

KROTKÓTRWAŁE DZIAŁANIE ŚWIATŁA NA ZNAKOWANE ^{14}C PRODUKTY
FOTOSYNTEZY I WZMOŻONE CIEMNIOWE WIĄZANIE CO_2 U KUKURYDZY

Anna Frankiewicz-Józko

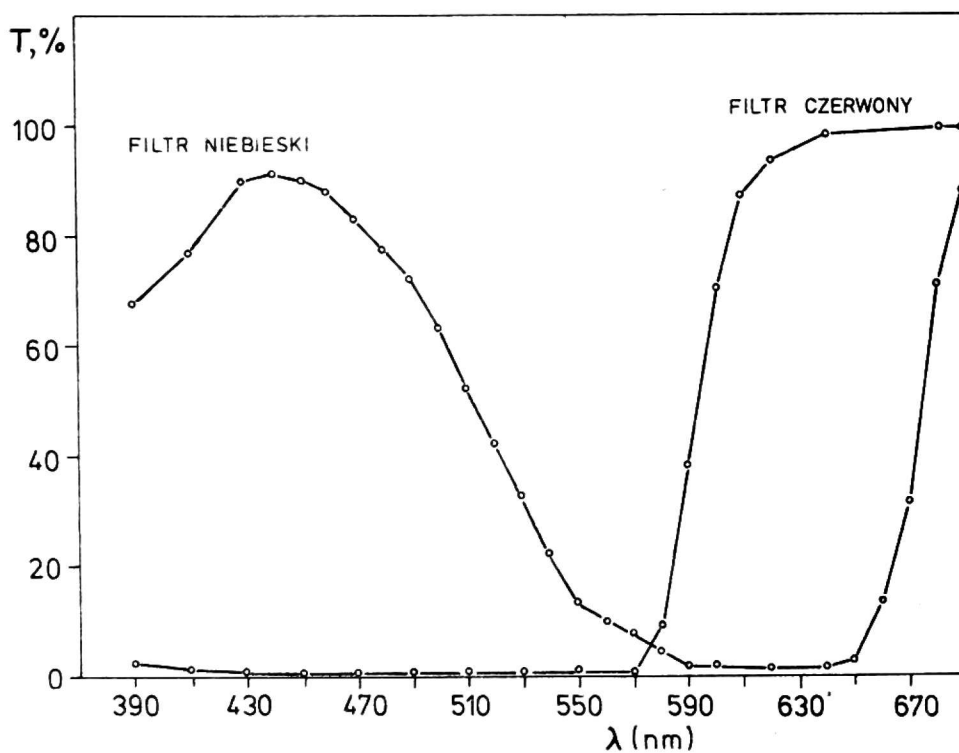
Zakład Metabolizmu Roślin, Instytut Botaniki, Uniwersytet
Warszawski, 00-478 Warszawa, Al. Ujazdowskie 4

U wielu roślin, w krótkim okresie ciemności, po wyłączeniu światła obserwuje się wiązanie dwutlenku węgla z natężeniem znacznie przewyższającym normalne wiązanie CO_2 w ciemności. Proces ten nazwano wzmożonym ciemniowym wiązaniem CO_2 (En_{CO_2}). Przegląd literatury dotyczący tego zjawiska opublikowano w 1974 r. [3]. Głównymi produktami wzmożonego ciemniowego wiązania CO_2 u roślin typu C_4 , stwierdzonymi przy zastosowaniu izotopu węgla ^{14}C , są czterowęgłowe kwasy dwukarboksylowe tj. szczawiooctan, jabłczan i asparaginian [1, 2, 5, 12, 13, 15]. Wzmożone ciemniowe wiązanie CO_2 jako proces zasadniczo ograniczony do karboksylacji fosfoenolopirogronianu wydał się dogodny do bezpośrednich badań nad wpływem barwy światła na „pierwsze” ciemne reakcje fotosyntezy u kukurydzy. Wcześniejsze badania [10] prowadzone przy zastosowaniu analizatora CO_2 w podczerwieni wykazały, że 3-minutowe oświetlenie roślin światłem krótkofalowym powoduje stymulację tego procesu.

