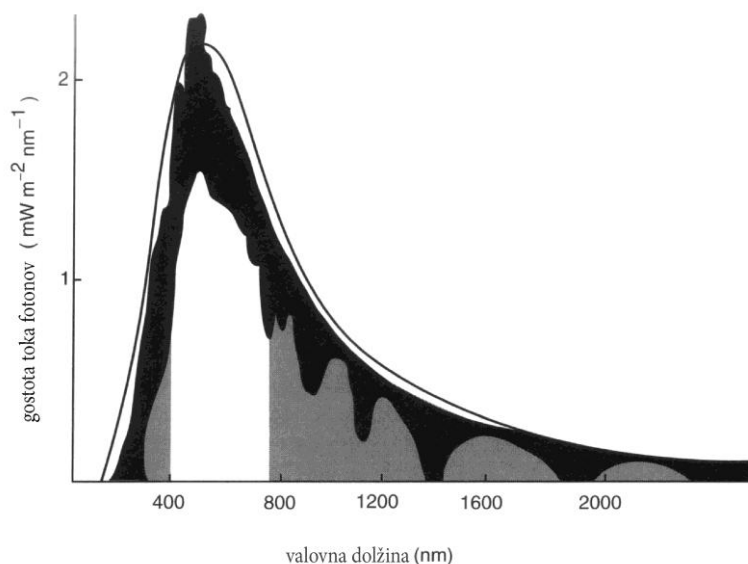
V nalogi je predstavljena problematika svetlobnega stresa in načini odvajanja energije svetlobe iz rastlinskih tkiv.



## 2 SVETLOBA IN FOTOSINTEZA

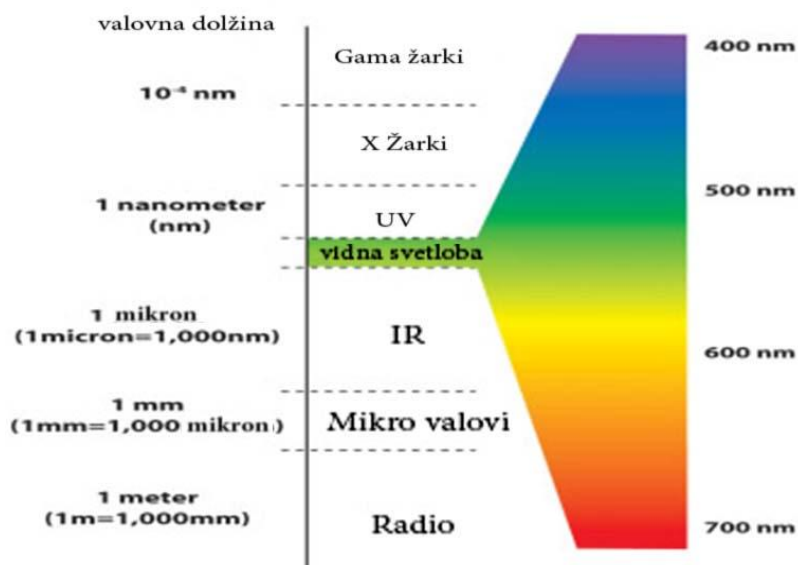
### 2.1 SONČEVO SEVANJE

Sončevo sevanje, ki ga prejme Zemlja, je relativno konstantno, a v biosferi močno variira. V zgornjih mejah atmosfere je intenziteta sevanja  $1.36 \text{ kJ/m}^2\text{s}$ , to je solarna konstanta. Površje Zemlje doseže povprečno 47% sončevega sevanja, ki ima na nivoju morske gladine maksimalno vrednost  $1 \text{ kJ/m}^2\text{s}$  (globalno obsevanje). Razlika med solarno konstanto in globalnim obsevanjem nastaja zaradi reflektiranja svetlobe nazaj v vesolje zaradi loma žarkov, absorpcije kratkih valovnih dolžin z atmosferskim ozonom in kisikom, ter absorpcije dolgovalovnih delov spektra, ki je odvisna od koncentracije vodne pare in  $\text{CO}_2$  v atmosferi. Približno 45% svetlobe, ki doseže zemeljsko površje, je fotosintetsko aktivne. Sevanje sestavljata direktna in difuzna svetloba, slednja predstavlja od 10 do 100 % skupnega sevanja (Larcher, 2001).



Slika 1: Sončevo sevanje, ki dospe do vrha atmosfere (zunanj rob črne ploskve); sevanje črnega telesa (zunanja polna črta); sevanje na zemeljski površini (siva in bela ploskev); fotosintetsko aktivno sevanje (bela ploskev) (Fitter in Hay, 2002)

Fotosintezno aktivni del spektra (**PAR** - photosynthetic active radiation) približno ustreza valovnim dolžinam vidne svetlobe 400 (380) –700 (710) nm. Učinki sevanja na rastline so odvisni od jakosti, trajanja, spektralne sestave ali energetske vsebnosti sevanja (1 mol fotonov modre svetlobe z 490 nm ima energijo 240 kJ, 1 mol rdeče svetlobe z valovno dolžino 700 nm pa le 170kJ) in od tipa vegetacije ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_4$ , CAM metabolizem). Spreminjajo se z zemljepisno širino, nadmorsko višino, letnimi časi in uro dneva (Larcher, 2001; Taiz in Zeiger, 2010).



