

Univerzitet Crne Gore

Prirodno – matematički fakultet, smjer – biologija

Seminarski rad

Destruktivno dejstvo svjetlosti na biljke

Predmet: Ekofiziologija biljaka

Mentor: dr Danka Cakovic
8/20

Student: Jelena Tomovic

27. Mart 2021.

Sadržaj:

1) Uvod.....	3
2) Primjer broj 1. Enhanced biosynthesis of quercetin occurs as A photoprotective measure in <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. under Acute UV-B exposure (Abhilasha Shourie*,Pushpa Tomar; Deepika Srivastava; Rahul Chauhan)	5
1) Uvod.....	5
2) Materijali i metode.....	6
3) Rezultati i diskusija.....	7
4) Zaključak.....	8
3) Primjer broj 2. Učinak visokog inteziteta svjetlosti na okruglolisnu rosiku (<i>Drosera rotundifolia</i> L.) Martina Mužic.....	9
1) Uvod.....	9
2) Materijali i metode.....	9
3) Rezultati.....	10
4) Rasprava.....	12
5) Zaključak.....	13

Uvod:

Iako je Sunčeva svjetlost izvor života, ona u određenim okolnostima, kao što su prekomjerna insolacija ili velika izloženost kratkotalasnim, UV zracima može destruktivno djelovati na biljke.

Generalno, biljke su sastavom i kvantitetom pigmenata u svom fotosintetičkom aparatu, dobro prilagođene onoj svjetlosti koja ih obasjava na datom staništu. Ukoliko se svjetlost pristigla do biljke poveća, biljke svjetlosti su u stanju da se u određenom opsegu, karakterističnom za datu vrstu, prilagode ovakvoj promjeni. Ove biljke u tom slučaju povećavaju količinu svojih zaštitnih pigmenata (karotena i ksantofila, a najviše luteina i violaksantina) kao i aktivnost oksidoredukujućih enzima (superoksiddizmutaze, peroksidaze i katalaze), koji sprečavaju štetno dejstvo slobodnih radikala. . Rasipanje viška energije putem fluorescencije i fosforescencije predstavlja jedan od najvažnijih sistema zaštite. Oštećenja od zračenja kod biljaka svjetlosti se javljaju najčešće ukoliko su izložene i nekom drugom nepovoljnom faktoru (suše, niska temperature, nizak nivo mineralnih materija itd.). Zatim ukoliko se i jave oštećenja od zračenja, one imaju sposobnost brze resinteze razgradjenih pigmenata.

Efikasnu zaštitu od pretjeranog zračenja predstavljaju i:

- Okomitim položajem listova
- Uvijanjem ili savijanjem listova jednih uz druge
- Promjenom položaja hloroplasta
- Dlakavi pokrivač, voštane prevlake i kristali soli na listovima
- Zadebljali zidovi ćelija epidermisa

Biljke sa ovakvim karakteristikama se nazivaju **fotostabilnim**.

Nasuprot njima kod **fotolabilnih biljaka** u slučaju pretjerane insolacije dolazi do fotoinhibitornih reakcija razaranja fotosintetičkih pigmenata kao i oštećenje tilakoidnih membrane. Zbog toga, fotosintetički kapacitet biljke slabi, a na površini listova se pojavljuju požutjela ili izbledjela polja, i dolazi do propadanja biljke. Primjer: Ukoliko se sječom stabala biljke iz unutrašnjosti šume izlože direktnoj svjetlosti, ovo za njih predstavlja “svjetlosni šok”.

Ultraljubičasto (UV) zračenje

Kao što je već napomenuto i ultraljubičasto zračenje ima negativan uticaj na biljke.

UV zraci se prema talasnim dužinama i energetske karakteristike dijele na:

- 1) Ultraljubičasti – C zraci, najkraćih talasnih dužina od 200-280 nm
- 2) Ultraljubičasti – B zraci, od 280-320 nm i
- 3) Ultraljubičasti – A zraci, od 320-400 nm

Zahvaljujući ozonskom omotaču, do Zemlje stiže svega 7% UV zraka. UV-C zraci bivaju u potpunosti apsorbovani kao i veliki dio UV-B zraka. Dakle ozon propusta zrake talasnih dužina od oko 295-400 nm, tj. UV-A i mali dio UV-B zraka.

