

Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

UČINAK SVJETLOSNOG STRESA NA FOTOSINTEZU  
EFFECT OF LIGHT STRESS ON PHOTOSYNTHESIS

Ivana Pavičić  
Preddiplomski studij molekularne biologije  
(Undergraduate Study of Molecular Biology)  
Mentor: izv. prof. dr. sc. Željka Vidaković-Cifrek

Zagreb, 2015.

## SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PRIJENOS ENERGIJE U FOTOSISTEMIMA	4
3. UČINAK SVJETLOSTI VISOKOG INTENZITETA NA FOTOSINTETSKE REAKCIJE	8
4. UČINAK SVJETLOSTI NISKOG INTENZITETA NA FOTOSINTETSKE REAKCIJE	10
5. PRILAGODBA FOTOSINTETSKOG APARATA NA PROMJENE INTENZITETA SVJETLOSTI	11
6. FOTOINHIBICIJA I ZAŠTITNI MEHANIZMI	12
7. PRIJENOS SIGNALA IZMEĐU JEZGRE I KLOROPLASTA	16
8. SAŽETAK	17
9. SUMMARY	18
10. POPIS LITERATURE	19

## Popis kratica

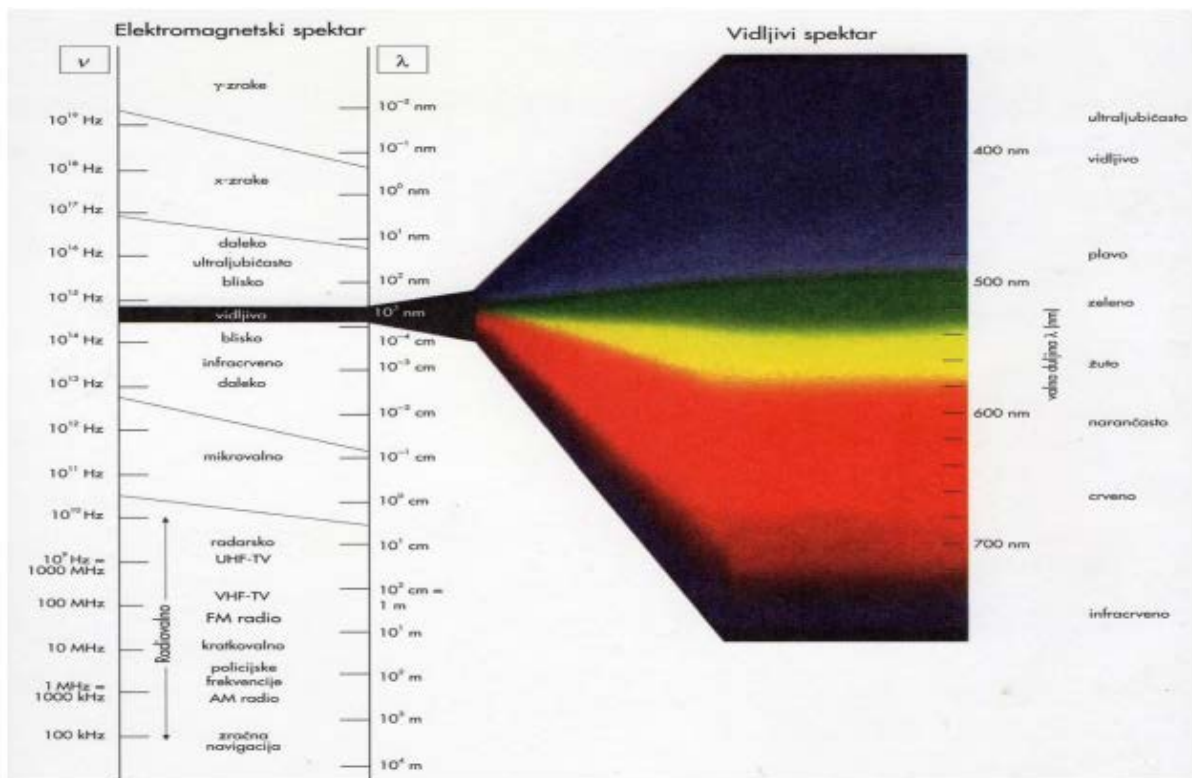
Chl <i>a</i>	klorofil <i>a</i>
Chl <i>b</i>	klorofil <i>b</i>
ATP synthase	ATP- sintaza
LHCII	kompleksi antena vezani uz fotosistem II
PSI	fotosistem I
PSII	fotosistem II
Q <sub>A</sub>	plastokinon Q <sub>A</sub>
Q <sub>B</sub>	plastokinon Q <sub>B</sub>
ROS	reaktivni oblici kisika
NADP-MDH	NADP- malat dehidrogenaza
PQ	plastokinon
AsA	askorbat
GSH	reducirani glutation
ABA	apscizinska kiselina
PC	plastocijanin
LH-proteini	proteini u kompleksima antena

## 1. UVOD

Sunčeva energija je izvor biološke energije. Fotosinteza je fiziološki proces koji se odvija u kloroplastima biljnih stanica u kojima biljka iz anorganskih spojeva (ugljikovog dioksida i vode) izgrađuje organske spojeve (šećere) koristeći energiju sunčeve svjetlosti. Fotosinteza se pojednostavljeno može prikazati sljedećom kemijskom jednačinom:



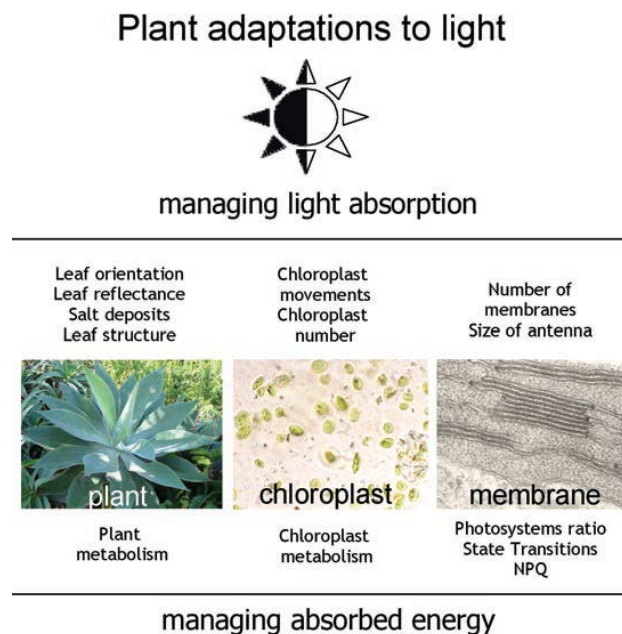
U spektru elektromagnetskog zračenja (koji obuhvaća od najkraćih x-zraka do najduljih radiovalova (slika 1) za proces fotosinteze najvažniji je vidljivi dio spektra sunčevog zračenja (390-810 nm). Svjetlosna energija je fotometrijska fizikalna veličina koja opisuje energiju elektromagnetskoga zračenja određenih valnih duljina. Svjetlosna energija i valna duljina odnose se obrnuto proporcionalno. Jakost svjetlosti predstavlja svjetlosni tok u određenom smjeru. Svjetlost se definira i kao snop čestica (fotona ili kvanata) i izražava u mjernim jedinicama  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (1 mol fotona =  $6.02 \times 10^{23}$  fotona, Avogadrov broj) ili  $\mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Gustoća svjetlosnog toka je osvjetljenje plohe kojoj je svaki kvadratni metar površine osvjetljen jednoliko raspoređenim svjetlosnim tokom od jednog lumena [ $\text{lm/m}^2$ ]. Jedinica  $\text{lm/m}^2$  naziva se luks [lux].



**Slika 1.** Slika prikazuje spektar elektromagnetskog zračenja (preuzeto iz: Skoog i sur., 1999).

Promjenjivi uvjeti u okolišu imaju specifičan učinak na fotosintetski aparat koji je za biljku ne samo glavni izvor energije i fiksacije ugljika već je i glavno mjesto oštećenja pod stresnim uvjetima. Zbog toga su biljke razvile različite metode odgovora na promijenjene uvjete u okolišu, od pomicanja listova i kloroplasta do prilagodbe na molekularnoj razini u kojima sudjeluju proteini fotosintetskog aparata (Demmig-Adams i Adams 1992).