Slika 2: Svetlobni spekter razdeljen na valovne dolžine elektromagnetnega valovanja podobnih lastnosti (gama žarki, X žarki, UV, vidna svetloba, IR, mikrovalovi, radio valovi)

Poleg fotosintetsko aktivnega dela spektra na rastline vplivajo tudi druge valovne dolžine svetlobe. Fotosintetski učinek ima le vidni del spektra, na rastline pa deluje tudi fotomorfogenetsko, fotodestruktivno in termalno. Ultravijolično sevanje vpliva na morfološke spremembe rastlin v razvoju, ima pa tudi močan fotodestruktivni učinek. Infrardeči del spektra zelo vpliva na morfogenezo in na segrevanje rastlin. Termalno delovanje na rastline je značilno tudi za dolgovalovni del spektra sončevega sevanja.

spektralno območje	valovna dolžina [nm]	delež energije sončevega sevanja	Učinek sevanja			
			fotosintetski	foto-morfogenetski	foto-destruktivni	termalni
ultravijolično	290-380	0-4	0	x	+	0
fotosint. akt. sevanje (PAR)	380-710	21-46	+	+	x	+
infrardeče	750-4000	50-79	0	+	0	+
dologovalovno	4000-100000		0	0	0	+

+ pomemben  
x majhen  
0 nepomemben

Slika 3: Učinek delovanja posameznih spektralnih območij sončevega sevanja na rast, razvoj, poškodbe in temperaturne spremembe rastlin (Larcher, 2001)

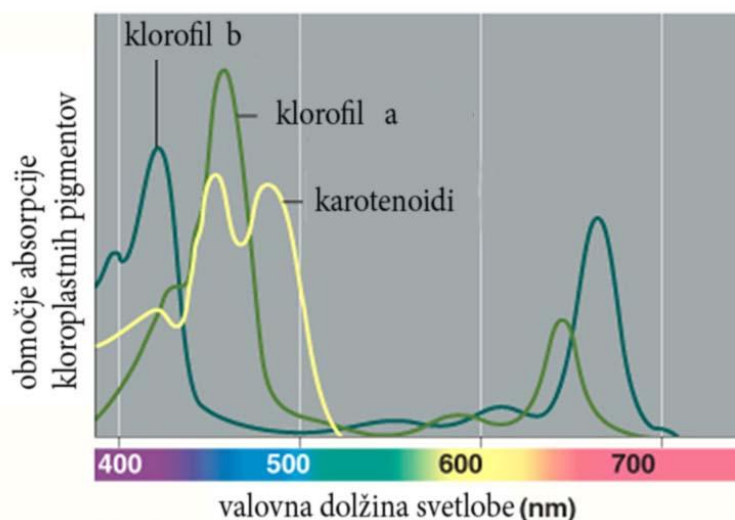
## 2.2 FOTOSINTEZA

Energijo in redukcijsko moč za fotosintetsko vgradnjo CO<sub>2</sub> v sladkorje zagotavljajo svetlobne reakcije fotosinteze, ki potekajo v notranjosti kloroplasta, na membranah tilakoid. Slednje vsebujejo proteinske komplekse fotosistem I, fotosistem II, citokrom b<sub>6</sub>f kompleks in ATP-sintazo, ki med drugim skrbijo za transport elektronov in protonov iz lumna (notranjosti) tilakoide v stromo kloroplastov pri čemer se tvorita NADPH in ATP. V stromi kloroplastov energijsko bogati molekuli NADPH in ATP služita za gonilno silo Kalvinovega cikla kjer oddata svojo energijo za sintezo sladkorjev in se v obliki NADP in ADP vračata do tilakoid po nove zaloge energije. V kolikor je sončevega sevanja preveč in je transport elektronov prepočasen za odvajanje vse energije ali celo zaustavljen pa prihaja do fotoinhibicije in poškodb struktur kloroplastov (Taiz in Zeiger, 2010).

### 2.2.1 Zbiranje svetlobe

Fotosistem I in II sta zaradi svoje sestave in pigmentov sposobna lovljenja svetlobne energije in pretvorbe le-te v kemično. V tilakoidni membrani kloroplasta se fotosintetska barvila, klorofili in karotenoidi, nahajajo v pigment-proteinskih kompleksih in sicer v reakcijskem centru PS I (RC I), PS II (RC II) in antenskih (žetvenih) kompleksih (LHC I in II). Glavni regulator sinteze teh barvil je svetloba. V kloroplastih na svetlobi najprej nastanejo pigment-protein kompleksi reakcijskega centra in nato antenski (žetveni) kompleksi s ksantofili. Delež posameznih barvil je odvisen od svetlobnih razmer. Najpomembnejši element fotosistema je reakcijski center v katerem najdemo klorofil a, ki je glavni fotosintezni pigment, saj je edini sposoben oddaje elektrona. Drugi pigmenti prisotni v fotosistemu so pomožni ali antenski pigmenti, namenjeni lovljenju in prenosu energije fotonov.

