

REAKCJE PIERWOTNE FOTOSYNTETY I TRANSPORT
ELEKTRONÓW W ROZWIJAJĄCYCH SIĘ CHLOROPLASTACH

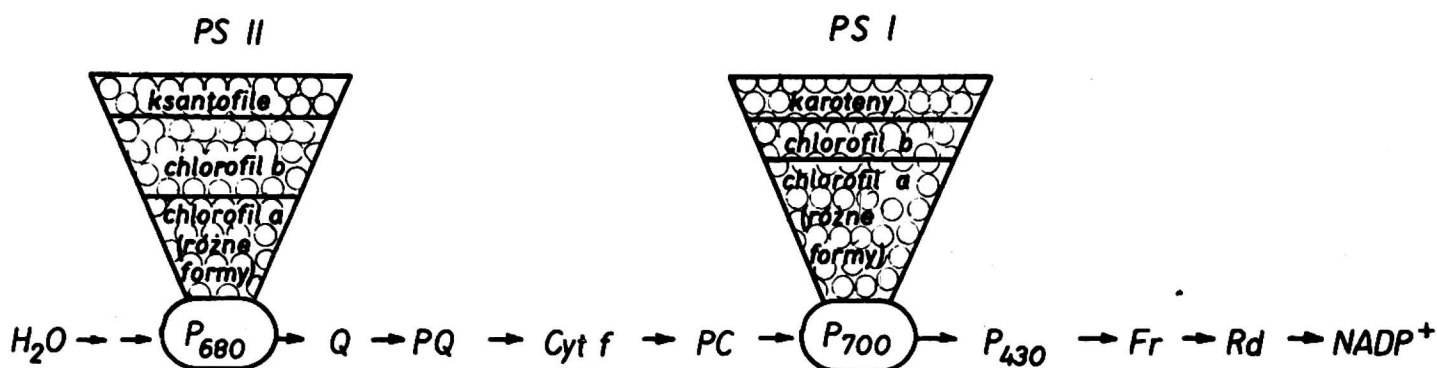
Stanisław Więckowski

Instytut Biologii Molekularnej Uniwersytetu Jagiellońskiego
31-001 Kraków, ul. Grodzka 53

U roślin wyższych i niektórych glonów światło jest niezbędnym czynnikiem, który warunkuje rozwój chloroplastów. U roślin etiolowanych występują bowiem nieaktywne fotosyntetycznie etioplasty, które pozbawione są również typowej struktury lamellarnej. W stromie takich plastydów zawieszono są jedynie pojedyncze lamelle (np. *Ochromonas danica*, *Euglena gracilis*), względnie jedno lub kilka ciał prolamelarnych (rośliny wyższe, rys. 1).

Po oświetleniu roślin etiolowanych zachodzi rozpad ciał prolamelarnych w wyniku czego powstają pierwotne tylakoidy, które ulegają orientacji wzdłuż dłuższej osi plastydu. Błony pierwotnych tylakoidów nie tworzą obszarów podwójnych lamell jak to ma miejsce w obrębie gran chloroplastów. Znajdują się w nich liczne pory, w sąsiedztwie których prawdopodobnie odbywa się wzrost tych błon. Z pierwotnych tylakoidów i z uchyłków wewnętrznej błony osłonki plastydu wykształca się stopniowo typowy układ lamellarny posiadający odcinki granowe i odcinki stromy. Chloroplasty wyróżniają się również z proplastydów występujących w komórkach embrionalnych lub z leukoplastów. W tych wypadkach system lamellarny wykształca się z uchyłków wewnętrznej błony osłonki chloroplastowej i w wyniku powiększenia się już istniejących fragmentów.

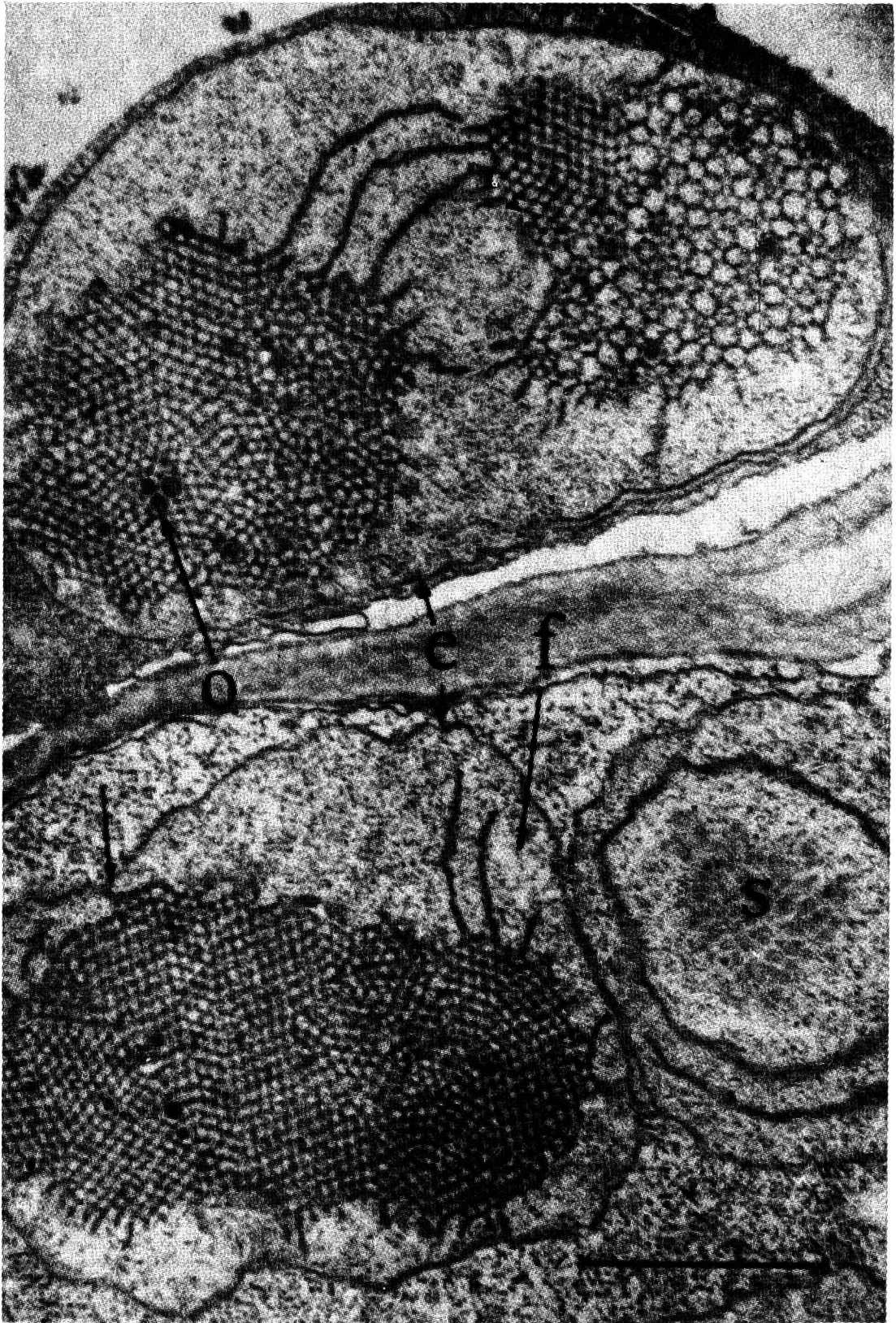
Bezpośrednio po oświetleniu roślin etiolowanych nie zachodzi fotoredukcja NADP^+ i fosforylacja fotosyntetyczna. Aktywność ta pojawia się na określonym etapie różnicowania systemu lamellarnego. W etioplastach nie wykształca się więc fotosyntetyczny łańcuch transportu elektronów (rys. 2). Należy również oczekiwać, że w pewnych etapach przekształcania się etioplastów w chloroplasty będzie się zmieniała aktywność reakcji pierwotnych fotosyntezy i fotosystemów.