Dejstvo ultraljubičastog zračenja je najintenzivnije u tropima i na većim nadmorskim visinama, zbog upadnog ugla svjetlosti kao i debljine atmosfere kroz koju zraci prolaze. Upravo na ovim mjestima i pod dejstvom UV zraka, formira se ozon koji se vrlo brzo širi i na većim geografskim širinama.

Što se tiče negativnog dejstva na biljke, UV-A zraci uzrokuju fotooksidaciju nukleinskih kiselina, prije svega DNK, dok kraći UV-B zraci izazivaju direktna oštećenja biomembrana. Oštećenja DNK molekula dalje dovode do grešaka u transkripciji gena i pojave mutacija usled čega se remeti dioba ćelija, redukuje se fotosinteza, mijenja se aktivnost enzima. Na posletku razvoj cvjetova je smanjen, redukuje se rast i izduživanje polenovih cijevi, javlja se prerano opadanje listova. Imajući ovo u vidu, jasno je da ozonske rupe predstavljaju jedan od bitnijih globalnih problema.

Više biljke su veoma dobro zaštićene od UV zračenja i to sledećim karakteristikama:

- 1) Epikutikularnim smolama i voskom
- 2) Epidermalnim tkivom koje apsorbuje ili reflektuje UV zračenje

Apsorpcija UV zračenja epidermisom pripisuje se fenolnim jedinjenjima prije svega flavonoidima (flavonima, flavonolima i antocijanidima) koji se mogu naci u vakuolama, ćelijskim zidovima a često i u dlakama koje prekrivaju listove. Epidermis četinara propusta svega 4% pristiglog zračenja, dok epidermis listopadnog drveća propusta i do 28% UV zraka.

Već je napomenuto da je UV zračenje izraženije u tropima i na većim nadmorskim visinama tako da je razumljivo zasto se kod biljaka u ovim oblastima nalazi veci sadržaj flavonoida, deblji kutikularni slojevi, višeslojniji mezofil i okomit položaj listova.

Sto se tiče nizih biljaka one nemaju dobre mehanizme zastite jer ne posjeduju zastitne molekule koje bi mogle apsorbovati UV zrake, i pod njihovim prejakim dejstvom obicno ugibaju. Medjutim ako zracenje nije prejako ili ako traje krace vrijeme, nize biljke imaju efikasne mehanizme za reparaciju oštećenih molekula.

Primjer br. 1:

Enhanced biosynthesis of quercetin occurs as A photoprotective measure in *Lycopersicon esculentum* Mill. under Acute UV-B exposure (Abhilasha Shourie*; Pushpa Tomar; Deepika Srivastava; Rahul Chauhan)

Uvod

UV-B (280-320nm) radijacija iako predstavlja samo 1,5 % totalnog spektra sunčeve svjetlosti koja dopijeva do Zemlje, izaziva različita oštećenja na biljkama. Izloženost ovim zracima dovodi do morfoloških, fizioloških i molekularnih reakcija biljaka kao što je poremećena morfologija listova, pojačana fotosinteza i transpiracija, oštećenja DNK molekula a biljka postaje i podložnija bolestima. Što se tiče sposobnosti biljke da odgovori na ovakav stres ona se sastoji u sintezi i akumulaciji komponenti koje apsorbuju UV-B zrake. UV-B zraci oštećuju PS II i na taj način ometaju transport duž elektrotransportnog lanca. Ovakva oštećenja su spriječena nekim pomoćnim pigmentima kao što su karotenoidi, antocijanini i ksantofili. Također izloženost UV-B zracima dovodi do formiranja sekundarnih metabolite fenola, antocijanina i drugih flavonoida koji pomazu da se biljka aklimatizuje. Flavonoidi učestvuju u eliminaciji slobodnih radikala. U uslovima stresa, fotosintetički procesi se smanjuju a količina flavonoida se povećava.. Dakle, pigmenti i antioksidansi predstavljaju najbitniju liniju odbrane za biljke.