MATERIAŁ I METODY

Materiałem doświadczalnym były 15-dniowe siewki kukurydzy Golden Bantam. Rośliny hodowano w kulturach glebowych w komorze wzrostowej o średniej temperaturze w dzień 30°C oraz w nocy 22°C . Długość dnia wynosiła 16 godzin. Natężenie światła w komorze wynosiło $0,6 \cdot 10^5 \text{ erg} \cdot \text{cm}^{-2} \text{ sek}^{-1}$. Analizę znakowanych ^{14}C produktów 2-minutowej fotosyntezy oraz wzmożonego ciemniowego wiązania CO_2 po 15, 30, 60, 90 i 120 sekundach trwania ciemności, dokonano za pomocą techniki izotopowej. Stosowano metody kolumnowej chromato-

grafii jonowymiennej, dwukierunkowej chromatografii bibułowej i autoradiografii. Radioaktywność oznaczano za pomocą licznika scyntylicyjnego. Po zaciemnieniu stosowano światło o tym samym natężeniu dla wszystkich filtrów $0,72 \cdot 10^{-5} \text{ erg} \cdot \text{cm}^{-2} \text{ sek}^{-1}$. Zmianą długości fali światła uzyskiwano stosując barwne filtry z pleksi-glasu. Charakterystykę filtrów przedstawiono na rysunku 1. Liście oświetlano światłem różnej barwy (białą, czerwoną i niebieską) o jednakowym natężeniu przez 10 minut.