Rys. 2. Schemat fotosyntetycznego łańcucha transportu elektronów i dwóch systemów barwnikowych; P₆₈₀, P₇₀₀ - formy chlorofilu a pełniące funkcję centrów reakcji odpowiednio w fotosystemie II (PS II) i fotosystemie I (PS I), Q - pierwotny akceptor elektronów w PS II, PQ - plastochinon, cyt f - cytochrom f, PC - plastocyjanina, P₄₃₀ - pierwotny akceptor elektronów w PS I, Fr - ferredoksyna, Rd - reduktaza ferredoksyna - NADP; w cyklicznym transporcie (niezaznaczonym na schemacie) uczestniczy również cytochrom b₅₆₃, lokalizacja innych przenośników elektronów, np. wysoko (HP) - i nisko (LP) - potencjałowych form cytochromu b₅₅₉ jest wciąż dyskusyjna

Wykazano, że w wewnętrznych błonach etioplastów brak jest nie tylko barwników chlorofilowych, ale również takich przenośników elektronów, jak C-550 (Q?) i cytochrom b_{559HP} [28,31,59,78]. Poziom innych, jak cytochrom f, cytochrom b₅₆₃, cytochrom b_{559LP}, reduktaza ferredoksyna - NADP, ferredoksyna i plastocyjanina jest natomiast znacznie obniżony [25,28,31,78]. Również etioplasty pozbawione są niektórych białek [16].

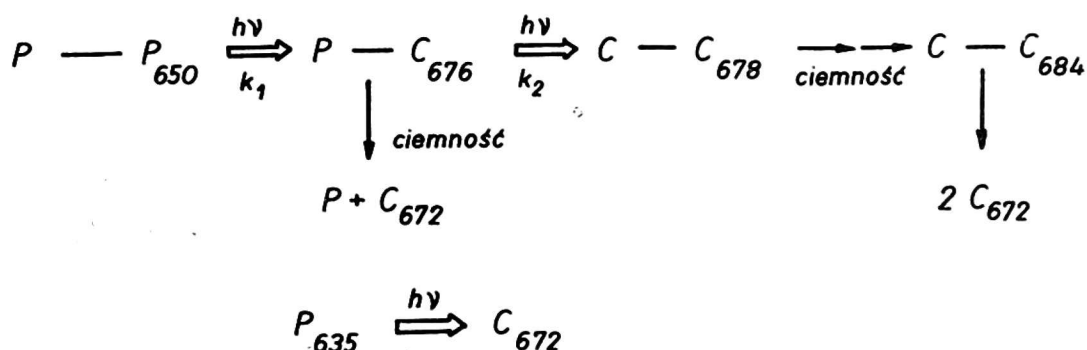
Rozwój aparatu fotosyntetycznego bada się najczęściej u roślin etiolowanych wystawionych na działanie światła białego. Wiele cennych informacji uzyskano również w doświadczeniach, w których rośliny oświetlano światłem przerywanym [3] lub dalekiej czerwieni [17]. Stosowanie oświetlenia przerywanego (np. 2 min. oświetlenia + 98 min ciemności) powoduje zahamowanie przemiany etioplastów na etapie protochloroplastów, tzn. plastydów zawierających tylko pierwotne tylakoidy [67,70]. Protochloroplasty pozbawione są chlorofilu b [6], II kompleksu chlorofilowo-białkowego [7] i zdolności do wydzielania tlenu asymilacyjnego [71]. Posiadają one również nieco inny skład peptydowy niż chloroplasty [60] i cechują się znaczną aktywnością fotochemiczną w przeliczeniu na jednostkę masy chlorofilu [4].



Rys. 1. Ultrastruktura etioplastów z liścia owsa, widoczne ciała prolamellarne przypominające swoją strukturą siatkę krystaliczną, wewnątrz znajdują się również osmofilne globule (O), plastyd otoczony jest osłonką (e), a na terenie stromy delikatne fibryle (f) i centra stromy (s); wg [28a].

BIOSYNTENZA CHLOROFILU, ORAZ ZMIANY AKTYWNOŚCI FOTOSYNTETYCZNEJ I FOTOCHEMICZNEJ W OKRESIE PRZEMIANY ETIOPLASTÓW W CHLOROPLASTY

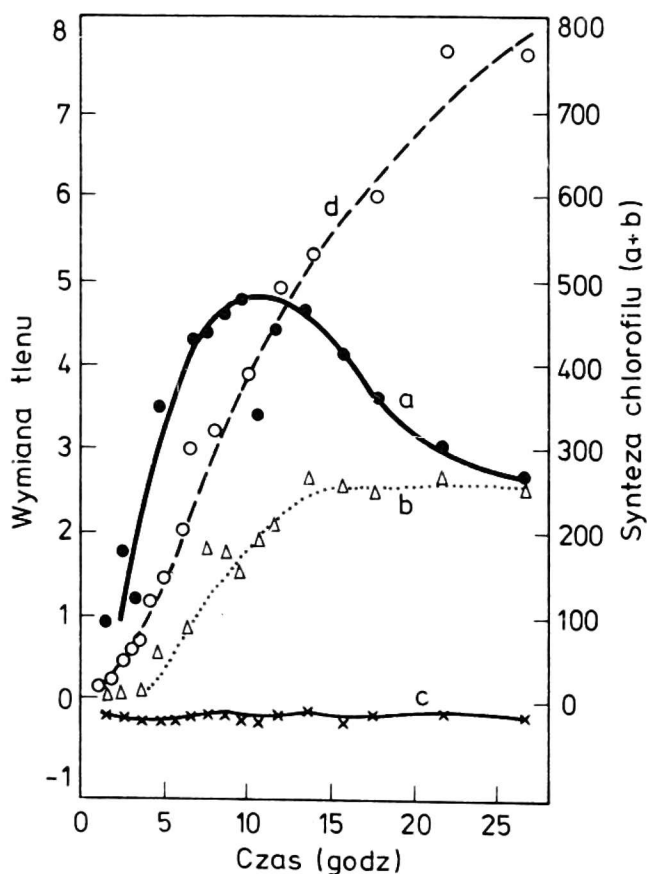
W błonach etioplastów nagromadza się protochlorofilid, który w świetle ulega redukcji do chlorofilidu α . Przemiana ta odbywa się w sposób złożony, gdyż, jak wykazały badania spektroskopowe, jedna z form protochlorofilidu (Pchl. 650) ulega przekształceniu kolejno w formy chlorofilu (chlorofilidu) posiadające główne pasma absorpcji w czerwieni w zakresie 674, 676, 682 i 672 nm [47, 65, 68, 72, 75]. Dołączanie reszty fitylowej do powstałego chlorofilidu nie zależy już od światła [86]. Redukcja protochlorofilidu odbywa się w dwóch aktach fotochemicznych [43, 47, 68] w czasie 10^{-3} - 10^{-5} sekundy. Dokładny mechanizm omawianej reakcji nie został dotychczas wyjaśniony. Według hipotezy Mathis i Sauer [47] Pchl. 650 zostaje zredukowany jako dimer i dopiero w końcowym etapie zachodzi dysocjacja do monomerów (rys. 3). Według tej samej hipotezy inna forma protochlorofilu (Pch. 635) występuje w formie monomeru i podlega bezpośrednio fotoredukcji do Chl. a_{672} . Natomiast Virgin i French [75] sugerują, iż Pchl. 635 ulega najpierw przemianie do Pchl. 650. Dokładne poznanie mechanizmów omawianych redukcji będzie utrudnione do czasu wyjaśnienia struktury chemicznej form barwników chlorofilowych występujących *in vivo*.