Flavonol kvercetin je izuzetan čistač reaktivnih oblika kiseonika zahvaljujući svojim hidroksilnim grupama i duplim vezama. UV energija apsorbovana od strane kvercetina se rasipa u vidu toplote.

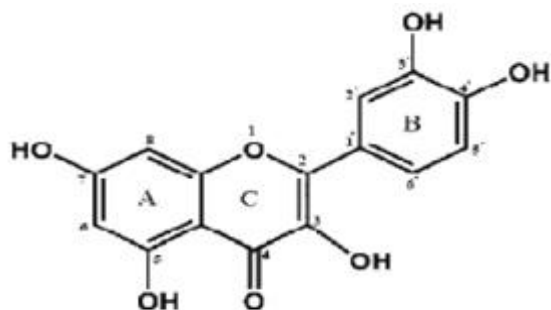


Figure 1 - Structure of Quercetin.

Slika br. 1

Cilj ovog rada je da prouči uticaj stresa uzrokovanog UV-B zracima na biosintezu flavonoida kvercetina, biljnih pigmenta i drugih polifenola kao i da dokaže njihovu fotoprotektivnu ulogu u biljci *Lycopersicon esculentum* pri privremenom izlaganju UV-B zracima.

Materijali i metode

Sjemeni *Lycopersicon esculentum* Mill su sakupljeni u National Seed Center u Nju Delhiju. Proključala su u tačnama sa vlažnim filter papirima. Petog dana, jednako razvijena sjemeni su prebačena i posadjena u staklenu baštu sa kontrolisanim okruženjem (25°C i vlažnošću od

78%). Dvadeset jedan dan stare jedinke su izložene UV zračenju koristeći UV lampe (302nm, 20 Wati). Biljke su postavljene na oko 30 cm razdaljine od lampi. Sto se tiče broja jedinki, bile su rasporedjene u četiri serije a svaka je imala po 50 biljaka. Jedna serija nije bila izlagana zračenju i ostavljena je kao kontrola, dok su ostale tri svaki dan , 28dana, bile izlagane UV-B zračenju u trajanju od 20, 40 i 60min. Sve biohemijske analize su odradjene na tkivu biljke nakon 28 dana ovakvog tretmana.

Determinacija fotosintetičkih pigmenata

Analiza hlorofila a, hlorofila b i ukupnih hlorofila je uradjena po metodi Arnona. Hlorofil iz 1 grama tkiva svježeg lista je estrahovan u 80% acetonu a apsorpciona moć za svjetlost od 663 i 645nm je izmjerena spektrofotometrom. Koncentracija hlorofila a, hlorofila b i ukupnih hlorofila je zatim izračunata koristeći sledeće jednačine:

- 1) Chl-a = $12,72 (A_{663}) - 2,69 (A_{645})$
- 2) Chl-b = $22,9 (A_{645}) - 4,68 (A_{663})$
- 3) Total Chl = $20,2 (A_{645}) + 8,02 (A_{663})$

Determinacija karotenoida

Karotenoidi su determinisani prema metodi Britonn-a. Osušeno tkivo lista je homogenizovano sa etanolom. KOH i jedinjenje je ostavljeno u mraku 2 sata. Zatim , apsorpciona moć je odredjivana spektrofotometrom na osvjetljenju dužine 436 nm. Ukupna količina karotenoida je izračunata uz pomoć jednačine:

- 1) Total carotenoid = $((A_{436}/0,25) \text{ volumena ekstrakta/prvobitna težina uzorka})$

Determinacija antocijanina

Antocijanini su ekstrahovani tako sto je 1 g suvog biljnog tkiva pomiješan sa metanolom i ozračen dva sata. Nakon centrifugiranja jedinjenje je ostavljeno da ispari na 40 a zatim je pomiješano opet sa metanolom. Totalni antocijanini su izmjereni korišćenjem pH diferencijalnog metoda. 1 mililitar ovakvog rastvora je razblažen do pH 1.0 i 4,5. Zatim je u ovim rastvorima takodje uz pomoć spektrofotometra izmjerena apsorpciona moć na 700 i 510 nm. Količina antocijanini je konačno izračunata pomoću formule:

$$\% w/w = (A/EI) \times MW \times DF \times (V/Wt) \times 100\%$$

A – apsorpciona moć

e - koeficijent ekstinkcije (26, 900 M⁻¹ cm⁻¹ za cijanid 3 glicin)