Karotenoidi, v glavnem ksantofili so sposobni absorbirati svetlobo v valovnem območju od 400 do 500 nm (modra svetloba) in jo prenesti na klorofile. S tem razširijo spektralni obseg v katerem svetloba lahko poganja fotosintezo. Karotenoid, ki absorbira svetlobno energijo, preide v vzbujeno singlet stanje. To stanje je kratkotrajno, saj nekaj energije odda (toplota) in preide na nižji energetski nivo. Vzburjen karotenoid na (delno) znižanem energetskem nivoju je ključen za prenos energije na klorofil, ki preide v vzbujeno singlet stanje. Ker so karotenoidi in klorofil v tilakoidah blizu skupaj, je ta prenos je zelo učinkovit. Pigmentna molekula klorofila v vzbujenem stanju je izredno nestabilna in teži k čimprejšnji oddaji povečane energije, kar lahko doseže z resonančnim prenosom na drug pigment, z oddajo toplote, s fluorescenco (oddaja svetlobe daljše valovne dolžine) ali pa sodeluje v fotokemičnih reakcijah. V najslabšem primeru preide v vzbujeno tripletno stanje, ki je odgovorno za nastanek reaktivnih oblik kisika (Demmig-Adams in Adams, 1996; Siefermann-Harms, 1987, cit. po Šircelj, 2007).



Slika 4: Območje absorpcije kloroplastnih pigmentov glede na valovne dolžine vidne svetlobe

Za fotosintezo sta najbolj pomembni modra in rdeča svetloba, ki ju pigmenti najbolj absorbirajo. Najmanj je pomembna zelena svetloba, katera se skoraj v celoti reflektira nazaj v okolje, kar je tudi razloga za dejstvo, da rastline vidimo v zeleni barvi.

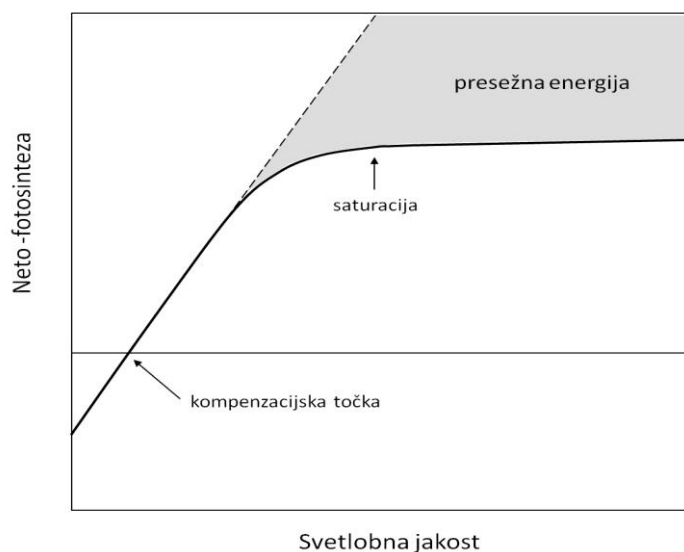
## 2.2.2 Transportna veriga elektronov

Prenos elektronov od reakcijskega centra fotosistema do končnega akceptorja elektrona molekule NADP in ustvarjanje protonskega gradienta sta glavni funkciji elektronskega transporta, ima pa tudi fotozaščitni učinek. Elektron, oddan iz klorofila a fotosistema II, nadaljuje pot po linearni transportni verigi preko plastokinona in skozi citokrom b6f kompleks ter nato preko plastocianina in skozi fotosistem I do encima ferodoksin-NADP reduktaze, ki elektron s tvorbo NADPH dokončno pretvori v kemično energijo. Fotosistem I in citokromski kompleks b6f sodelujeta tudi v cikličnem transportu elektronov, ki služi ustvarjanju protonskega gradienta in s tem sintezi ATP. Dodatna funkcija b6f kompleksa je kinonski cikel, katerega naloga je dodatno prečrpanje štirih protonov iz strome v lumen tilakoide, kar prav tako služi vzdrževanju protonskega gradienta (Taiz in Zeiger, 2010).

## 2.2.3 Kompenzacijska in saturacijska točka fotosinteze

Svetloba je okoljski dejavnik, ki zelo neposredno in hitro vpliva na fotosintetsko aktivnost. Odvisnost neto-fotosinteze od svetlobnega toka v PAR območju opisuje svetlobna krivulja. V temi ali pri šibki svetlobi je neto fotosinteza v negativnem območju, ker rastline z dihanjem izgubljajo več ogljika, kot ga asimilirajo. Zadostna jakost fotosinteze je nujna za premostitev kompenzacijske točke, ki ustreza delovanju fotosintezne funkcije v ravno tolikšni meri, da je bilanca asimiliranega C enaka 0. To pomeni, da neto fotosinteza kompenzira dihanje v temi in fotorespiracijo. Območje delovanja fotosinteze med svetlobno kompenzacijsko točko in saturacijsko točko je območje v katerem je kvantni izkoristek fotosinteze najvišji oziroma je izraba dostopne svetlobne energije najbolj optimalna. Svetlobna saturacijska točka fotosinteze je jakost sevanja, pri kateri večanje svetlobe ne poveča učinkovitosti fotosinteze in svetloba ni

več edini omejujoči faktor za povečanje (Taiz in Zeiger, 2010). Po zasičenosti fotosinteznih pigmentov (saturaciji) prihaja do svetlobnega stresa in pojava fotoinhibicije ter do svetlobnih poškodb delov fotosinteznega aparata. **To je območje, ko je svetlobe preveč.** Nastopi lahko že pri nizkih jakostih svetlobe v senčnih rastlinah ali pa pri intenzivnejši svetlobi v primeru sončnih rastlin. Prav tako se saturacijska točka lahko pojavi pri zelo različnih jakostih v različnih listih iste rastline. Če na primer opazujemo in primerjamo list iz vrha krošnje in list iz notranjosti krošnje, ki je senčen in ima zato bolj občutljive kloroplaste, prilagojene za lovljenje šibkih jakosti svetlobe, bo saturacija in v listu iz vrha krošnje nastopila pri višjih jakostih kot v senčnem listu.