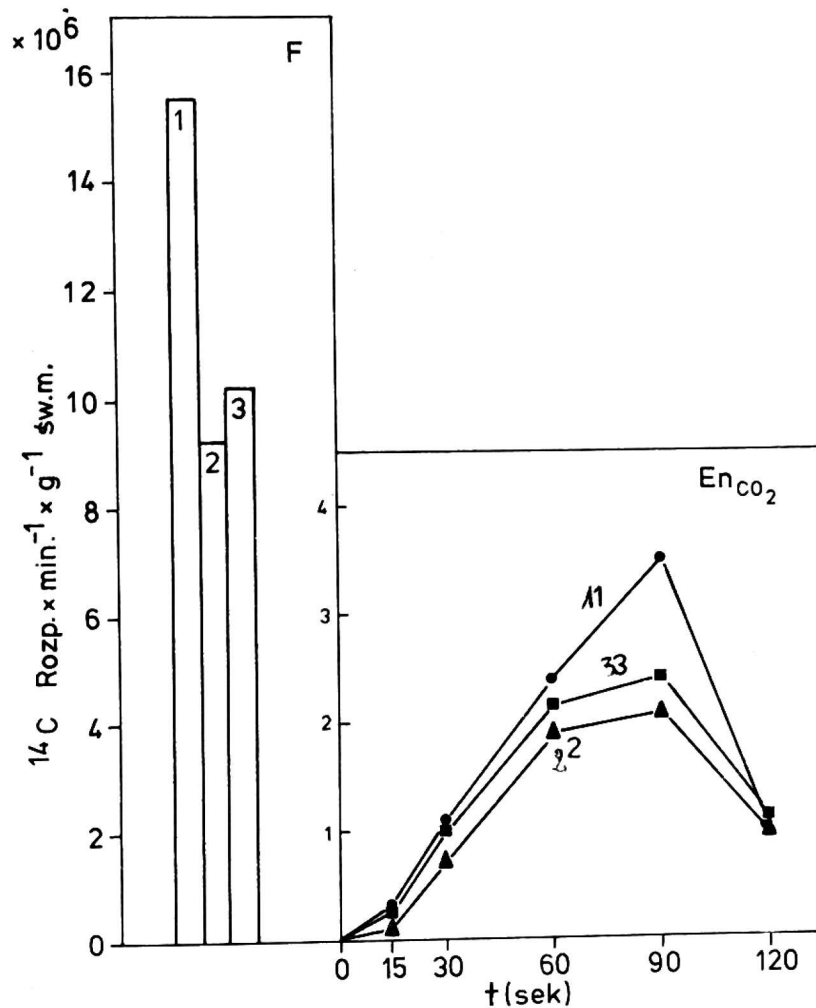


Rys. 1. Charakterystyka filtrów

WYNIKI I DISKUSJA

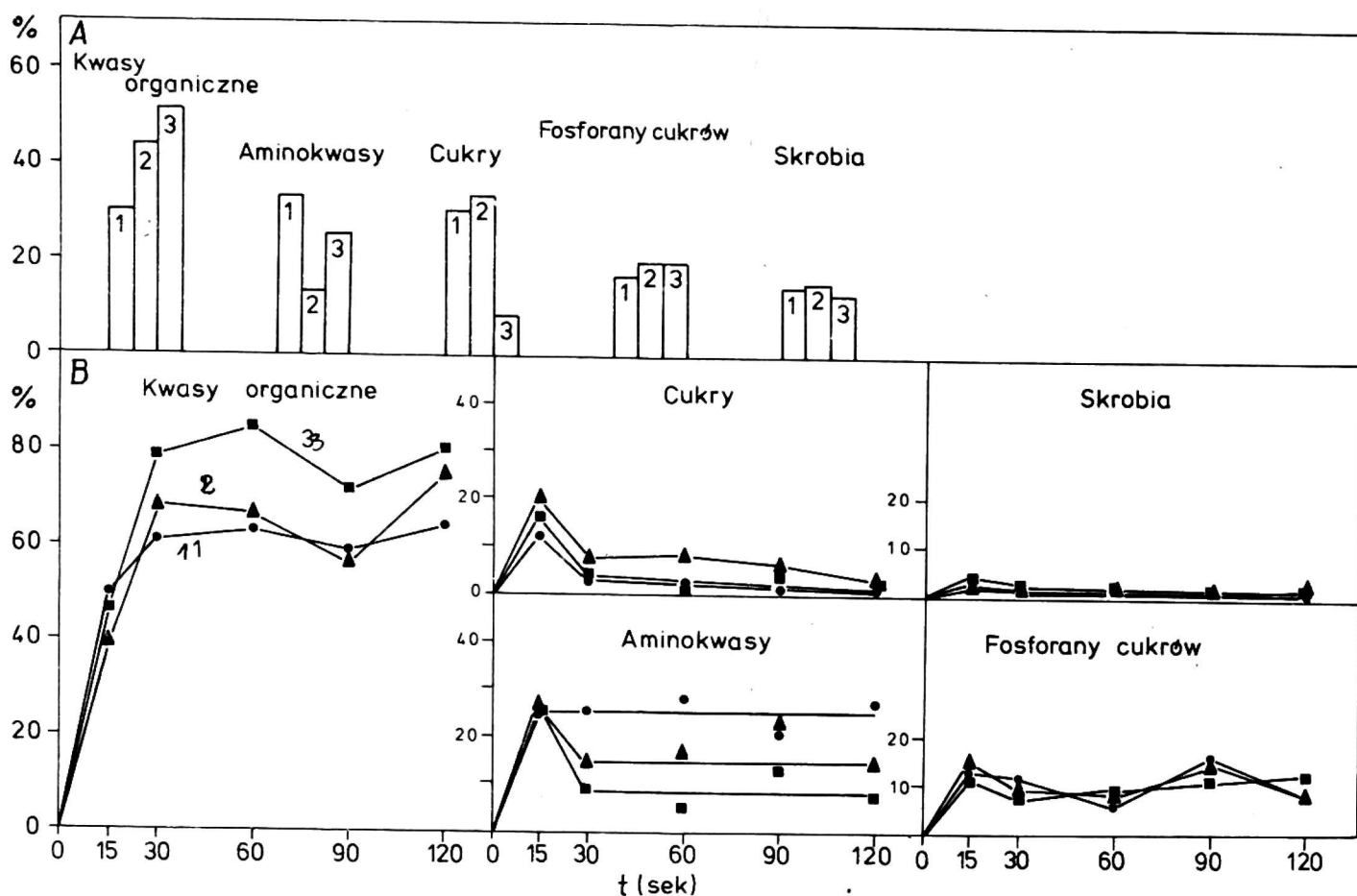
Na rysunku 2 przedstawiono kinetykę wiązania $^{14}\text{CO}_2$ podczas fotosyntezy (F) oraz wzmożone ciemniowe wiązanie CO_2 (En_{CO_2}) w zależności od barwy stosowanego światła. Wpływ barwy światła na natężenie fotosyntezy i En_{CO_2} był podobny. Najbardziej efektywne okazało się światło białe, następnie niebieskie, a najmniej światło czerwone. Natężenie wiązania CO_2 wzrastało do 90 sekund trwania ciemności, a po 2 minutach od wyłączenia światła było wyraźnie hamowane. Stosunek natężenia $F/\text{En}_{\text{CO}_2}$ był natomiast najmniej dla światła niebieskiego. Dane te świadczą o ścisłej zależności En_{CO_2} od F; aby uzyskać ten sam poziom wiązania CO_2 w ciemności

ci po świetle niebieskim co po czerwonym potrzebne było znacznie mniejsze natężenie fotosyntezy.