MW – molekularna težina (449,2 g/mol za cijanid 3 glicin)

DF - faktor dilucije (25ml)

V – finalni volume (50ml)

Wt – težina uzorka (1g)Determinacija ukupnih flavonoida

Ukupni flavonoidi u nadzemnim djelovima biljke su određeni aluminijum hlorid kolometrijskom metodom. Flavonoidi su ekstrahovani u zakiseljenom metanolu i ostavljeni da odstoje 24 sata na 4°C. Zatim su dodati methanol, aluminium hlorid, acetat i defilovana voda i apsorpciona moć za svjetlost od 415 nanometara izmjerena je spektrofotometrom a zastim je količina flavonoida oredjena prema standardnoj tabeli.

Determinacija kvercetina

Determinacija quercetina je uradjena uz pomoć RP-HPLC metode. Uzorak biljke je estrahovan u 80% etil alkoholu i rastvoreni u hidrohlornoj kiselini a zatim rastvoren u metanolu da bi se dobila koncentracija od 100µh/ml. Zatim je ovaj rastvor profiltriran kroz filter koji propušta čestice manje od 0,45µm. Nakon toga je podvtgnut hromatografskoj analizi na HPLC sistemu. Kvercetina je određena direktnim poredjenjem vremena pojave njegovog pika i standardnog pika poznate supstance a količina mu je određjena na osnovu prostora koji zauzima pik.

Rezultati i diskusija

Efekat izloženosti UV-B zracima na morfologiju i biomasu

Rezultati su pokazali značajne razlike u morfologiji ozračenih i ne ozračenih biljaka. Biljke ozračivane UV svjetlošću 40 i 60minuta su imale smežurane listove, kraći korijen i bile su manje visine. Na površini lista vidjelo se prvo blijedjenje listova a zatim su se pojavile i nekrotične tačke. Što se tiče biomase ona je u seriji koja je bila izlagana UV-B zračenju 60minuta bila manja za 35% od kontrolne biomase. Serija izlagana UV-B zračenju 40 minuta imala je manju biomasu od kontrolne ali vecu od serije izlagane 60miinuta, dok su kod serije izlagane UV-B zračenju i biomasa i morfološke promjene bile najmanje uočene u odnosu na kontrolnu seriju.

Efekat izloženosti UV-B zracima na fotosintetičke pigmente – hlorofile i karotenoide

Što se hlorofila tiče, on se sa povećavanjem izloženosti UV-B zračenju smanjuje , tako da je u zadnjoj seriji , koja je bila pod najvećim dejstvom UV-B zračenja, količina ukupnih hlorofila opala za 27% u odnosu na kontrolnu seriju. Obrnuto količina karotenoida se povećavala. Dakle u serijinajizloženijoj UV-B zracima (60min) došlo je do povećanja količine karotenoida za 15 posto u odnosu na količinu u jedinkama kontrolne serije. Upravo ovo smanjenje količine hlorofila je nastalo zbog fotodegradacije ovog pigmenta i dezintegracije hloroplasta a uzrok je pojave zutih polja na listu. Takodje smanjena fotosinteza zbog smanjenje fotopigmenata je logičan uzrok smanjenja bimase. Karotenoidi su pomoćni pigmenti koji štite hlorofil od fotooksidacije na taj način što apsorbuju višak energije i oslobadjaju je u vidu toplote. Zato je njihov porast u ovom eksperimentu takodje jasan.

Efekat UV-B zračenja na antocijanin i ukupne flavonoide

Uočava se oštro i veliko povećanje antocijanina od 33 % u odnosu na kontrolne, kod biljaka serija izloženih UV-B zračenju 40 i 60 minuta, dok serija biljaka izloženih 20 minuta ne

pokazuje značajne razlike u količini antocijanina u odnosu na kontrolnu. Više istraživanja ukazuju na to da antocijanin predstavlja veoma efikasnu zaštitu od UV zračenja sprečavajući oksidativni stres i oštećenja DNK i povećava se sa povećanjem količine zračenja.