Slika 5: Neto-fotosinteza v odvisnosti od povečevanja svetlobne jakosti

Krivulja na sliki 5 prikazuje območje in moč asimilacije ogljika. Vse do kompenzacijske točke je neto-fotosinteza negativna, nato narašča linearno skoraj do saturacije, kjer se zaradi fotoinhibicije ustali. Inhibicija fotosinteze je ob povečevanju svetlobne jakosti po saturaciji fotosistema nujna, saj preprečuje svetlobne poškodbe na rastlinah. Večja kot je jakost svetlobe, več energije morajo odvesti fotozaščitni procesi in večja je verjetnost poškodb.

### 3 ŠKODLJIVO DELOVANJE SVETLOBE

Negativen vpliv svetlobe na rastline je lahko posledica neustreznih valovnih dolžin ali pa je vzrok za neželjene dogodke energetski presežek sicer zaželjene fotosintezno aktivne svetlobe. Valovne dolžine svetlobe, ki niso primerne za fotosintezo predstavljajo predvsem temperaturni stres, razen UV svetlobe, ki poleg termične motnje s svojimi kratkimi valovi škoduje tudi zgradbi celičnih struktur, med drugimi kloroplastom. Prevelika količina PAR pa s preobremenitvijo fotosinteznega aparata inhibira proces fotosinteze (fotoinhibicija) in s tem rast ter razvoj rastlin.

### 3.1 UV SEVANJE

Destruktivni učinek ultravijoličnega sevanja pri rastlini z visoko ravno strpnosti do sevanja sproži procese, ki vodijo k zaščiti in prilagajanju rastline na sevanje. Pri občutljivejših rastlinah pride do poškodb celične zgradbe in oviranja življenjskih procesov (Vass, 2011). UV neposredno fotokemično deluje na nukleinske kisline, na jedro in mitohondrijsko DNK. Poškodbe nukleinskih kislin se izražajo v zmanjšanem podvajanju DNK, prepisovanju RNK in zmanjšani izgradnji proteinov, kar lahko spremeni potek biokemijskih in fizioloških procesov, manj pogosto pa pride do mutacij. Sevanje UV-B deluje na proteine neposredno fotokemično in posredno preko delovanja na DNK. Z naraščanjem sevanja se zmanjšuje aktivnost nekaterih encimov in vsebnost nekaterih ključnih proteinov fotosistemov, kot so D1 in D2 ter A in B. Do zmanjšanja fotosinteze pod vplivom UV svetlobe pride predvsem v zgodnjih stopnjah razvoja rastline ali njenih organov (Teramura in Caldwell, 1981, cit. po Trošt, 2005). Zmanjšanje fotosintezne aktivnosti pod vplivom ultravijoličnega sevanja razlagamo z zmanjšanjem stomatalne prevodnosti ter s škodljivim vplivom sevanja na različne strukture in procese, ki so udeleženi pri fotosintezi, med njimi na primer na reakcijski center fotosistema, center za oksidacijo vode, na aktivnost encima Rubisco, vsebnost organskih kislin in sladkorjev v Calvin-ovem ciklu, na prenos ekscitacijske energije med gradniki fotosistema ter na membrano kloroplastov.

Rastline tekom razvoja in rasti razvijejo raznovrstne prilagoditve, ki jim pomagajo preživeti v okoljih z močno jakostjo ultravijoličnega sevanja. Spremembe, ki veljajo za prilagoditve rastline na povečano sevanje UV-B so: zmanjšanje listne površine, povečanje listne debeline, povečano nalaganje epikutikularnih voskov, naraščanja vsebnosti nekaterih flavonoidov in drugih antioksidantov ter fotosinteznih barvil in encimov s popravljalno vlogo (Larcher, 2001). Ključni antioksidant v kloroplastih in mitohondrijih je superoksid dismutaza. Pomembni encimi, ki sodelujejo v procesih odstranjevanja aktiviranih oblik kisika, so askorbat peroksidaza, dehidroaskorbat reduktaza in glutation reduktaza,  $\alpha$ -tokoferol je lovilec prostih radikalov v lipidni plasti membran, halkon sintaza je glavni zaščitni encim v citoplazmi (Strid in sod., 1996). Rastline poškodovana mesta popravljajo preko fotoreaktivacije ali z izrezovanjem. Fotoreaktivacija poteka v vseh organelih, ki vsebujejo DNK (v jedru, kloroplastih in mitohondrijih) s pomočjo sevanja UV-A ali modre svetlobe in fotoliaz, ki popolnoma popravijo dimere DNK. Izrezovanje okvarjenih mest DNK poteka tudi pri majhni svetlobni intenziteti, vendar obnavljanje prvotnega zaporedja baz ni popolnoma pravilno (Larcher, 2001).