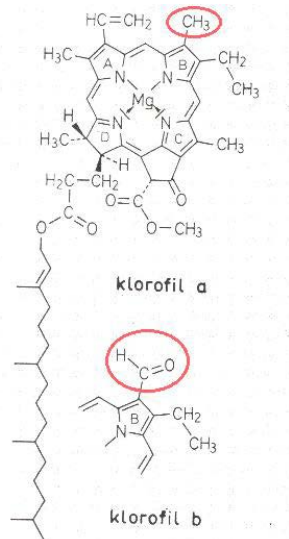
U prirodi se intenzitet svjetlosti vrlo brzo mijenja i to u rasponu od  $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  tijekom najintenzivnijeg sunčevog svjetla do  $200\text{-}500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  kada prevladavaju oblačni uvjeti. Zanimljivo je da pri samom izlasku sunca intenzitet sunčevog svjetla iznosi samo  $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Jurić 2013). Dijelovi biljke koji imaju mogućnost gibanja, kao npr. list i kloroplast, su prisiljeni razviti različite mehanizme kako bi se prilagodili nepredvidivim svjetlosnim uvjetima u prirodi. To je ujedno i jedan od mehanizama prilagodbe biljaka na promjenjivi intenzitet svjetlosti (slika 2). Listovi sunca i listovi sjene koji se mogu nalaziti na istoj biljci razlikuju se po anatomskoj građi. Da bi se bolje razumjeli aklimatizacijski mehanizmi intenzitet svjetlosti je ugrubo podijeljen na svjetlost visokog intenziteta i niskog intenziteta.



**Slika 2.** Različiti načini prilagodbe biljke na promjene intenziteta svjetlosti (preuzeto iz: Jeffrey i sur., 2004)

U kloroplastima zelenih biljaka klorofili su glavni akceptori fotona. Klorofil *a* (Chl *a*) glavni je klorofil zelenih biljaka. Pri valnim duljinama 420 i 670 nm ostvaruje se maksimum

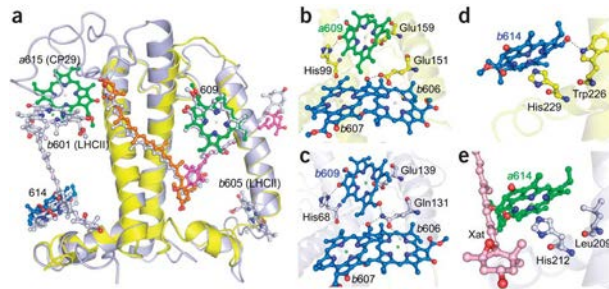
apsorpcije (slika 5). Klorofil *b* (Chl *b*) se od klorofila *a* razlikuje za jednu funkcionalnu skupinu (slika 3) - na pirolovu prstenu B sadži formilnu (CHO) umjesto metilne skupine. Maksimum apsorpcije svjetlosti je pri 460 i 630 nm.



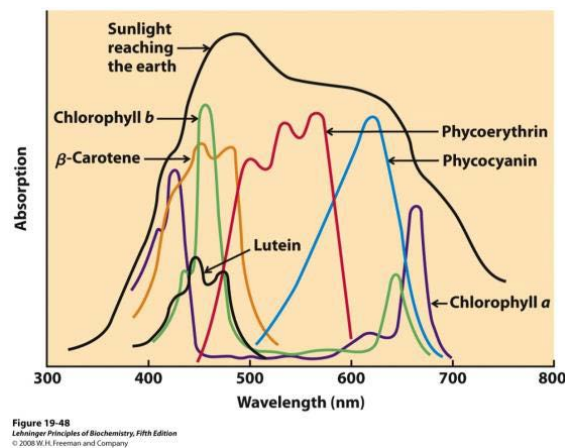
**Slika 3.** Slika prikazuje građu molekule klorofila *a* i dio molekule klorofila *b* (preuzeto iz: Karlson, 1993).

Klorofili vrlo učinkovito apsorbiraju fotone svjetlosti budući da sadrže naizmjenične jednostruke i dvostruke veze, tj. imaju rezonantnu strukturu. Sustav koji bi imao samo Chl *a* kao molekulu za prikupljanje i pretvorbu svjetlosti u kemijsku energiju ne bi bio učinkovit iz dva razloga: a) molekula klorofila apsorbira samo mali dio elektromagnetskog zračenja b) samo mali dio energije bi se pretvorio u kemijsku energiju zbog toga što je relativno mala gustoća molekula klorofila u reakcijskom centru. Stoga se apsorpcijski spektar proširuje pomoću molekula klorofila *a*, klorofila *b* i drugih pigmenta kao što su karotenoidi, a sve te molekule nalaze se u kompleksu "antena". Antene i reakcijsko središte organizirani su u proteinske komplekse – fotosisteme. U biljaka se nalaze dva fotosistema – fotosistem I (PS I) i fotosistem II (PS II). PS I ima maksimum apsorpcije pri 700 nm dok PS II ima maksimum apsorpcije pri 680 nm. Fotosistemi se nalaze u tilakoidnoj membrani kloroplasta. Molekule "antena" su perifereno smještene uz fotosisteme. PS II (slika 9) je veliki kompleks polipeptida - sadrži više od 20 različitih podjedinica. Srž kompleksa čine D1 i D2 podjedinice, izgrađene od sličnih proteina mase 32 kD, koji se protežu kroz tilakoidnu membranu. Dva tipa perifernih antena-proteina su asocirani s fotosistemom II: LHCII (slika 4) koji je građen kao trimer i tri manja monomerna kompleksa. Ovi periferni kompleksi vežu na sebe klorofile *a*, klorofile *b* i ksantofile. Uz PSI vezan je LHCI koji se sastoji od četiri polipeptida (od Lhca1

do Lhca4) i veže 10 molekula Chl a ili Chl b i nekoliko ksantofila po jednom proteinu Lhca (Jurić 2013).



**Slika 4.** Slika prikazuje građu LHCII koji je građen kao trimer od proteina Lhcb1, Lhcb2 i Lhcb3 i tri manja monomerna kompleksa Lhcb4, Lhcb5 i Lhcb6. (preuzeto iz: Lehninger, 2008).

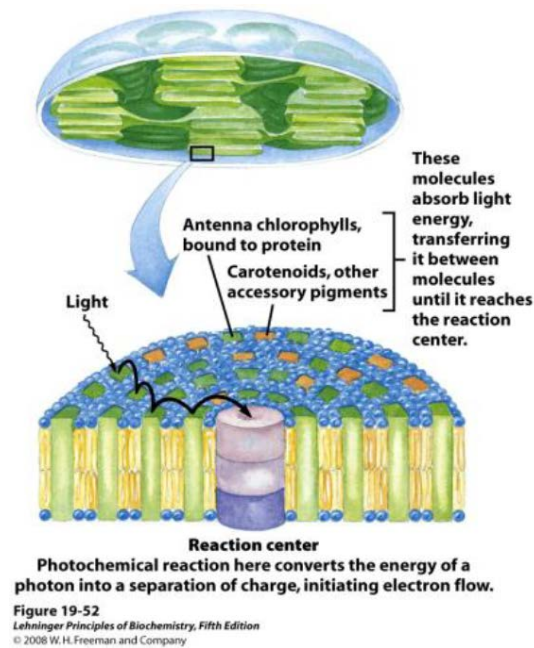


**Slika 5.** Apsorpcijski spektar fotosintetskih pigmenata (preuzeto iz: Lehninger, 2008).

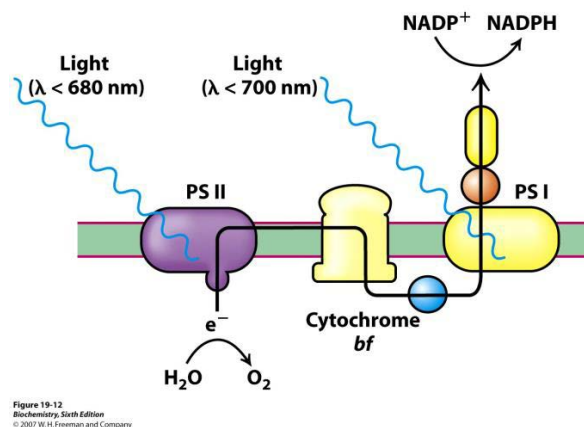
## 2. PRIJENOS ENERGIJE U FOTOSISTEMIMA

U reakcijama ovisnim o svjetlosti apsorbirana svjetlosna energija se koristi za sintezu NADPH i nastanak gradijenta protona koji se koristi za sintezu ATP-a. Apsorpcija svjetlosti pobuđuje elektron iz njegovog osnovnog stanja na energetski više stanje (pobuđeno stanje). U molekuli donora (D) je nakon apsorpcije svjetlosti elektron u pobuđenom stanju i ako je u blizini molekula akceptora (A) elektron se može predati molekuli akceptora i tada akceptor prelazi u pobuđeno stanje. Kako je donor predao elektron akceptoru, dolazi i do promjene naboja i u akceptoru i u donoru. Proces se naziva fotoinducirano razdvajanje naboja. Par

prenositelja elektrona kod kojih dolazi do separacije naboja naziva se reakcijski centar (slika 6).