Rys. 3. Schemat przemiany protochlorofilidu w chlorofilid; α ; P - protochlorofilid, C - chlorofilid, P-P, P-C, C-C - formy dimeryczne, liczby oznaczają długości fali, w zakresie których znajdują się główne pasma absorpcji, wg [46].

U roślin wyższych stosunki ilościowe poszczególnych form chlorofilu ustalają się już w ciągu pierwszych kilku minut oświetlenia roślin etiolowanych światłem ciągłym, natomiast u niektórych glonów proces ten może być bardziej rozciągnięty w czasie. Na przy-

kład węgłów Dubertret i Lefort-Tran [18] w początkowym okresie zazieleniania *Euglena gracilis* dominuje Ca673, natomiast Ca680 zaczyna przeważać dopiero po kilkugodzinnym oświetlaniu; stosunek ilościowy Ca673 do Ca680 ustala się dopiero po 31 godzinach. Jedynie względny poziom form posiadających główne pasma absorpcji w czerwieni przy 695 i 703 nm nie zmienia się już po 5 godzinach. Również wolniej niż u roślin wyższych zachodzi synteza niektórych form chlorofilu a w komórkach *Chlamydomonas reinhardtii* Y-1. Jak wykazały badania Eyton i wsp. [24] względny poziom P700 wzrasta tylko w ciągu pierwszej godziny oświetlania, natomiast w ciągu pierwszych 3-4 godzin ulega przesunięciu główne pasmo absorpcji z 671 do około 680-685 nm, co wskazuje na opóźnioną akumulację niektórych długofalowych form chlorofilu a.



Rys. 4. Natężenie fotosyntezy, oddychania i syntezy chlorofilu ($a+b$) jako funkcja czasu zazieleniania etiolowanych liści jęczmienia; natężenie wymiany gazowej oznaczono w świetle o intensywności $6 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$; a - natężenie wydzielania tlenu w $\text{ml} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ chl., b - natężenie wydzielania tlenu w $\text{ml} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ świeżej masy, c - natężenie pobierania tlenu oddychania w $\text{ml} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ świeżej masy, d - zawartość chlorofilu wg. [22]

Jak wynika z rysunku 4 akumulacja barwników chlorofilowych w liściach odbywa się często w sposób złożony. Bezpośrednio po oświetleniu roślin przetrzymywanych przez 10-15 dni w ciemności obserwuje się gromadzenie chlorofilu w nieznacznych ilościach, po czym następuje około 2 godzin trwająca faza zastoju („lag phase”), podczas której poziom chlorofilu nie ulega zwiększeniu, i dopiero w następnym okresie rozpoczyna się faza intensywnej akumulacji. Po

oświetleniu roślin trzymanyh w ciemności przez stosunkowo krótki okres (2-5 dni) nie obserwuje się fazy zastoju w akumulacji chlorofilu; okres intensywnej syntezy rozpoczyna się bezpośrednio po oświetleniu [2].

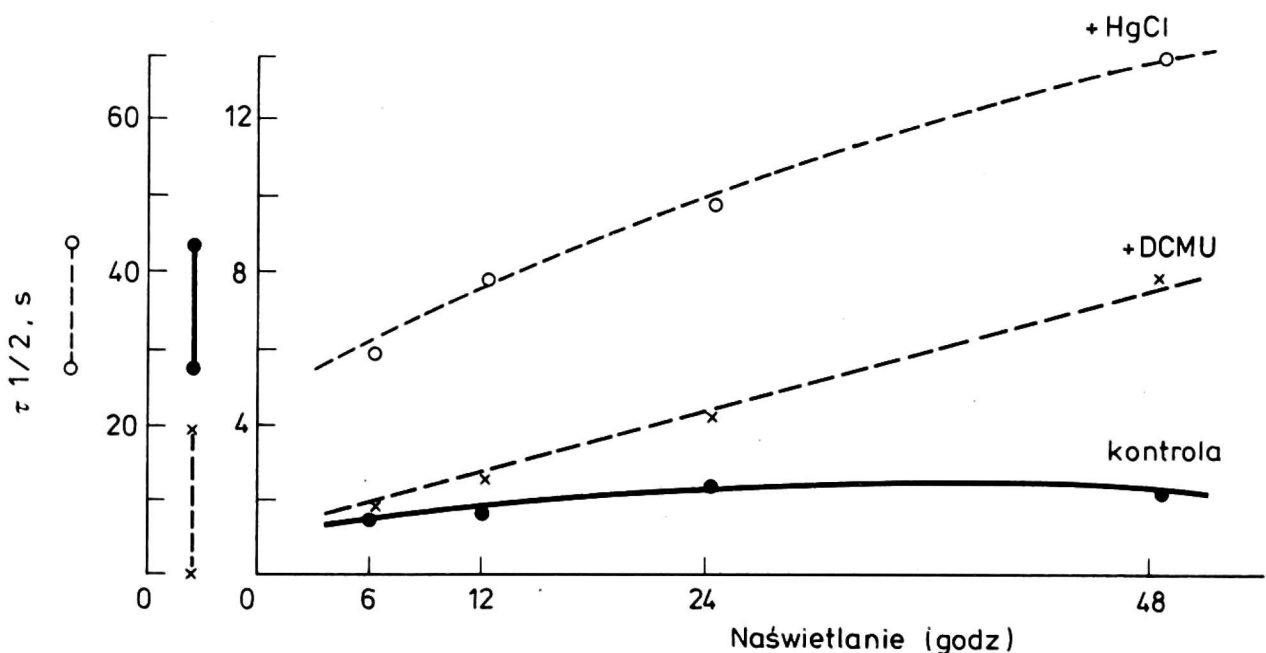
Akumulacja chlorofilu b odbywa się z pewnym opóźnieniem w stosunku do akumulacji chlorofilu a: wykrywanie ilości chl. b można stwierdzić dopiero po około 2 godzinach [21], chociaż zdaniem Shlyka i wsp. [63] biosynteza chlorofilu b zostaje zainicjowana bezpośrednio po oświetleniu roślin, lecz w początkowym okresie występuje on w tak małych ilościach, iż jest trudno wykrywalny za pomocą konwencjonalnych metod. Thorne i Boardman [73] stosując względnie czułą metodę fluorescencyjną wykryli obecność chlorofilu b w siewkach *Pisum sativum* już po 10 minutach oświetlania. Należy jeszcze dodać że, kinetyka akumulacji chlorofilu w różnych częściach blaszki liściowej może być różna, np. u kukurydzy akumulacja trwa krócej w komórkach pochwy wokółwiązkowej niż w mezofilu [37].

Nasuwa się teraz pytanie, czy istnieje określona zależność między natężeniem syntezy barwników chlorofilowych a zmianami natężenia fotosyntezy? Już z dawniejszej pracy Smitha [69] wynikało, że po oświetleniu etiolowanych liści jęczmienia wydzielanie tlenu asymilacyjnego można wykazać dopiero po 2 godzinach, choć synteza chlorofilu rozpoczynała się natychmiast. Egnéus i wsp. [22] oświetlając etiolowane liście jęczmienia obserwowali pojawienie się zdolności do wydzielania tlenu asymilacyjnego po 1 godzinie. Podobne wyniki uzyskali wcześniej Oelze-Karow i Butler [55] prowadząc badania na liściach etiolowanej fasoli. Na podstawie własnych wyników i danych z piśmiennictwa Egnéus i wsp. [22] doszli do wniosku, że w roślinach, w których nie występuje faza opóźnienia w akumulacji chlorofilu wydzielanie tlenu asymilacyjnego rozpoczyna się po 1-2 godzinach naświetlania, natomiast w przypadku występowania tej fazy, proces wydzielania tlenu rozpoczyna się po 1-2 godzinach intensywnej akumulacji chlorofilu. W początkowym okresie zazieleniania nie obserwuje się prostej zależności między natężeniem wydzielania tlenu asymilacyjnego a natężeniem pobierania CO_2 [44]. Niekiedy w ciągu pierwszych kilkunastu sekund zachodzi nawet pobieranie tlenu [22]. W późniejszym okresie rozwoju chloroplastów również brak jest prostej zależności między nagromadzeniem chlorofilu a przyrostem natężenia fotosyntezy (rys. 4); poza początkowym okresem akumulacja barwników chlorofilowych od-

bywa się intensywniej niż przyrost natężenia fotosyntezy w wyniku czego obserwuje się spadek natężenia fotosyntezy w przeliczaniu na jednostkę masy chlorofilu [84]. Wielu badaczy spadek ten tłumaczy intensywniejszą syntezą barwników antenowych w stosunku do barwników występujących w centrach reakcji.