### 3.2 FOTOINHIBICIJA

Fotoinhibicija združuje vse omejitvene dejavnike procesa fotosinteze in se načeloma vedno pojavi v prisotnosti močne svetlobne jakosti ter ob nezmožnosti sekundarnih procesov fotosinteze, da bi normalno delovali (dodaten stres npr. pomanjkanje vode, CO<sub>2</sub>). Poznamo dinamično fotoinhibicijo, ki se pojavlja v kratkih intervalih in je posledica fotozaščitnih mehanizmov ter kronično fotoinhibicijo, ki dolgotrajno zniža moč asimilacije, saj je posledica svetlobnih poškodb. Svetlobni stres je vedno povezan z zmanjšanjem učinkovitosti fotosinteznega aparata, kar je še posebej opazno v obliki znižanja stopnje fotosinteze okrog poldneva (Taiz in Zeiger, 2010).

Nihanje svetlobne jakosti in kvalitete botruje razvoju velikega nabora procesov fotosinteznega sistema, ki služijo prilagajanju tem nihanjem in očitno je, da je sposobnost asimilacije ogljika in produkcije biomase rastlin prizadeta, če so ti procesi spremenjeni. Fotosintezni aparat je zmožen zelo učinkovite absorpcije in uporabe vidne svetlobe, vendar močna svetloba dovede več fotokemične energije, kot jo list lahko uporabi za fotosintezo. Posledična preobremenitev procesa fotosinteze privede do znižanja izkoristka energije in zmanjšane asimilacije. Ekstremno močno sevanje lahko poškoduje fotosintezne pigmente in tilakoidne strukture. Svetlobne poškodbe posameznih kloroplastov zgornjega dela palisadnega parenhima so pogoste, kar verjetno pripomore k upadu fotosintetske kapacitete v starejših listih (Murchie in Niyogi, 2011).

Rastline, ki že ob krajši izpostavitvi povečani svetlobni jakosti kažejo znake poškodb, so fotolabilne. Take so vse rastline, prilagojene na senčna rastišča in veliko vodnih rastlin. Rastline gozdne podrasti lahko doživijo svetlobni šok, če so nenadoma izpostavljene močni svetlobi npr. ob poseku ali po vetrolomu. Celo sončne lise, ki prodirajo skozi krošnjo so lahko moteč dejavnik za proces fotosinteze rastlin podrasti. Bolj kot je pigmentni kompleks učinkovit za lovljenje svetlobe, bolj je rastlina občutljiva na močno radiacijo in prej se pojavi inhibicija fotosinteze.

Tudi fotostabilne rastline, ki so sicer prilagojene direktni svetlobi velikih jakosti, lahko kažejo znake fotoinhibicije ali svetlobnih poškodb, če je energijski prenos na Kalvinov cikel onemogočen ali zakasnel. Tovrstne situacije se navadno razvijejo, če je bila rastlina že prej pod stresom ali, če se poleg močne svetlobe pojavlja dodaten stres, na primer vročina, zasoljenost tal, pomanjkanje hranil in napad boleznih ali škodljivcev.

## **4 RASTLINE POD SVETLOBNIM STRESOM**

Absorbirana sončna energija je v presežku, kadar prekorači kapaciteto fotosinteze za potrebe asimilacije. Ker je presežek svetlobe potencialno škodljiv, imajo rastline kar nekaj mehanizmov, ki na molekularnem nivoju uravnavajo prekomerno količino energije tako, da ne pride do oksidativnega stresa. Če fotosintezni aparat sprejema več svetlobne energije kakor je uspe kanalizirati v fotosintezo in pretvoriti v neškodljivo kemično energijo, potem v prisotnosti kisika pride do tvorbe singletnega kisika in škodljivih radikalov, ki lahko poškodujejo celične strukture. Reaktivne oblike kisika (ROS) so sicer pomembne signalne molekule rastlin, vendar imajo v prevelikih količinah močan negativen učinek na fotosintezo in druge procese v listih, ter prispevajo k zmanjšani rasti in vitalnosti rastlin. Najbolj ekstremna primera takega stresa sta bledenje listov in celična smrt (Murchie in Niyogi, 2011).

### **4.1 ODVAJANJE PRESEŽKA ENERGIJE**

Ko je močna svetloba absorbirana, je prvo prizorišče fotozaščite v žetvenih kompleksih fotosistema. V rastlinah je eden od glavnih načinov preprečevanja kopičenja odvečne ekscitacijske energije v fotosinteznem aparatu odvajanje odvečne energije iz zasičenega fotosinteznega aparata v obliki toplote s pomočjo ksantofilnega cikla, ki pretvarja odvečno sončno energijo v toploto že pred nastankom škodljivih oksidantov. Karotenoidi so v primeru stresa bolj izpostavljeni kot klorofil, saj predstavljajo prvo obrambno linijo kot dušilci triplet stanja klorofila in odstranjevalci singletnega kisika. Ko je svetloba v presežku in vzbujeni molekuli klorofila ni omogočen prenos energije v nadaljnje procese, je življenjska doba