Rys. 2. Natężenie wiązania $^{14}\text{CO}_2$ podczas fotosyntezy (F) oraz wzmożonego ciemnego wiązania CO_2 (En_{CO_2}) w zależności od barwy stosowanego światła; 1 - światło białe, 2 - czerwone, 3 - niebieskie

Na rysunku 3 przedstawiono procentowy rozdział piętna radioaktywności pomiędzy poszczególne frakcje związków tworzonych podczas F i En_{CO_2} w świetle różnej barwy. Podczas fotosyntezy światło niebieskie powodowało stymulację włączania radioaktywności do kwasów organicznych i aminokwasów. Światło czerwone, bardziej długofalowe wyraźnie stymulowało włączanie ^{14}C do frakcji cukrów, w tym głównie do sacharozy. Barwa światła miała niewielki wpływ na tworzenie fosforanów cukrów i skrobi. Podobne zależności stwierdzono podczas En_{CO_2} . W przypadku aminokwasów, ich procentowy udział po ponad 15 sekundach trwania ciemności był najniższy po świetle niebieskim.



Rys. 3A,B. Procentowy rozdział radioaktywności pomiędzy poszczególne frakcje związków tworzonych podczas fotosyntezy (A) i wzmożonego ciemniowego wiązania CO_2 (B) w świetle różnej jakości (w stosunku do ogólnej ilości włączonego ^{14}C); oznaczenia jak do rysunku 2

T a b e l a 1

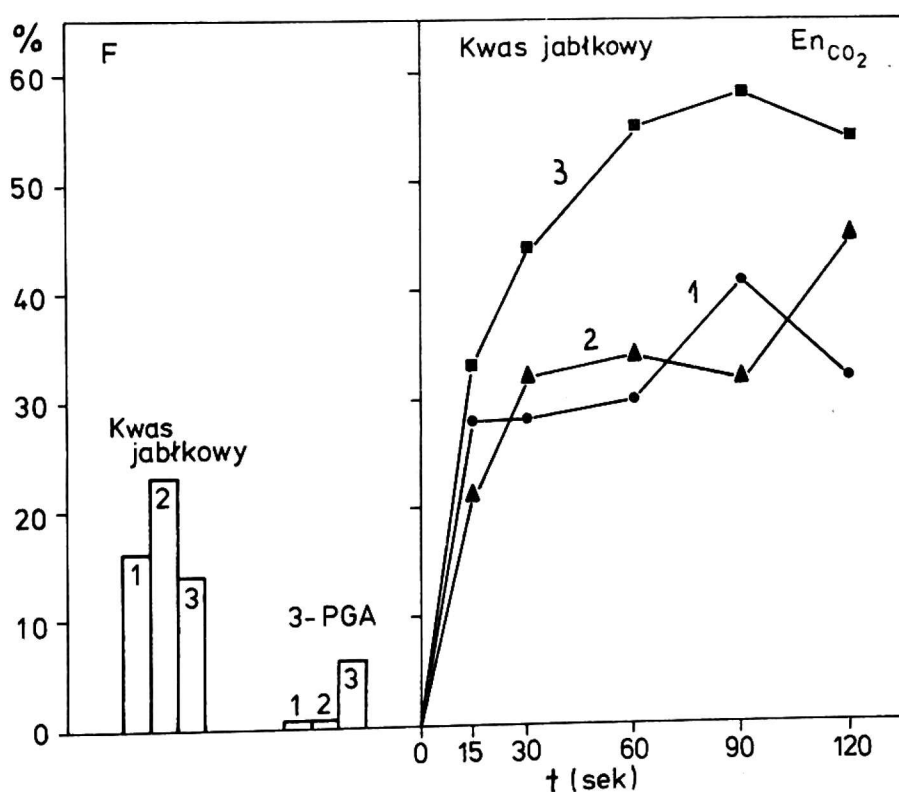
Wpływ barwy światła na natężenie fotosyntezy oraz wzmożone ciemniowe wiązanie CO_2 , wyrażony w stosunku włączania piętna radioaktywności do wczesnych* i pozostałych produktów

Barwa światła	Fotosynteza	Wzmożone ciemniowe wiązania CO_2 (sek)				
		15	30	60	90	120
Białe	0,64	1,71	3,90	7,52	2,52	5,38
Czerwone	0,48	1,05	2,40	2,79	2,70	4,57
Niebieskie	0,61	1,70	4,38	5,22	4,24	3,91

*Wczesne produkty: jabłczan, asparaginian; alanina (czterowęglowe kwasy dwukarboksylowe i aminokwas).