W piśmiennictwie nie ma jednoznacznych danych na temat czasu pojawiania się aktywności fotochemicznej PS I i PS II. Na przykład w cytowanej już pracy Egnéus i wsp. [22] wykazali, że w izolowanych plastydach jęczmienia aktywność PS I jest wykrywalna już po 15 min oświetlania, natomiast aktywność PS II i współdziałanie między fotosystemami można wykazać dopiero po około 3 godzinach. Hiller i Boardman [35] badając utlenianie i redukcję cytochromu f w świetle monochromatycznym absorbowanym przez barwniki należące do PS I lub PS I i PS II doszli do wniosku że po oświetleniu 10-15-dniowych siewek fasoli oba układy wykazują wykrywalną aktywność po około 2,5 godzinach, przy czym aktywność PS II pojawia się zaledwie z około 30-minutowym opóźnieniem. Również Baker i Butler [8] oznaczając w liściach fasoli fotoindukowane zmiany absorpcji charakterystyczne dla P700, C-550 i cytochromu b_{556} w temperaturze ciekłego azotu wykazali obecność aktywnych fotosystemów już po kilkuminutowym oświetlaniu. Autorzy ci uważają, że w początkowym okresie zazieleniania struktury lamellarne są bardzo labilne przez co ulegają łatwo uszkodzeniu podczas izolacji plastydów. Prawdopodobnie w niektórych pracach stanowiło to przyczynę ujawniania się aktywnych fotosystemów dopiero po 10-15 godzinach oświetlania roślin etiolowanych [5,30,57]. Baker i Butler [8] są jednak zdania, że z pewnym opóźnieniem powstają jedynie ogniwa znajdujące się pomiędzy fotosystemami, co może być związane z opóźnieniem syntezy cytochromu b_{559} [78], który strukturalnie łączy się z PS II. Również z wielu innych danych [10,12,55,58] wynika, że po oświetleniu roślin etiolowanych cykliczny transport elektronów związany z PS I zaczyna funkcjonować przed niecyklicznym transportem, co oznacza dalej, że cykliczna fotofosforacja (stymulowana PMS) pojawia się przed niecykliczną. Ogawa i Shibata [56] stwierdzili nawet, że w liściach pszenicy naświetlanych niskimi intensywnościami światła ($1,1 \cdot \mu W \cdot cm^{-2}$) w ogóle nie wykształca się aktywny fotosystem II, podobnie jak w liściach naświetlanych światłem przerywanym [19].

Niektórzy badacze usiłowali doszukać się korelacji między pojawieniem się aktywności PS II a początkiem wykształcania podwójnych lamelli [36,87]. Jednakże obecność podwójnych lamelli nie jest warunkiem koniecznym dla istnienia aktywnego PS II [27]. Z drugiej strony opisano również mutant, w którym znajdowały się chloroplasty granowe (występowały podwójne lamelle), a nie stwierdzono aktywności fotosystemu II [51]. Wiele dotychczas otrzymanych danych wskazuje więc na to, że w początkowym okresie tworzenia się aktywnego aparatu fotosyntetycznego funkcjonuje tylko PS I. Stwierdzenie to jest zgodne z danymi [46], z których wynika, że w początkowym okresie zazielenienia liści fasoli efektywna redukcja $P700^+$ jest w mniejszym stopniu uzależniona od dopływu elektronów od PS II; obecność DCMU bowiem tylko w nieznacznym stopniu obniża natężenie redukcji $P700^+$ (rys. 5). Przymuszczalnie reduk-



Rys. 5. Połowiczny czas zaniku sygnału I elektronowego rezonansu paramagnetycznego, ERP w chloroplastach traktowanych DCMU lub $HgCl_2$ jako funkcja czasu zazieleniania etiolowanych liści fasoli. Wielkość sygnału I w widmie ERP jest miarą względnego stężenia $P700^+$. wg [45].

cja ta odbywa się przy udziale sprawnie funkcjonującego cyklicznego przepływu elektronów. Jednakże zablokowanie doprowadzania elektronów do $P700^+$ na etapie plastocyaniny przez dodanie $HgCl_2$ wywiera również nieco mniejszy efekt w początkowym okresie akumulacji chlorofilu niż w późniejszym, co może wskazywać na to, że

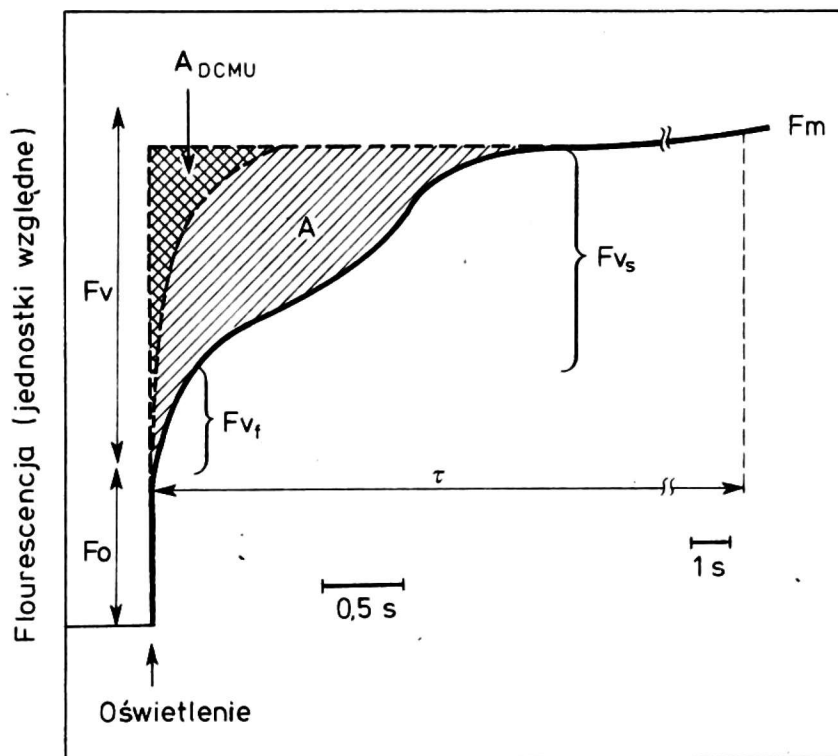
początkowo nie tylko sprawniej funkcjonuje cykliczny transport elektronów, ale istnieje także efektywne doprowadzenie elektronów do $P700^+$ z jakiegoś dodatkowego źródła. Przymuszczalnie bardzo efektywna redukcja $P700^+$ była odpowiedzialna za niewykrywalność tej formy chlorofilu a metodą spektrofotometrii różnicowej w początkowym okresie zazieleniania, pomimo obecności aktywnych centrów PS I [12,59].