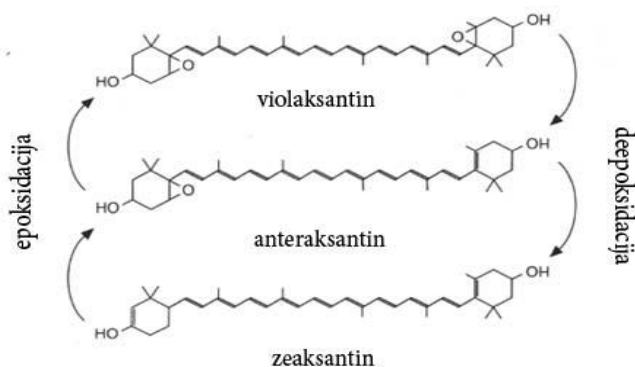
singletnega vzbujenega stanja podaljšana, kar povzroča večjo količino tripletnega vzbujenega stanja, ki prenaša svojo energijo na kisik in tako tvori zelo reaktivno obliko kisika (Demmig-Adams in Adams, 1996). Poškodbe reakcijskega centra fotosistema II povzročajo prekinitev transporta elektronov in zmanjšanje učinkovitosti izrabe energije. Na srečo se klorofil, ko je transport elektronov onemogočen, lahko vrne v nevzbujeno stanje tudi s fluorescenco ali oddajanjem toplote in tako zmanjša obseg škode zaradi močne svetlobe. Odvajanje energije seveda zmanjša učinkovitost fotosinteze, vendar je to le majhen strošek v primerjavi s potencialnimi poškodbami, ki jih povzroča presežek ekscitacijske energije v rastlini. Poleg ksantofilnega cikla delujejo fotozaščitno tudi drugi procesi fotosinteze, npr. svetlobno dihanje, ciklični transport elektronov in Mehlerjeva reakcija.

#### **4.1.1 Karoteni in ksantofilni cikel**

Karotenoidi lahko odvečno ekscitacijsko energijo odvedejo kot toploto in tako preprečijo nastanek strupenih fotoproduktov. Če je presežek ekscitacijske energije tako velik, da strupeni fotoprodukti (vzbujeno tripletno stanje klorofila, singletni kisik, superoksid radikal, peroksidi) vseeno nastajajo, karotenoidi zaščitijo fotosintezni aparat pred poškodbami tako, da odstranijo singletni kisik in kisikove radikale in, kar je še bolj pomembno, dušijo dolgoživo vzbujeno tripletno stanje klorofila in tako preprečijo nastanek singletnega kisika. Dušenja tripletnega stanja klorofila in odstranjevanja singletnega kisika so sposobni le karotenoidi z deset ali več konjugiranimi dvojnimi vezmi (Demmig-Adams in Adams, 1996).

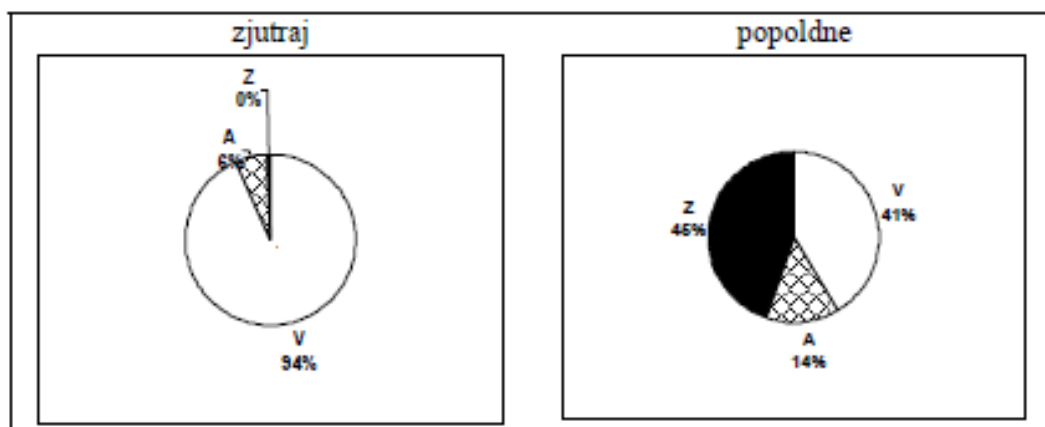
Violaksantinski cikel je prvi odkrit, najpogostejši in najbolj učinkovit od šestih poznanih ksantofilnih ciklov, zato ga v literaturi označujejo kar kot ksantofilni cikel. Ključna molekula mehanizma za odvajanje presežne ekscitacijske energije v tem ciklu je zeaksantin. Ta naj bi dušil vzbujeno singlet stanje klorofila neposredno ali posredno z vplivom na konformacijo ali agregacijo klorofilproteinskih kompleksov. Pretvorbe pigmentov ksantofilnega cikla so edine spremembe karotenoidnega sistema fotosinteznega aparata do katerih prihaja v razmeroma kratkem časovnem intervalu. Pojavijo se kot odziv na spremembe v ravnotežju med absorpcijo svetlobe in uporabo svetlobne energije v fotosinteznem metabolizmu ogljika. Ksantofilni cikel sestavljata dve reakciji, ki ju katalizirata dva različna encima. Vključuje deepoksidacijo diepoksida violaksantina v monoepoksid anteraksantin in deepoksidacijo tega v zeaksantin, kar katalizira deepoksidaza. Obratno reakcijo katalizira epoksidaza. Reakcija deepoksidacije naj bi potekla zelo hitro (v nekaj sekundah), epoksidacija pa počasneje (več minut do več ur). *In vivo* je deepoksidacija odvisna od močne osvetlitve, epoksidacijo pa stimulira šibka svetloba. Pri šibki osvetlitvi prevladuje violaksantin, ko pa gostota toka elektronov (PFD) naraste nad zahteve za saturacijo fotosinteze, se poveča vsebnost zeaksantina. Svetlobna regulacija cikla oziroma povezava epoksidacijskega statusa z jakostjo svetlobe je mogoča zaradi lastnosti encimov vključenih v cikel. Deepoksidaza ima pH optimum v kislem, epoksidaza pa v alkalnem (Demmig-Adams in Adams, 1996). Cikel naj bi potekal v lipidni fazi tilakoidne membrane. Pigmenti cikla naj bi se izmenjevali med antenskim kompleksom in ciklom v membrani.