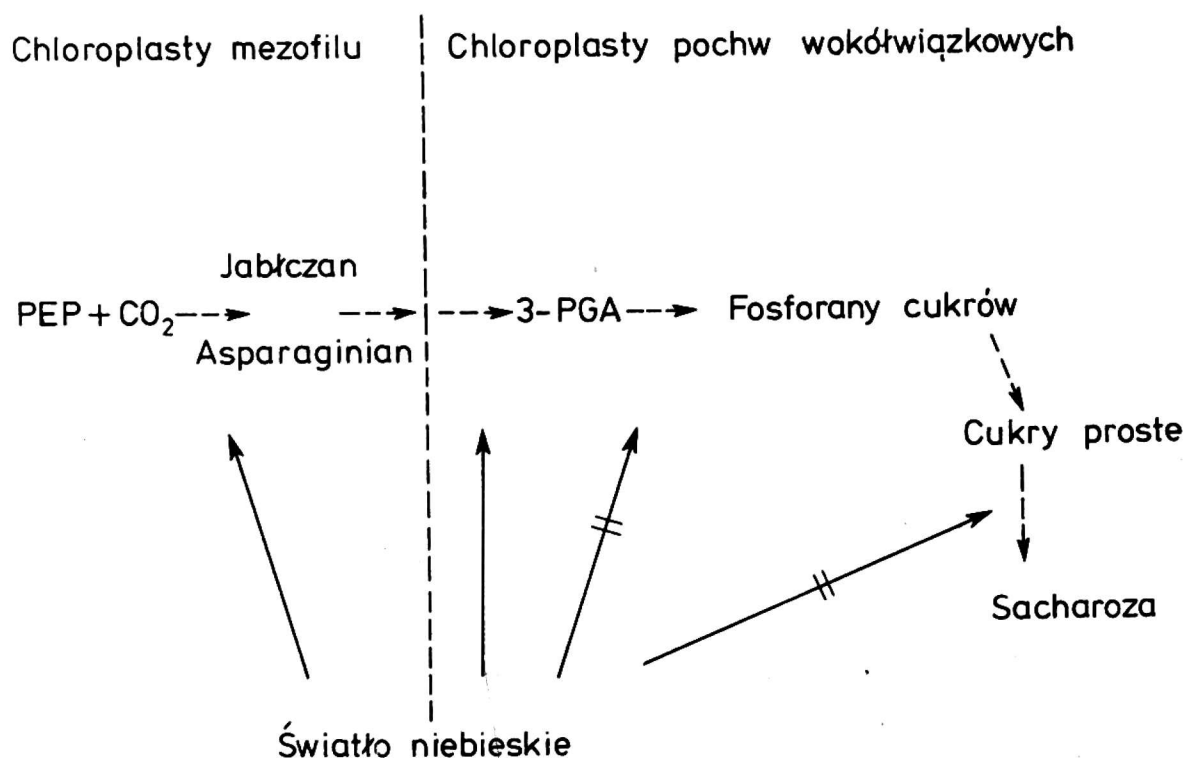
W tabeli 1 przedstawiono wartości stosunku radioaktywności włączonej do wczesnych i pozostałych produktów tworzonych podczas fotosyntezy i wzmożonego ciemniowego wiązania CO_2 w świetle różnej barwy. Stosunek radioaktywności włączonej do wczesnych (tj. jabłczanu, asparaginianu i alaniny) i pozostałych produktów fotosyntezy był wyraźnie wyższy podczas En_{CO_2} oraz po świetle niebieskim, w porównaniu z danymi uzyskanymi dla światła czerwonego.

A zatem światło krótkofalowe stymulowało włączanie radioaktywności do wczesnych produktów fotosyntezy. Proces wzmożonego ciemniowego wiązania CO_2 był w dużym stopniu ograniczony do reakcji prowadzących do tworzenia jabłczanu i asparaginianu, a także fosforanów cukrów, których procentowy udział w puli ogólnie włączonego ^{14}C był znaczny przez cały okres trwania ciemności i niewiele niższy od stwierdzonego dla fotosyntezy. Tworzenie cukrów oraz skrobi było natomiast silnie ograniczone, ale ich obecność była stwierdzona wbrew doniesieniom wymienionych wcześniej autorów.