Istnieją w piśmiennictwie dane wskazujące na opóźnienie rozwoju układu rozkładającego wodę (początkowy odcinek łańcucha transportu elektronów, rys. 2). Na przykład według danych Cahen i wsp. [14] intensywne fotoredukcja DCIP (aktywność PS II) w obecności DPC (znany donor elektronów bezpośrednio do PS II, 74) odbywa się w ciągu pierwszych 2-3 godzin zazieleniania wyhodowanych w ciemności komórek *Chlamydomonas reinhardtii* Y-1. Podobny efekt został wykryty w zzieleniejących liściach fasoli [46] i młodych liściach pszenicy [34]. Również Rémy [61] wykazał, że w etiolowanych siewkach pszenicy nie wytwarza się aktywny układ rozkładający wodę w przypadku naświetlania światłem przerywanym (1ms naświetlania + 15 min ciemności).

Prawdopodobnie tworzenie się układu rozkładającego wodę jest skorelowane z reorganizacją cząsteczek barwników fotosyntetycznych w obrębie PS I i PS II. Wynika to między innymi z pracy Ichikawa i wsp. [38], w której wykazano, że w liściach pszenicy naświetlanych światłem przerywanym nie powstaje aktywny układ rozkładający wodę. W tych warunkach obserwuje się tylko stałą fluorescencję (F_0) i nieznaczna luminescencję. Obecność jedynie F_0 może świadczyć o braku przekazywania energii z anten energetycznych do centrum reakcji PS II. Nieznaczna luminescencja świadczy o istnieniu barier utrudniających przekazywanie energii wzbudzenia elektronowego w obrębie barwników PS II. Prawdopodobnie w czasie aktywacji tego układu zachodzi reorganizacja (zmiana form?) barwników karotenoidowych wchodzących w skład PS I, gdyż, jak wykazały badania Strassera i Butlera [70] po zastąpieniu oświetlenia przerywanego oświetleniem ciągłym, równocześnie z powstawaniem układu rozkładającego wodę w liściach fasoli następowały zmiany absorpcji w paśmie 505 nm, która przypisywana jest karotenoidom. Przedstawione fakty oznaczają więc, że w początkowym okresie przekształcania etioplastów w chloroplasty układ rozkładający wodę może również ograniczać niecykliczny transport elektronów, a dokładniej doprowadzanie elektronów do centrum reakcji PS II.

ANALIZA KRZYWEJ INDUKCJI FLUORESCENCJI

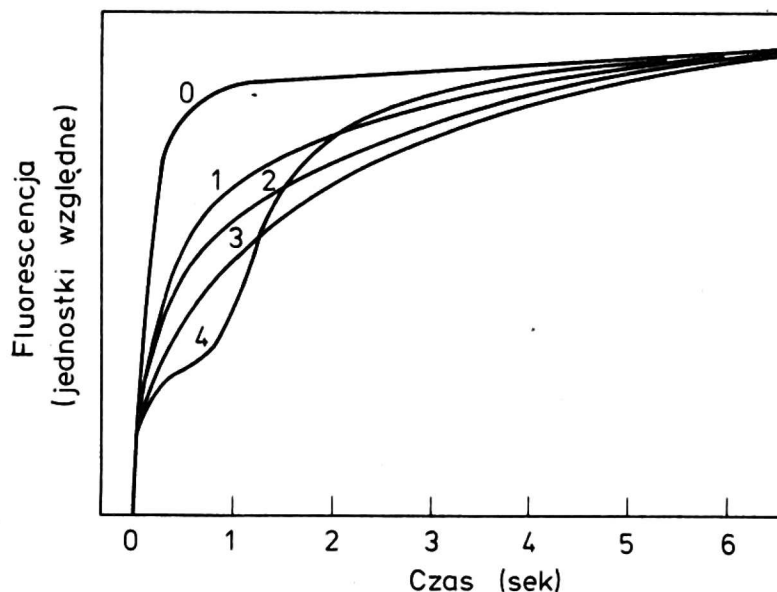
Powszechnie uważa się, chlorofil wchodzący w skład PS II jest przede wszystkim odpowiedzialny za fluorescencję charakterystyczną dla roślin zielonych [39]. Jeżeli zaadaptowane do ciemności rośliny lub wyizolowane chloroplasty naświetlić światłem ciągłym to w ciągu pierwszych kilku sekund obserwuje się stopniowy wzrost natężenia fluorescencji; okres ten został nazwany okresem indukcji fluorescencji. Według Duysensa i Sweersa [20] wzrost natężenia fluorescencji w okresie indukcji jest związany ze stopniowym przechodzeniem pierwotnego akceptora PS II z formy wygaszającej fluorescencję (Q) w formę niewygaszającą (Q^-). W wykształconych chloroplastach krzywa indukcji fluorescencji ma przebieg złożony (rys. 6); można na niej wyróżnić odcinek reprezentujący fluores-



Rys. 6. Schemat typowej krzywej indukcji fluorescencji chloroplastów traktowanych (---) i nietraktowanych (—) DCMU; F_0 - fluorescencja stała, F_v - fluorescencja zmienna, F_{vt} - szybko narastająca składowa fluorescencji zmiennej, F_{vs} - wolno narastająca składowa fluorescencji zmiennej, F_m - fluorescencja maksymalna, A - pole nad krzywą indukcji fluorescencji chloroplastów nietraktowanych DCMU, A DCMU - pole nad krzywą indukcji fluorescencji chloroplastów traktowanych DCMU wg [14].

cencję stałą (F_0) i zmienną (F_V), przy czym fluorescencja zmienna składa się ze składowej szybko rosnącej (F_{Vf}) i z wolnorosnącej (F_{Vs}). Przyjmuje się [14], że wartość F_0 reprezentuje względną ilość cząsteczek chlorofilu, z których energia wzbudzenia elektrowego nie jest przekazywana do centrum reakcji PS II, natomiast wartość F_V jest miarą względnego poziomu aktywnych w przekazywaniu energii cząsteczek chlorofilu, przy czym za F_{Vf} mają być odpowiedzialne cząsteczki przyczyniające się do redukcji łatwo utlenianego Q^- , natomiast za F_{Vs} - cząsteczki współuczestniczące w redukcji trudno utlenianego Q . Wykazano również, że powierzchnia nad krzywą indukcji fluorescencji jest proporcjonalna do liczby rozdzielonych ładunków w obrębie PS II [53]. Zahamowanie utleniania Q^- przez dodanie DCMU zmniejsza powierzchnię nad krzywą indukcji a fluorescencja zmienna złożona jest tylko ze składowej F_{Vf} (rys. 6). W obecności DCMU kinetyka narastania powierzchni nad krzywą indukcji fluorescencji reprezentuje więc kinetykę rozdzielania ładunków w obrębie centrum reakcji PS II, czyli kinetykę reakcji $ZP680Q \rightarrow Z^+P680Q^-$, gdzie Z jest bezpośrednim donorem elektronów, P680 - centrum reakcji PS II, a Q - bezpośrednim akceptorem elektronów w fotosystemie II. Z analizy krzywej indukcji fluorescencji i kinetyki narastania powierzchni nad tą krzywą można więc uzyskać wiele cennych informacji o reakcjach pierwotnych zachodzących w obrębie PS II, zwłaszcza w okresie zróżnicowania się aparatu fotosyntetycznego. Na przykład Cahen i wsp. [14] stwierdzili, iż po naświetleniu uzyskanej w ciemności zsynchronizowanej kultury *Ch. reinhardii* Y-1 początkowo dominuje fluorescencja stała a dwie składowe fluorescencji zmiennej różnicują się stopniowo w ciągu pierwszych 5 godzin (rys. 7). Z badań tych wyciągnięto wniosek, że w początkowym etapie rozwoju aparatu fotosyntetycznego u badanej rasy *Ch. reinhardii* przeważają cząsteczki chlorofilu nieaktywne w przekazywaniu energii do centrum reakcji PS II. W ciągu pierwszych 4 godzin naświetlania kultury ma zachodzić reorganizacja składników błon tylakoidów, w wyniku czego zwiększa się względna ilość cząsteczek aktywnych w przekazywaniu zaabsorbowanej energii świetlnej na pułapki energetyczne.