Takodje i sadržaj ukupnih flavonoida se povećavao sa povećanjem dužine izlaganja UV-B zracima. Naglije povećanje (22% u odnosu na kontrolnu seriju) količine flavonoida zapaža se u seriji biljaka izloženih zracima 40 minuta. Biljke izložene UV zračenju 60 minuta imaju za 38% veću količinu flavonoida od biljaka iz kontrolne serije.

Sto se tiče kvercetina, jednog od glavnih flavonoida, rezultati su pokazali da se njegova količina u seriji izloženoj UV-B zracima 20 minuta lagano smanjila. Dok kod serije izložen UV-B zracima 60 minuta, uočava se povećanje količine kvercetina za 5, 19 % u odnosu na kontrolnu seriju. Iako kvercetin ima maksimum apsorpcije u UV-A i UV-C djelovima spectra smatra se da ima fotoprotektivnu ulogu i u ovom slučaju jer sada će slabije sprečavati apsorpciju zraka ali će sprečavati oštećenja DNK. Kvercetin je polifenol koji sadrži mnoštvo dvostrukih veza i hidroksilnih grupa koje mogu donirati electron slobodnim radikalima i tako sprečiti oksidativni stres. Postoji više istraživanja koji upućuju na to da UV-B zraci aktiviraju sintezu flavonoida na nivou gena kao što su fenilalanin amonijum liaza (PAT), flavonon-3- hidroksilaza (F3H), dihidroflavonol-4-reduktaza (DFR), antocijanidin sintaza (ANS).

Zaključak

Na posletku, u ovom naučnom radu biljka *L. esculentum* je izlagana akutnom repetitivnom UV-B zračenju nakon čega su uradjena morfološka, biohemijska i molekulska ispitivanja tih jedinki. Doslo se do zaključka da UV-B zračenje uzrokuje smanjenje biomase biljke, pojavu žutih polja na listu, smanjenu koncentraciju hlorofila ali povećanu karotenoida, povećanu koncentraciju flavonoida (posebno smo se osvrnuli na kvercetin) kao i povećanu sintezu antocijanina. Sto je dužina izlaganja jedinki UV zračenju rasla tako su sve više rasli, odnosno se smanjivali, pomenuti parametri. Dakle, biljka ima razvijen sistem odbrane i zaštite, kao i reparacije oštećenja od UV-B zračenja, ali ukoliko je zračenje suviše dugotrajno ili intenzivno doći će do znatnog remećenja normalnog funkcionisanja biljke.

Primjer br. 2:

Učinak visokog inteziteta svjetlosti na okruglolisnu rosiku (*Drosera rotundifolia* L.) Martina Mužic

Uvod

Okruglolisna rosika je dobila ima po obliku lista i enzimskoj tečnosti na vrhu tentakula koja podsjeća na rosu. Tečnost je prozirna ljepljiva i služi za privlačenje, hvatanje i razgradnju kukaca radi crpljenja mineralnih materija. Kada kukac sleti na tentakulu zalijepi se za ovu enzimsku tečnost. Što se više pomijera tentakule se sve više savijaju prema njemu zatvarajući stigme kukca, i on se na kraju uguši. *Drosera rotundifolia* živi u močvarnom području, cretu koji nastaje raspadanjem donjih djelova mahovine iz roda *Sphagnum*. Ovakvo stanište je siromašno mineralnim materijama, i iz tog razloga je i razvila ovakav mehanizam ishrane. Iako minerale uzima hvatajući kukce, ona normalno obavlja process fotosinteze. Globalnim zagrijavanjem i pojavom ozonskih rupa klima postaje pretopla i vlažnost vazduha je mala stoga močvarnim staništima prijeti potpuni nestanak. Postoji ideja košenja visoke vegetacije kako bi se sukcesija izbjegla. Medjutim to bi tovelo do naglog izlaganja *Drosera rotundifolia* intenzivnoj svjetlosti i potencijalno na nju ostavilo negativne posledice ili bi čak bila istrebljena sa ovih staništa.