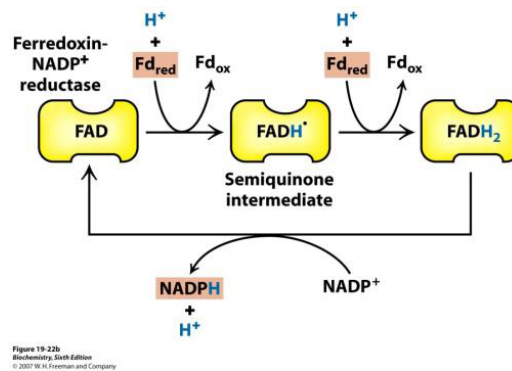
**Slika 6.** Slika prikazuje reakcijski centar i antene – Skupina integralnih membranskih proteina i klorofil primaju energiju s kompleksa antena i pretvaraju u kemijsku energiju. Razdvajanjem naboja započinje prijenos elektrona (preuzeto iz: Lehninger, 2008).



**Slika 7.** Apsorpcija fotona, u zelenim biljkama pomoću dva različita fotosistema PS I i PS II, je potrebna za tok elektrona s molekule vode na NADP<sup>+</sup>. Elektroni u fotosistemu II nadomještaju se elektronima koji potječu od oksidacije vode (preuzeto iz: Lehninger, 2008).

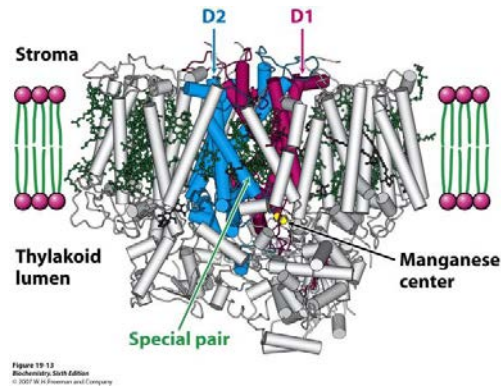


Prijenos elektrona u fotosistem II započinje ekscitacijom specijalnog para klorofila u reakcijskom centru P680 iz kojeg se elektroni prenose na feofitin, te na čvrsto vezani plastokinon  $Q_A$  u fotosistemu II. Elektroni se prenose s  $Q_A$  na mobilni prenositelj elektrona, plastokinon  $Q_B$ . Prihvatanjem dva elektrona i dva protona, plastokinon  $Q_B$  se iz oksidiranog Q oblika pretvara u reducirani  $QH_2$ . Kompleks citokroma *bf* oksidira  $QH_2$  u Q putem Q-ciklusa. U svakom Q-ciklusu četiri protona se prenose u lumen tilakoida. Plastokinol ( $PQH_2$ ) lateralnom difuzijom kroz membranu dolazi do citokrom *b<sub>6</sub>f* kompleksa te ga reducira. Jedan elektron s  $PQH_2$  prenosi se na Fe-S središte Rieskeovog proteina, a drugi se predaje hemu citokroma  $b_6$ . Ukupni efekt je prijenos elektrona s  $PQH_2$ , preko kompleksa citokroma *b<sub>6</sub>f*, na topljivi protein plastocijanin (Pc) koji zatim prenosi elektrone na fotosistem I.



**Slika 8.** Fotosistem I koristi energiju svjetlosti za redukciju feredoksina, a nakon toga će se reducirati  $NADP^+$  u  $NADPH$  (preuzeto iz: Lehninger, 2008).

Apsorpcija svjetlosti kod fotosistema I inducira prijenos elektrona iz reakcijskog centra P 700 na molekulu klorofila ( $A_0$ ), molekulu kinona ( $A_1$ ), tri 4Fe-4S središta te konačno na molekulu feredoksina (Fd). Fd je topljivi željezo-sumpor protein protein s  $Fe_2-S_2$  prostetičkom skupinom. Reducirani feredoksin je jaki reducens, ali prenosi samo jedan elektron. U biosintetskim reakcijama spoj koji prenosi elektrone je  $NADPH$ . Redukciju  $NADP^+$  u  $NADPH$  provodi feredoksin- $NADP^+$ -reduktaza (slika 8). Feredoksin prenosi elektrone na feredoksin- $NADP^+$ -reduktazu. Taj enzim je flavoprotein, s flavin-adenin dinukleotidom (FAD) kao prostetičkom skupinom. Prihvaća po jedan elektron s feredoksina kako bi nastao  $FADH_2$ , a tada se dva elektrona i proton prenose na  $NADP^+$  te nastaje  $NADPH$  (slika 8).

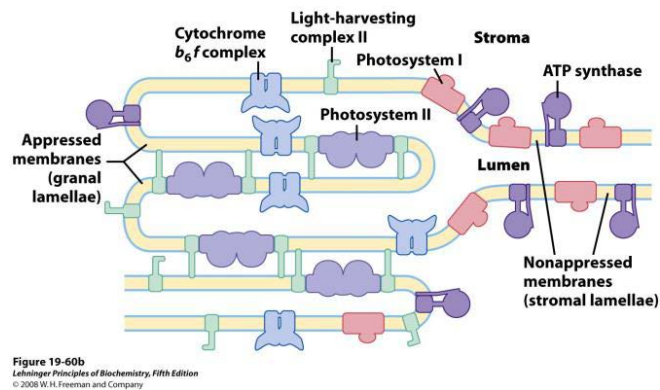


**Slika 9.** Struktura fotosistema II. Podjedinice D1 (crvene) i D2 (plave) okružene su brojnim molekulama klorofila (zeleno). Istaknut je specijalni par klorofila te sustav za fotolizu vode koji sadrži Mn i orijentiran je prema lumenu tilakoida (preuzeto iz: Lehninger, 2008).

U sustavu za oksidaciju vode (slika 9) fotosistema II dolazi do fotolize vode i nastanka kisika. Za fotolizu vode potrebna je apsorpcija četiriju fotona kako bi se manganovo središte moglo reducirati. Sumarna reakcija fotolize je:  $2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 4 \text{e}^- + 4 \text{H}^+ + \text{O}_2$ . Postupnom apsorpcijom četiri fotona, a svaka apsorpcija fotona dovodi do prijenosa (gubitka) elektrona iz manganovog središta, dovodi manganovo središte u stanje da može ukloniti četiri elektrona iz dvije molekule vode što omogućava nastajanje  $\text{O}_2$ . Protoni odlaze u lumen tilakoida i doprinose gradijentu protona, a četiri elektrona oslobođena redukcijama dviju molekula vode, prenose se na pobuđeni  $\text{P680}^*$  koji se primitkom elektrona vraća u osnovno stanje. Citokrom *b<sub>6</sub>f* također doprinosi nastanku gradijenta protona u tilakoidnoj membrani koji je potreban za sintezu ATP-a. Nastali suvišak protona izlazi kroz enzimski kompleks ATP-sintazu u stromu i sintetizira se ATP tj. sinteza ATP-a je energetske povezana s prijenosom elektrona i stvaranjem protonskog gradijenta. ATP-sintaza kloroplasta vrlo je slična ATP-sintazi mitohondrija. U kloroplastima podjedinice sintaze označavaju se kao  $\text{CF}_0$  i  $\text{CF}_1$  (C za kloroplast).  $\text{CF}_0$  provodi tok protona preko membrane, iz lumena tilakoida u stromu, a  $\text{CF}_1$  katalizira sintezu ATP-a. NADPH i ATP oslobađaju se u stromu.