Melis i Homan [50] wykazali, że krzywa reprezentująca kinetykę narastania powierzchni nad krzywą indukcji fluorescencji w obecności DCMU zbudowana jest z dwóch składowych przy czym każda z nich jest zgodna z równaniem kinetyki reakcji I rzędu. Ma to



Rys. 7. Krzywe indukcji fluorescencji po 0 (0), 1,8 (1), 2,4 (2), 3,4 (3), i 5 (4) godzinach zazieleniania komórek *Chlamydomonas reinhardi* Y-1 wg [14]

wskazywać na istnienie dwóch typów centrów reakcji PS II: bardziej aktywnych (α) i mniej aktywnych (β). Wykazano dalej, że mniej w ciągu pierwszej godziny naświetlania roślin etiolowanych krzywa narastania powierzchni nad krzywą indukcji fluorescencji zbudowana jest tylko z powolnej składowej, co może oznaczać, że w tym okresie występują mniej aktywne centra reakcji PS II. Melis i Akoyunoglou [49] są zdania, iż w początkowym okresie centra α charakteryzują się taką samą aktywnością jak centra β . Po ustaleniu się stanu równowagi, tzn. po pierwszej godzinie naświetlania roślin etiolowanych centra β stanowią około 65%. Oświetlając rośliny etiolowane światłem przerywanym ci sami badacze wykazali, że różnicowanie się dwóch typów centrów reakcji PS II nie jest skorelowane z syntezą chlorofilu b, powstawaniem II kompleksu chlorofilowo-białkowego i tworzeniem się struktur granowych. Być może duża wrażliwość reakcji Hilla na działanie DCMU w początkowym okresie akumulacji chlorofilu jest związana z dominacją centrów mniej aktywnych. Wykazano bowiem, że w początkowym okresie naświetlania etiolowanych liści fasoli DCMU wywiera efekt hamujący już po wprowadzeniu do rośliny w stężeniu 10^{-13} M, podczas gdy w późniejszej fazie - dopiero po przekroczeniu 10^{-10} M [46]. Należy jeszcze dodać, że interpretacja wyników uzyskanych z analizy kinetyki narastania powierzchni nad krzywą indukcji fluorescencji bywa czasem kontrowersyjna [18].

ZMIANY WIELKOŚCI JEDNOSTEK FOTOSYNTETYCZNYCH

Jednostką fotosyntetyczną nazywa się zespół barwników, który uczestniczy w wydzieleniu jednej cząsteczki O_2 lub w związaniu jednej cząsteczki CO_2 [23,26]. Już dawniej wyliczono [26], że u większości roślin wyższych współdziała około 2 400 cząsteczek chlorofilu w pochłonięciu energii świetlnej niezbędnej do wydzielenia jednej cząsteczki tlenu asymilacyjnego lub związania jednej cząsteczki CO_2 . Dane te zostały potwierdzone w późniejszych badaniach [64,80]. Mniejsze jednostki fotosyntetyczne wykryto jedynie u niektórych mutantów chlorofilowych [79,81].

Wiadomo również, że w skład każdej jednostki fotosyntetycznej wchodzi dwa zespoły barwników; jeden z nich należy do PS I a drugi do PS II (rys. 2). W obrębie każdego takiego zespołu wyróżnia się barwniki występujące w centrach reakcji fotochemicznej (P700 stanowi centrum reakcji PS I, a P680 - centrum reakcji PS II) i barwniki pełniące funkcję anten energetycznych. Nasuwa się teraz pytanie w jaki sposób powstają jednostki fotosyntetyczne. Choć do tej pory nie otrzymano jednoznacznej odpowiedzi wiele danych wskazuje na to, że u roślin wyższych w pierwszym etapie tworzą się centra reakcji i niewielkie anteny energetyczne. Powiększanie anten ma odbywać się w dalszej fazie akumulacji chlorofilu [1]. Ma to wynikać między innymi z faktu, iż w pierwszym okresie powstawania aparatu fotosyntetycznego trzeba użyć wyższych intensywności światła, aby uzyskać punkt wysycenia fotosyntezy. Zjawisko to opisano zarówno u roślin wyższych [83], jak również u *Chlamydomonas reinhardtii* Y-1 [9,24] oraz *Chlorella* [33]. Spadek natężenia fotosyntezy w przeliczeniu na jednostkę masy chlorofilu w miarę tworzenia się aparatu fotosyntetycznego ma również świadczyć, zdaniem niektórych badaczy [11], o intensywniejszej rozbudowie anten energetycznych w stosunku do tworzenia nowych centrów reakcji. Ponadto analiza zmian względnej zawartości P700 wykazuje, że poza wczesnym okresem zazieleniania etiolowanych liści zachodzi intensywniejsza akumulacja barwników antenowych niż centrów reakcji PS I [45].

Z drugiej strony Cahen i wsp. [14] na podstawie oznaczeń natężenia wydzielania tlenu asymilacyjnego w świetle błyskowym wyliczyli, iż w wypadku komórek *Chlamydomonas reinhardtii* Y-1 względna wielkość jednostki fotosyntetycznej maleje między 1 a 4 godziną

oświetlania komórek wyrosłych w ciemności. Również Dubertret i Lefort-Tran [18] analizując krzywą indukcji fluorescencji oraz wartości natężenia wydzielania tlenu asymilacyjnego w świetle błyskowym doszli do wniosku, że podczas akumulacji chlorofilu u *Euglena gracilis* zachodzi zmniejszanie się jednostek fotosyntetycznych między 10 a 60 godziną oświetlania. Badacze ci nie mogli wykryć aktywnych centrów reakcji w ciągu pierwszych 7-10 godzin. Równocześnie wykazali, że ogólny czas przebiegu reakcji fotosyntezy wydłuża się z około 30-50 ms (wartość stwierdzona po 21 godzinach oświetlania) do około 200 ms (w pełni zielonych komórkach). Z tego wynikałoby, że wydłużenie czasu przebiegu reakcji fotosyntezy w miarę rozwoju aparatu fotosyntetycznego może być odpowiedzialne za obserwowany spadek natężenia fotosyntezy oraz aktywności reakcji fotochemicznych w przeliczeniu na jednostkę masy chlorofilu. Nie jest wykluczone, że dalszą konsekwencją tego jest spadek wartości wymogu kwantowego fotosyntezy. Bishop i Senger [10] stwierdzili bowiem, że po oświetleniu wyhodowanej w ciemności kultury *Scenedesmus obliquus* C-2A' wymóg kwantowy fotosyntezy obniżył się z wartości około 23 do wartości 8 pomiędzy 2 a 6 godziną.

Z powyższego wynika, że sposób powstawania jednostek fotosyntetycznych nie został jeszcze wyjaśniony. Nie jest wykluczone, że rozwój ten odbywa się nieco inaczej u roślin wyższych niż u organizmów niższych. Należy jeszcze dodać, że zapoczątkowany oświetleniem rozwój fotosystemów może być również kontynuowany w ciemności. Na przykład Hiller i Boardman [35] analizując zmiany absorpcji cytochromu *f* w ciemności po pulsowym naświetleniu rośliny doszli do wniosku, że rozwój PS I zachodzi także w okresach ciemności. Z pracy Akoyunoglou [1] wynika również, że ponowne zaciemnianie przez 2 godziny oświetlonych etiolowanych liści fasoli doprowadzi po 24 godzinach do 1,75-3,2-krotnego wzrostu stosunku F_m do F_o i około 4-krotnego wzrostu czasu połowicznego narastania fluorescencji. Wyniki te, zdaniem autora, mogą wskazywać na uaktywnianie w ciemności chlorofilu powstałego w okresie 2 godzin naświetlania roślin. Innymi słowy światło nie jest czynnikiem koniecznym we wszystkich etapach powstawania aktywnych jednostek PS II.