Rys. 4. Procentowy udział radioaktywności włączonej do kwasu jabłkowego i 3-PGA tworzonych podczas fotosyntezy (F) i wzmożonego ciemniowego wiązania CO_2 (En_{CO_2}) w świetle różnej jakości (w stosunku do ogólnej ilości włączonego ^{14}C) oznaczenia jak do rys. 2

Na rysunku 4 przedstawiono procentowy udział radioaktywności włączonej do kwasu jabłkowego i 3-PGA tworzonych podczas fotosyntezy i wzmożonego ciemniowego wiązania CO_2 w świetle różnej jakości. Światło niebieskie podczas fotosyntezy powodowało najniższe włączanie radioaktywności do kwasu jabłkowego, a najwyższe do kwasu 3-fosfoglicerynowego. W ciemności natomiast, po świetle krótkofalowym obserwowano wyraźną stymulację włączania radioaktywności do jabłczanu. Spadek radioaktywności w jabłczanie podczas fotosyntezy mógł, jak się wydaje, wynikać z różnej szybkości przemian tego związku w świetle krótkofalowym w stosunku do światła czerwonego. Stosunek radioaktywności 3-PGA /jabłczan + asparaginian był najwyższy w świetle niebieskim, co może świadczyć o tym, że przemiana jabł.+ aspar. \rightarrow 3-PGA jest najszybsza. Jednocześnie tworzenie kwasu asparaginowego w stosunku do jabłczanu, a także włączanie radioaktywności do intermediatów procesów oddechowych (tj. seryny, glicyny, cytrynianu i α -ketoglutaranu) było wzmagane w świetle niebieskim. W ciemności natomiast, gdzie tworzenie asparaginianu było ograniczone, a dalsze przemiany jabłczanu częściowo zahamowane, przejawiał się wyraźny, następczy, stymulujący wpływ krótkofalowej radiacji na włączanie ^{14}C do kwasu jabłkowego.



Stosunek piętna radioaktywności 3-PGA/fosforany cukrów był najwyższy w świetle niebieskim. Fakt ten może świadczyć o tym, że

szybkość przemiany 3-PGA \rightarrow fosforany cukrów jest najmniejsza w świetle krótkofalowym. Stosunek sacharoza/cukry proste był natomiast wyraźnie niższy w świetle niebieskim, co z kolei świadczy o hamowaniu przemiany cukry proste \rightarrow sacharoza.

Na podstawie uzyskanych danych i zgodnie z zamieszczonym schematem wnioskuje się, że krótkotrwałe działanie jakości światła na liście ma duży wpływ na drogę węgla w fotosyntezie u kukurydzy. Światło niebieskie stymuluje włączanie radioaktywności do wczesnych produktów fotosyntezy tj. jabłczanu i asparaginianu [12]. Być może jest to związane z aktywacją w świetle krótkofalowym enzymu karboksylazy PEP, zgodnie z innymi doniesieniami Miyachi [7, 8], a także z naszymi wcześniejszymi sugestiami [10]. W ostatnim doniesieniu Miyachi i wsp. [9] skłaniają się do twierdzenia, że światło niebieskie wykazuje podwójny efekt - aktywuje enzym oraz indukuje jego syntezę. Maleszewski i Lewanty [6] sugerują, że światło niebieskie u kukurydzy może zwiększać reakcje prowadzące do akumulacji akceptora CO_2 . Światło niebieskie stymulowało także przeniesienie radioaktywności z czterowęglowych kwasów dwukarbonylowych do 3-PGA. Może to być związane z aktywacją karboksylazy RuDP zgodnie z doniesieniami [16, 17], a także ze stymulującym wpływem krótkofalowej radiacji na przepuszczalność membran [4], co mogłoby powodować szybszy transport metabolitów między chloroplastami mezofilu i pochw wokółzwiązkowych. Światło niebieskie wyraźnie hamowało w stosunku do czerwonego przeniesienie piętna radioaktywności z 3-PGA do fosforanów cukrów, a także przemianę cukry proste \rightarrow sacharoza. Być może fakt ten jest związany z wpływem barwy światła na ilość fotoproduktów tworzonych w fazie świetlnej fotosyntezy. Zgodnie z Schürmanem i wsp. [14] stosunek $\text{ATP}/\text{NADPH}_2$ ma bowiem decydujące znaczenie dla przemiany 3-PGA \rightarrow cukry.