U slučajevima kada kloroplasti imaju velike količine NADPH, omogućava se kružni (ciklički) tok elektrona kroz fotosistem I. U ovom putu elektroni se ne prenose na feredoksin-NADP<sup>+</sup> reduktazu već se s feredoksina prenose na kompleks citokroma *b<sub>6</sub>f*, te nastanak gradijenta protona omogućava sintezu ATP-a. Ovim tokom elektrona ne nastaje NADPH a ne dolazi ni do fotolize vode, odnosno nastanka  $\text{O}_2$  jer PSII nije uključen u ciklički tok elektrona.

PS II i kompleks citokrom *b<sub>6</sub>f* uglavnom su locirani u grana-tilakoidima (slika 10) organiziranim u nakupine. U tilakoidnim membranama koje povezuju granume, a nazivaju se lamelama strome ili stroma-tilakoidi, nalaze se PSI i ATP-sintaze.



**Slika 10.** Raspored proteinskih kompleksa citokroma *b<sub>6</sub>f*, fotosistema I i fotosistema II u membranama kloroplasta (preuzeto iz: Lehninger, 2008).

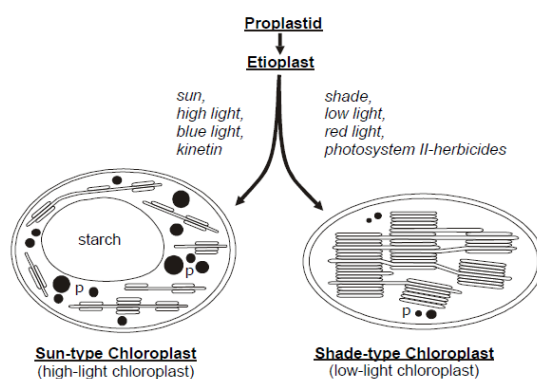
### 3. UTJECAJ SVJETLOSTI VISOKOG INTENZITETA NA FOTOSINTETSKE REAKCIJE

Povećanjem intenziteta svjetlosti može se postići povećanje stope fotosinteze. Ali pri određenom intenzitetu, koji je različit za pojedine biljne vrste, postiže se tzv. svjetlosno zasićenje i daljnje povećanje intenziteta svjetlosti nema učinka. Pri još jačem osvjetljenju može se oštetiti fotosintetski aparat pa stopa fotosinteze opada. Primijećeno je da biljke izložene svjetlosti visokog intenziteta induciraju različite odgovore koji uključuju prilagodbu fotosintetskog aparata i promjenu ultrastrukture kloroplasta. Apsorpcija svjetlosti može se smanjiti tako što se smanji udio kloroplastnih proteina LHCII te redukcijom violaksantina u zeaksantin. Povećana je i toplinska emisija i fotoinhibicija fotosintetskih pigmenata (Burkart 1999). U mnogim okolišnim uvjetima u kojima je stopa oštećenja povećana, kao što je u uvjetima visokog intenziteta svjetlosti, povećana je i stopa popravka te sinteza novih fotosistema PSII koji se u uvjetima optimalnog intenziteta svjetlosti ponovno sintetiziraju svakih 30 minuta (Vass i Aro 2008). Osim povećanog broja PSII povećan je i udio citokrom *b<sub>6</sub>f* kompleksa, ATP-sintaze i komponenti Calvinovog ciklusa, posebice ribuloza-1,6-bisfosfat karboksilaze/oksigenaze dok je istovremeno smanjen udio klorofil a/b vezujućih LH

kompleksa koji su asocirani s PSII. Ove promjene rezultiraju povećanim prijenosom elektrona, povećanom asimilacijom CO<sub>2</sub> i povećanom količinom klorofila *a* u odnosu na klorofil *b* (Bailey i sur. 2001). Uočeno je da se u uvjetima visokog intenziteta svjetlosti akumuliraju oligosaharidi kao što je npr. rafinoza koji imaju ulogu antioksidansa. Svjetlost visokog intenziteta inducira fotooštećenja kloroplasta, raspadanja pigmenata i žućenje biljke. Nijedna biljka nema sposobnost 100%-tnog iskorištenja svjetlosne energije u fotosintetskim reakcijama zbog fotoinhibicije. Rezultat je smanjena učinkovitost asimilacije CO<sub>2</sub>, oslobađanje reaktivnih oblika kisika i povećana fluorescencija klorofila. Međutim, biljka može smanjiti ili spriječiti prekomjernu štetu rasipanjem viška energije u obliku topline što se postiže ksantofilskim ciklusom i povećanim brojem karotenoida (Vass i Aro 2008).

Fotoinhibicija nastaje kada intenzitet svjetlosti premašuje kapacitet ciklusa ugljika u biljci, tj. pri većem intenzitetu svjetlosti stopa fotosinteze će rasti sve dok drugi čimbenici (najčešće CO<sub>2</sub>) ne postanu ograničavajući. Kod jačeg intenziteta osvjetljenja sva apsorbirana svjetlosna energija se ne može iskoristiti jer su plastokinoni reducirani i zbog toga ne mogu primiti elektrone s PSII pa se višak energije oslobađa u obliku fluorescencije i topline. Budući da je visoki intenzitet svjetlosti često prisutan u uvjetima manjka vode, u biljaka dolazi do zatvaranja puči kako bi se smanjio gubitak vode. To rezultira manjim unosom ugljikovog dioksida i padom stope fotosinteze (Baker 2008).

U biljaka se mogu razviti različiti tipovi kloroplasta, što im omogućuje bolju prilagodbu na okolišne uvjete. Ovisno o količini i kvaliteti svjetlosne energije dolazi do razvoja kloroplasta specifičnih za visoki intenzitet svjetlosti ili kloroplasta specifičnih za niski intenzitet svjetlosti (slika 11). Kloroplasti koji se razvijaju u uvjetima visokog intenziteta svjetlosti imaju velike nakupine škrobnih zrnca, veliki broj plastoglobula, veći udio klorofil *a*, manji broj tilakoida i visoki udio neto asimilacije CO<sub>2</sub>. Kod prejakog osvjetljenja kloroplasti se u stanici poredaju jedan iza drugog tako da najmanja površina bude izložena svjetlu i tako štite fotosintetski aparat od oštećenja. Također, u ovisnosti o intenzitetu osvjetljenja mijenja se omjer klorofila *a* i *b*. U samom kloroplastu koji je specifičan za visoki intenzitet svjetlosti nalazi se manji broj tilakoida, grana-tilakoidi su međusobno bliže smješteni, također sadrže manje klorofila u tilakoidnim membranama i mjerenjem daju veći omjer klorofila *a* i *b* u usporedbi s biljkama zasjenjenih staništa (skiofitima) (Lichenthaler i Bukart 1999).



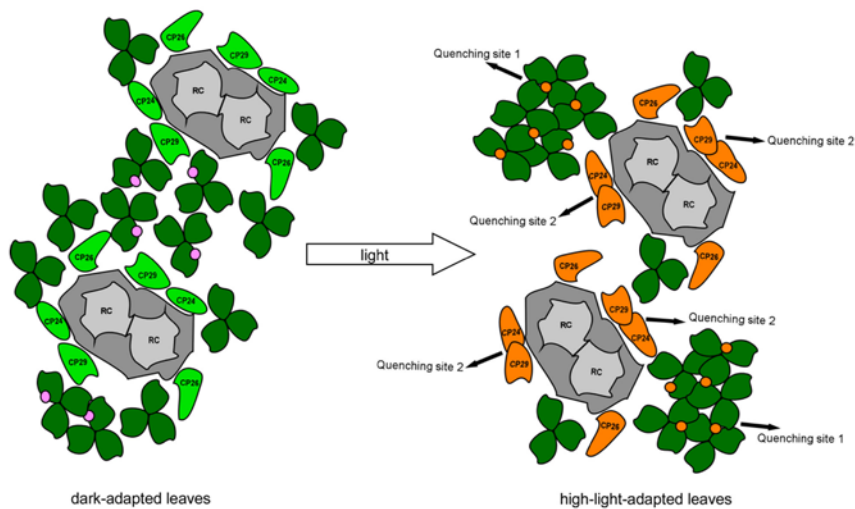
**Slika 11.** Sunčani tip kloroplasta i sjenoviti tip kloroplasta (preuzeto iz: Lichtenthaler i Burkart, 1999).