Slika 6: Shematični prikaz epoksidacije in deepoksidacije ksantofilnega cikla (Hager, 1967)

Na spodnjih diagramih je prikazana razlika med vsebnostmi posameznih ksantofilov glede na pričakovan svetlobni stres v listih pobranih popoldne. V teh listih se lepo vidi povečanje vsebnosti zeaksantina, ki je ključna molekula za odvajanje prekomerne energije. Večja vsebnost zeaksantina in anteraksantina kaže na to, da je bila rastlina v stresu. Podobne spremembe vsebnosti deležev posameznih karotenoidov ksantofilnega cikla se na sončen dan pojavljajo v vseh rastlinah, saj proces fotosinteze ob stalnem dotoku energije zagotovo naleti na katerega od omejitvenih dejavnikov (npr. pomanjkanje vode zaradi omejevanja transpiracije ali pomanjkanje ogljikovega dioksida zaradi zapiranja listnih rež).



Slika 7: Procentualni delež posameznih pigmentov ksantofilnega cikla v listih velike koprive, ki so bili pobrani zgodaj zjutraj (majhen PFD) in v listih, ki so bili pobrani popoldne (velika gostota toka elektronov (PFD)) (Šircelj, 2007)

### 4.1.2 Svetlobno dihanje

Fotorespiracija je inhibitorni proces fotosinteze, ki znižuje učinkovitost fiksacije ogljika. Kombinacija ogljikovega hidrata, ki bi bil sicer vključen v karboksilacijo Kalvinovega cikla s kisikom ter posledično sproščanje ogljikovega dioksida je glavna funkcija svetlobnega dihanja. Fotorespiracija zahteva prisotnost svetlobe in je katalizirana z encimom RUBISCO (ribuloze bifosfat karboksilaza / oksigenaza), ki je poleg oksigenacije v procesu fotorespiracije bolj poznan kot katalizator karboksilacije v Kalvinovem ciklu. Intenzivnost procesa se veča z naraščanjem koncentracije kisika v celici, ki se akumulira pri fotosintezi ob zaprtih listnih režah. Fotorespiracija znižuje učinkovitost fotosintetske fiksacije ogljika z 90% na 50% (Taiz in Zeiger, 2010). V nasprotju s celičnim dihanjem svetlobno dihanje ne proizvaja energije temveč jo le porablja. Ker je energijsko potraten proces je fotorespiracija koristna ob veliki svetlobni jakosti, saj predstavlja ponor odvečne energije in s tem posredno pomaga pri preprečevanju poškodb povzročenih zaradi premočne svetlobe.

### 4.1.3 Mehlerjeva reakcija

Mehlerjeva reakcija je imenovana tudi cikel voda-voda in je redukcija ene molekule  $O_2$  na dve molekuli vode na mestu redukcije v fotosistemu I s pomočjo elektronov pridobljenih iz dveh molekul vode v fotosistemu II. Glavni namen je lovljenje superoksidov in peroksidov ter s tem preprečiti škodljive reakcije znotraj kloroplasta. S tem pripomore k razpršitvi elektronov in vzbujenega stanja fotosistema II. Meritve tega cikla so pokazale, da je še posebej aktiven, ko je rastlina v stresu, na primer ob suši ali nenadnem prehodu s teme na svetlobo še pred vključitvijo ogljikovega dioksida v Kalvinov cikel, ko ima elektronska transportna veriga potencial, da postane močno reducirana (Makino in sod., 2002).

## 4.2 IZOGIB SVETLOBNEMU STRESU

Izogib neugodnim dejavnikom okolja je zelo pogosta strategija organizmov, za katero pa imajo rastline zaradi pritrjenega načina življenja malo možnosti. Rastline se stresu lahko izmikajo s premikanjem organov in organelov ter s spremembami oblike, ali pa za zaščito pred poškodbami uravnavajo količino zaščitnih snovi. Mehanizma rastlin za regulacijo prevelike svetlobne jakosti sta absorpcija in razpršitev svetlobne energije. Učinkovanje presežka svetlobnega sevanja je lahko ublaženo s premiki rastlinskih tkiv, na primer s pozicioniranjem listov tako, da je vpadni kot sončnih žarkov čim manjši. S tem sta dotok energije in segrevanje listne ploskve minimalizirana. Znano je tudi izmikanje rastlinskih kloroplastov, ki se ob močni svetlobi postavijo tako, da jih zadane čim manj fotonov. Ob močni svetlobi se kloroplasti razvrstijo ob vertikalnih stenah celic, kjer je absorpcija nižja in tako zmanjšajo količino prekomernega vzbujenja pigmentov in minimalizirajo saturacijo fotosinteze. Ta proces se lahko zgodi v nekaj minutah ali urah, hitost premikov pa določa mera dovedene svetlobe (Murchie in Niyogi, 2011). Nekatere rastline celo zvijejo poganjke, da bi zmanjšale kot in površino vpadne svetlobe. Gosta pokritost zgornje ploskve listov s trihomi, odebeljene stene epidermisa ter iglice iglavcev in bodice kaktusov delujejo kot difuzijski filtri, ki zmanjšujejo efekt močne svetlobne jakosti. Antociani razvijajočih se listov s svojo temno barvo delujejo kot svetlobni filter in tako ščitijo mezofil. Velikost antene žetvenega kompleksa je pomemben dejavnik pri razprševanju prevelike ekscitacijske energije in je regulirana z jakostjo svetlobe. Tudi povečanje količine zaščitnih pigmentov (karoten in lutein) v kloroplastih rastlin je značilno za rastline, ki so bile pod svetlobnim stresom.