WNIOSKI

Najbardziej efektywne dla fotosyntezy w odciętych liściach kukurydzy okazało się światło białe, następnie niebieskie a najmniej czerwone. Stosunek natężenia $F/\text{En}_{\text{CO}_2}$ był najniższy dla światła niebieskiego. Światło niebieskie, w stosunku do czerwonego powodowało stymulację włączania piętna radioaktywności do kwasów organicznych i aminokwasów. Czerwone, bardziej długofalowe światło

wyraźnie stymulowało włączanie ^{14}C do frakcji cukrów, w tym głównie do sacharozy. Stosunek radioaktywności włączonej do wczesnych i pozostałych produktów fotosyntezy był wyraźnie wyższy podczas En_{CO_2} oraz po świetle krótkofalowym. Światło niebieskie powodowało najniższe włączanie radioaktywności do kwasu jabłkowego a najwyższe do 3-PGA. W ciemności natomiast, po świetle niebieskim obserwowano wyraźną stymulację włączania piętna radioaktywności do jabłczanu. Stosunek 3-PGA/jabłczan + asparaginian a także tworzenie asparaginianu w stosunku do jabłczanu oraz włączanie radioaktywności do intermedatów procesów oddechowych było wzmożone w świetle niebieskim. Stosunek 3-PGA/fos. cukrów był najwyższy, natomiast sacharoza/cukry proste wyraźnie niższy w świetle krótkofalowym.

Na podstawie uzyskanych danych wnioskuje się, że krótkotrwałe oświetlenie liści światłem niebieskim powoduje stymulację włączania radioaktywności do wczesnych produktów fotosyntezy (tj. jabłczanu i asparaginianu) oraz przeniesienie radioaktywności u czterowęglowych kwasów dwukarboksyłowych do 3-PGA. Światło krótkofalowe hamuje przeniesienie radioaktywności z 3-PGA do fosforanów cukrów oraz przemianę cukry proste \rightarrow sacharoza.

Mechanizm krótkotrwałego działania światła niebieskiego na drogę węgla w fotosyntezie u kukurydzy jest bardzo złożony i może wpłynąć na bezpośrednią aktywację karboksylazy PEP i RuDP, na przepuszczalność błon chloroplastów, a także na ilość tworzonych fotoproduktów w fazie świetlnej fotosyntezy, a co za tym idzie na wartość stosunku $\text{ATP}/\text{NADPH}_2$.

LITERATURA

1. Baldry C.W., Bucke C., Coombe J., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 37, 828-832, 1960
2. Creach E., *Plant Physiol.*, 63, 788-791, 1979
3. Frankiewicz-Józko A.: *Wiad. Bot.*, 18, 111-117, 1974
4. Hartmann E.: *Physiol. Plant.*, 33, 266-275, 1975
5. Kortschek H.P., Hartt C.E., Burr G.O.: *Plant Physiol.*, 40, 209-213, 1965
6. Maleszewski S., Lewanty Z.: *Z. Pflanzenphysiol.*, 74, 81-84, 1974
7. Miyachi S.: *Proc. 11th Bot. Congr., Seattle, Wash*, 149, 1969
8. Miyachi S., Hogetsu D., *Can. J. Bot.*, 48, 1203-1207, 1970
9. Miyachi S., Miyachi S., Kamiya A.: *Plant Cell Physiol.*, 19, 277-288, 1978

10. Poskuta J., Frankiewicz-Józko A.: Environmental and Biological Control of Photosynthesis (R. Marcelle, Ed.), Belgium 89-105, 1975
11. Raghavendra A.S., Das V.S.R., Aust. J. Plant Physiol., 4, 833-841, 1977
12. Raghavendra A.S., Das V.S.R.: J. Exp. Botany., 28, 1169-1179, 1977
13. Samejima M., Miyachi S.: Photosynthesis and Photorespiration, (M.D. Hatch et. al. Eds.), 211-217, 1971
14. Schürman P., Buchanan B.B., Arnon J.: Biochim. Biophys. Acta, 267, 111-124, 1971
15. Stamieszkin I., Maleszewski S., Poskuta J.: Z. Pflanzenphysiol., 67, 180-182, 1972
16. Wildner G.B., Zilg H., Criddle S., 2nd Intern. Congr. on Photosynthesis, Stresa, 1825-1830, 1971
17. Woskreszeńska N.P., Pojarkowa N.M., Drozdowa J.S.: Fiz. Rast., 18, 683-689, 1971