#### 4. UČINAK SVJETLOSTI NISKOG INTENZITETA NA FOTOSINTETSKE REAKCIJE

Kako bi se poboljšala učinkovitost fotosintetskih reakcija u uvjetima niskog intenziteta svjetlosti dolazi do povećanja broja LH-proteina. Zamijećen je i porast klorofila *b* i ksantofila i sintetiziraju se veći antena-kompleksi koji u uvjetima niskog intenziteta svjetlosti uzrokuju veću aktivnost fotosustava II (Bailey i sur. 2004). Kloroplasti izloženi slaboj svjetlosti zauzimaju poseban položaj kako bi što većom površinom bili izloženi sunčevoj svjetlosti pri čemu se fotosintetski aparat također prilagodio maksimalnom iskorištenju raspoložive svjetlosti tako što sadrži više klorofila, a manje zaštitnih karotenoida u tilakoidnim membranama. Točan mehanizam pomicanja kloroplasta nije u cijelosti poznat, ali poznato je da sudjeluju receptori fototropini koji apsorbiraju plavu svjetlost i djeluju zajedno s aktinskim filamentima (Suetsugu i Wada 2007). Kloroplasti u uvjetima svjetlosti niskog intenziteta imaju veliki broj tilakoida i veliki broj grana, malu količinu škroba, vrlo maleni je i broj plastoglobula. Stopa fotosinteze u kloroplasta izloženih jakoj svjetlosti vrlo brzo dolazi do svjetlosnog zasićenja ako su ti kloroplasti bili prilagođeni niskom ili umjerenom intenzitetu svjetlosti. Kloroplasti imaju nisku stopu asimilacije CO<sub>2</sub> zbog toga što pH vrijednost strome ovisi o intenzitetu svjetlosti, a aktivacija enzima Rubisco ovisi o pH vrijednosti - enzim je aktivniji pri višoj pH-vrijednosti (Burkart 1999). Naime, u uvjetima niskog intenziteta svjetlosti manja je stopa ulaska protona u lumen tilakoida zbog čega se sporije povećava pH vrijednost strome.

## 5. PRILAGODBE FOTOSINTETSKOG APARATA NA PROMJENE INTENZITETA SVJETLOSTI

U sunčanom tipu listova (listovima adaptiranim na viši intenzitet svjetlosti) vrijednosti omjera klorofila *a* i *b* kreću se u rasponu od 2,9 do 3,8, a u sjenovitom tipu listova od 2,3 do 2,8 (Lichenthaler 2007). Za potpunu aklimatizaciju biljke na visoki intenzitet svjetlosti potrebno je nekoliko tjedana do mjeseci (Walters 2005) nakon čega biljka stvara manje listove veće debljine, s manjim udjelom kloroplasta pa stoga takvi listovi imaju smanjeni potencijal za apsorpciju svjetlosti (Paiva i sur. 2003). Ekspresija gena koja je regulirana količinom i intenzitetom svjetlosti na transkripcijskoj, translacijskoj i post-translacijskoj razini je dio mehanizma kojim se fotosintetski aparat može prilagoditi na promjene intenziteta svjetlosti. Jedna od takvih prilagodbi je i veličina antena fotosistema I i fotosistema II. Vanjski dio LHCII kompleksa (slika 12) ključan je za promjenu veličine antena fotosistema II. Serinska i/ili cisteinska ATP-ovisna proteaza koja se nalazi na stromalnoj strani tilakoidnih membrana potrebna je za redukciju i proteolizu vanjske strane LHCII kompleksa. Potrebna su dva dana izloženosti uvjetima visokog intenziteta svjetlosti kako bi se inducirala transkripcijska i post-translacijska aktivacija enzima. Jednom kada je enzim aktiviran potrebno je manje od jednog dana za kompletnu proteolizu i redukciju vanjske strane LHCII što će rezultirati otpuštanjem proteina mase 160 kDa i 80 molekula klorofila po podjedinici PSII (Cruz 2004). Nagli prijelaz iz tame u uvjete visokog svjetlosnog intenziteta inducira pretjeranu redukciju molekula plastokinona i zbog toga oni ne mogu više primiti elektrone s PSII što rezultira prijenosom elektrona na O<sub>2</sub> i brzom aktivacijom kloroplastne NADP-MDH (Jurić 2013). Kompleksi za prikupljanje svjetlosti, LHCII mogu služiti kao poveznice kako bi se membrane tilakoida držale zajedno i činile zbijene nakupine (grane lamele).

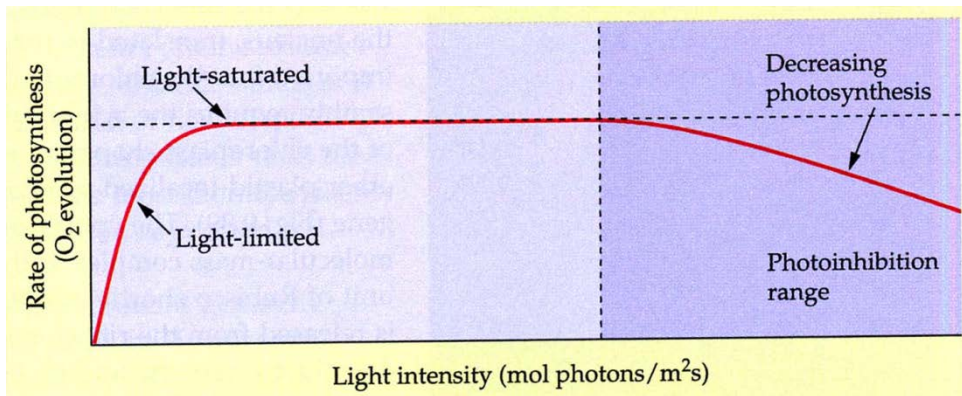


**Slika 12.** Strukturna promjena organizacije kompleksa PSII-LHCII pri promjeni svjetlosnih uvjeta (preuzeto iz: Jurić i sur. 2013).

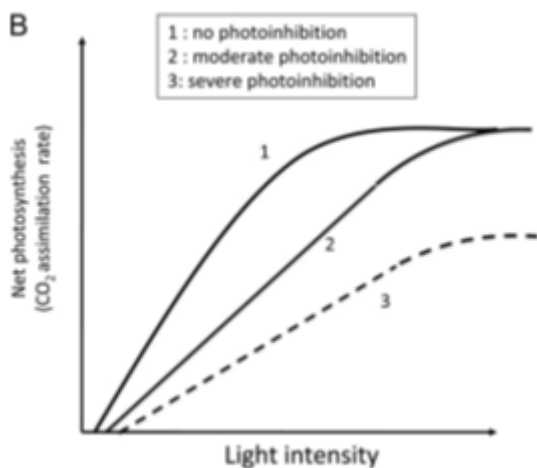
## 6. FOTOINHIBICIJA I ZAŠTITNI MEHANIZMI

Fotoinhibicija je posljedica svjetlosnog prezasićenja fotosintetskog aparata, uslijed kojeg opada stopa fotosinteze (slika 14), prijenos elektrona i fotofosforilacija. Osim toga, dovodi do stvaranja toksičnih produkata - reaktivnih oblika kisika (ROS) kao što su singletni kisik, hidroksilni radikali i superoksidni anion. Oni nespecifično reagiraju s lipidima, proteinima, nukleinskim kiselinama, pigmentima i drugim molekulama, uzrokujući njihovu oksidaciju (Stancato i sur. 2002). Međutim, fotoinhibicija je uglavnom reverzibilna, jer se biljke pomoću različitih mehanizama mogu aklimatizirati na nove svjetlosne uvjete (Walters 2005). Antocijani imaju više uloga u zaštiti biljaka. Jedna od njih je antioksidacijska uloga kojom štite biljku od ROS i od oštećenja koja oni mogu uzrokovati (Gould i sur. 2010). Antocijani koji se nalaze u epidermalnim stanicama nekih biljaka štite fotosintetska tkiva apsorpcijom svjetlosti plavog i zelenog dijela spektra i UV-zračenja te tako reduciraju količinu svjetlosti koja dolazi do kloroplasta (Steyn i sur. 2002, Merzlyak i sur. 2005).