Cilj: Utvrditi učinkovitost fotosinteze, kolicinu fotosintetičkih pigmenata i flavonoida u okruglolisnoj rosiki koja je uzgajana u uslobima niskog inteziteta svjetlosti a zatim je izložena visokom intezitetu svjetlosti.

Materijali i metode

Sjeme je sakupljeno u cretu Dubravica u Hrvatskom zagorju, i uzgajano na hranljivoj podlozi sa potrebnim mikro i makroelementima i organskim dodacima. pH je bio 5,0. Nakon dodatka agara, hranljiva podloga je prebačena u epruvete. Posle 60 dana uslijedilo je presađivanje i promjena podloge. Kada su biljke dostigle određenu veličinu presađene su u plastične posude napunjene navlaženim tresetom i tu su uzgajane u uslovima dugog dana (16 sati svjetla i 8 sati tame) Svjetlost je bila inteziteta $40 \mu\text{mol fotona m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Kad su biljke bile zadovoljavajuće veličine eksperiment je odradjen na sledeci nacin. Dnevno biljka je bila izložena svjetlosti 16 sati i 8 sati tami. Medjutim ovog puta u toku ovih 16 sati jedna serija (HL 5) je 5 sati bila izložena svjetloti veoma visokog inteziteta od $700 \pm 20 \mu\text{mol fotona m}^{-2}\text{s}^{-1}$ Druga serija je izložena ukupno 30 sati svjetlosti jakog intenziteta HL- 30. (svaki dan po 10sati, dok je ostalih 6 sati svjetlost bila nižeg inteziteta) Treća 50sati (HL50) i četvrta 100 sati. HL5 i HL100 stavljeni su 7 dana na oporavak, pa imamo i O-5 i O-100. Takodje postoji i kontrolna gupa K, koja nije izlagana svjetlosti visokog inteziteta.

Mjerenje fluorescencije hlorofila

Fluorescencija hlorofila a je izmjerena pomoću fluorimetra na kojem se moze kontrolisati intenzitet svjetlosti usmjeren prema ispitivanom listu, i koji je povezan sa kompjuterom pa se na njemu bilježe signali iz fluorimetra i dobijaju parametri (F0, Fm, F'm, Fs i F'0). Koristeći njih, u formulama odredjeni su stopa prenosa elektrona i nefotohemijsko gašenje.

Stopa prijenosa elektrona

$$ETR = \Phi_{PSII} * PFD * 0,5 = (F'_m - F_s) / F'_m * PFD * 0,5$$

Nefotohemijsko gašenje

$$NPQ = (F_m - F'_m) / F'_m$$

Određivanje fotosintetičkih pigmenata

15-20g biljnog tkiva je homogenirano sa 0.75ml acetone a zatim stavljeno na centrifugiranje. Kasnije je dodato acetona do oznake 1ml i uz pomoć spektrofotometra je određena apsorpciona moć na tri talasne dužine 470 nm, 646nm i 663 nm. Maseni udio pigmenata u tkivu se određuje preko formula.

Određivanje ukupnih fenola, flavonoida i antocijanina

Materijal: 15-20 g listića je homogenizovano sa 0,5g metanola a, zatim se ovaj homogenat centrifugirao. Kasnije je dodato metanola do 1 ml. Ovako dobijeni uzorci su korišteni za određivanje ukupnih fenola, flavonoida i antocijanina u tkivu

Određivanje ukupnih fenola. Smješa destilovane vode, predhodno pripremljenog ekstrakta, Na_2CO_3 i *Folin Ciocalteu reagensa* je izmiješana u vortex mješalici i zatim inkubirana na 60 stepeni. Koncentracija ukupnih fenola određena je uz pomoć baždarne krivulje s poznatim koncentracijama galne kiseline. Maseni udio ukupnih fenola u tkivu izažen je u miligramima ekvivalenta galne kiseline po gramu svježe mase tkiva.