А. Франкевич-Юзко

КРАТКОВРЕМЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ СВЕТА НА МЕЧЕННЫЕ
УГЛЕРОДОМ-14 ПРОДУКТЫ ФОТОСИНТЕЗА И УСИЛЕННОЙ ТЕМНОВОЙ
ФИКСАЦИИ CO_2 У КУКУРУЗЫ

Р е з ю м е

Исследовано действие белого, синего и красного света одинаковой интенсивности ($0,72 \cdot 10^5$ эргов $\cdot \text{см}^{-2} \cdot \text{сек.}^{-1}$) на меченные ^{14}C продукты фотосинтеза (F) и усиленной темновой фиксации $^{14}\text{CO}_2$ (EnCO_2) у листьев кукурузы. Показано что для фиксации CO_2 в (F) и (EnCO_2) наиболее эффективный оказался белый, потом синий и красный свет. Отношение F/EnCO_2 было самое низкое для синего света. Синий свет по сравнению с красным стимулировал включение метки в органические кислоты и аминокислоты. Красный свет стимулировал включение ^{14}C в сахара, главным образом в сахарозу. Отношение включенного ^{14}C в первичные и остальные продукты фотосинтеза было значительно выше для EnCO_2 а также после освещения синим светом. Синий свет оказался наиболее эффективным для инкорпорации ^{14}C в 3-ФГК в (F) и для малата в EnCO_2 . В синем свете отношение 3-ФГК/малат + аспартат и образование аспартата по сравнению с малатом, а также включение ^{14}C в интермедиаты цикла Кребса было усиленное. В синем свете отношение 3-ФГК/фосфолированные сахара было выше, но отношение

сахароза / простые сахара было самое низкое. Заключается что синий свет стимулирует включение ^{14}C в ранние продукты фотосинтеза (малат и аспартат) а также перенос ^{14}C с этих кислот на 3-ФГК, но тормозит перенос ^{14}C с 3-ФГК на фосфолированные сахара и превращение простых сахаров в сахарозу. Обсуждается возможный механизм действия коротковолного света на путь углерода в фотосинтезе у кукурузы.

A. Frankiewicz-JóŹko

SHORT-TIME EFFECT OF LIGHT ON THE ^{14}C -LABELLED PRODUCTS OF PHOTOSYNTHESIS AND ENHANCED DARK CO_2 FIXATION IN MAIZE LEAVES

S u m m a r y

Short-time effect of light of different colors on the ^{14}C -labelled products of photosynthesis (F) and enhanced dark CO_2 fixation (En_{CO_2}) of detached leaves of maize has been investigated. The light intensity for all filters was $0,72 \cdot 10^5 \text{ ergs} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. To modify the light wavelengths the red and blue plexiglass filters were used. It has been shown that the white light was the most effective for photosynthesis compared to blue and red. The $\text{F}/\text{En}_{\text{CO}_2}$ ratio was smallest in blue light. The blue light stimulated the ^{14}C -incorporation into organic acids and amino acids, while the red light stimulated accumulation of fixed carbon to sugars, mainly to sucrose. The ratio of radioactivity incorporated into primary versus other photosynthetic products was highest in En_{CO_2} and also after preillumination by blue light. The blue light caused the lower ^{14}C -incorporation into malate and stimulation of ^{14}C -incorporation to 3-PGA. In darkness, in turn, after preillumination by blue light incorporation of radioactivity into malate was stimulated. The ratio of 3-PGA/malate + aspartate and the formation of aspartate malate and ^{14}C -incorporation to the intermediates of Krebs cycle was enhanced by blue light. In blue light photosynthesis the ratio of 3-PGA/sugars phosphates was highest but the ratio sucrose/monosugars was considerable lower.

The results indicate that the short-time illumination of leaves by blue light stimulated the ^{14}C -incorporation into primary

products of photosynthesis (malate and aspartate) and the transfer of radioactivity from C₄-dicarboxylic acids to 3-PGA. On the other hand, the blue light inhibited the transfer of radioactivity from 3-PGA to the sugar phosphates and the transformation of monosugars to sucrose. The possible mechanism of the action of blue light (short wavelengths) on the path of carbon in photosynthesis of maize is discussed.