UWAGI KOŃCOWE

Z przedstawionego przeglądu piśmiennictwa wynika, że istnieją luki w znajomości mechanizmu powstawania aparatu fotosyntetycznego. Między innymi konieczne jest wykonanie dalszych badań w celu wyjaśnienia wszystkich reakcji zależnych od światła, które w ostatecznym efekcie przyczyniają się do transformacji etioplastów w chloroplasty. Tylko jedną z takich reakcji stanowi wspomniana wyżej fotoredukcja protochlorofilidu do chlorofilidu a. Pośrednio światło stymuluje również syntezę chlorofilu b [42,48,82,85]. Wiadomo również, że uzależniony od światła jest rozwój układu rozkładającego wodę [15,70], oraz biosynteza wielu białek i lipidów chloroplastowych [41,54,62,66]. Pod kontrolą układu fitochromowego znajduje się biosynteza barwników chlorofilowych [52], reduktazy ferredoksyna - NADP [40] i przypuszczalnie innych przenośników elektronów. Wreszcie należy dodać, że światło niebieskie wpływa nie tylko na metabolizm węgla w roślinie [76], ale również na rozwój łańcucha transportu elektronów [77]. Voskresenskaya i wsp. [77] stwierdzili bowiem, że u siewek grochu rosnących w świetle niebieskim wytwarza się sprawniej działający fotosystem II i efektywniej działające anteny energetyczne PS II niż w świetle czerwonym. Wszystkie te dane wskazują więc na to, że światło oddziałuje na rozwój aparatu fotosyntetycznego u roślin wyższych i glonów w sposób złożony.

Używane skróty: PS I - fotosystem I, PS II - fotosystem II, DCMU - 3-(3,4-dwuchlorofenyl)1,1-dwumetylomocznik, PMS - metylo-siarczan N-metylofenazyliowy, DPC - 1,5-dwufenylkarbazyd, DCIP - 2,6-dwuchlorofenoloindofenol.

LITERATURA

1. Akoyunoglou G.: Arch. Biochem. Biophys., 183, 571-580, 1977
2. Akoyunoglou G., Argyroudi-Akoyunoglou J.H.: Physiol. Plant., 22, 288-295, 1969
3. Akoyunoglou G., Argyroudi-Akoyunoglou J.H., Michel-Wolwertz M.R., Sironval C.: Physiol. Plant., 19, 1101-1104, 1966
4. Akoyunoglou G., Michelinaki-Meneta M.: Congr. Photosynthesis, M. Avron (Ed.), Proc. 3d., Elsevier, Amsterdam, 1885-1895, 1974

5. Anderson J.M., Boardman N.K.: *Aust. J. Biol. Sci.*, 17, 93-101, 1966
6. Argyroudi-Akoyunoglou J.M., Akoyunoglou G.: *Plant Physiol.*, 46, 247-249, 1970
7. Argyroudi-Akoyunoglou J.M., Feleki Z., Akoyunoglou G.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 45, 606-614, 1977
8. Baker N.R., Butler W.L.: *Plant Physiol.*, 58, 526-529, 1976
9. Bar-Nun S., Wallach D., Ohad I.: *Biochim. Biophys. Acta*, 267, 138-148, 1972
10. Bishop N.J., Senger H.: *Plant Cell Physiol.*, 13, 937-953, 1972
11. Boardman N.K., Trebst A., Avron M. (Eds): *Encyclopedia of Plant Physiology*, New Series 5, Springer-Verlag, Berlin, 583-600, 1977
12. Boardman N.K., Anderson J.M., Hiller R.G., Kahn A., Roughan P.G., Treffry T.E., Thorne S.W.: *Photosynthesis* (G. Forti, M. Avron and A. Melandri Eds.) *Proc. 2nd Intern. Junk N.V., Publishers, The Hague*, 2265-2287, 1971
13. Butler W.L.: *Biochim. Biophys. Acta*, 102, 1-8, 1965
14. Cahen D., Malkin S., Shochat S., Ohad I.: *Plant Physiol.*, 58, 257-267, 1976
15. Cheniae G.M., Martin I.F.: *Photochem. Photobiol.*, 7, 441-159, 1973
16. Cobb A.H., Wellburn A.R.: *Planta (Berl.)* 114, 131-142, 1973
17. De Greef J., Butler W.L., Roth T.F.: *Plant Physiol.*, 47, 457-464, 1970
18. Dubertret G., Lefort-Tran M.: *Biochim. Biophys. Acta*, 503, 316-332, 1978
19. Dujardin E., de Kouchkovsky Y., Sironval C.: *Photosynthetica*, 4, 223-227, 1970
20. Duysens L.N.M., Sweers H.E.: *Microalgae Photosynth. Bact.*, Univ. Tokyo Press, 353-372, 1963
21. Egle K.: *Handbuch der Pflanzenphysiologie* (W. Ruhland Ed.) V/1, Springer-Verlag, Berlin, 323-353, 1960
22. Egnéus H., Reftel S., Selldén G.: *Physiol. Plant.* 27, 48-55, 1972
23. Emerson R., Arnold W.: *J. Gen. Physiol.*, 15, 391-420, 1932
24. Eyton G., Jennings R.C., Forti G., Ohad J.: *J. Biol. Chem.*, 249, 738-744, 1974
25. Farineau J.: *Physiol. Plant.*, 36, 393-398, 1976
26. Gaffron H., Wohl K.: *Naturwiss.*, 24, 103-107, 1936
27. Goodchild D.J., Highkin H.R., Boardman N.K.: *Exp. Cell Res.*, 43, 684-688, 1966
28. Gregory P., Bradbeer J.W.: *Planta Berl.* 109, 317-326, 1973
29. Gunning B.E.S., Jagoe M.P.: *Biochemistry of Chloroplasts* (T.W. Goodwin Ed.) Academic Press, 655-674, 1967
30. Gyldenholm A.O., Whatley F.R.: *New Phytol.*, 67, 461-468, 1968
31. Haslett B.G., Cammack R.: *New Phytol.*, 76, 219-226, 1976
32. Henningsen K.W., Boardman N.K.: *Plant Physiol.*, 51, 1117-1126, 1973
33. Herron H.A., Mauzerall D.: *Plant Physiol.*, 50, 141-148, 1972
34. Hieke B.: *Zur Stabilität des photosynthetischen Pigmentapparates während der Ontogenese von Triticum aestivum L. und Phaseolus vulgaris L.* *Rozprawa doktorska*, Berlin, 1973
35. Hiller R.G., Boardman N.K.: *Biochim. Biophys. Acta*, 253, 449-458, 1971
36. Homann P.H., Schmid G.H.: *Plant Physiol.*, 42, 1619-1632, 1967
37. Horváth G., Faludi-Dániel A.: *Photosynthetica*, 6, 410-414, 1972