Određivanje količine flavonoida Smjesa ekstrakta, aluminijum hlorida, kalijumovog acetate iv ode je izmiješana u vortex mjesalici pa inkubirana pola sata na sobnoj temperature. Mjerila se apsorpcija za talasnu dužinu od 420nm. Koncentracija flavonoida je određena na temelju baždarne krivuljedobijene mjerenjem apsorpcije niza otopina kvercetina poznatih koncentracija

Određivanje količine antocijanina. Smješa ekstrakta, HCl i metanola je inkubirana 30 min na 60 stepeni, a zatim joj je izmjerena apsorpcija na 537nm pomoću spektrofotometra. Koncentracija antocijanina je određena korišćenjem ekstinkcijskog koeficijenta cijanidin-3-glukozida

Rezultati

Nefotohemijsko gašenje fluorescencije

Izlaganjem biljaka visokom intenzitetu svjetlosti vrijednost oslobađanja energije u vidu toplote je porasla, i to najveći porast je u seriji HL100 i kod serije njenog sedmodnevnog oporavka O-100. Kod sedmodnevnog oporavka tretmana od 5 sati vrijednost je povišena u odnosu na kontrolnu ali ovaj podatak nije statistički značajan.

Stopa prenosa elektrona

Najmanja stopa prenosa elektrona uočena je u seriji H5 i H100 dok je u serijama H30 i H50 ona znatno veća ali ipak malo manja od stope prenosa u kontrolnoj seriji. Nakon oporavka, biljke imaju skoro istu stopu prenosa elektrona kao kontrolna serija.

Udio hlorofila a

Udio hlorofila a u tkivu se u seriji HL5 nije smanjila, međutim u serijama HL30, HL50 i HL100 dolazi do značajnog postepenog pada količine hlorofila a. Nakon oporavka od 5 sati, količina hlorofila a je porasla i nije bila puno niže od udjela hlorofila u kontrolnoj seriji. Međutim vrijednost hlorofila u seriji O-100 je znatno niža u odnosu na kontrolnu.

Udio hlorofila b

U seriji HL5 udio hlorofila se malo povećao ali ovaj podatak nije statistički značajan. Dalje u serijama HL30, HL50 i HL 100 doslo je do značajnog pada količine hlorofila b kao što je i očekivano. U seriji O-5 udio hlorofila b je blizu udjela u kontrolnoj seriji, međutim kod serije O-100 nailazimo na mnogo manji sadržaj hlorofila b u odnosu na kontrolnu seriju i seriju HL5, a veći u odnosu na serije HL30, HL50 i HL100.

Udio ukupnih karotenoida u tkivu

Nakon 5 sati izlaganja biljaka visokom intenzitetu svjetlosti sadržaj karotenoida je značajno porastao. U daljim serijama karotenoidi se smanjuju a posebno u HL50 i HL100. Sadržaj karotenoida u serijama O-5 i O-100 je približan kontrolnoj vrijednosti (beznačajno manji).

Udio ukupnih fenola u tkivu

Sadržaj ukupnih fenola se povećavao sa povećavanjem dužine izloženosti intenzivnoj svjetlosti. Najveći sadržaj dakle od ovih serija ima serija HL100. Kod serija O-5 došlo je do očekivanog pada količine fenola. Veoma je interesantna serija O-100 kod koje je nakon oporavka došlo do još značajnijeg povećanja količine ukupnih fenola.

Udio flavonoida u tkivu

Serije izložene intenzivnoj svjetlosti 5 i 30 dana nisu imale značajno povećanje flavonoida, dok se kod serija HL50 i HL100 sadržaj flavonoida znatno povećava. U seriji O5 doslo je do smanjenja količine flavonoida. Međutim u seriji O-100 je došlo do znatnog povećanja i u odnosu na kontrolnu grupu i u odnosu na HL100.

Udio antocijanina u tkivu

Serije HL5 i HL30 nisu imale skoro nikakve promjene u udjelu antocijanina dok se kod serija HL50 i HL100 uočava naglo povećanje udjela antocijanina. U seriji O-5 došlo je do pada

količine antocijanina na količinu istu kao u kontrolnoj, dok je kod serije O-100 opet došlo do iznenadnog povećanja udjela antocijanina na vrijednost čak veću nego u seriji HL50.