## 5 SKLEPI

Svetlobno okolje rastlin je dinamično, zato morajo biti rastline sposobne hitrih prilagoditev na spremembe dotoka energije. Na veliko dinamičnost morajo biti še posebej pripravljene rastline gozdne podrasti, ki so podvržene vplivu sončnih lis direktne svetlobe, ki skozi krošnje višjih rastlin le občasno in kratkotrajno dosežejo podrast. Direktna svetloba, ki občasno prodre skozi krošnje dreves je po eni strani glavni vir energije rastlin podrasti (fotosinteza med svetlobnimi lisami zagotavlja 10 - 90% dnevne fiksacije ogljika), po drugi strani pa lahko predstavlja hud svetlobni stres na rastline, ki so sicer prilagojene na šibko svetlobo.



Slika 8: Svetlobna lisa v zelo kratkem časovnem intervalu močno spremeni svetlobne razmere

Rastline se neugodnim svetlobnim razmeram, z izjemo nekaterih preprostejših oblik npr. umik fitoplanktona v globljo vodo, ne morejo v celoti umakniti. Zato obstaja cel niz prilagoditev, opisanih zgoraj, ki rastlini omogočajo preživetje.

Če pride do poškodb, so tu popravljalni mehanizmi, ki služijo dolgoročnemu vzdrževanju fotosinteze. Znano je, da je D1 protein, ki je del D1/D2 heterodimera v reakcijskem centru fotosistema II, zlahka deaktiviran s svetlobo (Allakhverdiev in Murata, 2004). Zato nastopi popravljalni cikel, ki vključuje delno razgradnjo fotosistemskega kompleksa in razgradnjo poškodovanega D1 proteina in popravilo D1 proteina z biosintezo de novo, ter ponovna izgradnja fotosistema II (Murchie in Nyiogi, 2001). V besedilu, ki govori o UV svetlobi pa smo omenili tudi funkcijo fotoliaz in fotoreaktivacije.

Svetloba je glede na asimilacijsko moč fotosinteze večkrat v presežku že zaradi velike gostote toka fotonov, v kombinaciji s sušo in visokimi temperaturami pa lahko pričakujemo pomebno povečanje svetlobnega stresa v bodočih okoljskih razmerah. Zato bodo mogoče mehanizmi za odvajanje svetlobne energije in popravilo poškodb za uspešnost rastlin še bolj pomembni kot danes.

## 6 VIRI

- Allakhverdiev S., Murata N. 2004. Environmental stress inhibits the synthesis de novo of proteins involved in the photodamage–repair cycle of Photosystem II in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochimica et Biophysica Acta* 1657: 23-32
- Demmig-Adams B., Adams W. 1996. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends Plant Science*, 1, 1: 21-26
- Larcher W. 2001. *Physiological Plant Ecology*. Verlag Berlin Heidelberg, Springer: 513 str.
- Makino A., Miyake C., Yokota A. 2002. Physiological functions of the water-water cycle (Mehler reaction) and cyclic electron flow around PSI in rice leaves. *Plant and Cell Physiology*, 43: 1017-1026
- Murchie E., Niyogi K. 2011. Manipulation of Photoprotection to Improve Plant Photosynthesis. *Plant Physiology*, 155: 86-92
- Strid A., Chow W.S., Anderson J.M. 1996. Changes in the relaxation of electrochromic shifts of photosynthetic pigments and in the levels of mRNA transcripts in leaves of *Pisum sativum* as a result of exposure to supplementary UV-B radiation: The dependency on the intensity of the photosynthetically active radiation. *Plant Cell Physiology*, 37 (1), 61-67
- Šircelj H. 2007. Karotenoidi v fotosinteznem aparatu in odziv na stres. *Acta agriculturae Slovenica*, 91: 271-282
- Taiz L., Zeiger E. 2010. *Plant Physiology*. USA. Sinauer Associates inc.: 690 str.
- Trošt T. 2005. Fiziološki, biokemijski in morfogogenetski učinki na smreko (*Picea abies*) med večletno izpostavljenostjo sevanju UV-B. Doktorska disertacija. Biotehniška fakulteta: 87 str.
- Vass I. 2011. Molecular mechanisms of photodamage in the Photosystem II complex. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1016: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbabi.2011.04.014>

## ZAHVALA

Zahvaljujem se vsem udeleženiim pri nastajanju moje diplomske naloge; recenzentki prof. dr. Branki Javornik, osebju referata, INDOK-a in fotokopirnice za pomoč pri urejanju formalnih zahtev diplomskega dela.

Zahvalil bi se tudi staršem za spodbudo, še posebej očetu, ki je poskrbel tudi za slovnično ustreznost teksta.

Posebej pa bi se rad zahvalil mentorju prof. dr. Dominiku Vodniku za pomoč pri nastajanju diplomske naloge, za strokovno vodenje in potrpežljivost.