**Slika 13.** Slika prikazuje odnos stope fotosinteze i svjetlosnog intenziteta (preuzeto iz: Bailey i sur., 2004)

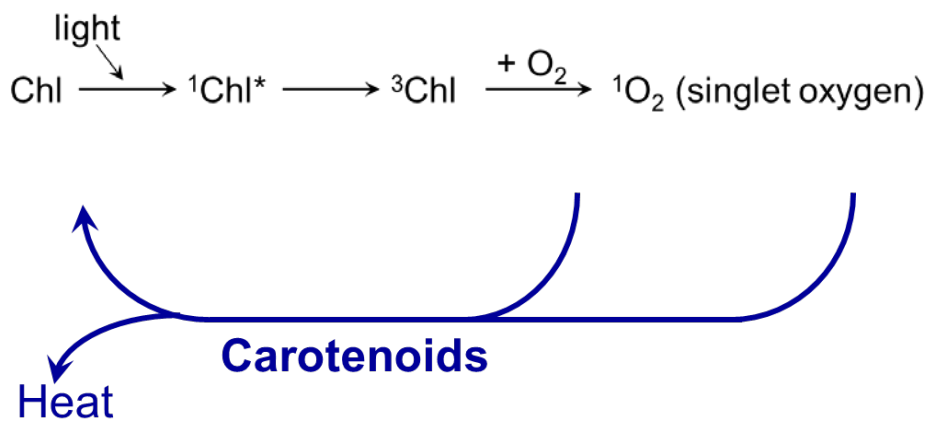


**Slika 14.** Smanjenje stope fotosinteze u uvjetima koji uzrokuju fotoinhibiciju (preuzeto iz: Murchie i Niyogi, 2011).

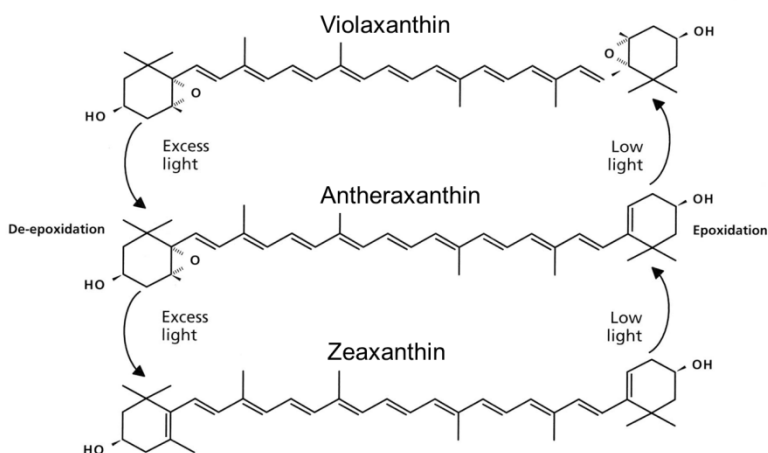
U uvjetima previsokih intenziteta svjetlosti karotenoidi, koji se nalaze u fotosintetskom aparatu djeluju kao antioksidansi i mogu zaštititi klorofil od fotooksidacije. Biljke izložene visokom intenzitetu svjetlosti imaju povećanu koncentraciju karotenoida kao i povećan udio karotenoida u odnosu na klorofile (Lichtenthaler 2007). Količina karotenoida ne mora značajno porasti da bi učinkovito štitili fotosintetski aparat od viška apsorbirane svjetlosti (Franck i sur. 2007), no smanjenje udjela karotenoida javlja se kada svjetlosni stres negativno utječe na prekursore za biosintezu karotenoida ili kada višak apsorbirane svjetlosti oštećuje fotosintetske pigmente (Lichtenthaler 2007). Pri jakom intenzitetu svjetlosti velika količina energije koju pigmenti apsorbiraju ulazi u reakciju s molekularnim kisikom pri čemu



nastaje singletni kisik koji je vrlo reaktivan te oštećuje fotosintetski aparat. Karotenoidi (slika 15) preuzimaju suvišak energije od klorofila te je otpuštaju u obliku topline i na taj način sudjeluju u reakcijama detoksikacije singletnog kisika koji je jedan od reaktivnih oblika kisika. Biljka koja se postupno ili u vrlo kratkom vremenu izloži uvjetima puno jačeg osvjetljenja od onog na koji je prilagođena, povećat će udio karotenoida u ukupnom omjeru fotosintetskih pigmenata.



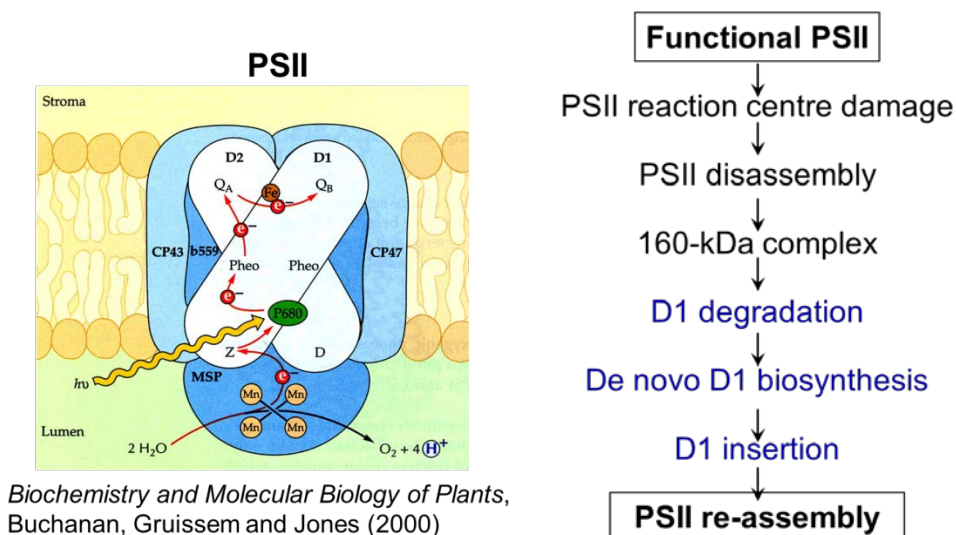
**Slika 15.** Uloge karotenoida u zaštiti od fotoinhibicije



**Slika 16.** Prikaz ksantofilatskog ciklusa (preuzeto iz: Ashraf i Harris, 2013).

Zeaksantin (slika16) djeluje i kao alosterički aktivator u procesu rasipanja energije u perifernim dijelovima LHCII kompleksa (Ma i sur. 2003). Zakiseljavanje tilakoidnog lumena aktivira de-epoksidazu koja je esencijalni enzim ksantofilatskog ciklusa koji reducira violaksantin preko anteraksantina u zeaksantin. Zeaksantin razdvaja LHCII klorofil-karotenoidne proteine od reakcijskog centra fotosustava II reducirajući fotosustav II i ujedno ga štiti od fotoinhibicije i fotooksidacije. Smatra se da zeaksantin reagira i u neenzimatskim reakcijama sa kiskovim radikalima i također i na taj način štiti fotosustav od fotooksidacijskih oštećenja (Burkart 1999).

Smatra se da reaktivni oblici kisika imaju važnu ulogu u stimulaciji genske ekspresije, posebice gena vezanih uz prilagodbu i obranu biljke. Potrebna je učinkovita regulacija lanca prijenosa elektrona kako bi se smanjilo nastajanje singletnog kisika na fotosustavu II i superoksida i vodikovog peroksida na fotosustavu I (Nara 2010). Ključno mjesto oštećenja fotosustava II je nereverzibilna oksidacija proteina D1 (slika 17) (Kriger-Liszkay i sur. 2008).



*Biochemistry and Molecular Biology of Plants, Buchanan, Grusissem and Jones (2000)*

**Slika 17.** Ključno mjesto oštećenja fotosustava II i mehanizam popravka koji se temelji na degradaciji i ponovnoj sintezi proteina D1 (preuzeto iz: Buchanan i sur., 2000).