Rasprava

Usled izlaganja jedinki vrste *Drosera rotundifolia* svjetlosti jakog inteziteta, višem od tačke svjetlosnog zasićenja fotosinteze pojavljuje se svjetlosni stres na koji biljke reaguju promjenom koncentracije i sastava fotosintetskih pigmenata i povećanjem koncentracije fenolnih spojeva kao što su flavonoidi, antocijanini i fenolne kiseline. Obradjen je parameter stope prenosa elektrona, koji govori o tome koliko se apsorbovanog svjetla iskoristilo za prenos elektrona tj. fotosintezu. Rezultati stope prenosa su pokazali značajan pad što upućuje na to da neprilagodjeni fotosintetički aparat (manje je karotenoida u odnosu na hlorofil) na ovoliku svjetlost nije mogao da svu apsorbovanu svjetlost adekvatno iskoristi tj. da dodje do tako efikasnog prenosa elektrona zbog zatvaranja PSII, usled oksidacije plastokinona što opet upućuje na stvaranje ROS koji izazivaju fotoinhibiciju. S obzirom da kod biljaka nisu uočene hloroze i nekrotične promjene, nakon oporavka i optimalni prinos PSII i stopa prenosa elektrona se postepeno vraća, što znači da je ova fotoinhibicija bila reverzibilna.

Smatra se da je nefotohemijско gašenje jedan od glavnih načina zaštite od fotoinhibicije jer sprečava da višak energije dodje do reakcionih centara i ošteti ih. U ovom eksperimentu dokazano je da je količina nefotohemijског gašenja tj. oslobađanja viška energije u vidu toplote, rasla sa porastom izlaganja biljke svjetlosti jakog inteziteta. Ovo je posljedica konverzije vrste karotenoida iz ksantofilskog ciklusa violaksantina u zeaksantin pri čemu se oslobadja višak energije u vidu toplote.

Do smanjenja hlorofila a i b je doslo jer je jedan od načina prilagodjavanja biljke na svjetlosni stress da smanji vrlčinu antenna PSII zbog čega se smanjuje količina energije koja dolazi do PSII pa ovo pruža neku zaštitu od fotoinhibicije i fotooksidacije. Takodje receno je da je i ROS izazivaju oštećenje pigmenata tako da je ovako dobijen rezultat u eksperimentu očekivan.

Količina karotenoida se povećava jer karotenoidi apsorbuju višak energije i pretvaraju ga u toplotu preko ksantofilskog ciklusa. U serijama HL50 i HL100 dolazi opet do smanjenje karotenoida jer svjetlosni stres postaje prejak i stvara se previse ROS pa i karotenoidi bivaju fotooksidovani.

Povećana sinteza ukupnih fenola, flavonoida i antocijanina je takodje očekivana jer imaju antioksidativnu ulogu stoga uklanjaju ROS-ove i sprečavaju dalju fotooksidaciju. Zapaženo je da je u sva tri slučaja čak i posle oporavka od 100 sati nastavljena povećana sinteza ovih antioksidanata.

Zaključak

Na osnovu rezultata istraživanja sprovedenog na okrugloj rošici izloženoj visokom intenzitetu svjetlosti od $700 \pm 20 \mu\text{mol fotona m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ u trajanju od 5, 30, 50 i 100 sati pa oporavka ovih biljaka 5 i 100 sati može se zaključiti da se stopa prenosa elektrona smanjila kao i da je porasla vrijednost oslobadjanja energije u vidu toplote što ukazuje da je došlo do fotoinhibicije ali i da se aktivirao adaptivni sistem biljke jer je došlo do oslobadjanja energije u obliku toplote. Došlo je do smanjenja količine hlorofila a i b što ukazuje na fotoinhibiciju a i do povećanja sadržine karotenoida kao zaštitnih pigmenata. Udio fenola, flavonoida i antocijanina je porastao s obzirom da su oni antioksidansi i takodje su značajna linija odbrane biljke.