38. Tschikawa T., Inoue Y., Shibata K.: *Plant Sci. Letters*, 4, 369-376, 1975
39. Kaustsky H., Appel W., Amann H.: *Biochem. Z.*, 332, 277-292, 1960
40. Keister D.L., Jagendorf A.T., San Pietro A.: *Biochim. Biophys. Acta*, 62, 332-340, 1972
41. Kleinig H., Liedvogel B.: *FEBS Letters*, 101, 339-342, 1979
42. Kupke D.W., Huntington J.L.: *Science*, 140, 49-51, 1963
43. Litvin E.P., Ignatov N.V., Efimtsev E.O., Belyaeva O.B.: *Photosynthetica*, 12, 375-381, 1978
44. Lüttge U., Kramer D., Ball E.: *Z. Pflanzenphysiol.*, 71, 6-21, 1974
45. Machowicz E., Subczyński W.K., Więckowski S.: *J. Exp. Bot.*,
46. Machowicz E., Więckowski S.: *J. Exp. Bot.*, 29, 1383-1389, 1978
47. Mathis P., Sauer K.: *Plant Physiol.*, 51, 115-119, 1973
48. Meister A.: *Flora Abl. A.*, 158, 512-518, 1967
49. Melis A., Akoyunoglou G.: *Plant Physiol.*, 59, 1156-1160, 1977
50. Melis A., Homann P.H.: *Photochem. Photobiol.*, 23, 343-350, 1976
51. Miller K.R., Cushman R.A.: *Biochim. Biophys. Acta*, 546, 481-498, 1979
52. Mitrakos K.: *Physiol. Plant.*, 14, 497-503, 1961
53. Murata N., Nishimura M., Takamiya A.: *Biochim. Biophys. Acta*, 120, 23-33, 1966
54. Nakamura Y., Yamada M.: *Plant Sci. Lett.*, 14, 291-294, 1979
55. Oelze-Karow H., Butler W.L.: *Plant Physiol.*, 48, 621-625, 1971
56. Ogawa T., Shibata K.: *Physiol. Plant.*, 29, 112-117, 1973
57. Phung Nhu Hung S., Houliier B., Moyse A.: *C.R. Seance Acad. Sci. Ser. D.*, 279, 1669-1679, 1974
58. Plesničar M., Bendall D.S. (G.Forti, M.Avron, A.Melandri Eds.) *Proc. 2nd Intern. Congr. Photosynthesis*, Junk N.V. Publishers Hague, 2367-2374, 1971
59. Plesničar M., Bendall D.S.: *Biochem. J.*, 136, 803-812, 1973
60. Rémy R.: *FEBS Letters*, 31, 308-312, 1973
61. Remy R.: *Photochem. Photobiol.*, 18, 409-416, 1973
62. Roughan P.G., Boardman N.K.: *Plant Physiol.*, 50, 31-34, 1972
63. Rudoi A.B., Shlyk A.A., Vezitsky A.Y.: *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, 183, 215-218, 1968
64. Schmid G.H., Gaffron H.: *Progress in photosynthesis research* (H.Metzner Ed.) Tübingen, 2, 857-870, 1969
65. Shibata K.: *J. Biochem.* 44, 147-173, Tokyo, 1957
66. Sidell S.G., Ellis R.J.: *Biochem. J.*, 146, 675-685, 1975
67. Sironval C., Bronchart R., Michel J.M., Brouers M., Kuiper Y.: *Bull. Soc. Fr. Physiol. Vég.*, 14, 195-225, 1968
68. Sironval C., Brouers M., Michel J.M., Kuiper Y.: *Photosynthetica*, 4, 38-47, 1968
69. Smith J.H.C.: 29, 143-148, 1954
70. Strasser R.J., Butler W.L.: *Plant Physiol.*, 58, 371-376, 1976
71. Strasser R.J., Sironval C.: *FEBS Letters*, 28, 55-60, 1972
72. Thorne S.W.: *Biochim. Biophys. Acta*, 226, 113-127, 1971
73. Thorne S.W., Boardman N.K.: *Plant Physiol.*, 47, 252-261, 1971
74. Vernon L.P., Shaw E.R.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 36, 878-884, 1969
75. Virgin H.J., French C.S.: *Physiol. Plant.*, 28, 350-357, 1973
76. Voskresenskaya N.P.: *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 23, 219-234, 1972
77. Voskresenskaya N.P., Drozdova I.S., Krendeleva T.E.: *Plant Physiol.*, 59, 151-154, 1977

78. Whatley F.R., Gregory P., Haslett B.G., Bradbeer J.W.: Intern. Congr. Photosynthesis (G.Forti, M.Avron, A.Melandri Eds.) Proc. 2nd, Junk N.V. Publishers, Hague, 2375-2381, 1971
79. Wild A.: Progress in photosynthesis research (H. Metzner Ed.) 2, 871-876, Tübingen, 1969
80. Wild A., Egle K.: Pflanzen, 45, 213-241, 1968
81. Wild A., Egle K.: Photosynthetica, 2, 253-260, 1968
82. Więckowski S.: Photochem. Photobiol. 2, 199-205, 1963
83. Więckowski S.: Acta Soc. Bot. Pol. 35, 437-443, 1966
84. Więckowski S.: Photosynthetica, 5, 44-49, 1971
85. Więckowski S., Ficek S.: Bull. Acad. Polon. Sci. ser. biol., 23, 47-51, 1970
86. Wolff J.B., Fricke L.: Arch. Biochem. Biophys., 72, 293-301, 1957
87. Woo K.C., Anderson J.M., Boardman N.K., Downton W.J.S., Osmond C.B., Thorne S.W.: Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 67, 18-25, 1970

С. Венцковски

ПЕРВИЧНАЯ РЕАКЦИЯ ФОТОСИНТЕЗА И ТРАНСПОРТ ЭЛЕКТРОНОВ В РАЗВИВАЮЩИХСЯ ХЛОРОПЛАСТАХ

Р е з ю м е

В настоящей статье дается обзор литературы, посвященной некоторым проблемам, связанным с развитием фотосинтетического аппарата. Из представленных данных следует, что:

- 1) в процессе превращения протохлорофиллида в хлорофиллид а участвуют несколько промежуточных реакций, в том числе две фотохимического характера;
- 2) нет прямой зависимости между аккумуляцией хлорофилловых пигментов и изменением интенсивности фотосинтеза;
- 3) после освещения этиолированных растений активность фотосистемы I появляется раньше, чем фотосистемы II; правдоподобно, наиболее замедленным в развитии является система, разлагающая воду;
- 4) в начальном периоде аккумуляции хлорофилла эффективность передачи энергии электронного возбуждения из энергетических антенн в центры реакции постепенно увеличивается;
- 5) до сих пор отсутствуют такие экспериментальные данные, которые позволили бы разработать общую модель развития фотосинтетической единицы. Однако полученные результаты свидетельствуют о том, что у высших растений происходит постепенное увеличение фотосинтетических единиц, вызванное относительно более интенсивной аккумуляцией антенных пигментов, а у низших растений (*Euglena gracilis*,

Chlamydomonas reinhardtii Y-1) реорганизация в пределах тилакоидных мембран приведет к уменьшению числа молекул пигментов в каждой фотосинтетической единице.

S. Więckowski

PRIMARY PHOTOCHEMICAL REACTIONS AND ELECTRON TRANSPORT
IN DEVELOPING CHLOROPLASTS

S u m m a r y

The review of works on some aspects of the photosynthetic apparatus development is the subject of this article. The presented data indicate as follow:

1) transformation of protochlorophyllide into chlorophyllide *a* in vivo runs through some intermediate steps including two photochemical reactions,

2) there does not exist any simple correlation between the chlorophyll accumulation and changes in the photosynthetic rate,

3) the activity of photosystem I seems to appear earlier than the activity of photosystem II in etiolated leaves exposed to light,

4) the efficiency of energy migration from light-harvesting pigments into reaction centers increase at the early phase of chlorophyll accumulation,

5) insufficient experimental results do not allow for elaboration the general scheme of the photosynthetic unit development. It seems however that in higher plants photosynthetic units increase gradually due to the more intensive accumulation of antenna pigments, whereas in some algae *Euglena gracilis*, *Chlamydomonas reinhardtii* Y-1 diminishing of the size of photosynthetic units that occur at the earlier phase of greening seems to be connected with reorganization of pigment molecules within thylakoid membranes.