Također, i na razini biosinteze klorofila će doći do smanjenja koncentracije klorofila kako bi se smanjila apsorpcija svjetlosti odnosno energije (Walters 2005). No, ovi mehanizmi ne mogu u potpunosti zaštititi biljke od fotooksidacijskih oštećenja. Zbog toga u nekih biljaka u epidermalnim stanicama dolazi do povećanja biosinteze fenolnih spojeva kao što su flavonoidi, antocijani, fenolne kiseline i tanini koji smanjuju količinu svjetlosne energije koja dopire do fotosintetskom aparatu (Close i McArtur 2002).

## 7. PRIJENOS SIGNALA IZMEĐU JEZGRE I KLOROPLASTA

Kako bi se biljka uspješno prilagodila uvjetima u okolišu mora odgovoriti na veliki broj različitih signala iz okoliša. Doista, geni koji kodiraju komponente kloroplasta regulirani su različitim faktorima uključujući svjetlost, temperaturu i šećere (Rolland i sur. 2002). Nadalje, svaka od važnijih komponenti fotosintetskog aparata uključuje podjedinice kodirane jezgrinim i kloroplastnim genomom stoga prilagodba fotosintetskog aparata zahtijeva koordiniranu ekspresiju gena iz jezgrinog i plastidnog genoma (Anderson i sur. 1995). Proučavanjem promjena količine mRNA i transkripcijske aktivnosti jezgrinih i kloroplastnih gena uz upotrebu inhibitora lanca prijenosa elektrona zaključeno je da bi redoks-stanje molekula PQ moglo imati ulogu potencijalnog regulatornog signala pošto o udjelu reduciranog PQ ovisi aktivnost LHCI kinaze (Huner i sur. 1998). Ipak, postoji velika vjerojatnost da redoks-signalni nisu direktno uključeni u procese regulacije prilagodbe. Smatra se da redoks-regulacija transkripcije pridonosi takozvanim plastidnim signalima koji su potrebni da bi se održala ekspresija jezgrinih gena koji kodiraju komponente kloroplasta ili za represiju (Rodermeil 2001; Strand et al. 2003). Kloroplastni ROS, AsA i GSH sudjeluju u signalizacijskim putevima koji omogućavaju aklimatizaciju fotosintetskog aparata na promjene u okolišu (Foyer i Noctor 2009). Nadalje, smatra se da su ROS i GSH sekundarni glasnici koji su odgovorni za percepciju stresa tijekom duljeg perioda (Szechynska Hebda i sur. 2010). Signalni putevi koji su pokrenuti svjetlošću visokog intenziteta su u interakciji s hormonalnim signalnim putevima. Tako na primjer abscizinska kiselina (ABA) sudjeluje u sistemskoj svjetlosnoj signalizaciji i mehanizmu koji uključuje nakupljanje  $H_2O_2$  (Mullineaux i sur. 2006). AsA, ROS, NO i ABA sudjeluju u stomatalnoj regulaciji i protoku informacija iz kloroplasta u jezgru kako bi došlo do koordinirane jezgrine i plastidne genske ekspresije u procesu koji je nazvan retrogradnom signalizacijom (Koussevitzky i sur. 2007). Intermedijeri biosinteze klorofila imaju važnu ulogu u retrogradnom prijenosu signala iz kloroplasta u jezgru (Rintamaki i sur. 2009). Dakle, ABA, ROS, AsA, NO,  $H_2O_2$  i GSH sudjeluju u prijenosu informacija između kloroplasta i jezgre.

## 8. SAŽETAK

Biljke proizvode svoju vlastitu energiju i organske spojeve procesom fotosinteze pretvarajući svjetlosnu energiju u kemijsku. Iako fotosinteza zahtijeva sunčevu svjetlost, ona u prirodnim uvjetima može imati negativan učinak na fotosintetske reakcije zbog stalne promjene intenziteta svjetlosti. Zbog toga su biljke razvile različite mehanizme odgovora na promijenjene svjetlosne uvjete u okolišu, od gibanja listova i kloroplasta do prilagodba na molekularnoj razini u kojima sudjeluju proteini fotosintetskog aparata. Ovisno o količini i kvaliteti svjetlosne energije, dolazi do razvoja kloroplasta specifičnih za visoki intenzitet svjetlosti ili kloroplasta specifičnih za niski intenzitet svjetlosti. S druge strane, ako je reduciran veliki udio molekula plastokinona, nije moguć prijenos elektrona između fotosistema II i I pa elektroni mogu „pobjeći“ i reagirati s kisikom pri čemu nastaje singletni kisik koji uzrokuje oksidacijski stres i oštećuje fotosintetski aparat. Zbog toga se u biljaka povećava količina karotenoida koji djeluju kao antioksidansi i mogu zaštititi klorofil od fotooksidacije do koje dolazi zbog povećane količine reaktivnih oblika kisika. Osim toga dolazi i do indukcije ksantofilatskog ciklusa te sinteze fenolnih spojeva, tanina, flavonoida i antocijana. Reaktivni oblici kisika imaju i ulogu signalnih molekula kada je biljka izložena svjetlosnom stresu. Polipeptid D1 u PSII je glavna meta oštećenja induciranih svjetlošću. D1 polipeptid se brzo degradira i zamjenjuje novosintetiziranom kopijom kako bi se omogućilo normalno funkcioniranje PSII. Možemo zaključiti da biljka kako bi se uspješno prilagodila uvjetima u okolišu mora uspješno odgovoriti na veliki broj različitih signala iz okoliša. U taj je proces uključeno nekoliko različitih mehanizama kao i koordinirana ekspresiju gena iz jezgrinog i plastidnog genoma.

## 9. SUMMARY

Plants produce their own energy and organic compounds through photosynthesis, converting light energy into chemical energy. Although photosynthesis requires sunlight, the changes of light intensity in nature - from low to high light, may have a negative effect on photosynthesis reactions. As a result, plants have developed different response mechanisms to changing light conditions - from leaves and chloroplasts movements to adjustments at the molecular level. Depending on the intensity and quality of light, plants develop chloroplasts specific for high light intensity or chloroplasts specific for low light conditions. Moreover, if the high portion of plastocyanin molecules are in reduced form, the transfer of electrons between photosystems II and I is disturbed, so the electrons can "escape" and react with oxygen to form singlet oxygen which can cause oxidative stress and damage photosynthetic apparatus. In such conditions, the increased amounts of carotenoid molecules act as antioxidants and protect the chlorophyll from photo-oxidation that occurs due to the increase of reactive forms of oxygen. In addition, the induction of xanthophyll cycle and synthesis of phenolic compounds, tannins, flavonoids and anthocyanins occurs. Reactive oxygen species may have the role of signalling molecules during the exposure of plants to light stress. Polypeptide D1 in PSII is the main target of photo-induced damage. It is rapidly degraded and replaced by a newly synthesized copy to allow the normal functioning of the PSII. It could be concluded that the plant, in order to successfully adapt to the environmental light conditions, must respond to a number of different signals from the environment. In this process a number of different mechanisms such as coordinated expression of the plastid genome and the nuclear genome are included.

## 10. POPIS LITERATURE

Anderson J.M., Stepanova A.N., Leisse T.J., Kim C.J., Chen H., Shinn P., Stevenson D.K., Zimmerman J., Barajas P., Cheuk R., Gadeinab C., Heller C., Jeske A., Koesema E., Meyers C.C., Parker H., Prednis L., Ansari Y., Choy N., Deen H., Geralt M., Hazari N., Hom E., Karnes M., Mulholland C., Ndubaku R., Schmidt I., Guzman P., Aquilar E., Henonin L., Schmdit M., Weigel D., Carter D.E., Marchand T., Risseeuw E., Brogden D., Zeko A., Crosby W.L., Berry C.C., Ecker J.R., (2003): Genome-wide insertional mutagenesis of *Arabidopsis thaliana*. *Science* 301: 653-657.

Ashraf M., Harris P.J.C. (2013): Photosynthesis under stressful environments: An overview. *Photosynthetica* 51: 163-190.

Baily S., Thompson E., Nixon P.J., Horton P, Mullineauw C.W., Robinson C., Mann N.H. (2004): A critical role for the Var2 FtsH homologue of *Arabidopsis thaliana* in the photosystem II repair cycle in vivo. *The Journal of Biological Chemistry* 277: 2006-2011.

Buchanan B.B., Gruissem W., Jones R.I. (2000): Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists, Rockville.

Burkart S., Lichtenthaler K. H. (1999): Photosynthesis and high light stress. *Plant Physiology*. 25: 3-16.

Close D.C., McArthur C. (2002): Rethinking the role of many plant phenolics – protection from photodamage not herbivores? *OIKOS* 99: 166–172.

Cruz J.A., Avenson T.J., Kanazawa A., Takizawa K., Edwards G.E., Kramer D.M. (2004): Plasticity in light reactions of photosynthesis for energy production and photoprotection, *Plant Physiology* 155: 93-100.

Foyer C.H., Shigeoka S. (2010): Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis. *Plant Physiology* 155: 93-100.

Foyer C.H., Noctor G. (2009): Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications. *Antioxidants and Redox Signaling* 11: 861-905.

Franck N., Winkler S., Pastenes C., Infante R. (2007): Acclimation to sun and shade of three accessions of the Chilean native berry-crop murta. *Agroforest Systems* 69: 215-229.

- Gould S.K., Dudle D.A., Neufeld H.S. (2010): Why some stems are red: cauline anthocyanins shield photosystem II against high light stress. *Journal of Experimental Botany* 61: 2707–2717.
- Horton P., Ruban A. (2014): Molecular design of the photosystem II light-harvesting antenna: photosynthesis and photoprotection. *Journal of Experimental Biology* 54: 365-373.  
[https://www.pmf.unizg.hr/\\_download/repository/14obk-p25-fotosinteza-1.pdf](https://www.pmf.unizg.hr/_download/repository/14obk-p25-fotosinteza-1.pdf).
- Huner N.P.A., Oquist G., Sarhan F. (1998): Energy balance and acclimation to light and cold, *Trends in Plant Science* 3: 224-230.
- Jahns P., Holzwarth A.R. (2012): The role of the xanthophyll cycle and of lutein in photoprotection of photosystem II, *Biochimica et Biophysica Acta* 182-193.
- Jurić, S., Vojta L., Fulgosi H. (2013): Electron Transfer Routes in Oxygenic Photosynthesis: Regulatory Mechanisms and New Perspectives. *InTech*.
- Karlson P. (1993): Biokemija, Školska knjiga, Zagreb.
- Kasson T.M.D. (2012): High light stress in photosynthesis: The role of oxidative post-translational modifications in signaling and repair. Georgia Institute of Technology.
- Koussevitzky S., Nott A., Mockley T.C., Hong F., Sachetto-Martins G., Surpin M., Lim J., Mittler R., Chory J. (2007): Signals from chloroplasts converge to regulate nuclear gene expression. *Science* 316: 715-719.
- Krieger-Liszkay A. (2004): Singlet oxygen production in photosynthesis. *Journal of Experimental Botany* 56: 337-346.
- Krieger-Liszkay A., Fufezan C., Trebst A. (2008): Singlet oxygen production in photosystem II and related protection mechanism. *Photosynth Research* 98: 551-564.
- Lehninger I., Cox M.M., L. Nelson D.L. (2008): Lehninger Principles of Biochemistry, University of Wisconsin, Madison.
- Lichtenthaler H.K. (2007): Biosynthesis, accumulation and emission of carotenoids, tocopherol, plastoquinone, and isoprene in leaves under high photosynthetic irradiance. *Photosynthesis Research* 92: 163-179.

- Lichtenthaler., H.K., Marek A., M.B., Kalina J., Urban O. (2007): Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. *Planta Physiology Biochemistry* 45: 577-588.
- Ma Y.Z., Holt N.E., Li X.P., Niyogi K.K., Fleming G.R. (2003): Evidence for direct carotenoid involvement in the regulation of photosynthetic light harvesting, Proceedings of the National Academy of Science, USA 100: 4377-4382.
- Merzlyak M.N., Solovchenko A.E., Smagin A.I., Gitelson A.A. (2005): Apple flavonols during fruit adaptation to solar radiation: spectral features and technique for non-destructive assessment. *Journal of Plant Physiology* 162: 151-160.
- Mittal S., Kumari N., Sharma V. (2011): Differential responses of seven contrasting species to high light using pigment and chlorophyll *a* fluorescences. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry* 7: 20-33.
- Miyake C., Amako K., Shiraishi N., Sugimoto T. (2009): Acclimation of tobacco leaves to high light intensity drives the plastoquinone oxidation system - relationship among the fraction of open PSII centers, non-photochemical quenching of chl fluorescence and the maximum quantum yield of PSII in the dark. *Plant and Cell Physiology* 50(4): 730-743.
- Mullineaux P.M., Karpinski S, Baker N.R. (2006): Spatial dependence for hydrogen peroxide-directed signaling in light-stressed plants. *Plant Physiology* 141: 346-350.
- Murchie E.H., Niyogi K.K. (2010): Manipulation of photoprotection to improve plant photosynthesis. *Plant Physiology* 155: 86-92.
- Mužić M. (2014): Učinak visokog intenziteta svjetlosti na okruglolisnu rosiku (*Drosera rotundifolia* L.). Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet.
- Nocotor G., Queval G., Mhamdi A., Chauoch S., Foyer C.H. (2011): The Arabidopsis Book. American Society of Plant Biologists, Rockville, MD.
- Paiva É.A.S., Isaias R.M.S., Vale F.H.A., Queiroz C.G.S. (2003): The influence of light intensity on anatomical structure and pigment contents of *Tradescantia pallida* (Rose) Hunt. cv. *purpurea* Boom (Commelinaceae) leaves. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 46: 617-624.



- Rintamaki E., Lepisto A., Kangasjarvi S. (2009): Implication of chlorophyll biosynthesis on chloroplast to nucleus retrograde signaling, *Plant Signal and Behavior* 4: 545-547.
- Rintamaki E., Martinsuo P., Pursiheimo S., Aro E.M. (2000): Cooperative regulation of light-harvesting complex II phosphorylation via the plastoquinol and ferredoxin-thioredoxin system in chloroplasts. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 97: 11644-11649.
- Rodermel S.R. (2001): Pathways of plastid to nucleus signaling. *Trends in Plant Science* 6: 471-478.
- Rolland F., Moore B., Sheen J. (2002): Sugar sensing and signaling in plants. *The Plant Cell* 14: S185-S205.
- Skoog D.A., West D.M., Holler F.J. (1999): *Osnove analitičke kemije*. Školska knjiga, Zagreb.
- Steyn W.J., Wand S.J.E., Holcroft D.M., Jacobs G. (2002): Anthocyanins in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection. *New Phytologist* 155: 349–361.
- Strand A., Asami T., Alonso J., Ecker J.R., Chory J. (2003): Chloroplast to nucleus communication triggered by accumulation of Mg-protoporphyrin IX. *Nature*, 421: 79-83.
- Strand A., Hurry V., Henkes S., Huner N., Gustafsson P., Garderstorm P., Stitt M. (1999): Acclimation of *Arabidopsis* leaves developing at low temperatures. Increasing cytoplasmic volume accompanies increased activities of enzymes in the Calvin cycle and in the sucrose-biosynthesis pathway. *Plant Physiology* 119: 1387-1397.
- Suetsugu N., Wada M. (2007): Chloroplast photorelocation movement mediated by phototropin family proteins in green plants. *The Journal of Biological Chemistry* 388: 927-935.
- Szechynska-Hebda M., Kruk J., Gorecka M., Karpinska B., Karpinski S. (2010): Evidence for light wavelength-specific photoelectrophysiological signaling and memory of excess light episodes in *Arabidopsis*. *Plant Cell*. 22: 2201-2218.
- Vass I., Aro E.M. (2008): Photoinhibition of photosynthetic electron transport. U: (G. Renger, urednik) *Primary Processes of Photosynthesis: Basic Principles and Apparatus*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 393-411.

Walters R.G. (2004): Towards an understanding of photosynthetic acclimation. *Journal of Experimental Botany* 56 (411): 435-447.

Xie D.Y., Sharma S.B., Paiva N.L., Ferreira D., Dixon R.A. (2013): Role of anthocyanidin reductase, encoded by BANYULS in plant flavonoid biosynthesis. *Science* 17: 396-399.